

Indice

Introduzione	5
L'ipertermia: biologia e tecniche di cura	7
1.1. Ipertermia oncologica.....	7
1.2. Cenni storici	8
1.3. Effetti biologici del calore sulle cellule.	10
1.3.1. Termotolleranza	11
1.3.2. Dose di calore.....	12
1.4. Effetti fisiologici del calore.	14
1.5. Chemioterapia e calore.....	15
1.6. Radioterapia e calore.....	16
1.7. Classificazione delle tecniche di riscaldamento.	18
1.7.1. Ablazione termica.	19
1.7.2. Ipertermia interstiziale.....	20
1.7.3. Ipertermia endocavitaria.....	25
1.7.4. Ipertermia locale.	26
1.7.5. Ipertermia regionale.....	29
1.7.6. Ipertermia part body.....	36
1.8. Risultati trattamenti.....	39
Le nanoparticelle	41
2.1 Proprietà magnetiche.....	41
2.2 Il superparamagnetismo.....	44
2.3 La temperatura di Curie	45
2.4 NanoParticelle di ossido di ferro.....	46
2.4.1 Sintesi delle Nanoparticelle di ossido di ferro.....	47
2.4.2 Funzionalizzazione delle superfici con materiale organico.....	49
2.4.4 Funzionalizzazione delle superfici con materiale inorganico.....	52
2.5 Nuovi materiali.....	55

2.5.1 Manganiti	55
2.5.2 Leghe Rame Nichel	56
Acquisizione immagini	58
3.1 MRI e MRI-DTI.....	58
3.1.2 Selezione della "fetta" (slice)	60
3.1.3 Sequenze di base.....	60
3.1.4 Free Induction Decay (FID) - Saturation Recovery.....	60
3.1.5 Inversion Recovery.....	61
3.1.6 Spin Echo.....	61
3.1.7 Modalità di imaging	62
Programma di ricostruzione.....	64
4.1 Acquisizione delle immagini	64
4.2 La segmentazione	64
4.3 Ricostruzione dei volumi.....	66
4.4 Creazione della mesh.....	69
Problema termico	70
5.1 La dissipazione di potenza	70
5.2 Parametri caratteristici dei materiali.....	73
5.3 Costanti di tempo	74
5.4 L'incremento di temperatura.....	77
5.5 SAR (<i>Specific Absorption Rate</i>).....	78
5.6 Formulazione del problema termico	79
5.7 Il problema termico con perfusione sanguigna.....	81
5.7 Simulazioni.....	85
Diffusione	89
6.1 Leggi di Fick.....	89
6.2 Coefficiente di diffusione.....	90
6.2.1 Diffusione allo stato stazionario attraverso una membrana e un mezzo bifasico.....	93
6.3 Modelli con sfere.....	95
6.4 Analisi Dati.....	97
6.5 Parametri.....	98
6.6 Somma di gaussiane	101

[Digitare il titolo del documento]

6.7	Simulazioni sul cervello ricostruito.....	107
	Multiphysic	111
7.1	Comsol multiphysic.....	111
7.2	Simulazione	112
7.3	Differenze tra diffusione calcolata e l'uso di una diffusione omogenea.....	113
	Ricostruzione con DTI	115
8.1	DTI.....	115
8.2	Il segnale MRI di diffusione.....	116
8.3	Coefficienti di diffusione per l'isotropia e l'ansotropia.....	117
8.4	Utilizzo del DTI	120
8.4.1	Analisi immagini e segmentazione.....	120
	Conclusioni	123
	Bibliografia.....	125

[Digitare il titolo del documento]

Introduzione

Per terapia ipertermica o ipertemia clinica, si intende l'induzione nei tessuti biologici di temperature di poco superiori a quella fisiologica (tra i 42°C e i 46 °C).

In oncologia l'ipertermia è una modalità terapeutica utilizzata in associazione con le terapie più tradizionali fin ora in uso come la radioterapia e la chemioterapia.

Il riscaldamento dei tessuti tumorali avviene attraverso campi elettromagnetici e i tempi di esposizione e le temperature dipendono dal tipo di trattamento. La terapia viene somministrata una o più volte al giorno e per una o due volte la settimana per evitare la termotolleranza.

Il calore esalta gli effetti della radioterapia e della chemioterapia sui tessuti tumorali senza aumentare eccessivamente i danni ai tessuti sani circostanti.

Sono state studiate diverse modalità per innalzare la temperatura, si tratta di tecniche che prevedono l'uso degli ultrasuoni, di campi elettromagnetici e varie frequenze e delle micro onde.

Fra queste è oggetto di studio l'ipertermia con fluidi magnetici dato che ha una elevata capacità di selezionare l'area bersaglio e anche la bassa invasività della procedura.

L'intento di questa tesi è quello di valutare come modellizzare la diffusione delle nano particelle nei tessuti in cui vengono iniettati e calcolare quindi l'aumento di temperatura indotta dalla cura.

Capitolo 1

L'ipertermia: biologia e tecniche di cura

1.1. Ipertermia oncologica

Per terapia ipertermica o ipertermia clinica s'intende l'induzione, nei tessuti biologici, di temperature di poco superiori a quella fisiologica (da 40-41 °C fino a 45 °C).

In oncologia l'ipertermia è una modalità terapeutica utilizzata in associazione con le terapie più tradizionali finora in uso, cioè con la radioterapia e la chemioterapia.

Attraverso l'uso di campi elettromagnetici il tessuto tumorale viene riscaldato fino ad una temperatura vicina o superiore ai 43 °C e per un intervallo di tempo di circa un'ora. Il trattamento, cioè il riscaldamento alle temperature suddette, viene eseguito una o più volte secondo il protocollo applicato, ma generalmente non viene ripetuto più di due volte alla settimana per evitare il fenomeno della termotolleranza, vale a dire una maggiore resistenza delle cellule al calore nei primi due giorni successivi alla terapia. Il calore esalta gli effetti della radioterapia e della chemioterapia sul tumore, senza aumentare in modo eccessivo gli effetti collaterali (cioè gli inevitabili effetti debilitanti su tessuti ed organi sani derivanti dalla citotossicità di chemioterapia e radioterapia) permettendo un significativo miglioramento nel controllo della lesione (cioè della massa tumorale bersaglio).

1.2. Cenni storici

Le proprietà terapeutiche del calore erano già conosciute nel lontano passato: l'uso dei ferri caldi nella cura del cancro è riportato da Galeno ed Ippocrate e ne esistono tracce anche nel 2000 a.C.(Ramayama).

L'inizio storico dell'ipertermia antitumorale della medicina moderna può essere fatto risalire al 1866, anno in cui Busch segnalò un caso di remissione completa di un sarcoma al volto, istologicamente controllato, su di un paziente a seguito di ripetuti attacchi febbrili da erisipela.

Da analoghe osservazioni nel 1883 Coley fu indotto ad intraprendere una serie di studi sul trattamento di lesioni neoplastiche mediante l'utilizzo di pirogeni batterici, senza però arrivare a risultati definitivi.

Con il progredire delle scienze fisiche nuove tecniche, adatte a generare calore, furono impiegate a scopo terapeutico in ambito medico. Non hanno fatto eccezione i campi elettromagnetici.

Arsène d'Arsonval (1851-1940) nel corso dei suoi studi sulle correnti ad alta frequenza, scoprì che una corrente elettrica alla frequenza di 10 kHz o più, produceva una sensazione di calore nell'attraversare i tessuti viventi, senza essere accompagnata dalla contrazione muscolare dolorosa, che si può avvertire a più basse frequenze: era il 1892, anno che segna l'ingresso ufficiale dell'elettromagnetismo nella medicina.

Nel 1907 Nagelshmidt coniò il termine diatermia (*dia* = attraverso, *therme* = calore) per indicare il riscaldamento di tessuti viventi prodotto dalla conversione di correnti ad alta frequenza in calore.

Nei decenni seguenti le tecniche impiegate per la diatermia elettromagnetica furono quelle che si andavano sviluppando per applicazioni di altro tipo, soprattutto in campo militare, dalle onde corte (marconiterapia) alle microonde (radarterapia). Dagli anni '30, e poi definitivamente nell'immediato dopoguerra, la diatermia divenne una metodica standard in fisioterapia.

Durante gli anni '70 e '80 la ricerca di nuove modalità di trattamento contro il cancro ha fatto rinascere l'interesse per l'ipertermia come modalità terapeutica antitumorale, a partire da ricerche di base sui meccanismi con cui il calore è in grado di uccidere le cellule tumorali o renderle più sensibili alle radiazioni. Numerosi studi, soprattutto a carattere biologico, hanno meglio precisato gli effetti cellulari provocati dal riscaldamento ed hanno confermato il guadagno terapeutico derivante dall'associazione dell'ipertermia con la radioterapia e la chemioterapia. La sperimentazione clinica e i primi studi clinici randomizzati hanno portato alla fondazione, in

Europa, negli Stati Uniti ed in Giappone, di società di ipertermia affiliate alle organizzazioni per la ricerca e la cura del cancro.

Attualmente, grazie alla preziosa mole di lavori svolti da numerosi autori, si dà ormai per assodata l'esistenza di una diversa termosensibilità delle cellule e soprattutto dei tessuti neoplastici rispetto alle cellule e ai tessuti normali.

Le evidenze raccolte dai protocolli iniziali americani ed europei testimoniano che la combinazione di calore e radiazioni nel trattamento delle metastasi della testa e del collo, di melanomi metastatici e recidive di carcinoma alla mammella produce un decisivo miglioramento, quasi il raddoppio della possibilità di controllo locale, cioè di eliminare o ridurre la massa tumorale bersaglio o arrestarne la crescita. Inoltre recenti studi hanno confermato l'effetto decisivo dell'ipertermia su grossi tumori della zona pelvica ed addominale.

Allo stato attuale gli organismi che promuovono l'attività sperimentale per l'ipertermia, sia tramite protocolli cooperativi, disegnati ed approvati nel quadro delle indicazioni della Dichiarazione di Helsinki, sia con le iniziative per il controllo di qualità, sono di carattere multinazionale: European Society of Hyperthermic Oncology (ESHO), che raccoglie alcune centinaia di ricercatori clinici, biologi, fisici ed ingegneri delle più note e prestigiose istituzioni europee impegnate nella ricerca sui tumori; North American Group, attivo negli Stati Uniti e in Canada; Japanese Society for Hyperthermic Oncology, che riunisce quasi un migliaio di ricercatori giapponesi.

Se un'evoluzione si è avuta nel campo biologico e clinico, si registra tuttavia un certo ritardo nella realizzazione di sistemi per terapia ipertermica con tecnologia adeguata, esistono ancora limiti di riscaldamento di tumori di grandi dimensioni o localizzati in profondità, per la difficoltà di indirizzare e focalizzare le onde elettromagnetiche sul bersaglio, mentre l'alta invasività delle tecniche di misura limita la conoscenza della distribuzione della temperatura nel corpo del paziente.

Tuttavia notevoli progressi sono stati fatti nello sviluppo di modelli numerici al calcolatore che delle varie tecniche di riscaldamento possono simulare la propagazione delle onde elettromagnetiche e la conseguente distribuzione di potenza e di temperatura nel corpo del paziente. Data la difficoltà di misure di temperatura *in vivo* le potenzialità di dispositivi per ipertermia clinica possono essere pienamente valutate solo con l'ausilio di tecniche di pianificazione del trattamento computerizzate (Hyperthermia Treatment Planning), che possono fornire i dati per ottimizzare il trattamento e costituiscono uno strumento indispensabile per la progettazione di nuove e più efficaci tecniche di riscaldamento .

L'intento di questa tesi è, tramite l'impiego di simulazioni elettromagnetiche e termiche, valutare l'efficacia di alcuni dispositivi per ipertermia clinica attualmente in uso per il trattamento di tumori pelvici.

1.3. Effetti biologici del calore sulle cellule.

Nonostante la pubblicazione di numerosi studi relativi alle alterazioni indotte dal calore sulle strutture e sui sistemi cellulari, a tutt'oggi non sono ancora chiare le intime ragioni della citotossicità connessa ad una esposizione termica a 42-43 °C. E' noto tuttavia che il calore comporta alterazioni morfologiche delle tre maggiori strutture cellulari: membrana plasmatica, citoscheletro e nucleo.

- *Membrana plasmatica.* Nella membrana cellulare l'ipertermia induce cambiamenti nella ricezione e nel trasporto delle proteine, perdite ematiche, e aumento del contenuto di colesterolo. Inoltre le modificazioni di alcuni componenti lipoproteici e lipidici unite all'aumento della fluidità del plasmolemma, dovuto all'aumento di temperatura, potrebbero essere alla base dei fenomeni di variazione della permeabilità della membrana.

- *Citoscheletro/Citoplasma.* Il calore agisce sia sulla struttura sia sulla funzionalità di numerosi organelli citoplasmatici: i mitocondri, i lisosomi e l'apparato di sintesi proteica. In seguito a prolungate esposizioni a 42-43°C sono stati osservati infatti disturbi nella respirazione cellulare e nella glicolisi, legati probabilmente a modificazioni morfologiche nei mitocondri, ipertrofia dell'apparato del Golgi e aumento del numero e del volume dei lisosomi con un incremento dell'attività acidofosfatase, attribuibile ad un possibile danno delle membrane lisosomiali con il possibile innesco di fenomeni autolitici cellulari. Secondo alcuni autori, la perdita di enzimi lisosomiali non sarebbe tanto ascrivibile ad un effetto diretto del calore sulle membrane di questi organelli, ma avverrebbe in risposta all'accumulo di acido lattico intracellulare dovuto all'inibizione del metabolismo aerobico connesso con il trattamento ipertermico.

- *Nucleo.* A livello nucleare, osservazioni al microscopio elettronico hanno rivelato una rarefazione della cromatina, una diminuzione delle riboproteine e significative modificazioni del nucleolo. Rilevamenti fisicochimici hanno inoltre evidenziato una alterazione quantitativa delle proteine endonucleari, con variazioni del rapporto fra proteine istoniche e non istoniche. Ulteriori studi mettono in relazione l'eccesso di proteine nel nucleo con un'azione inibitrice della duplicazione del DNA e dei suoi enzimi riparatori.

Il meccanismo principale che conduce alla morte cellulare è quindi probabilmente la denaturazione proteica che comporta l'alterazione di numerose strutture cellulari e il danneggiamento dei complessi enzimatici preposti alla sintesi e alla riparazione del DNA, la molecola che contiene il programma di vita e di attività della cellula.

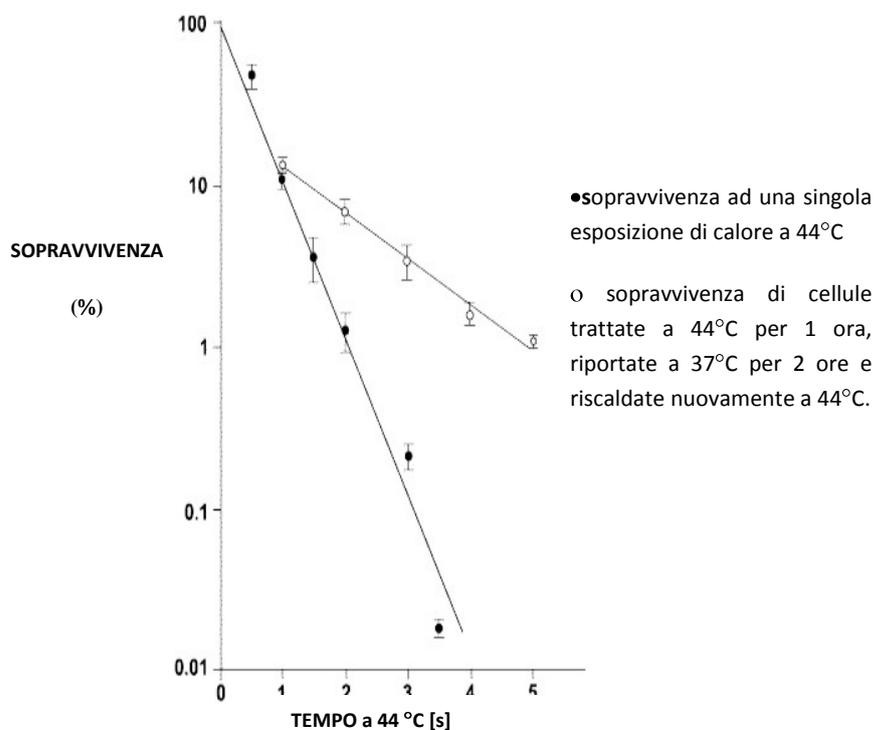
In generale non si rivela una maggior termosensibilità delle culture di cellule neoplastiche rispetto alle culture di cellule normali. Tuttavia a livello tissutale le variazioni di comportamento dei tessuti sani rispetto ai tessuti neoplastici diventano rimarchevoli, a causa delle notevoli differenze fisiologiche del microambiente che caratterizza il tessuto sano e quello tumorale. In condizioni di scarsa nutrizione vascolare, carenza di ossigeno ed aumentata acidità, le cellule tumorali si dimostrano infatti maggiormente termosensibili.

Mentre i tessuti sani non risultano danneggiati se dopo trattamenti anche di 1 h il calore viene rimosso, per quelli tumorali i danni risultano permanenti.

1.3.1. Termotolleranza

Particolare attenzione deve essere posta nel caso di cicli termici ripetuti come comunemente avviene, in quanto le cellule possono diventare termotolleranti, ossia più resistenti al calore di quanto non lo fossero prima dell'applicazione della dose termica iniziale. In *fig. 1.3* si vede infatti che la decadenza della termotolleranza è più rapida nel caso di una singola applicazione a temperatura superiore a 42°C, rispetto al caso di molteplici cicli termici intervallati da periodi di raffreddamento a 37°C.

Ad oggi è chiaro che la cosiddetta Heat Shock Protein gioca un ruolo centrale nel fenomeno della termotolleranza ed è pertanto oggetto di studio in numerosi laboratori. Inoltre la termoresistenza non sembra essere connessa con una variazione del genotipo cellulare, in quanto colture esposte a temperature di 43°C si dimostrano termoresistenti solo se riesposte entro 48-72 ore dopo il primo trattamento mentre, se la seconda esposizione viene effettuata a distanza di tempo più lungo, le stesse colture non si dimostrano termoresistenti. A confermare l'ipotesi che la termotolleranza sia un evento metabolico e non un evento genetico, alcuni lavori riportano una inibizione del fenomeno mediante l'impiego di inibitori della sintesi proteica.

Fig 1.1 Decadenza della termotolleranza

Sulle applicazioni cliniche la termoresistenza ha un impatto notevole, infatti in radioterapia un regime standard di trattamento prevede un ciclo di 6 settimane di radiazioni somministrate da Lunedì a Venerdì. Se si volesse abbinare parallelamente l'ipertermia con la stessa scadenza, l'effetto della termotolleranza influenzerebbe negativamente l'efficacia del trattamento. Pertanto tale fenomeno è ampiamente studiato al fine di individuare il modo di ridurne lo sviluppo.

1.3.2. Dose di calore.

In ipertermia due sono le grandezze di ugual importanza nel determinare la sopravvivenza cellulare all'esposizione di calore : *temperatura* e *tempo di applicazione*. La relazione fra sopravvivenza cellulare e questi parametri non è lineare (vedi *fig. 1.1*), tuttavia i dati sperimentali consentono di dedurre che il calore agisce in modo prevedibile e ripetibile, consentendo la totale sopravvivenza delle cellule per temperature inferiori a 42°C e causando un aumento della morte cellulare all'aumentare della temperatura e del tempo di esposizione. Inoltre, in prima approssimazione, tra temperatura e tempo esiste una relazione all'incirca lineare. Ciò significa che per un aumento di un grado di temperatura oltre 41°C, basta metà del tempo di esposizione per uccidere lo stesso numero di cellule.

[Digitare il titolo del documento]

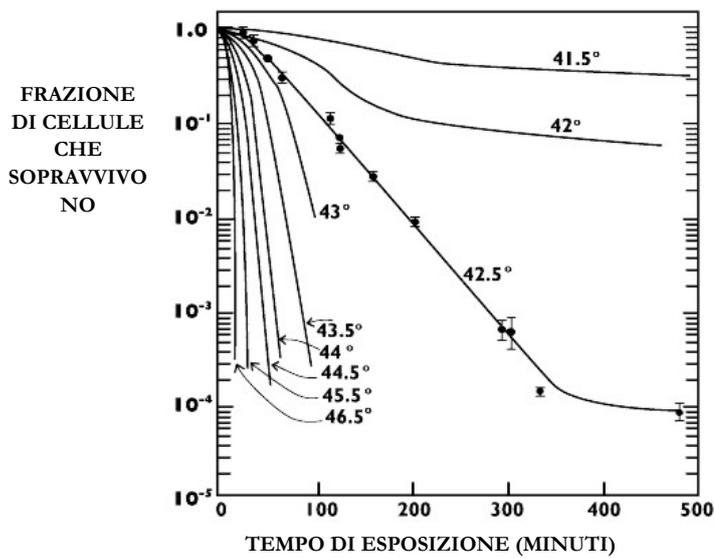


Fig 1.2 Frazione di cellule che sopravvivono al trattamento termico, a diverse temperature e intervalli di tempo.

La necessità di fornire la giusta dose di calore alla zona interessata è chiara se si pensa che la sopravvivenza di pochissime cellule tumorali potrebbe comportare la ricomparsa del tumore. L'obiettivo è di raggiungere un riscaldamento il più possibile uniforme, evitando la formazione di *cold spot* (zone la cui temperatura è inferiore a quella terapeutica per la presenza di un grosso vaso sanguigno) e *hot spot* (zone a temperature superiori alle massime consentite).

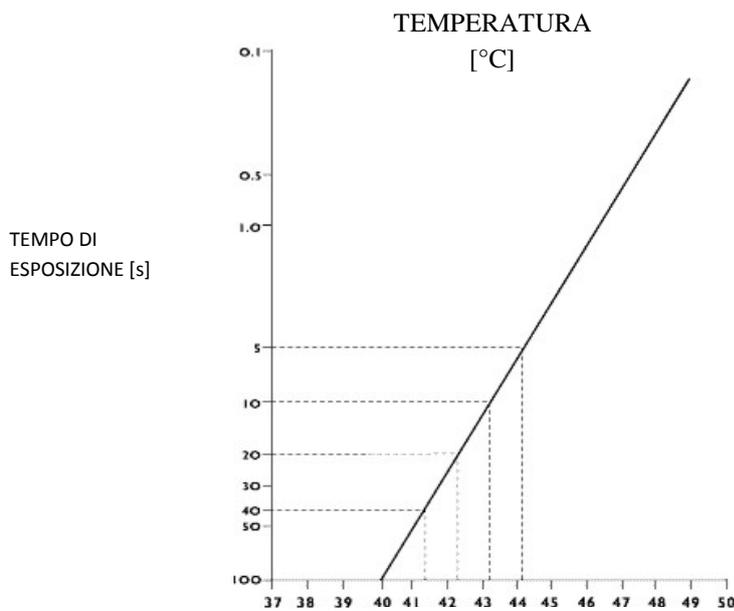


Fig 1.3 Relazione lineare tra tempo di esposizione e temperatura applicata.

1.4. Effetti fisiologici del calore.

Nelle masse tumorali *in vivo* oltre agli effetti biologici indotti dal calore, precedentemente descritti, si riscontrano in seguito a riscaldamento modificazioni fisiologiche (o fisiopatologiche) a livello del microambiente cellulare della neoplasia che aumentano l'effetto citotossico del trattamento ipertermico.

Il microambiente neoplastico è caratterizzato da ipossia, acidità e deprivazione nutrizionale. Queste specifiche sono legate alla scarsa ed irregolare irrorazione sanguigna del tessuto tumorale. La vascolarizzazione dei tumori solidi risulta infatti formata da una rete di capillari ricca di anastomosi e a distribuzione caotica, sprovvista di una vera arteria aderente e di un idoneo sistema di deflusso venoso. Queste caratteristiche rendono la capacità di raffreddamento del flusso sanguigno nella massa neoplastica scarsamente efficiente.

Nel riscaldamento forzato infatti mentre i tessuti sani rispondono con una vasodilatazione (aumentando la termodispersione), nei tessuti tumorali si assiste ad una vasocostrizione della rete capillare e ad una ulteriore diminuzione della termodispersione. Di conseguenza le cellule tumorali si riscaldano e non riescono a raffreddarsi.

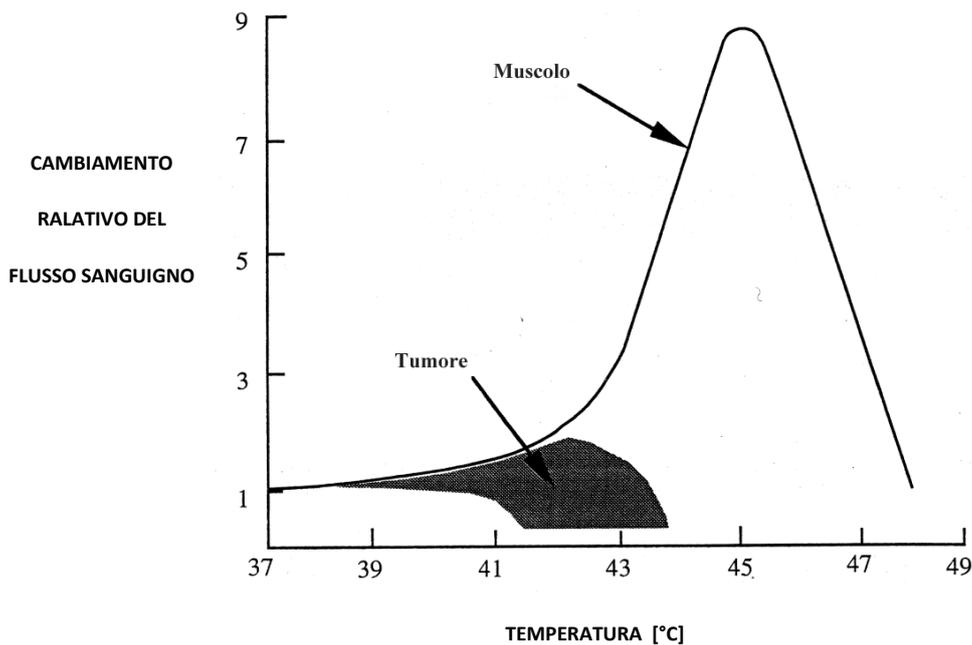


Fig 1.4 Cambiamenti relativi del flusso sanguigno nel tessuto muscolare di topo e in neoplasie animali dopo riscaldamento a varie temperature per 30-40 minuti.

Il differente comportamento dei tessuti sani rispetto ai tessuti neoplastici agevola tecnicamente, nell'ipertermia locoregionale, l'induzione di un sostanzioso incremento di temperatura nelle zone di lesione risparmiando il più possibile le regioni sane adiacenti. La

vasocostrizione indotta dal calore sulle masse neoplastiche conduce inoltre ad una sofferenza ischemica e ad un ristagno dei cataboliti indotti dall'ipertermia stessa. In particolare si assiste ad un discreto abbassamento del pH legato principalmente all'inibizione della glicolisi e conseguentemente all'accumulo di acido lattico. L'abbassamento del pH in seno al tumore si dimostra essere di notevole importanza pratica in quanto colture cellulari termotrattate in diversi ambienti di acidità, dimostrano una termosensibilità quasi inversamente proporzionale al pH.

Clinicamente, l'effetto finale delle alterazioni indotte dall'ipertermia nelle masse tumorali è l'insorgenza di focolai di necrosi in seno ad esse con riduzioni volumetriche (e talora la totale scomparsa) delle neoplasie trattate.

1.5. Chemioterapia e calore.

L'interazione fra calore e farmaci chemioterapici è più complessa, questi ultimi infatti presentano un metabolismo molto complesso che include numerosi passaggi. La loro azione farmacologica è legata all'interazione chimica con i costituenti endogeni cellulari. Tuttavia prima di poter raggiungere e danneggiare il bersaglio, ossia il DNA, nel nucleo cellulare, il farmaco deve attraversare la membrana plasmatica e sopravvivere all'azione detossificante degli agenti intracellulari, ed anche una volta danneggiato il DNA, la cellula può riparare il danno e sopravvivere. Pertanto l'efficacia finale di queste sostanze dipende dal risultato di ciascuno di questi singoli passaggi.

L'ipertermia, inducendo denaturazione proteica nella cellula, può potenziare in ciascun passaggio l'azione tossica del farmaco. In particolare sembra svolgere un ruolo importante nel ridurre il fenomeno della chemioresistenza cellulare. Per alcuni farmaci, come i composti del platino, è stata confermata la capacità del calore di rendere nuovamente sensibili cellule platino-resistenti. Tuttavia non tutti i chemioterapici conosciuti trovano un potenziamento della loro efficacia se utilizzati in ambiente ipertermico.

La comprensione delle interazioni chemioterapia-ipertermia appare quindi difficoltosa. Alcune spiegazioni tengono conto delle possibili modificazioni indotte dal calore sulle strutture delle molecole, con diversa "disponibilità" dei siti molecolari coinvolti nelle reazioni. Altre, prendono in esame fattori biologici, quali l'aumento della permeabilità della membrana cellulare o gli adattamenti metabolici della cellula sottoposta a stress termico, o ancora le variazioni indotte sull'ambiente (dirette o indirette che siano) come l'abbassamento del pH. Infine l'aumento della temperatura, determinando un incremento dell'energia cinetica molecolare media, dovrebbe incrementare la velocità ed il numero delle reazioni chimiche termodinamicamente possibili, potenziando l'efficacia biologica del farmaco.

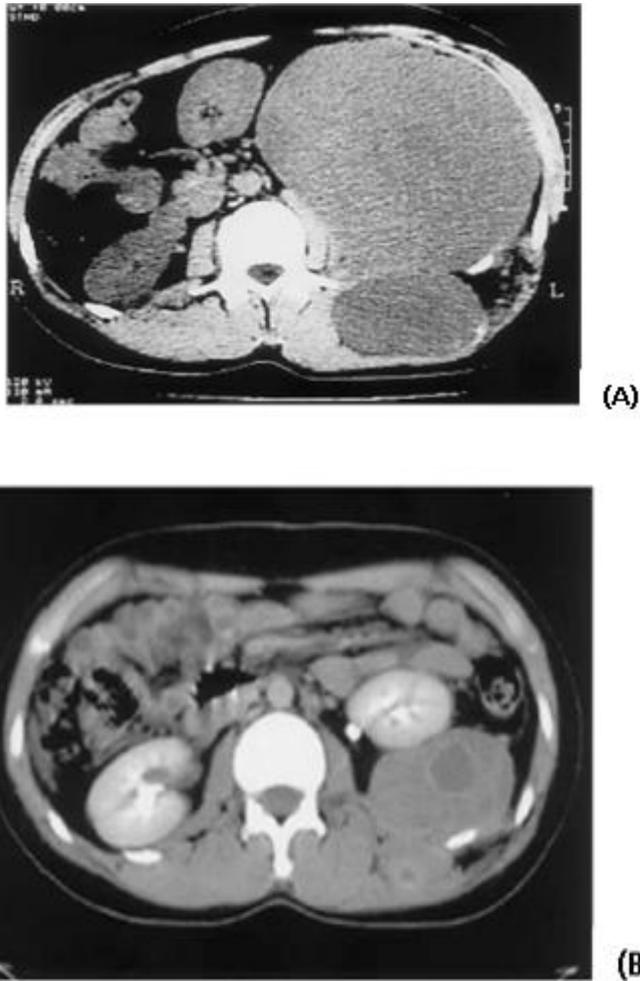


Fig 1.5 A) Immagine TAC di un paziente affetto da un sarcoma retroperitoneale di grandi dimensioni al momento della diagnosi. B) Parziale regressione della neoplasia dopo 7 cicli di trattamento con chemioterapia e ipertermia regionale per 1 ora.

Verosimilmente quindi l'esposizione al calore (42-44°C) aumenta la morte cellulare per effetto citotossico diretto, per chemio-sensibilizzazione e per induzione dell'apoptosi.

Pertanto la combinazione di farmaci antitumorali con ipertermia di tipo regionale è diventata in questi anni una nuova strategia clinica nel trattamento dei sarcomi delle parti molli ad alto rischio di metastasi e mortalità, intendendo con questo termine i sarcomi situati in profondità, di dimensioni superiori ai 5 cm e di alto grado.

1.6 Radioterapia e calore.

L'associazione del calore e delle radiazioni sembra essere una delle più valide metodiche adottate nella terapia oncologica.

Numerose sono le motivazioni per cui l'ipertermia si può considerare come terapia complementare alla radioterapia.

In primo luogo, analizzando gli effetti biologici indotti dall'ipertermia, si rivela come questa agisca prevalentemente nelle regioni meno vascolarizzate (e quindi più ipossiche) della lesione neoplastica. Queste stesse porzioni del territorio neoplastico sono al contrario fra le più radioresistenti (minor "effetto ossigeno").

Una seconda osservazione va fatta a proposito della capacità del calore di potenziare gli effetti delle radiazioni, esso infatti rende le cellule maggiormente radiosensibili. Le cause di questo fenomeno non sono ancora ben note, tuttavia si suppone che l'accumulo di proteine nel nucleo e la vasocostrizione fino quasi al collasso, indotte dall'ipertermia nella massa tumorale disturbino un gran numero di processi cellulari e pongano le cellule in uno stato di carenza nutrizionale tale da inibire i processi riparativi dei danni postirradiazione.

Un altro fattore importante riguarda la diversa sensibilità cellulare al calore e ai raggi durante il ciclo cellulare. Esso è costituito nelle cellule eucarioti da quattro fasi: la *pre-sintesi* (G_1) di durata indefinita e variabile da tessuto a tessuto, la *sintesi* del DNA (S) propriamente detta, la *post-sintesi* (G_2) e la *mitosi* (M). In fase G_1 le cellule si presentano meno termosensibili che in fase S, mentre il comportamento opposto si riscontra per la sensibilità alle radiazioni. Questo effetto, spesso citato come il fondamento biologico per l'uso clinico combinato di chemioterapia ed ipertermia, consente quindi a parità di dose di radiazioni un maggior controllo del tumore. Si riscontra il massimo guadagno terapeutico praticando il trattamento ipertermico circa due ore dopo la seduta radioterapica.

Riassumendo, le regioni tumorali, dove si trovano cellule ipossiche radioresistenti, sono di solito zone poco vascolarizzate, ipossiche, povere di nutrienti ed in ambiente presumibilmente più acido. In tali condizioni, è proprio in queste regioni che l'ipertermia può esplicare al massimo le proprie capacità citotossiche e ritenersi terapia quasi complementare alla radioterapia.

La selezione dei tumori da trattare con ipertermia regionale associata a radioterapia deve essere basata su considerazioni tecniche e cliniche. Dal punto di vista clinico il paziente deve essere affetto da tumore non controllabile con terapie convenzionali; sul piano tecnico il tumore deve possedere requisiti (dimensione e localizzazione) che consentano il suo riscaldamento sino alle temperature necessarie per ottenere effetti terapeutici.

Nei tumori in stadio avanzato che originano dalla vescica, dal collo uterino e dal retto non si ottiene un controllo soddisfacente dopo la sola radioterapia. Per questi pazienti la recidiva loco-regionale corrisponde ad uno stato della malattia non curabile. Una delle ragioni di questo ridotto

controllo è la radioresistenza indotta dalle aree ipossiche e quindi meno radiosensibili presenti in queste neoplasie. Recenti studi hanno dimostrato un miglioramento sul controllo locale e sulla sopravvivenza quando alla radioterapia è stata aggiunta l'ipertermia.

1.7 Classificazione delle tecniche di riscaldamento.

Il riscaldamento dei tessuti *in vivo* è ottenuto prevalentemente tramite l'impiego di ultrasuoni (da 0.3 MHz a 3 MHz) e di campi elettromagnetici oscillanti alle radiofrequenze (da 0.1 MHz a 100 MHz) e alle frequenze delle microonde (da 100 MHz a 2450 MHz).

Nelle applicazioni con ultrasuoni si sfrutta l'azione meccanica delle onde d'urto generate da applicatori esterni. Gli ultrasuoni sono generati da convertitori di energia elettrica in forze meccaniche che inducono oscillazioni in cristalli piezoelettrici. Il trasferimento di calore è dovuto alla conduzione causata dalle interazioni di molecole adiacenti che vibrano e dalle rotazioni delle stesse attorno ad assi preferenziali. Questa tecnica, tuttavia, è penalizzata da una scarsa capacità di penetrazione, specialmente nelle ossa, ed è applicabile solo per piccoli volumi.

Il riscaldamento mediante radiazioni elettromagnetiche a RF è invece considerata una delle metodiche più interessanti in ipertermia oncologica.

Dal punto di vista elettrico l'organismo è formato da un numero enorme di dipoli, con una carica positiva da un lato e negativa dall'altro. La maggior parte di questi dipoli è costituita dalle molecole di acqua, ma possono essere formati anche da amminoacidi. Esposti ad un campo elettromagnetico alternato questi dipoli ruotano alternativamente in direzione opposta, secondo il variare della direzione del campo elettromagnetico. La rapida rotazione dei dipoli provoca attrito molecolare che produce calore.

Quando una parte dell'organismo viene riscaldata con radiofrequenze il calore viene allontanato dal sangue e disperso in altre zone del corpo. Il raffreddamento del tessuto è direttamente dipendente dall'entità del flusso ematico. Più questo è rapido maggiore è il raffreddamento. Il tessuto tumorale, che generalmente ha un flusso ematico molto più lento di quello del tessuto sano, per i meccanismi che abbiamo esposto in precedenza, accumula e concentra il calore della terapia con radiofrequenze, raffreddandosi inoltre molto più lentamente del tessuto sano.

La varietà di dispositivi usati in ipertermia è notevole e rispecchia le differenti modalità di trattamento. La scelta della tecnica più appropriata tiene conto della profondità, accessibilità e posizione del tumore. In base alla "dimensione" della regione interessata dall'aumento di temperatura si parla di ipertermia:

- **interstiziale**
- **endocavitaria**
- **locale**
- **regionale**
- **part body**
- **whole body**

Un'ulteriore classificazione può essere fatta in base alla temperatura di trattamento raggiunta:

- 1- **ipertermia adiuvante:** la massima temperatura raggiunta è di 38-41°C e viene applicata in concomitanza ad altre terapie (chemioterapia). Le tecniche che ricorrono a tale intervallo di temperatura sono quelle part e total body.
- 2- **ipertermia:** si definisce ipertermia vera e propria quando la temperatura è di 43-46°C. In questo caso si ha danneggiamento irreversibile delle cellule senza necrosi dei tessuti con una applicazione di circa 40-60 minuti. Viene applicata con tecniche locali, regionali o interstiziali.
- 3- **ipertermia ablativa:** le temperature sono di 50-100°C. Si ha, in questo caso, la necrosi totale dei tessuti con tempi di applicazione molto minori (qualche minuto). Si usano unicamente tecniche interstiziali.

1.7.1. Ablazione termica.

[19] L'ipertermia ablativa a radiofrequenza prevede l'applicazione di correnti alternate ad alta frequenza che scorrono da un elettrodo interno nel tessuto circostante. L'elettrodo non è la fonte del calore, che, invece, deriva dal movimento degli ioni che continuamente seguono la direzione delle correnti alternate applicate. Le temperature raggiunte sono nel range di 50-100°C. Questo tipo di terapia è usata in pazienti con neoplasie di diametro inferiore a 3-5 cm e prevalentemente per tumori epatici. L'efficacia della termoablazione è elevata nei noduli di piccole dimensioni, ma si riduce drasticamente nel caso di noduli di dimensioni superiori ai 5 cm.

La strumentazione utilizzata comprende un generatore a radiofrequenza di potenza massima intorno ai 200 W e uno o più elettrodi a singolo ago o multiplo ago, aventi diametro di 1.5-2 mm, in acciaio inossidabile. Gli elettrodi sono elettricamente isolati tranne nella parte terminale di 1-3 cm, zona da cui viene emanata la corrente nel tessuto che andrà a chiudersi su un ampio elettrodo di riferimento posto sulla schiena o sulla cavaglia del paziente. Per la differenza di

dimensione tra i due elettrodi, si avrà un'alta densità di corrente e quindi di potenza dissipata in corrispondenza alla punta dell'elettrodo interno. La frequenza di utilizzo è di circa 500 kHz. La durata del trattamento è variabile da 2 a 12 minuti. La risposta del tessuto dipende da diversi fattori, quali le proprietà elettriche e conduttive, la durata e la modalità del trattamento, la localizzazione e la geometria del tumore, la forma della sonda.

L'ablazione termica può essere eseguita in modo *percutaneo*, in modo *laparoscopico* o tramite *operazione chirurgica*.

Nel trattamento *percutaneo* l'elettrodo viene inserito tramite una ago attraverso la pelle controllando l'esatta posizione mediante ecografia; in questo modo il paziente può non essere sottoposto ad anestesia totale e il trattamento risulta non invasivo.

Nella tecnica *laparoscopica* la strumentazione viene introdotta nel sito target operando una piccola incisione; nonostante la maggior invasività, questa metodica risulta vantaggiosa poiché consente maggior accuratezza nella localizzazione e visualizzazione tramite controllo ecografico (US) o radiografico (CT o MR).

Durante l'*operazione chirurgica* viene praticata una incisione profonda nel sito target e il trattamento viene eseguito direttamente. L'alta invasività porta ad un decorso molto più lungo.

L'ablazione termica è applicata con promettenti risultati nella cura delle metastasi epatiche.

1.7.2. Ipertermia interstiziale.

[20] L'ipertermia interstiziale è un tipo di riscaldamento localizzato invasivo realizzato con modalità diverse. Le principali sono:

- elettrodi a RF impiantati nella pelle o nello strato sottocutaneo
- antenne a microonde
- thermoseeds.
- Ipertermia magnetofluida

I vantaggi di questa tecnica sono la realizzazione di un riscaldamento selettivo di tumori localizzati e la possibilità di un uso combinato con la brachiterapia, utilizzando lo stesso impianto. La brachiterapia è una forma di radioterapia in cui piccole capsule contenenti sorgenti radioattive (Palladio 103 o Iodio 125) vengono impiantate nel tessuto bersaglio rilasciando continuamente nei

mesi successivi piccole quantità di energia radiante, con un raggio d'azione inferiore rispetto alla radiazione con sorgenti esterne.

Il limite principale è invece l'elevata invasività della tecnica stessa.

Le tecniche interstiziali si applicano per lesioni di diametro inferiore ai 5 cm localizzate in siti agevoli all'impianto. Le applicazioni principali riguardano carcinoma della prostata, cancro al seno, tumori maligni del cervello.

1.7.2.1. Elettrodi impiantati a RF.

Uno dei più semplici metodi di ipertermia interstiziale prevede l'introduzione di elettrodi ad ago nel tumore che vengono collegati ad un generatore a RF. Attorno alle frequenze di 1 MHz la lunghezza d'onda nel tessuto (300m) è molto più grande delle dimensioni dell'elettrodo utilizzato, di conseguenza il campo elettrico può essere pensato come quello che si riscontra in condizioni di quasi-stazionarietà e, per quanto riguarda il calore, il riscaldamento è di tipo resistivo.

Per garantire un riscaldamento adeguato nell'intero volume bersaglio la distanza fra elettrodi adiacenti non deve essere superiore a 1-1,5 cm. Nel caso di due elettrodi cilindrici paralleli del diametro di 1 mm con densità di carica lineare, uguale ed opposta la distribuzione del campo e le linee equipotenziali sono raffigurate in *fig.1.6* Il campo elettrico raggiunge la sua massima intensità in corrispondenza della superficie degli elettrodi (punti A e B) mentre nei punti C e D il suo valore è notevolmente più piccolo. La distribuzione in figura prevede una distanza tra gli elettrodi di 1 cm. In questo caso l'intensità nei punti C e D è pari all'82% del valore massimo (A e B) e nel punto M è circa il 18%.

Aumentando la distanza tra i due elettrodi la distribuzione del campo e della densità di potenza ($ARD = \sigma E^2 \text{ W/m}^3$) convergono verso perfetta simmetria cilindrica attorno a ciascuno ma si assiste ad una diminuzione di intensità soprattutto nel punto medio M. Per questo motivo, in dipendenza dalla zona da trattare, deve essere considerata la migliore configurazione per focalizzare l'energia nella parte tumorale.

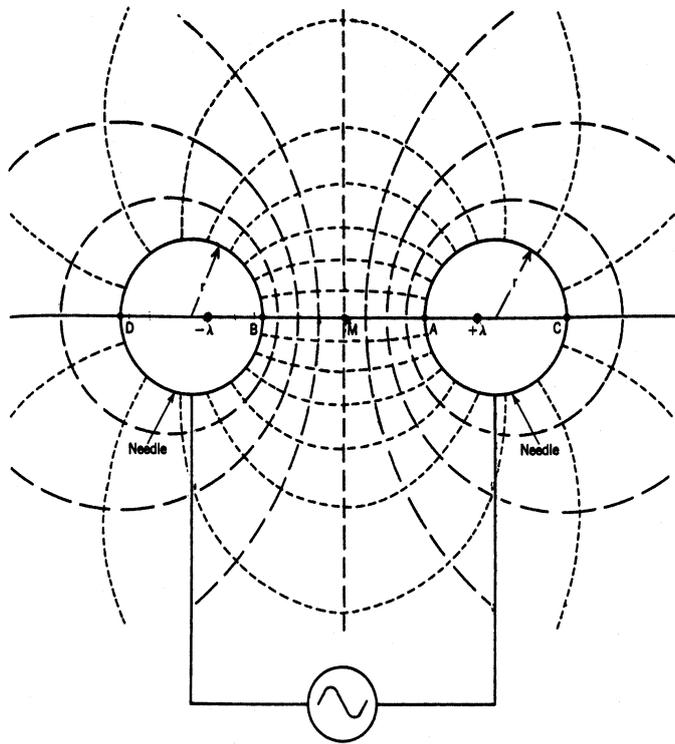


Fig 1.6 Linee equipotenziali e del campo elettrico prodotte da un applicatore a due elettrodi cilindrici.

Per aumentare il volume del tessuto trattato ed ottenere un riscaldamento il più possibile uniforme vengono anche usate configurazioni a più elettrodi disposti in piani paralleli. I tipi di elettrodi e le loro disposizioni sono molteplici e dipendono dal tipo di cancro e dalla sua localizzazione. Ad esempio, per tumori profondi come nel polmone si utilizzano un primo elettrodo realizzato in filo d'acciaio inossidabile posto all'interno del tumore ed un secondo costituito da un foglio di alluminio posizionato all'esterno sul corpo del paziente. Nelle moderne applicazioni gli elettrodi vengono rivestiti da cateteri flessibili di nylon o polietilene che portano anche il vantaggio di rendere la distribuzione delle correnti più uniforme.

1.7.2.2. Antenne a microonde.

Questo tipo di applicatori vengono usati soprattutto quando le zone da trattare (prevalentemente tumori cerebrali) non permettono l'introduzione di sistemi di elettrodi quali quelli visti in precedenza. Le antenne vengono inserite in cateteri di teflon ed impiantate a circa 1-2 cm in relazione al volume da riscaldare. Le dimensioni tipiche sono: lunghezza 7 cm e raggio 1 mm. La frequenza di maggior utilizzo è 915 MHz.

L'estensione del campo terapeutico dipende dalla profondità di inserzione, dalla lunghezza del conduttore interno e dalla frequenza di lavoro. Mediamente il volume riscaldato è di circa 3-4,5 cm in direzione longitudinale e 1-1,5 in quella trasversale ed ha una forma ellissoidale.

Il problema principale relativo all'utilizzo delle antenne è dovuto alle loro grandi dimensioni che in certe situazioni sono superiori al volume del tumore, a spese del tessuto sano.

1.7.2.3. Thermoseeds.

I sistemi a elettrodi impiantati o antenne a microonde prevedono la connessione con un alimentatore esterno. Questo può costituire un problema nel caso di trattamento di zone tumorali profonde, risolvibile con l'utilizzo di thermoseeds: assorbono energia da un campo magnetico indotto esternamente senza necessità di contatti.

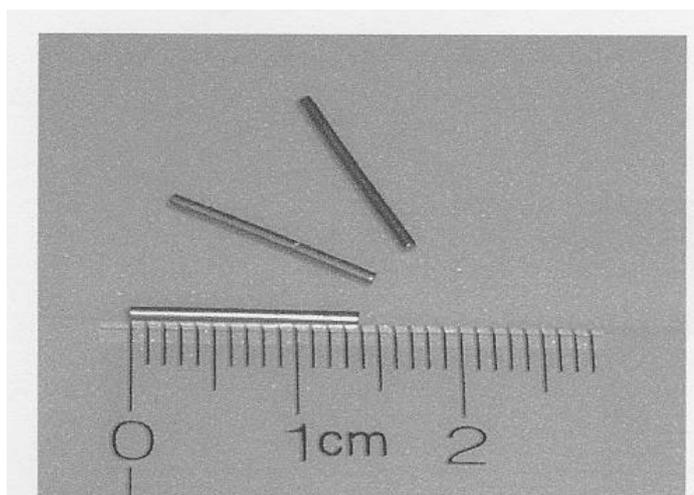


Fig 1.7 Misure di seeds ferromagnetici: diametro di 1 mm, lunghezza 14 mm.

La conduzione termica trasferisce il calore generato attraverso i thermoseeds nel tumore

Per i trattamenti clinici viene impiantato un array di thermoseeds nel volume target e il paziente viene introdotto in un induttore operante a frequenze tipiche di 200-500 KHz o anche inferiori.

1.7.2.4 Ipertermia magnetofluida

L'ipertermia magnetofluida come metodo di cura comporta l'iniezione del fluido contenente nanoparticelle magnetiche direttamente all'interno della massa tumorale. Quando sottoposte ad un campo magnetico alternato di frequenza dell'ordine delle onde radio FM, le nanoparticelle dissipano calore: ne deriva un incremento di temperatura della massa e, in particolare, un danno alle cellule maligne. Il vantaggio di questa tecnica, minimamente invasiva, consiste nella capacità di prevenire i riscaldamenti indesiderati dei tessuti sani poiché solo le nanoparticelle assorbono l'energia fornita dal campo magnetico.

I fluidi magnetici generalmente sono costituiti da *nanoparticelle magnetiche* disperse in una matrice di acqua o di altra natura.

Quando i fluidi magnetici vengono impiegati nel campo delle applicazioni mediche, è necessario rispettare alcuni vincoli al fine di garantire un trattamento ipertermico sicuro.

In particolare, si dovrà fare in modo che

- la matrice del fluido posseda un pH neutro e una salinità fisiologica;
- le nanoparticelle:
 - rimangano uniformemente disperse all'interno del fluido → la loro dimensione dovrà essere piccola al punto da evitare la precipitazione dovuta alle forze gravitazionali;
 - siano di dimensione sufficientemente ridotta
 - se ne facilita la circolazione all'interno dei vasi sanguigni;
 - siano di un materiale magnetico compatibile con l'organismo;
 - abbiano un elevato momento magnetico di saturazione
 - si minimizzano le dosi richieste per l'aumento di temperatura;
 - presentino una densità di potenza specifica elevata (detta SAR [W/kg]);

- il *campo magnetico*:

- abbia valori di ampiezza entro i limiti di sicurezza per l'organismo;
- la frequenza impiegata non sia così elevata al punto da causare un eccessivo riscaldamento diretto del tessuto.

Inoltre dovrà essere

→ superiore a 50 kHz per evitare il problema dell'elettrostimolazione neuromuscolare; e minore di 10 MHz per ottenere un'adeguata profondità di penetrazione del campo a radiofrequenza

1.7.3. Ipertermia endocavitaria.

L'ipertermia endocavitaria si propone di indurre un rialzo termico nelle lesioni che aggrediscono le pareti degli organi cavi, sfruttando gli orifizi naturali di questi ultimi per l'inserimento di opportuni applicatori. Gli organi che maggiormente si prestano a questo intervento terapeutico sono pertanto l'esofago, il colon, la vescica e la vagina.

Il vantaggio rispetto a procedure esterne è soprattutto la migliore distribuzione di potenza attorno al tumore, evitando di esporre il tessuto sano ad un riscaldamento eccessivo.

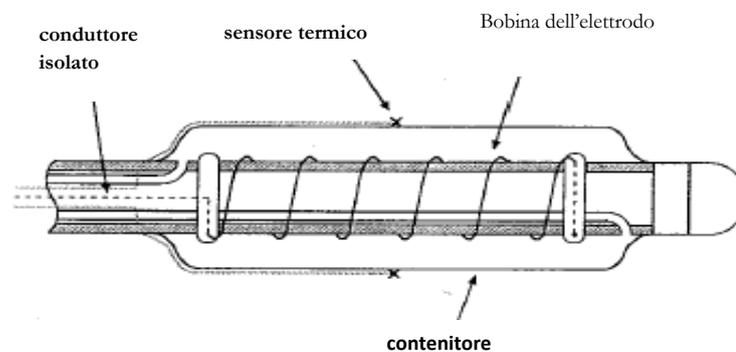


Fig 1.8 Antenna endocavitaria a 13,56 MHz.

Un applicatore endocavitario a RF è formato da un'antenna che viene inserita a contatto col tessuto da trattare e da un ampio elettrodo di riferimento posto all'esterno del corpo (*fig. 1.8*).

L'antenna è collegata ad un generatore RF a 13.56 MHz con una potenza massima di 250 W ed è costituita da un trasmettitore, un sistema di raffreddamento e una serie di microtermocoppie per il controllo della temperatura.

1.7.4. Ipertermia locale.

Le tecniche di ipertermia locale consentono il riscaldamento di tumori superficiali con l'impiego di antenne od altri applicatori elettromagnetici posti sulla superficie esterna del volume bersaglio. L'accoppiamento fra il dispositivo e il tessuto da trattare è generalmente realizzato attraverso un cosiddetto bolus d'acqua o soluzione salina.

I dispositivi più usati comprendono guide d'onde, applicatori di tipo capacitivo o induttivo e microstrip. La profondità di penetrazione dipende dalla frequenza e dalla dimensione del dispositivo, ma generalmente non è superiore ai 3-4 cm. Pertanto risultano indicati per questo tipo di trattamento lesioni a livello della cassa toracica, melanomi superficiali, metastasi ai linfonodi originate da tumori della testa o del collo.

Un tipico sistema di ipertermia localizzata comprende un generatore, un sistema computerizzato di controllo, l'applicatore vero e proprio e la strumentazione per la misura della temperatura (generalmente una microtermocoppia inserita in un catetere), che consente di verificare il raggiungimento del riscaldamento opportuno per il trattamento.

Da un punto di vista fisico gli applicatori impiegati sono antenne che trasmettono energia ad un mezzo resistivo (i tessuti biologici). Il comportamento dei vari applicatori tuttavia si differenzia a seconda della relazione esistente fra le loro dimensioni e la lunghezza d'onda della radiazione elettromagnetica prodotta.

Se il dispositivo ha dimensioni comparabili o superiori a metà della lunghezza d'onda, allora esso si comporta come sorgente radiante e le onde emesse vengono trasmesse e parzialmente riflesse nel mezzo di propagazione, cioè i tessuti.

Quando invece le dimensioni del dispositivo sono molto inferiori alla lunghezza d'onda, l'applicatore non è pensabile come sorgente di onde piane e il campo vicino deve essere calcolato in base ad ulteriori considerazioni. Diversamente dal caso di onde piane, il campo elettrico e magnetico in questa regione non sono infatti ortogonali e il rapporto E/H è diverso da quello nel vuoto e può variare notevolmente da punto a punto. Vicino al dispositivo i campi sono relativamente intensi ma la loro intensità decresce rapidamente con la distanza da esso. Pertanto

può verificarsi un eccessivo riscaldamento dei tessuti superficiali e la capacità di penetrazione sarà inferiore a quella calcolata per le onde piane.

A frequenze inferiori ai 40 MHz, la lunghezza d'onda della radiazione elettromagnetica è molto maggiore delle dimensioni degli applicatori e del tessuto da trattare. In questo caso, quindi, il problema può essere considerato “quasi-stazionario” e la deposizione di energia nei tessuti è determinata in modo predominante dal fenomeno conduttivo. In queste condizioni la diminuzione dell'intensità di campo con la distanza dall'applicatore è nettamente maggiore di quella che si riscontrerebbe con onde piane alla stessa frequenza. Di conseguenza la capacità di penetrazione di questi dispositivi è influenzata maggiormente dalla geometria del sistema piuttosto che dalla frequenza di lavoro. I dispositivi operanti entro queste frequenze sono prevalentemente di tipo capacitivo ed induttivo.

1.7.4.1. Applicatori locali di tipo capacitivo.

Gli applicatori di tipo capacitivo consistono, in generale, in due elettrodi posti sulla superficie esterna del corpo, uno opposto all'altro, in modo tale che il tumore si trovi nella regione compresa.

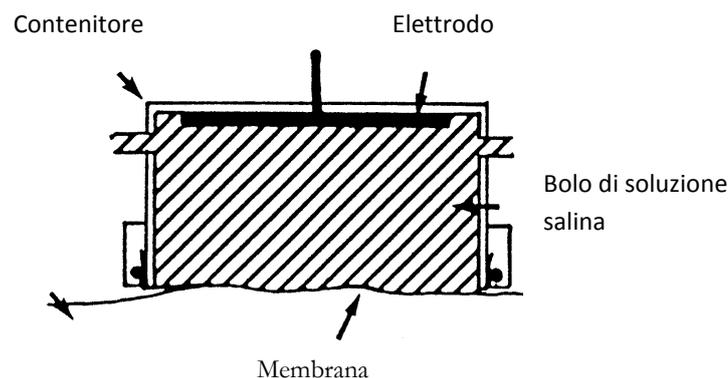


Fig 1.9 Applicatore capacitivo per ipertermia locale

Un tipico accoppiamento capacitivo utilizzato in questi trattamenti consiste in un piccolo elettrodo a cui viene applicato il potenziale e uno “di riferimento” (collegato a massa) molto più

esteso posto sulla schiena del paziente. La dimensione degli elettrodi deve essere più grande di quella del tumore di almeno 3-5 cm in tutte le direzioni e può essere scelta indipendentemente dalle frequenze di utilizzo (valori tipici sono 13.56 MHz e 27.12 MHz); bisogna però osservare che piccoli elettrodi sono utili solo per un trattamento di tipo superficiale.

Valutando la distribuzione del campo elettrico tra due elettrodi di questo genere si osserva che il calore assorbito, proporzionale a E^2 , è molto elevato vicino al primo e decresce rapidamente andando verso l'elettrodo di riferimento. Per questo motivo si è reso necessario l'uso di un bolus, contenente una soluzione salina a temperatura controllata (10-20°C), in corrispondenza alla superficie di contatto dell'elettrodo in grado di limitare l'innalzamento della temperatura superficiale.

1.7.4.2. Guide d'onda e microstrip.

Quando le dimensioni dell'applicatore diventano comparabili con la metà della lunghezza d'onda, esso è modellabile come sorgente radiante.

A frequenze superiori ai 400 MHz le guide d'onda sono generalmente impiegate per trasferire energia ai tessuti. Numerosi dispositivi sono basati su guide d'onda a sezione rettangolare operanti in modulo TE.

La maggior parte di questi dispositivi prevede l'impiego di un bolus interposto fra la guida e il tessuto. Il bolus migliora l'accoppiamento elettromagnetico, evita di esporre i tessuti superficiali ad intensità di campo troppo elevate e riduce le perdite energetiche ad un livello accettabile.

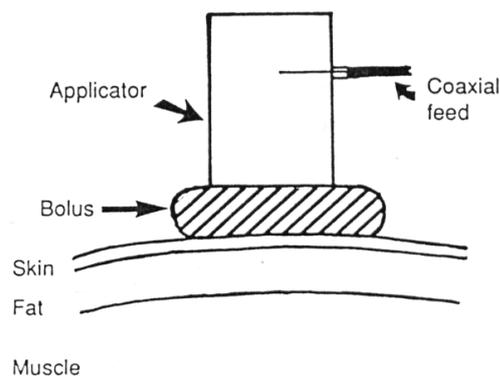


Fig 1.10 Applicatore a guida d'onda con bolus d'accoppiamento.

Sebbene le guide d'onda siano ampiamente utilizzate per il trattamento dei tumori superficiali, talvolta l'ingombro spaziale e il peso eccessivo di questi dispositivi ne limitano l'applicabilità. Per questa ragione sono stati progettati applicatori opportuni di peso ridotto, i microstrip.

Una linea di trasmissione microstrip consiste in un sottile strato di materiale dielettrico di permittività relativa ϵ' (normalmente <10) con una base metallica su un lato e una linea metallica dall'altro. La propagazione avviene ad una lunghezza d'onda $\lambda_m = \lambda_0/\epsilon'^{0.5}$ dove λ_m è la lunghezza d'onda nel vuoto ed ϵ' è l'effettiva permittività relativa calcolata in funzione della permittività del substrato, dell'altezza e della larghezza della linea.

Anche questi applicatori prevedono l'uso di un bolus d'acqua di qualche centimetro.

Vengono anche usati array planari di microstrip (4x4) che permettono un maggior assorbimento di calore nelle regioni target e una migliore distribuzione dello stesso nelle regioni circostanti.

1.7.5. Ipertermia regionale.

Le tecniche di ipertermia regionale sono principalmente utilizzate per il trattamento di tumori profondi della pelvi e del basso addome, quali carcinoma del retto, della cervice uterina, della vescica e della prostata o sarcomi dei tessuti molli.

Le temperature target nel tumore sono di 42-43°C e la durata tipica di un trattamento è 60 minuti.

Le tecniche elettromagnetiche non invasive in uso non sono tuttavia in grado di depositare energia in siti tumorali profondi "selettivamente", cioè senza riscaldare anche i tessuti sani ad essi adiacenti.

Alle alte frequenze (434-915 MHz) un certo controllo spaziale, inteso come capacità di focalizzazione dell'energia, è possibile, ma la profondità di penetrazione è estremamente limitata (1-2 cm), mentre a frequenze più basse ($f < 150$ MHz) esso è compromesso da lunghezze d'onda troppo elevate. Per frequenze intorno ai 100 MHz la lunghezza d'onda in tessuti ad alto contenuto idrico è di circa 27 cm, pertanto al meglio il deposito d'energia può essere focalizzato in una regione del raggio di 14 cm (circa mezza lunghezza d'onda).

Per questa ragione le radiazioni a microonde sono più indicate per il trattamento di lesioni superficiali, mentre quelle a RF sono impiegate per il riscaldamento in profondità. Tuttavia in

quest'ultimo caso, data la consistenze ampiezza della lunghezza d'onda, la regione riscaldata è piuttosto estesa, da cui il termine di ipertermia regionale.

Il principio alla base di queste tecniche è quindi di depositare energia in una certa regione di interesse, contenente il tumore, e di massimizzare il riscaldamento nel tessuto tumorale piuttosto che in quello sano per effetto dei fattori fisiologici che li differenziano, quali il minor flusso sanguigno nei tessuti neoplastici rispetto a quelli sani. Va sottolineato tuttavia che sia l'esperienza clinica sia numerosi studi hanno rivelato che l'idea originale di ipertermia regionale era eccessivamente ottimistica. Sebbene infatti studi e prove sperimentali per testare il deposito di energia in profondità svolte su phantom omogenei fornissero risultati incoraggianti, nella pratica la distribuzione di potenza in mezzi eterogenei (come i tessuti nel corpo umano) non è facilmente prevedibile e controllabile. A tutt'oggi il riscaldamento elettromagnetico non invasivo di tumori profondi rimane un problema complesso.

Le tecniche di ipertermia regionale vengono comunemente classificate in base alla direzione del campo elettrico prodotto.

Una prima classe comprende gli applicatori che inducono un campo elettrico perpendicolare ai tessuti superficiali e all'asse longitudinale del paziente. Questa è la caratteristica dei dispositivi di tipo capacitivo.

In un'altra classe di applicatori il campo elettrico prodotto è parallelo ai tessuti superficiali, ma non allineato con l'asse longitudinale del paziente. Un esempio tipico è un circuito concentrico attorno al corpo del paziente. Al centro della spira tuttavia il deposito di energia è nullo, pertanto questi dispositivi si sono dimostrati inefficaci nei trattamenti di tumori profondi localizzati in prossimità dell'asse centrale del corpo del paziente.

Nella terza ed ultima classe il campo elettrico è parallelo al corpo del paziente ed orientato parallelamente all'asse longitudinale. Numerosi sono gli applicatori di questo tipo, i più diffusi sfruttano array anulari di antenne dipolari o dispositivi TEM ad apertura circolare.

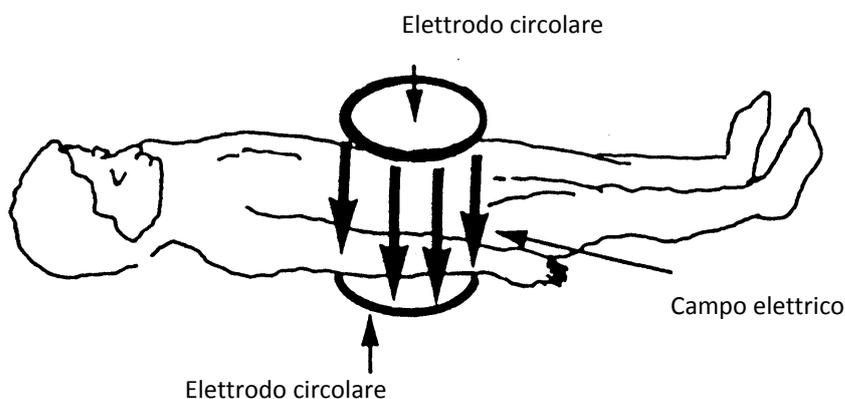


Fig 1.11 Applicatore capacitivo per ipertermia regionale

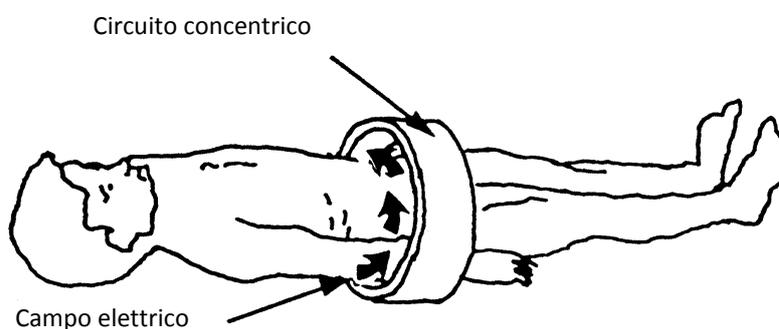


Fig 1.12 Campo elettrico prodotto da un conduttore concentrico

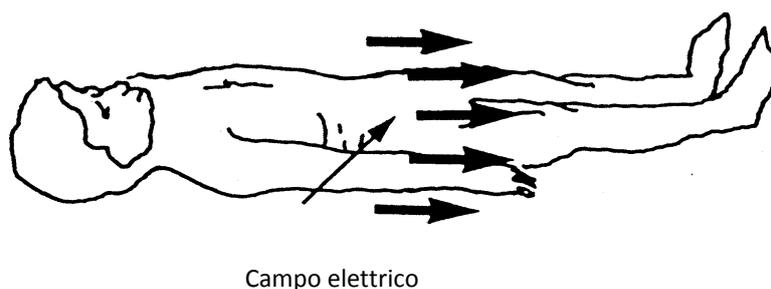


Fig 1.13 Campo elettrico longitudinale

1.7.5.1. Applicatori regionali di tipo capacitivo.

Il riscaldamento profondo tramite tecniche capacitive ha avuto ampia diffusione specialmente in Giappone.

Il sistema Thermotron RF8 è un dispositivo di tipo capacitivo, operante a 8 MHz, nel quale la regione del corpo da trattare è posta fra due elettrodi di ampio diametro (25-30 cm) connessi ad un generatore a radiofrequenza. L'accoppiamento fra dispositivo e tessuti è realizzato da boli contenenti soluzione salina circolante a basse temperature (circa 10°C).

Le cui caratteristiche principali sono:

- il riscaldamento in profondità è strettamente connesso con la geometria del sistema e dipende dalla dimensione e dalla separazione degli elettrodi; nel caso di elettrodi circolari solo se il rapporto d/h fra il diametro degli elettrodi e l'altezza della regione da riscaldare è pari o superiore a 1,5 si assisterà a un deposito di potenza apprezzabile anche nelle regioni più interne

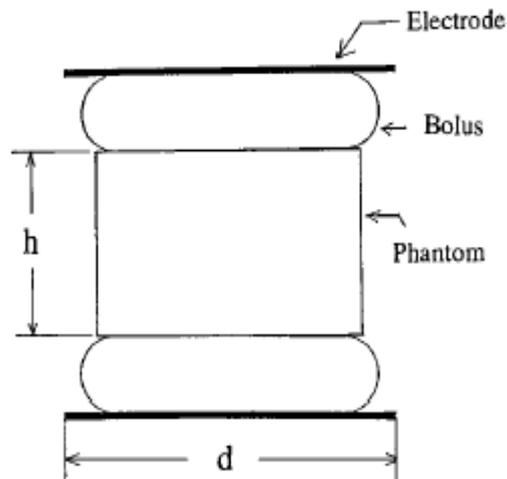


Fig 1.14 Applicatore convenzionale per ipertermia regionale di tipo capacitivo.

- la direzione del campo elettrico prodotto (perpendicolare ai tessuti superficiali e all'asse longitudinale del paziente) è responsabile di un eccessivo deposito di energia nei tessuti adiposi superficiali a bassa permittività, inducendone il surriscaldamento, nonostante l'effetto refrigerante del bolus d'accoppiamento; pertanto questa tecnica è ritenuta inappropriata per pazienti che presentino uno strato di grasso sottocutaneo di spessore superiore ai 1,5-2 cm;
- un'ulteriore svantaggio di questi applicatori è l'impossibilità di modulare la distribuzione del deposito energetico e pertanto di prevenire l'insorgenza di "hot spots" nei tessuti sani;
- la semplicità applicativa e i costi relativamente modesti di queste tecniche ne rappresentano invece i principali vantaggi ed hanno spinto i ricercatori a valutare opportune modifiche del dispositivo standard nel tentativo di superarne i limiti applicativi.

1.7.5.2. Annular array.

Il più diffuso sistema d'ipertermia regionale è l'applicatore BSD 2000 SIGMA 60 composto da quattro coppie di antenne dipolari biconiche disposte attorno al paziente su di una circonferenza di circa 51 cm ed operanti a radiofrequenza (90 MHz).

Il campo elettrico prodotto è cilindrico e polarizzato lungo l'asse longitudinale del paziente. Lo spazio compreso tra la superficie del corpo e l'array di antenne viene occupato da un bolo d'acqua, per migliorare l'accoppiamento elettromagnetico e controllare l'assorbimento superficiale di energia.

La polarizzazione del campo elettrico lungo l'asse longitudinale del corpo consente il deposito di potenza in profondità evitando il surriscaldamento del grasso sottocutaneo, rendendo questa tecnica adatta anche a pazienti obesi .

Inoltre il controllo dei parametri d'alimentazione (fase e ampiezza) delle antenne dell'array consente di modulare, almeno parzialmente, la distribuzione d'energia nella regione riscaldata consentendone la focalizzazione nei siti bersaglio.

Gli annular array di nuova generazione consentono infatti di ottimizzare il trattamento con l'ausilio di un sistema computerizzato di pianificazione (hyperthermia treatment planning system) detto Hyperplan [24],[25]. Questo software consente la ricostruzione di un modello geometrico del corpo del paziente partendo da un set di immagini TAC e tramite simulazione numerica, applicando il metodo delle differenze finite (FDTD) il calcolo e l'ottimizzazione della distribuzione di potenza nel corpo del paziente. Ricorrendo al metodo degli elementi finiti (FEM), per un'ulteriore simulazione, l' Hyperplan ricostruisce infine la distribuzione della temperatura.

Nonostante l'ottimizzazione del trattamento, l'insorgenza di punti caldi nei tessuti sani non è sempre evitabile. Inoltre l'ampiezza della regione riscaldata può indurre un generale innalzamento della temperatura sistemica, generando malessere e tachicardia nel paziente. Per questo motivo questa tecnica viene maggiormente impiegata per applicazioni nel bacino piuttosto che nelle regioni addominali o toraciche. Altri effetti collaterali possono essere neuropatie o mionecrosi.

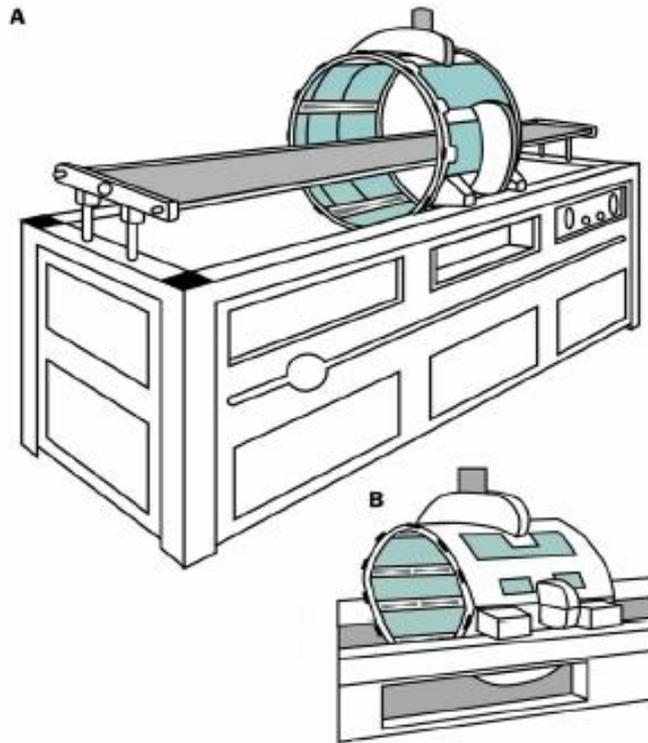


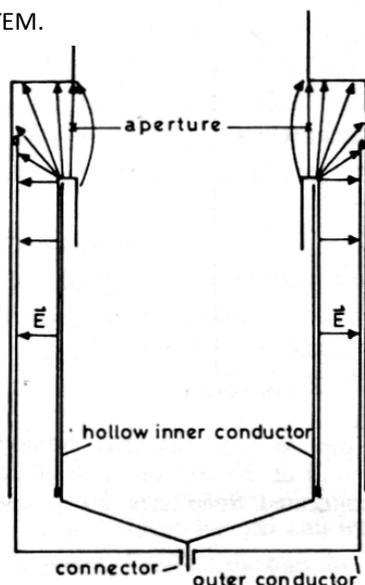
Fig 1.15 A L'applicatore Sigma-60 (quattro coppie di dipoli) e il lettino per il trattamento del sistema di ipertermia regionale BSD-2000. B) Il nuovo applicatore Sigma-Eye (12 coppie di dipoli) installato sulla stessa unità di trattamento mostrata in A).

Studi basati su modelli numerici hanno indicato la possibilità di migliorare il controllo sulla distribuzione di potenza aumentando il numero di antenne o spostando la frequenza di lavoro a 100-150 MHz.

L'applicatore Sigma-Eye (*fig. 1.16 B*) è un esempio dei dispositivi di prossima generazione, commercialmente disponibili; è costituito da 12 canali dipolari e consente di raggiungere temperature superiori di oltre 1°C , rispetto agli applicatori attuali, nel volume bersaglio. Inoltre la disposizione ellittica dei dipoli attorno al paziente rende l'applicatore più confortevole per il paziente.

1.7.5.3. Applicatore coassiale TEM.

Fig. 1.16 L'applicatore coassiale TEM.



L'applicatore coassiale TEM consiste di una linea coassiale aperta ad un estremo, nella quale il conduttore interno è cavo e di diametro interno di circa 50 cm.

All'estremo aperto i conduttori sono fissati in modo da indurre nell'apertura un campo elettrico parallelo all'asse della linea. Il paziente è posizionato dentro un tubo pieno d'acqua installato all'interno del conduttore interno ed è avvolto da un campo elettrico parallelo all'asse del corpo.

L'applicatore può funzionare a frequenze comprese fra i 10 e gli 80 MHz.

L'ampiezza dell'apertura fra il conduttore esterno e quello interno può variare fra gli 8 e i 45 cm. Anche in questo caso la direzione longitudinale del campo consente il riscaldamento in profondità senza surriscaldare i tessuti superficiali. Rispetto all'annular array la capacità di focalizzare la potenza è tuttavia ridotta ed è ottenibile solo variando la posizione del paziente lungo l'asse della linea.

La scelta di porre il paziente in un bagno d'acqua invece di adottare bolus bags tradizionali nasce da alcune esperienze cliniche con prototipi precedenti. L'uso di boli di lunghezza finita comportava infatti l'insorgenza di dolore locale nella parte superiore delle cosce per gli effetti di bordo del campo elettrico alle estremità dei boli. Inoltre l'assenza d'acqua di raffreddamento fra le gambe o la presenza di bolle d'aria fra la pelle e le sacche d'acqua comportavano l'insorgere di hot spots, specialmente nella zona sacrale. Con l'impiego di un "open-bolus" l'acqua circolante attorno al paziente consente un ottimo raffreddamento cutaneo, eliminando la presenza di sacche d'aria ed il peso del bolus. L'ampia area di scambio fra corpo e acqua consente inoltre di controllare la temperatura sistemica modificando quella dell'acqua.

La posizione pseudo-eretta del paziente durante il trattamento può tuttavia comportare affaticamento alle gambe, mentre l'"incapsulamento" del paziente nel tubo del bolo può indurre claustrofobia.

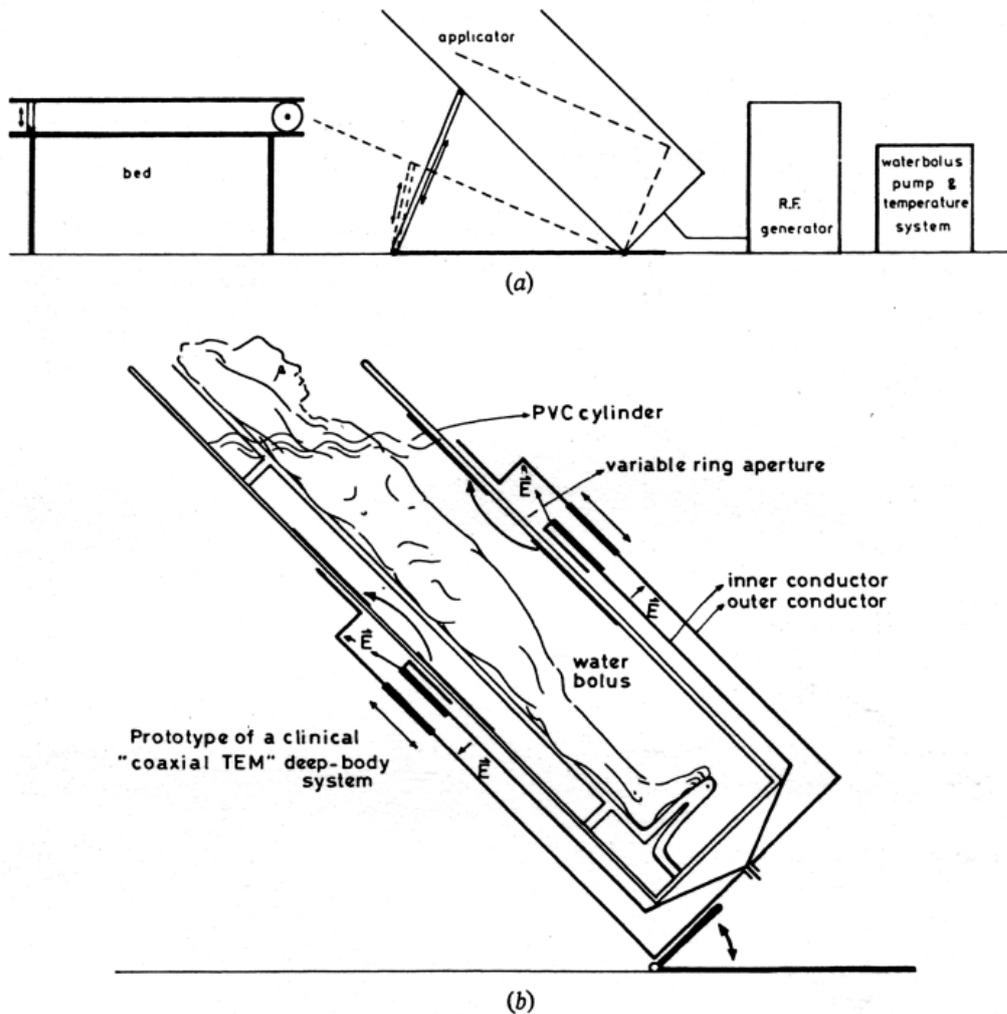


Fig 1.17 (a) Diagramma schematico del sistema per ipertermia regionale profonda coassiale TEM, (b) Sistemazione del paziente in dettaglio.

1.7.6. Ipertermia part body.

[27] Le tecniche d'ipertermia part-body riprendono ed ulteriormente sviluppano il principio dell'ipertermia regionale e sono volte a riscaldare estese regioni anatomiche fino a 41-42°C sotto continuo monitoraggio MR (risonanza magnetica). Per queste applicazioni vengono impiegati applicatori multiantenna analoghi a quelli per ipertermia regionale, ma operanti a potenze più elevate (tipicamente superiori ai 1000W) e progettati per estendere il volume riscaldato ad ampie regioni quali l'intera pelvi o l'intero addome. Ad elevati livelli di potenza il monitoraggio MR (per misurare la temperatura e la perfusione sanguigna) diventa fondamentale per garantire la sicurezza del trattamento.

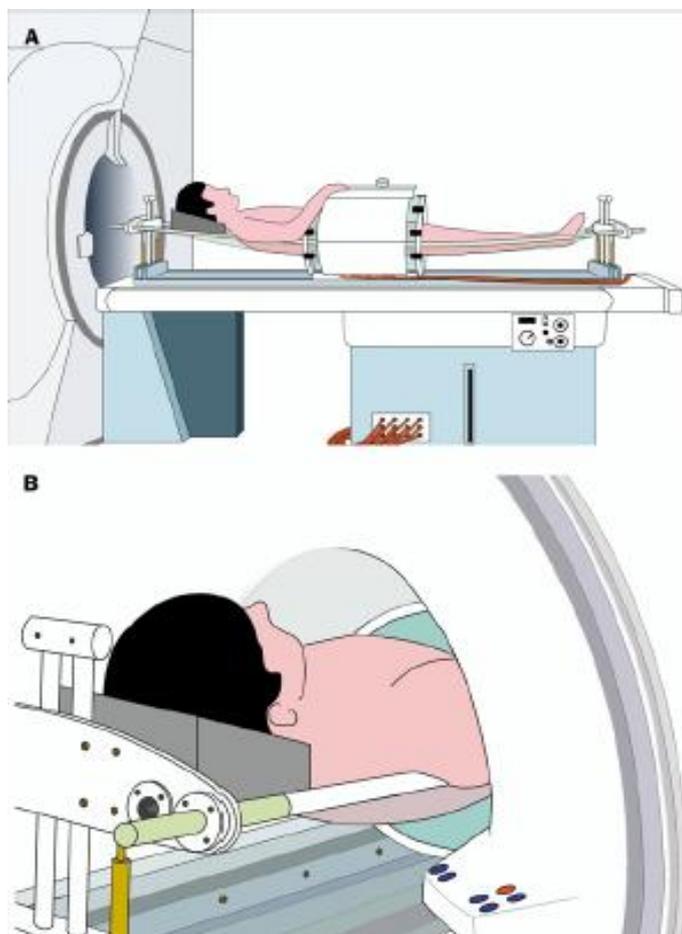


Fig 1.18 A) Sistema ibrido per ipertermia part-body. L'applicatore Sigma-Eye (BSD Medical, Salt Lake City, USA) è posizionato (con il paziente) all'ingresso del tunnel magnetico di un tomografo MR a 1,5 T. L'applicatore ellittico può essere spostato lungo i binari guida anche dopo che il paziente è stato posizionato all'interno del tunnel. B) Visione frontale dell'ingresso del

L'integrazione di un applicatore Sigma-Eye multiantenna nel tunnel magnetico di un tomografo MR a 1,5 T è stata realizzata dal Duke University Medical Center del North Carolina. Questo tipo di applicatori vengono detti *sistemi ibridi*.

Problematiche relative alla termografia tramite MR sono state risolte su phantom, mentre le condizioni *in vivo* (movimenti del paziente, variabilità dei tessuti e della perfusione con la

temperatura) rendono la misura molto più complessa. Tuttavia lo sviluppo di sistemi ibridi rappresenta un mezzo promettente d'indagine termometrica che può condurre a notevoli miglioramenti nel controllo dei trattamenti ipertermici.

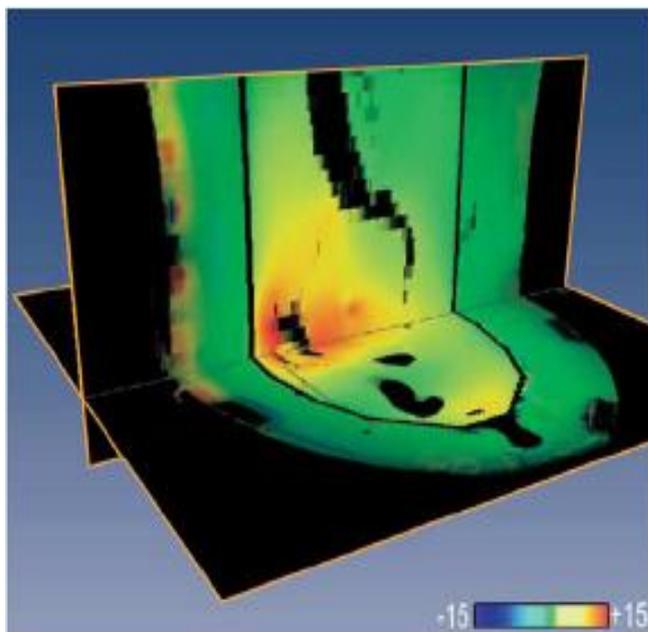


Fig. 1.19 Termografie MR sul piano assiale e sagittale di un phantom cilindrico di 50 cm riempito di agar-gel e comprendente uno scheletro di un materiale a bassa permittività per simulare l'eterogeneità dei tessuti in un paziente reale. Le termografie sono state ottenute con un sistema ibrido per ipertermia part-

1.7.7. Ipertermia whole body.

L'ipertermia whole body prevede il riscaldamento di tutto l'organismo fino a 42°C per 60 minuti (si parla in questo caso di WBTH estrema) oppure solo fino a 39,5-41°C per un tempo più lungo, generalmente 3 ore (WBTH moderata). Si applica nel caso di neoplasie metastatiche diffuse.

Gli applicatori per ipertermia whole body utilizzano radiazioni infrarosso per depositare energia sui tessuti superficiali del corpo del paziente, mantenuto in stato di isolamento termico, fino al raggiungimento della temperatura richiesta. Nel caso di ipertermia whole body di tipo estremo i 42°C sono raggiunti solo mantenendo il paziente in anestesia generale, mentre per la WBTH di tipo moderato sono sufficienti potenti sedativi. In ogni caso il monitoraggio continuo dei parametri vitali e della temperatura corporea sono indispensabili in questo tipo di tecniche.

Attualmente tuttavia la metodica di ipertermia whole body ritenuta più promettente e meglio controllabile è la tecnica perfusionale. Questa tecnica prevede la realizzazione di uno shunt arterovenoso (tipicamente fra arteria e vena femorale) al quale si frappono un circuito di circolazione extracorporea munito di scambiatore di calore, per riscaldare il sangue. La temperatura basale del paziente e del sangue circolante sono continuamente mantenuti sotto monitoraggio e l'eventuale ritorno ipotermico del paziente può effettuarsi facilmente agendo sullo scambiatore di calore.

1.8 Risultati trattamenti

Come si è valutato in molti studi la termoterapia è molto valido come si vede dalla tabella.

Molte tipi di tumore raggiungono risultati di cura molto più elevati si può vedere come il tumore al retto si aumenti di circa cinque volte la possibilità di salvezza rispetto all'assenza della cura ipertermia e anche il tumore all'esofago con un aumento di cura molto rilevante.

Questi studi evidenziano che la cura ipertermia è un ottimo adiuvante alle classiche tecniche di cura per i tumori presentando poche controindicazioni per i pazienti

Fig 1.20 tabella confronto cura ipertermia e senza

Ref nr	Tumour	Treatment	Patients (lesions)	endpoint	Effect with HT	Effect without HT
13, 14	Lymph nodes of head & neck tumours	RT +/- LHT	41 (44)	CR rate 5-yr local control 5-yr survival	83% 69% 53%	41% 24% 0%
15	Melanoma	RT +/- LHT	70 (138)	CR rate 2-yr local control	62% 46%	35% 28%
16	Breast	RT +/- LHT	306	CR rate	59%	41%
17	Glioblastoma multiforme	RT +/- LHT postoperative	68	Median survival 2-yr survival	85 weeks 31%	76 weeks 15%
18	Bladder, cervix and rectum	RT +/- LHT	298	CR rate 3-yr survival	55% 30%	39% 24%
19	Rectum	RT +/- LHT preoperative	115	5-yr survival	36%	7%
20	Cervix	RT +/- LHT	64	CR	55%	31%
21	Various superficial	RT +/- LHT	92	Response	82%	63%
22	Cervix	RT +/- LHT	40	CR	85%	50%
23	Rectum	RT +/- LHT	14	Response	100%	20%
24	Bladder	RT +/- LHT preoperative	102	3-yr survival	94%	67%
25	Oesophagus	RT +/- LHT	125	3-yr survival	42%	24%
26	Rectum	RT +/- LHT preoperative	122	pCR	23%	5%
27	Vulva/vagina	CT +/- LHT	65	Response	59%	19%
28	Bladder	CT +/- RHT preoperative	52	pCR	66%	22%
30	Lung	CT +/- WBHT	44	Response	68%	36%
31	Oesophagus	RT + CT +/- LHT	66	CR	25%	6%
32	Oesophagus	RT + CT +/- LHT preoperative	53	Palliation	70%	8%

evidence from randomized trials showing significant better results following combination of radiotherapy (RT), chemotherapy (CT), or RT plus CT with hyperthermia (HT), compared to the same treatment without HT. LHT=local HT, RHT=regional HT, WBHT=whole body HT. CR=complete response

Capitolo 2

Le nanoparticelle

Le nanoparticelle sono frazioni di materiali inorganici o organici inferiori al micron (diametri compresi 1-400 nm), che hanno alcune proprietà diverse rispetto al materiale intero. Su questa base, le NP magnetiche hanno molte proprietà magnetiche come alta coercitività, bassa temperatura Curie, alta suscettibilità magnetica, ecc, non presente sul materiale grezzo.

Attualmente, le NP magnetiche sono utilizzate in: bioapplicazioni , tra cui la bioseparazione magnetica , l'individuazione delle entità biologiche (cellule, proteine, acidi nucleici, enzimi, batteri, virus, ecc); la diagnosi e terapia clinica (come la MRI (risonanza magnetica) e MFH (ipertermia magnetica)); la somministrazione di medicinali specifici.

2.1 Proprietà magnetiche

I solidi inorganici che mostrano effetti magnetici diversi dal comportamento *diamagnetico*, che è una proprietà di tutte le sostanze, contengono elettroni spaiati. Le proprietà magnetiche sono legate ai moti orbitalici e di spin degli elettroni atomici.

Sono possibili diversi effetti magnetici, illustrati in figura per un ipotetico cristallo monodimensionale.

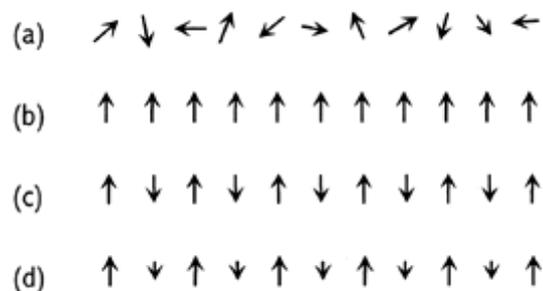


Fig 2.1 diversi effetti magnetici del campo

In particolare si hanno i seguenti casi:

- a) gli elettroni spaiati presentano momenti magnetici orientati in modo casuale sui diversi atomi; il materiale si definisce allora *paramagnetico*. Questo comportamento è tipico di atomi, molecole o complessi isolati e non interagenti;
- b) i momenti interagiscono tra loro dando origine a fenomeni di magnetismo cooperativo. Si nota una situazione di totale allineamento dei momenti con risultante diversa da zero; in questo caso il materiale è detto *ferromagnetico*;
- c) i momenti mostrano un allineamento antiparallelo, con momento magnetico totale nullo: tale comportamento è definito *antiferromagnetico*;
- d) l'allineamento dei momenti è antiparallelo, ma presenta diversa popolazione nelle due orientazioni; il momento magnetico risultante è non nullo e il comportamento è di tipo *ferrimagnetico*.

Per poter caratterizzare un materiale ci si avvale della *suscettibilità magnetica* χ , definita come

$$\chi = \frac{M}{H} \quad (2.1)$$

in cui

M : magnetizzazione (o momento magnetico del campione);

H : campo magnetico a cui il campione è sottoposto;

che fornisce una misura della risposta di un campione ad un campo magnetico applicato. I diversi tipi di comportamento magnetico possono essere distinti in base ai valori di χ e della permeabilità magnetica relativa μ_r , e dalle loro dipendenze dalla temperatura T e dal campo magnetico H , come si osserva in tabella 2.

Tabella 2.1 Suscettibilità magnetiche per i diversi tipi di comportamento

Comportamento	χ tipici	Variazioni di χ all'aumento di T	Dipendenza dal campo H
<i>Diamagnetismo</i>	$-10^{-6} \div -10^{-1}$	Nessuna	No
<i>Paramagnetismo</i>	$10^{-6} \div 10^{-1}$	Diminuisce	No
<i>Ferromagnetismo</i>	$\sim 10^3$	Diminuisce	Si
<i>Antiferromagnetismo</i>	$0 - 10^{-2}$	Aumenta	(Si)

Come si osserva dalla tabella sopra, per sostanze diamagnetiche χ è negativa e di valore molto piccolo. Nel caso di sostanze paramagnetiche invece, χ è piccola ma positiva. Le sostanze paramagnetiche mostreranno quindi un comportamento che tende ad attrarre le linee di campo magnetico, mentre saranno debolmente respinte dalle sostanze diamagnetiche; questo fenomeno è illustrato in figura 2.2.

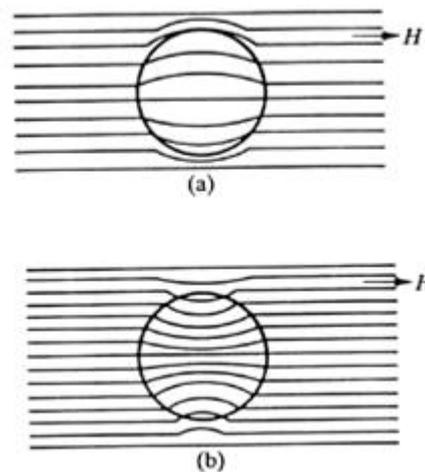


Fig 2.2

Nelle sostanze ferromagnetiche la suscettibilità $\chi \gg 1$ e si nota una forte attrazione dai campi magnetici. Peculiarità di questi materiali è la capacità di conservare per un certo tempo la magnetizzazione indotta da un campo magnetico esterno, anche quando questo venga rimosso. In particolare, l'applicazione di un campo magnetico H induce una magnetizzazione M nel campione.

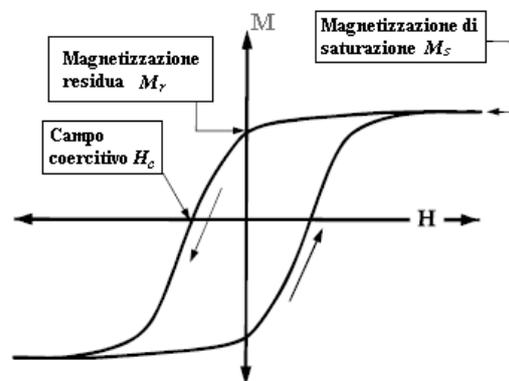


Fig 2.3 Curva d'isteresi per un materiale magnetico

Tale fenomeno può essere rappresentato su un grafico, come quello di figura 2-5, in cui la curva caratteristica evidenziata è detta *curva d'isteresi*.

Nelle sostanze antiferromagnetiche infine, χ è positiva e comparabile o di poco inferiore a quella delle sostanze paramagnetiche.

2.2 Il superparamagnetismo

È stato dimostrato teoricamente che nanoparticelle di dimensione molto piccola presentano un campo coercitivo H_c quasi nullo, a causa delle fluttuazioni termiche a cui sono sottoposte; tale fenomeno infatti impedisce la formazione e la persistenza di una magnetizzazione stabile.

Quando un sistema di nanoparticelle esibisca una curva di magnetizzazione priva di isteresi e quando le curve di magnetizzazione a diverse temperature siano sovrapponibili (in un sistema M vs. H/T) si può affermare di essere in condizioni *superparamagnetiche*. Come si può osservare in figura 2-10, a temperatura ambiente le sostanze superparamagnetiche presentano una suscettibilità magnetica molto più elevata rispetto a quella dei materiali paramagnetici.

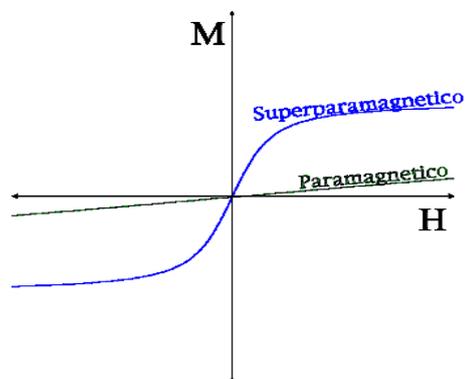


Fig 2.4 Curva d'isteresi per un materiale superparamagnetico e paramagnetico

Nel 1993 Jordan e colleghi introdussero nel campo delle applicazioni mediche le nanoparticelle superparamagnetiche. Queste particelle (si veda figura 2-11) sono caratterizzate da una dimensione principale inferiore ad un certo valore critico, generalmente una ventina di nanometri, e mostrano un comportamento magnetico diverso da quello delle nanoparticelle più grandi.

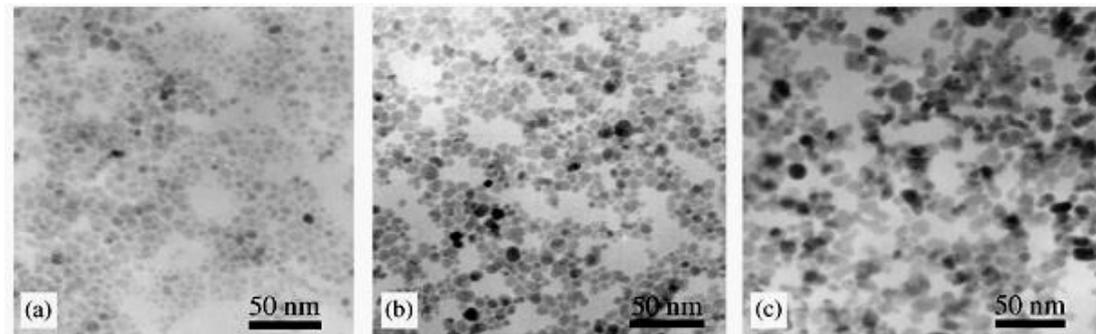


Figura 2.5 Particelle di magnetite di diametro pari a (a) 6 nm, (b) 8 nm, (c) 10 nm, rilevate mediante micrografia TEM.

I momenti magnetici di queste particelle infatti, vengono riorientati in modo casuale dall'energia termica del loro ambiente e non mostrano magnetismo residuo in assenza di campo magnetico. Inoltre, rientrando nella categoria di particelle di TIPO A, tali particelle non sono soggette a interazioni e a meccanismi di aggregazione. Per questi motivi, le nanoparticelle *superparamagnetiche* risultano i candidati ideali per il trattamento ipertermico

2.3 La temperatura di Curie

Tutti i materiali ferromagnetici presentano un determinato valore di temperatura in corrispondenza del quale si osserva che il fenomeno del ferromagnetismo scompare e il materiale diventa *paramagnetico* (figura 2-12).

Questa temperatura è denominata *temperatura di Curie* e si può ricavare dalla seconda legge di Curie, esprimibile come

$$\frac{\chi}{\gamma} = \frac{C_c}{T - T_c} \quad (2.2)$$

dove

T_c : temperatura di Curie [K];

γ : densità del materiale [kg/m³];

C_c : costante di Curie [K].

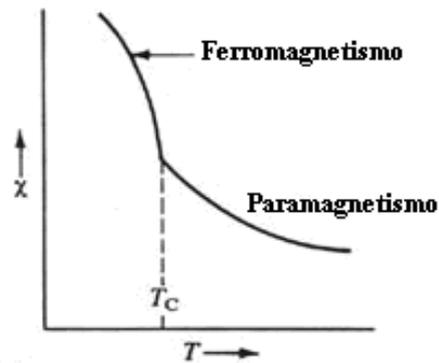


Figura 2.6 Andamento della suscettibilità magnetica al variare della temperatura

Un campione ferromagnetico è quindi in grado di assorbire potenza da un campo magnetico esterno fino a che le dissipazioni di potenza di cui è sede gli facciano raggiungere una temperatura pari a T_C ; in corrispondenza a tale valore il materiale diventa paramagnetico ed insensibile ad una ulteriore azione del campo, non convertendo più l'energia elettromagnetica immagazzinata in calore.

A livello microscopico si può osservare che al di sotto della temperatura di Curie, il ferromagnete è caratterizzato da una struttura ordinata, mentre al di sopra, da una struttura disordinata (tipica dei mezzi paramagnetici). Infine è da sottolineare che quando un materiale magnetico raggiunge la sua temperatura di Curie T_C , la magnetizzazione di saturazione M_s diventa nulla.

2.4 NanoParticelle di ossido di ferro

Le NP di ossido di ferro magnetico sono state maggiormente utilizzate e studiate per le loro proprietà chimiche e fisiche, inoltre l'applicazione di queste NP in diagnostica in vitro è stato praticato per quasi mezzo secolo. Negli ultimi dieci anni, sono aumentate le ricerche su diversi tipi di ossidi di ferro (per lo più con la magnetite Fe_3O_4 , $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}_2\text{O}_4$, ferromagnetico, superparamagnetiche quando la dimensione è inferiore a 15 nm), $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (ematite, debolmente ferromagnetico o antiferromagnetico), $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (maghemite, ferromagnetico), FeO (Wustite, antiferromagnetico), $\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ e $\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$, tra i quali magnetite e maghemite che sono candidati promettenti e popolari poiché la loro biocompatibilità è già stata dimostrata. Le sfide tecnologiche sono quindi sul come controllare le dimensioni, la forma, la stabilità e la capacità di dispersione delle NP in solventi desiderati.

Le NP di ossido di ferro hanno un elevato rapporto superficie volume e quindi possiedono un'elevata energia superficiale, di conseguenza, essi tendono ad aggregarsi in modo da minimizzare l'energia superficiale, inoltre le NP di ossido di ferro non rivestite hanno un'elevata attività chimica, e sono facilmente ossidabili in aria (soprattutto la magnetite), con la conseguente perdita di magnetismo e capacità di dispersione.

Di conseguenza è molto importante valutare strategie per fornire un'adeguata superficie del rivestimento e lo sviluppo di una certa protezione per mantenere la stabilità delle NP. Queste strategie comprendono l'innesto o il rivestimento con molecole organiche, come ad esempio piccole molecole organiche, tensioattivi, polimeri, e biomolecole o il rivestimento con uno strato inorganico, come la silice, o metallo, o sostanza elementare non metallica (un ossido di metallo) o di solfuro di metallo.

2.4.1 Sintesi delle Nanoparticelle di ossido di ferro

I metodi più comuni di sintesi comprendono: la co-precipitazione, la decomposizione termica, la sintesi idrotermica e la microemulsione. Inoltre, le NP possono anche essere preparate con metodi secondari, come la sintesi elettrochimica, le tecniche di pirolisi laser, o con microrganismi (batteri in particolare il Magnetotactic batteria).

Co-precipitazione

Il metodo più tradizionale per ottenere il Fe_3O_4 o $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ è con la co-precipitazione. Questo metodo consiste nel mescolare gli ioni ferrici e ferrosi in un rapporto molare 1:2 in soluzioni altamente basiche a temperatura ambiente o elevata. Le dimensioni e la forma delle NP di ossido di ferro dipendono dal tipo di sale utilizzato (ad esempio, cloruri, solfati, nitrati, perclorati, ecc), dal rapporto di ferro e ioni ferrosi, dalla reazione di temperatura, dal pH, dalla forza ionica del mezzo, ed dai parametri di reazione (ad esempio la velocità di mescolamento, velocità di caduta della soluzione basica). Al fine di evitare la possibile ossidazione in aria, la sintesi di nanoparticelle di Fe_3O_4 deve essere fatto in condizioni anaerobiche.

Con questo metodo si influisce in modo critico sulle proprietà fisiche e chimiche delle particelle di dimensioni nanometriche. In generale, i valori di saturazione magnetica (MS) trovati in materiali nanostrutturati sono di solito più piccoli della corrispondente fase solida, a condizione che non si cambi la configurazione ionica.

Questo metodo genera particelle con un'ampia distribuzione granulometrica, che richiede una selezione secondaria per la dimensione.

Decomposizione termica

Nella sintesi di NP è ampiamente usato il metodo di decomposizione in soluzione organica, la decomposizione di $\text{Fe}(\text{cup})_3$ (cup = N-nitrosophenylhydroxylamine), $\text{Fe}(\text{acac})_3$ (acac =

acetilacetato), o $\text{Fe}(\text{CO})_5$, seguite da un'ossidazione portano a NP monodisperse di alta qualità, che normalmente richiedono temperature relativamente più elevate.

Con NP di magnetite più piccole usate come centro di nucleazione, possono essere sintetizzate NP, monodisperse fino a 20 nm di diametro, in un solvente non polare con il metodo della crescita mediata da germi. Il processo non richiede una procedura di selezione per dimensione è pronto per la produzione di massa.

Le nanoparticelle di Fe_3O_4 così sintetizzate possono essere trasformate facilmente in $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ con una ricottura ad alta temperatura (250 °C) con ossigeno per 2 ore. In generale, la decomposizione diretta di $\text{Fe}(\text{Cup})_3$ come unico precursore possono portare a NP monodisperse di $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, ma anche la decomposizione termica di $\text{Fe}(\text{CO})_5$ e la successiva ossidazione con un reagente chimico può portare alla formazione di NP monodisperse di $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$.

Il metodo della decomposizione termica ha il grande svantaggio che le NP che ne derivano sono in genere disciolte in soli solventi non polari quindi poco utilizzabili in ambito biomedico.

Microemulsione

Una microemulsione è la dispersione di due fasi immiscibili (acqua e olio) che con la presenza di tensioattivi diventa stabile e isotropa, proprio la presenza di tensioattivi provoca alla formazione di un monostato nell'interfaccia tra olio e acqua, con le code idrofobe delle molecole del tensioattivo sciolte nella fase oleosa, e dei gruppi di testa idrofila in quella fase acquosa.

In particolare le microemulsioni di acqua in olio (w/o) sono formate da nanogocce ben definite della fase acquosa, dispersa dal gruppo di molecole del tensioattivo nell'olio. Nelle nanogocce di acqua presenti, sono sciolti i sali di ferro e quindi avviene la precipitazione e la formazione delle nanoparticelle di ossido di ferro, la cui forma e dimensione desiderate sono ottenute in base alle dimensioni delle gocce.

Vidal e Vidal hanno ottenuto particelle di forma sferica, ricoperte con un rivestimento formato da un monostato di oleylamine (o acido oleico che funge sia da tensioattivo nella emulsione che da materiale ricoprente), che mostrano una distribuzione di piccole dimensioni di $3,5 \pm 0,6$ nm, sono ben cristallizzate e hanno un elevato valore di saturazione magnetica, tuttavia, oleylamine agisce solo come agente precipitante e ricoprente ma non evita l'aggregazione delle particelle.

Sintesi idrotermica

La sintesi idrotermica, comprende varie tecnologie di chimica dei fluidi per la cristallizzazione di una sostanza in un contenitore sigillato grazie a una soluzione acquosa a elevata temperatura (Generalmente tra i 130-250 °C) e del vapore ad alta pressione (generalmente tra i 0,3-4 MPa). Questa tecnica è stata utilizzata anche per crescere singole particelle di cristallo con dislocazione libera, e grani formati in questo processo potrebbero avere una cristallinità migliore rispetto a quelli di altri processi.

[Digitare il titolo del documento]

Ci sono due metodi principali per la sintesi di NP con il metodo idrotermico, a seconda che si tratti o meno l'uso di un tensioattivo specifico. Wang et al. hanno riportato un processo idrotermico a una fase per preparare nanopolveri Fe_3O_4 altamente cristalline senza utilizzare i tensioattivi.

Al contrario, Zheng et al. hanno costruito un serie di passi idrotermico per la preparazione si NP di Fe_3O_4 con diametro di ca. 27 nm in presenza di un tensioattivo, il disodiobi(2atilesile)Sulfosuccinate (AOT).

Le NP ottenuta esibiscono un comportamento superparamagnetico a temperatura ambiente, inoltre, il trattamento idrotermico è uno dei migliori metodi per la crescita cristallina di NP di ossido di ferro.

Sintesi “verde”

Vanno notate anche alcune vie di sintesi chimica “verdi” e delle vie di sintesi biologica segnalate ai fini della protezione dell'ambiente. Ad esempio, recentemente Bharde et al. hanno riportato il batterio *Actinobacter* sp. è in grado di sintetizzare maghemite in condizioni aerobiche quando reagisce con i precursori del cloruro ferrico. NP maghemite così ottenute mostrano caratteristiche superparamagnetiche come previsto. Pertanto come la tutela ambientale e la chimica alternativa ecocompatibile i metodi biologici quali la sintesi attraverso batteri sta ottenendo importanti progressi e finanziamenti.

2.4.2 Funzionalizzazione delle superfici con materiale organico

Nella preparazione e conservazione dei ferrofluidi, la stabilità è la cosa più importante. I Composti organici sono spesso impiegati, durante o dopo la preparazione, per passivare la superficie delle NP di ossido di ferro e anche per evitare l'agglomerazione. La struttura delle NP di ossido di ferro funzionalizzate con materiali organici ha due scopi principali: conservare la magnetica di proprietà degli ossidi di ferro e conservare anche le altre proprietà delle molecole organiche. Generalmente, gli ossidi di ferro sono sempre assunti come il nucleo, la struttura delle particelle può essere suddivisa in tre tipi: core-shell, matrix e shell_acore-shell_b. In queste strutture, i nuclei possono essere formati qualsiasi tipo di particelle di ossido di ferro, come la magnetite o maghemite, allo stesso modo, i gusci possono consistere in qualsiasi tipo di materiali compresi quelli biologici

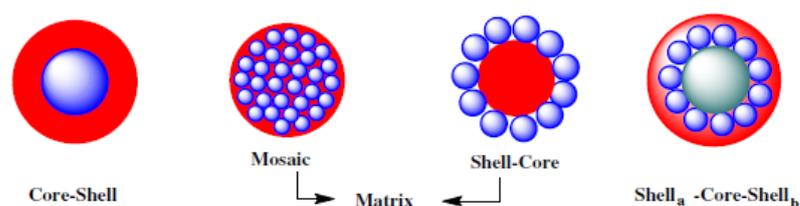


Fig 2.7 tipi di copertura di nano particelle con materiali organici

La forma core-shell è costituita da una nano particella rivestita da uno strato di materiale organico. La struttura Matrix comprende due strutture tipiche: mosaico e shell-core nella prima sono NP diffuse in una matrice organica la seconda struttura è fatta da NP che ricoprono un cuore di materiale organico.

La struttura shell_a-core-shell_b è formata da uno strato fatto di molecole organiche (shell_a) rivestite di un altro guscio di NP ossido di ferro (core) e un secondo strato di molecole organiche (shell_b), queste particelle sono generalmente ottenute con una tecnica di deposizione strato su strato. I due strati possono essere formati con lo stesso materiale o con un materiale diverso con altre proprietà.

IL sistema multi-componente di materiale biologico con NP ossido di ferro ha il vantaggio che può essere adattato in modo da ottenere desiderate proprietà meccaniche, oltre che nuove proprietà elettriche, magnetiche, e ottiche.

Piccole molecole e tensioattivi

Un'adatta funzionalizzazione superficiale e la scelta del solvente sono cruciali per raggiungere sufficienti interazioni repulsive per prevenire agglomerazione in modo da ottenere una soluzione colloidale stabile e ampliare ulteriormente il campo di applicazione. A seconda delle caratteristiche della superficie delle NP funzionalizzate è possibile dividerle in tre tipi: solubili in olio, solubile in acqua, e amfifiliche (solubili sia in acqua che in olio).

Il tipo solubili in olio si riferisce alla superficie delle NP ossido di ferro funzionalizzate in modo da avere una debole attrazione molecolare rispetto al solvente (tipicamente soluzione salina), hanno generalmente un gruppo idrofobo, come l'acido grasso, o fenoli alchilici ($n = 6-10$, lineari o ramificati) che risulta determinante per le proprietà. Al contrario, il tipo solubile in acqua si riferisce alla superficie di NP funzionalizzate con gruppi chimici che hanno una forte attrazione per il solvente, hanno in genere gruppi idrofili, come il sale di ammonio, polioli, licine. Il tipo amfifiliche si riferisce alla superficie del NP ossido di ferro funzionalizzate con componenti sia idrofobe che idrofiliche, il gruppo principale di queste molecole funzionalizzate o tensioattivi mostra un concorso di regioni strutturali idrofobiche e idrofile che portano a essere solubili sia in acqua che in olio.

La funzionalizzazione di tipo olio solubile è impiegata al fine di prevenire o ridurre l'agglomerato di NP di ossido di ferro e aumentare la stabilità, un classico esempio è l'Acido olico può formare un denso monostato di protezione, producendo quindi particelle estremamente uniformi e monodisperse. Tuttavia, rispetto al NP ossido di ferro nude, il diametro medio del NP funzionalizzati aumenterà di un intervallo di 0-5 nm, e la sua magnetizzazione di saturazione (MS) rimane quasi invariata.

Attualmente il principale obiettivo di ricerca però è la sintesi del tipo solubile in acqua per ottenere una buona dispersione in ambiente acquoso, con una compatibilità biologica (buona per proteine, anticorpi, DNA, ecc.), una bassa citotossicità, e una buona biodegradabilità. Le NP ossido di ferro funzionalizzate con gruppi solubili in acqua possono essere ampiamente utilizzate in bioseparazione e bioriconoscimento.

Ci sono vari metodi per produrre NP funzionalizzate con gruppi solubili in acqua, un metodo è quello di innestare questi gruppi idrofilici direttamente sulla superficie, un altro metodo è quello di trasformare le particelle con gruppi di tipo solubile in olio in solubile in acqua. Lo scambio del ligando è un metodo ben noto per modificare le proprietà di superficie delle NP si tratta di aggiungere un eccesso di ligando (sostanza polare che con la quale si vuole funzionalizzare la superficie) nella soluzione di nano particelle, si provoca la dissoluzione dei legami idrofobici della superficie (di solito con il riscaldamento) che lasciando liberi i siti di legame e data la più elevata concentrazione per le molecole polari sciolte nella soluzione la ricopertura della superficie avviene con la sostanza desiderata.

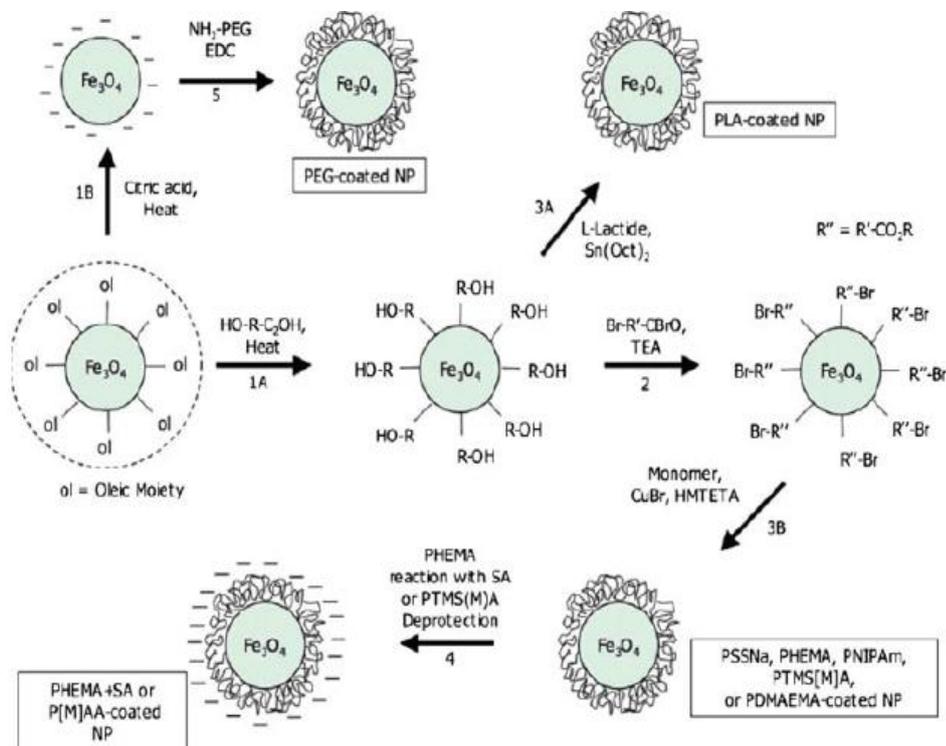


Fig 2.8 schema di una sostituzione di legame

Tuttavia, visto che la reazione di scambio del ligando è un'operazione complicata e vi è una difficoltà di controllo del tasso di scambio, questo porta a problemi che non sono ancora risolti.

Polimeri

Le NP ossido di ferro funzionalizzate con polimeri stanno ricevendo sempre più attenzione, a causa dei vantaggi che porta il rivestimento aumentando le forze repulsive per evitare

L'aggregazione delle NP, inoltre i polimeri sono stati ampiamente studiati per le loro proprietà fisiche e chimiche.

Il materiale di rivestimento polimerico può essere classificato in sintetico o naturali. (La tabella fornisce anche un elenco di materiali sintetici o naturali che vengono utilizzati per la funzionalizzazione delle NP ossido di ferro con i loro vantaggi.)

Tabella 2.2 proprietà dei polimeri ricoprenti

Polymers	Advantages	
Natural Polymers	Dextran	Enables optimum polar interactions with iron oxide surfaces, improves the blood circulation time, stability, and biocompatibility
	Starch	Improves the biocompatibility, good for MRI, and drug target delivery
	Gelatin	Used as a gelling agent, hydrophilic emulsifier, biocompatible
	Chitosan	Non-toxic, alkaline, hydrophilic, widely used as non-viral gene delivery system, biocompatible, and hydrophilic
Synthetic Polymers	Poly(ethyleneglycol) (PEG)	Enhance the hydrophilicity and water-solubility, improves the biocompatibility, blood circulation times
	Poly(vinyl alcohol) (PVA)	Prevents agglomeration, giving rise to monodispersibility
	Poly(lactide acid) (PLA)	Improves the biocompatibility, biodegradability, and low toxicity in human body
	Alginate	Improves the stability and biocompatibility
	Polymethylmethacrylate (PMMA)	Generally used as thermosensitive drug delivery and cell separation
	Polyacrylic acid (PAA)	Improves stability and biocompatibility as well as bioconjugation

Molecole biologiche

Varie molecole biologiche, come proteine, polipeptidi, anticorpi, avidina e biotina, ecc, sono state usate per essere legate, direttamente o indirettamente sulla superficie delle NP di ossido di ferro, per rendere le NP sensibili a un obiettivo specifico (organi, ghiandole, ecc).

La strategia principale per funzionalizzazione di superficie da molecole biologiche comprende due fasi, le prime di sintetizzare le molecole di piccole dimensioni o polimeri ricoprendo la superficie delle NP, e quindi accoppiarle alle biomolecole con legame chimico o fisico per assorbimento.

Tali NP possono essere molto utile per aiutare un efficace separazione di proteine, DNA, cellule, prodotti biochimici, ecc. , inoltre possono essere usate in modo andare a selezionare un organo bersaglio sia per l'immaging che per l'ipertermia.

2.4.4 Funzionalizzazione delle superfici con materiale inorganico

I composti con NP funzionalizzate con materiale inorganico migliorano le proprietà di antiossidazione rispetto all'ossido di ferro non rivestito, ampliando notevolmente la possibilità d'uso con promettenti per applicazione in catalisi, biolabeling, e bioseparation. Il materiali di rivestimento sono in genere silice, metalli, non metalli, ossidi metallici, e solfuri.

Le NP funzionalizzate può essere grossolanamente suddivisi in cinque tipologie: shell-core, mosaico, shell-core, shell_acore -shell_b, e Dumbell.

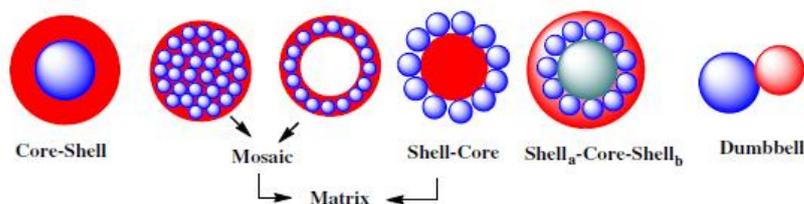


Fig 2.9 tipi di copertura di nano particelle con materiali inorganici

Silice

Silice è il composto più comune per la preparazione di NP funzionalizzate e ha diversi vantaggi:

- questo rivestimento fornisce non solo la stabilità delle NP in soluzione, ma evita anche le interazioni tra le particelle e previene la generazione di agglomerati.
- le NP composite hanno una buona biocompatibilità, idrofilia e la stabilità
- la tecnologia di preparazione per le dimensioni di NP composito è ben nota, e lo spessore del guscio è relativamente facile da controllare.
- Il rivestimento in silicio permette molti legami con altri composti biologici

Un metodo per la preparazione di NP con il guscio di silice uniforme e su misura dello spessore è quello di utilizzare il metodo microemulsione, anche metodo di pirolisi è recentemente sorto come un metodo facile e rapido per ottenere NP, in particolare, sfruttando il sottile gioco tra i parametri che controllano il processo della formazione di NP in aerosol, è possibile ottenere sia un continuo, che rete tridimensionale di particelle (presenti una matrice di struttura) o di una struttura cava.

Non metallo o metallo

Un metodo facile per proteggere NP di ossido di ferro è quello di indurre una ossidazione controllata di un metallo puro sulla superficie o usare un metalloide come guscio (oro, argento, platino, palladio, ferro, carbonio, ecc).

Il controllo dello strato del singolo metallo o del metalloide ha un forte impatto sulla possibilità di applicazione delle NP, in particolare ad ampliare il suo ambito di applicazione per l'ambiente biomedico o come catalizzatore. Per esempio, l'oro è spesso utilizzato per passivare la superficie delle NP di magnetite per evitare l'ossidazione. Va osservato che la funzionalizzazione con l'oro, argento, o carbonio implicano una riduzione del valore di saturazione magnetica (M_s) per le NP ma il risultato una funzionalizzazione di cobalto, platino, rame, palladio può portare a risultati opposti, e questo a seconda della sensibilità magnetica di massa (X) dei materiali utilizzati.

In generale, ci sono due modi per preparare le NP funzionalizzate con metallo, uno è la riduzione diretta degli ioni del metallo sulla superficie delle NP, la seconda è il legare gli ioni metallici su superfici già rivestite con piccole molecole, polimeri o SiO_2 .

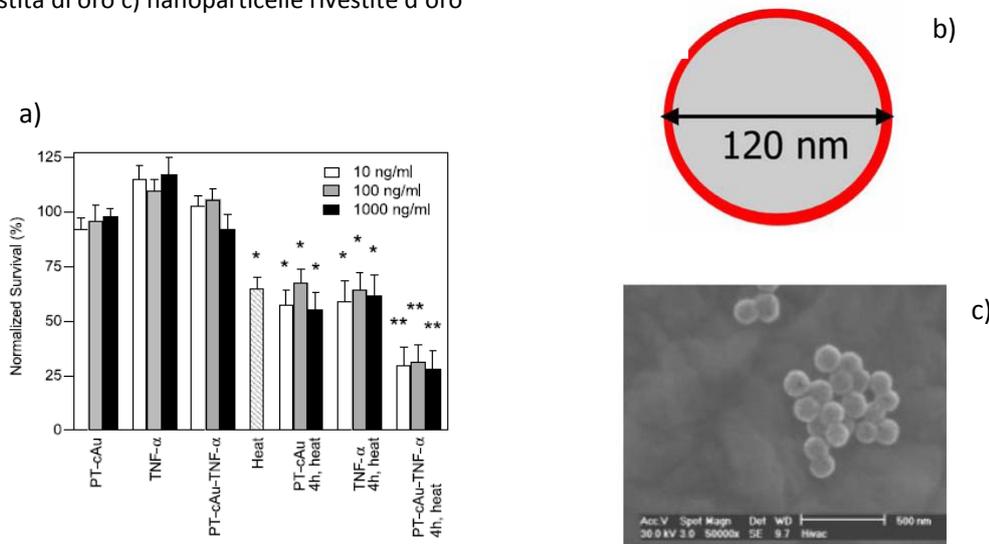
Il materiale che fino ad ora è stato fonte di interesse è l'oro poiché, il rivestimento con tale materiale non fornisce solo la stabilità della NP in soluzione, ma permette anche in al legame di molecole biologiche, che comprendono il gruppo -SH alla superficie delle NP per varie applicazioni biomediche. Un esempio sono le NP rivestite d'oro possono alle quali viene legato il TNF- α (tumor necrosis factor) che migliora in maniera molto efficace la cura tumorale.

Tenendo conto delle prospettive di applicazione, molti studi si sono concentrati anche sullo sviluppo di NP rivestite di carbonio, poiché il guscio di carbonio non solo protegge le NP

dall'essere rapidamente degradate dall'ambiente, ma viene inoltre impedisce agglomerazione delle NP causata dalle forze di Van der Waals, e anche se viene diminuita la saturazione magnetica, le altre proprietà magnetiche rimangono pressoché intatte. Le NP rivestite con carbonio presentano inoltre numerosi vantaggi rispetto agli altri materiali, come più elevata stabilità termica, chimica e una buona biocompatibilità.

NP funzionalizzate con un singolo metallo (specialmente di metallo nobile e soprattutto utilizzando il metodo diretto, cioè riducendo ioni del metallo sulla superficie delle NP ossido di ferro), sono utilizzate anche come catalizzatori, Au/Fe₂O₃ come catalizzatore per l'ossidazione di CO, Au/a-Fe₂O₃ catalizzatore per l'acqua-gas shift reazione, nanoparticelle di Fe₃O₄/Pd catalizzano la reazione di accoppiamento in ambiente acquoso la crosscoupling di acido acrilico con iodobenzene e decarboxylative, ecc

Fig 2.10 a) grafico della possibilità di sopravvivenza di cellule tumorali con vari trattamenti b) schema di una nanoparticella rivestita di oro c) nanoparticelle rivestite d'oro



Ossidi metallici / Solfuri

Ci sono ricerche riguardanti NP funzionalizzate con gli ossidi metallici o solfuri metallici, poiché introducono tre le principali migliorie per le loro proprietà fisica e chimiche uniche:

- Migliora la biocompatibilità e la stabilità chimica, e definisce la disperdibilità e la solubilità in acqua.
- Conferisce all'ossido di ferro nuove proprietà fisico-chimiche, come la proprietà magneto-ottiche, magnetiche, elettriche, magneto-termiche, ecc;
- Fornisce all'ossido di ferro nuove code funzionali per la successiva funzionalizzazione per procedure o le richieste successive, come ad esempio la coniugazione con il DNA, anticorpi, proteine, ecc

Materiali magnetici che rivestono le NP in genere influenzano le proprietà magnetiche, la combinazione di due differenti fasi magnetici porta a una nuova funzionalizzazione di NP, con molte possibili applicazioni.

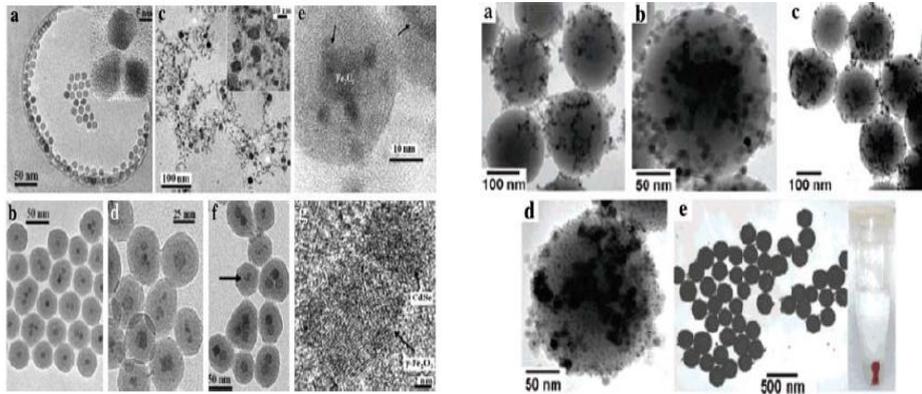


Fig 2.11 nanoparticelle aggregate a cellule

2.5 Nuovi materiali

Durante un trattamento ipertermico con l'uso di particelle di ossido di ferro è stata notata la difficoltà di controllare in maniera precisa la temperatura rischiando di portare il tessuto alla necrosi, questo ha spinto alla ricerca di nuovi materiali che permettano un miglior controllo. La ricerca si è focalizzata su leghe metalliche con una bassa temperatura di Curie (T_c attorno ai 40-50 °C).

Con temperature $T < T_c$ il materiale ha un comportamento ferromagnetico con un'elevate perdite AC, l'aumento della temperatura porta a superare la T_c portando il materiale a diventare paramagnetico con conseguente caduta del SAR e l'autostabilizzazione della temperatura attorno alla T_c .

2.5.1 Manganiti

Materiali con ottime prospettive sono le manganiti con terre rare come ad esempio la $La_{1-x}Ag_xMnO_{3-\delta}$ e il $La_{1-x}Sr_xMnO_{3-\delta}$ che sono stati testati con buoni risultati sia come risultati sulla temperatura e sul calo della suscettività magnetica.

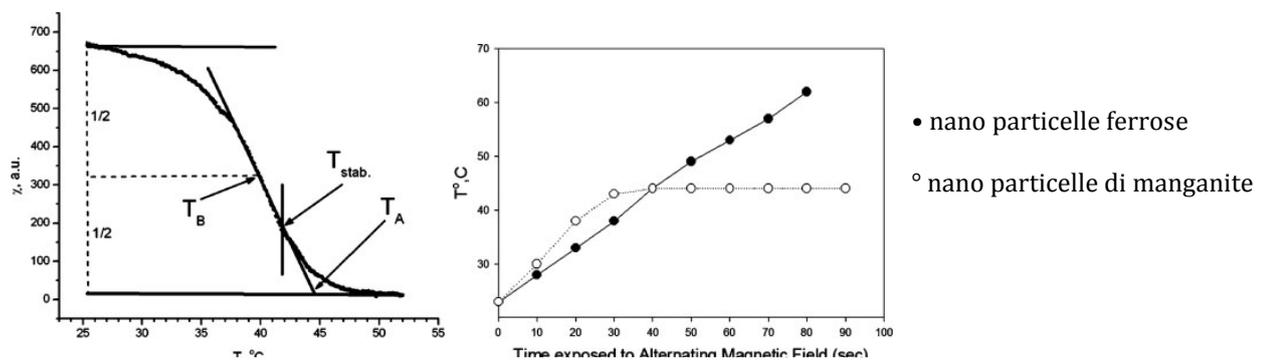


Fig 2.12 a) grafico della suscettività magnetica al variare della temperatura
b) grafico dell'andamento della temperatura del fluido magnetico sottoposto a campo magnetico nel tempo

La formula di queste nanoparticelle deve ancora essere ben definita, infatti i rapporti stechiometrici sono ancora in fase di sperimentazione, ma i risultati migliori sono stati ottenuti con ($x=0.2, y=0.15$ e $\delta=0.05$)

Tabella 2.3
Transition Temperatures Determined from Magnetic Susceptibility Data

Composition	T_{synth} (°C)	T_A (°C)	T_B (°C)	T_{stab} (°C)
$\text{La}_{0.8}\text{MnO}_3$	700	20	19	–
$\text{La}_{0.8}\text{Ag}_{0.05}\text{MnO}_3$	700	37	32	32
$\text{La}_{0.8}\text{Ag}_{0.1}\text{MnO}_3$	700	43	40	42
$\text{La}_{0.8}\text{Ag}_{0.15}\text{MnO}_3$	700	45	41	44
$\text{La}_{0.8}\text{Ag}_{0.2}\text{MnO}_3$	700	47	42	43
$\text{La}_{0.8}\text{Ag}_{0.15}\text{MnO}_3$	800	48	47	47
$\text{La}_{0.8}\text{Ag}_{0.2}\text{MnO}_3$	800	48	47	47

T_A and T_B indicate different estimations of the Curie temperatures.

Va inoltre sottolineato l'ottima biocompatibilità risultata dai test sia in vivo che in vitro poiché la degradazione delle particelle in soluzione acquosa provoca il rilascio di cationi Ag che non sono nocivi per le cellule attorno.

2.5.2 Leghe Rame Nichel

Le leghe di rame e nichel permettono di selezionare in maniera molto specifica l'intervallo della temperatura di Curie (l'ottimo per le applicazioni ipertermiche è con il 71-71.4 % di rame a cui corrisponde una T_c compresa tra i 41-4 °C).

La produzione delle nanoparticelle Cu-Ni è sviluppata e vi sono diversi metodi che comportano una diversa dimensione e dispersione, tecnica che è risultata la migliore è la combinazione di fusione e ball-milling.

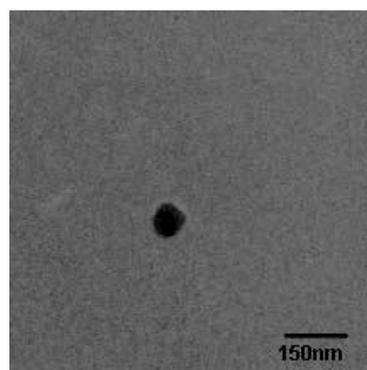
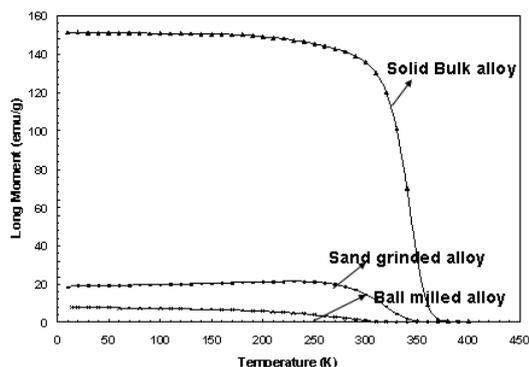


Fig 2.12 a) grafico variazione del momento magnetico al variare della temperatura b) nanoparticella di Ni-Cu

La biocompatibilità di queste nanoparticelle non è ancora stata testata ma leghe di questo tipo sono ancora in fase di sperimentazione ma stanno dando risultati incoraggianti per lo sviluppo.

[Digitare il titolo del documento]

Capitolo 3

Acquisizione immagini

Grazie ai recenti sviluppi delle tecniche di imaging, si è riusciti a ottenere immagini sempre più dettagliate dei vari tessuti del corpo.

La gli studi di risonanza magnetica (MR) stanno subendo un notevole sviluppo, grazie al fatto che questa tecnica non ha effetti collaterali, riuscendo a ottenere immagini paragonabili a altre tecniche come la TAC.

3.1 MRI e MRI-DTI

Il principio di funzionamento si basa sul sottoporre il paziente ad un forte campo magnetico statico. L'intensità del campo magnetico può variare dai decimi di tesla, per piccole macchine dedicate allo studio delle articolazioni, a 3 tesla per le macchine attualmente in commercio per scopi diagnostici. Alcune macchine per la risonanza magnetica funzionale attualmente in commercio raggiungono campi di 7 T, mentre nell'ambito sperimentale sono in sviluppo dispositivi da 8 e 9 T.

Nel campo magnetico statico, gli spin dei protoni all'interno dei tessuti tendono ad allinearsi alle linee di forza (in modo parallelo o antiparallelo); poiché gli spin allineati in senso parallelo sono in numero superiore, i tessuti vengono a possedere una leggera magnetizzazione totale. Questo allineamento non è mai totale, ma piuttosto gli spin dei vari protoni incominciano a mostrare una precessione attorno alla direzione del campo magnetico.

Questa precessione mostra una frequenza tipica detta frequenza di Larmor che si trova nell'ordine dei MHz e quindi nel campo della radiofrequenza (per un campo di 1 T, la frequenza è di 42 MHz per l'atomo di idrogeno); se allora sul paziente viene applicato un campo magnetico rotante a questa esatta frequenza e di energia sufficiente, è possibile ruotare la magnetizzazione dei protoni di un angolo arbitrario (detto *flip angle*) che dipende dal tipo di immagini che si desidera ottenere.

Il fornire questa energia alla stessa frequenza di precessione è il fenomeno che dà il nome "risonanza" al metodo; si tratta dello stesso principio per cui fornendo la spinta al momento giusto, si può aumentare l'ampiezza delle oscillazioni di un'altalena, seppur applicato a livello atomico.

Dopo l'impulso, man mano gli spin dei protoni tenderanno a tornare al loro stato iniziale di allineamento lungo il campo (fenomeno di rilassamento); tramite una bobina ricevente viene misurato l'andamento della magnetizzazione nel piano perpendicolare al campo magnetico principale (*Free Induction Decay*, o *FID*). Tale rilassamento avviene con due costanti di tempo

[Digitare il titolo del documento]

distinte: la prima, indicata con T_1 , indica la rapidità con cui si ricostruisce la magnetizzazione diretta lungo la direzione del campo principale, e dipende dall'interazione tra protoni e le molecole circostanti (*rilassamento spin-reticolo*), la seconda, indicata con T_2 , indica la rapidità con cui si distrugge la componente di magnetizzazione trasversale in condizioni ideali, e dipende dall'interazione mutua di protoni vicini (*rilassamento spin-spin*). In situazioni reali, la componente trasversa viene distrutta a causa della perdita di coerenza di fase tra i vari protoni del campione osservato, con un tempo chiamato $T_2^* < T_2$.

Essendo espressione di proprietà fisiche diverse, queste costanti sono in generale indipendenti l'una dall'altra, e funzioni dell'intensità del campo magnetico.

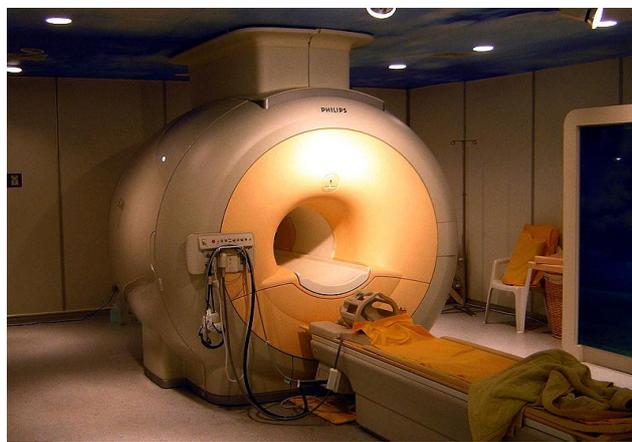


Fig 3.1 Macchina per risonanza magnetica

Le immagini di risonanza magnetica hanno normalmente dimensioni da 256x256 pixel (immagini cardiache) a 1024x1024 pixel (immagini cerebrali ad alta risoluzione) per una profondità di 16 bit/pixel. Questo comporta una risoluzione spaziale intrinseca piuttosto bassa (particolari di 1 mm sono praticamente al limite della visibilità), ma l'importanza di questo esame sta nel fatto di poter discriminare, per esempio, tra un tessuto del fegato ed uno della milza (che rispetto ai raggi X presentano la stessa trasparenza), oppure i tessuti sani dalle lesioni. I tempi di scansione sono molto più lunghi rispetto alle altre tecniche radiologiche (un esame completo di risonanza magnetica dura dai 30 minuti all'ora), e la risoluzione temporale è generalmente piuttosto bassa (qualche immagine al secondo per le risoluzioni spaziali inferiori).

Una caratteristica fondamentale della risonanza è la possibilità di variare la tipologia di contrasto dell'immagine semplicemente modificando la sequenza di eccitazione che la macchina esegue. Ad esempio è possibile evidenziare oppure sopprimere il segnale dovuto al sangue, oppure ottenere informazioni di carattere funzionale invece che semplicemente morfologico.

Le indagini di risonanza magnetica sono indicate rispetto alla TC quando non c'è necessità di avere un'altissima risoluzione spaziale, in quanto non comporta l'assorbimento di radiazioni da parte del

paziente. Inoltre risulta più utile in caso di lesioni localizzate in tessuti vicini a strutture ossee, che potrebbero non essere rilevabili attraverso i raggi X.

La generazione di immagini avviene attraverso la ripetuta acquisizione di segnali provenienti dal corpo, e attraverso l'opportuna modulazione delle bobine di gradiente. Facendo in modo che ogni voxel dell'immagine abbia una frequenza e/o una fase diversa rispetto a tutti gli altri, si riescono a separare i segnali provenienti da una singola porzione.

L'imaging avviene attraverso tre processi separati:

1. la selezione di una "fetta" (slice);
2. la codifica in frequenza;
3. la codifica di fase.

3.1.2 Selezione della "fetta" (slice)

L'applicazione di un gradiente lungo una direzione, fa sì che la frequenza di Larmor degli atomi vari linearmente lungo quella direzione. Come conseguenza, il corpo all'interno del magnete viene suddiviso in piani isofrequenziali paralleli. Un impulso radio ad una specifica frequenza (*monocromatico*) applicato *mentre il gradiente è attivo*, ecciterà un solo piano, lasciando in condizione di equilibrio tutti gli altri.

3.1.3 Sequenze di base

Diversi tipi di sequenze portano ad immagini che evidenziano caratteristiche diverse dei tessuti; in particolare due sequenze classiche servono ad individuare rispettivamente il T_1 ed il T_2 . Entrambe si basano sull'applicazione di due impulsi a radiofrequenza in grado di far ruotare il vettore magnetizzazione nello spazio di 90° e 180° , ma i due impulsi vengono emessi in ordine inverso nelle due sequenze. Esse prendono il nome di *inversion recovery* e di *spin echo*. L'applicazione di un solo impulso capace di ruotare la magnetizzazione di 90° produce una sequenza di nome *Free Induction Decay (FID)*.

3.1.4 Free Induction Decay (FID) - Saturation Recovery

In questa sequenza viene applicato un solo impulso in grado di ruotare il vettore magnetizzazione di 90° (*impulso a 90°*), portando tutta la magnetizzazione presente sull'asse parallelo al campo principale, sul piano trasverso. La precessione di questo vettore produce un segnale oscillante monocromatico alla frequenza di Larmor, che si attenua secondo una legge esponenziale con costante di tempo T_2^* , chiamato segnale di Free Induction Decay o semplicemente FID:

$$M(t) = M_0 \cos(2\pi\nu_L t) e^{-t/T_2^*} \quad (3.1)$$

dove M_0 è la magnetizzazione presente sull'asse longitudinale al momento dell'impulso a 90° , ν_L è la frequenza di Larmor e t il tempo trascorso. Se il sistema era in condizioni di equilibrio al momento

dell'impulso, allora M_0 dipende solo dalla densità degli spin (densità protonica), se la sequenza viene ripetuta in maniera rapida (TR nell'ordine di T_1), il sistema non ha il tempo di tornare allo stato di equilibrio, e quindi la magnetizzazione iniziale sarà quella che si è riuscita a ripristinare nel tempo TR, e quindi dipendente da T_1 . Per questo motivo, sequenze con TR molto piccoli sono in generale definite T_1 -pesate.

3.1.5 Inversion Recovery

In questa sequenza vengono applicati due impulsi a radiofrequenza per ogni ripetizione (più gli impulsi di gradiente per ottenere l'immagine come visto poco sopra), il primo a 180° , ed il secondo, dopo un tempo T_1 , a 90° .

Il primo impulso non produce nessun segnale, in quanto la magnetizzazione cambia di verso ma si mantiene parallela al campo magnetico principale; tuttavia, essa tenderà a riacquistare il verso originario secondo una legge esponenziale data dalla seguente formula:

$$M(t) = M_0(1 - 2e^{-t/T_1}) \quad (3.2)$$

All'istante T_1 , la magnetizzazione lungo la direzione parallela all'asse principale viene ruotata fino a portarsi nel piano trasverso, in cui inizierà il moto di precessione.

Questo moto, genera un segnale di intensità proporzionale al modulo del vettore magnetizzazione, e quindi proporzionale a $|1 - 2e^{-T_1/T_1}|$

Come si osserva, dal momento che T_1 è un parametro scelto dall'operatore, l'intensità del segnale dipende dal parametro fisico T_1 e dal vettore magnetizzazione iniziale M_0 , proporzionale alla densità protonica. Se si vuole ottenere una misura esatta di questi parametri, sono necessarie più scansioni con diversi T_1 seguiti da un'operazione di regressione nonlineare.

Lo scopo principale delle sequenze Inversion Recovery è la soppressione del segnale del tessuto adiposo (*fat suppression*) oppure del sangue (*black blood*), in quanto scegliendo un T_1 pari a $T_1 \ln(2)$, il segnale proveniente dal tessuto corrispondente al T_1 scelto viene annullato. Per ottenere una valida soppressione del grasso il valore tipico nelle apparecchiature da 1.5 T (attualmente le più diffuse) è di circa 150-170 msec.

3.1.6 Spin Echo

Anche in questo caso vengono usati due impulsi RF a 90° e 180° , ma stavolta vengono applicati in ordine inverso rispetto alla sequenza di *inversion recovery*. Il primo segnale a 90° ruota tutta la magnetizzazione nel piano trasverso rispetto al campo magnetico applicato, e produce un segnale FID che tende a zero con la costante di tempo T_2^* . Applicando dopo un certo intervallo di tempo $T_E/2$ un impulso a 180° , il verso in cui gli spin precedono cambia. Siccome ogni spin si trova immerso nello stesso campo magnetico precedente, esso "tornerà indietro" con la stessa velocità di prima, causando un "riavvolgimento" delle fasi ed una riacquisizione della coerenza da parte del

segnale. Al tempo T_E gli spin saranno tutti di nuovo in fase, e si produrrà un'eco, la cui ampiezza massima sarà inferiore all'ampiezza del FID registrato precedentemente, in quanto nel frattempo gli spin avranno ricevuto un certo decadimento T_2 . In pratica, il modulo del vettore magnetizzazione trasversa al tempo T_E sarà pari a:

$$M(T_E) = M_0 e^{-T_E/T_2} \quad (3.3)$$

producendo quindi un'eco di ampiezza proporzionale a tale valore. In maniera simile al caso precedente, i parametri fisici da cui dipende l'ampiezza di questo segnale sono il tempo di rilassamento T_2 e la densità protonica.

Segnali RF trasmessi

90°

180°

(Inviluppo)

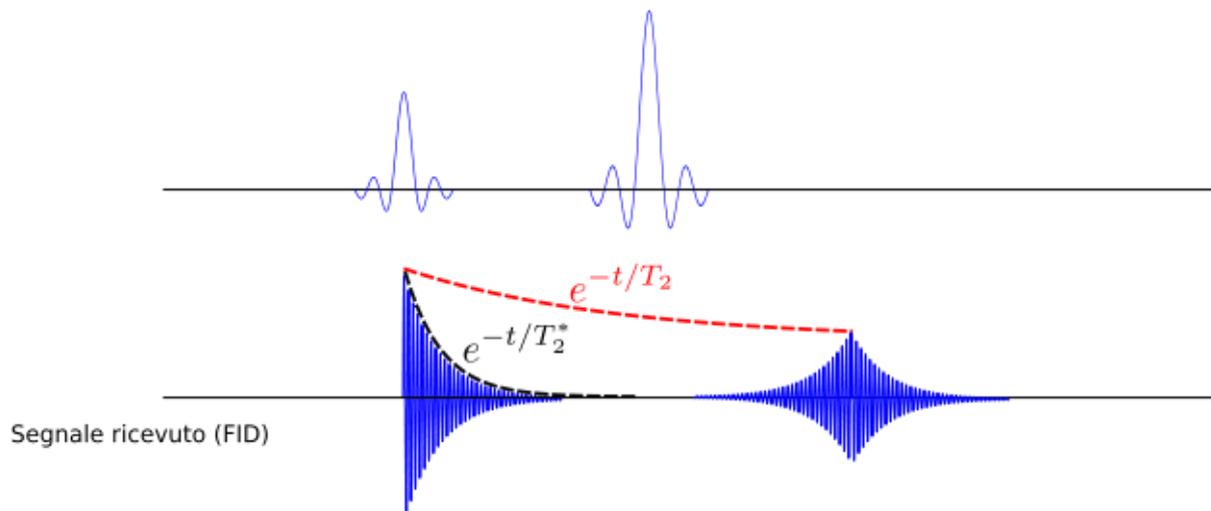


Fig 3.2 Sequenza spin echo

3.1.7 Modalità di imaging

A differenza di altre tecniche di imaging, che permettono la raccolta di informazioni su una sola grandezza fisica (attenuazione ai raggi X nelle tecniche radiografiche, concentrazione di tracciante nelle tecniche di medicina nucleare ecc.), l'imaging a risonanza magnetica produce immagini che rispecchiano differenti proprietà fisiche, a seconda del tipo di sequenza utilizzata. Immagini di differenti grandezze fisiche vengono dette avere differente *contrasto*.

Contrasti "classici"

Le modalità di imaging più comuni e storicamente precedenti rispetto alle altre sono quattro:

[Digitare il titolo del documento]

- densità protonica;
- pesata T_1 ;
- pesata T_2 ;
- pesata T_2^* .

Per avere una analisi morfologica completa della regione oggetto di indagine, almeno due di questi contrasti (ad esempio T_1 e T_2) vengono acquisiti. Agenti di contrasto paramagnetici come il gadolinio hanno la proprietà di ridurre notevolmente il T_1 dei tessuti con cui vengono a contatto, di conseguenza immagini con questo contrasto possono efficacemente mettere in risalto le zone raggiunte dall'agente. Questo è utile, ad esempio, per l'ottenimento di angiogrammi, e per la visualizzazione di emorragie.

Il contrasto T_2 identifica particolarmente bene siero, acqua e liquido cefalorachidiano, e viene utilizzato per valutare se ci sono edemi associati a particolari lesioni.

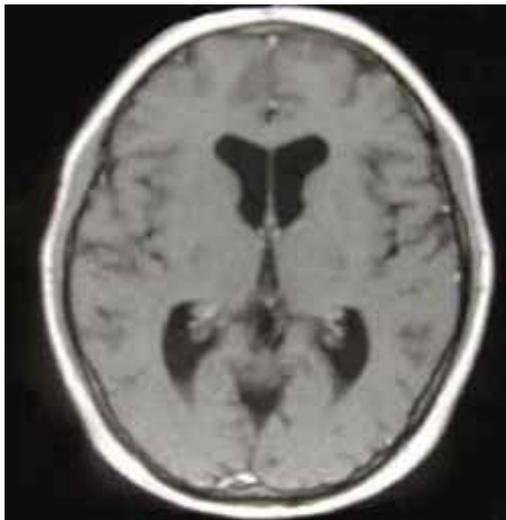


Fig 3.3 a) Immagine pesata in T_1

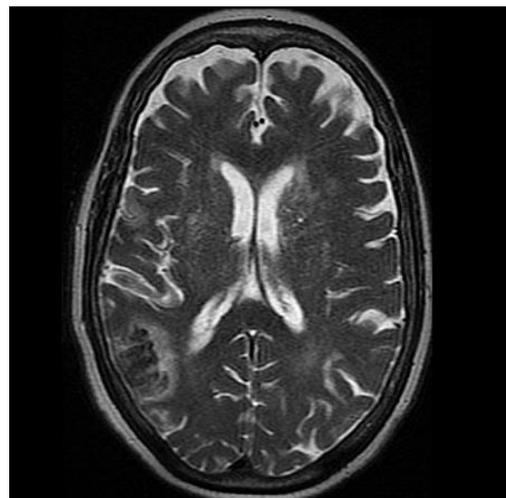


Fig 3.3 b) Immagine pesata in T_2

Capitolo 4

Programma di ricostruzione

Negli ultimi anni sono stati sviluppati molti modelli numerici per la simulazione del riscaldamento elettromagnetico. A pari passo con questi modelli numerici sono stati sviluppati metodi di ricostruzione delle zone anatomiche da analizzare. I metodi 3D danno la possibilità di ottenere risultati di simulazioni molto attendibili, indispensabili attualmente per il treatment-planning per i metodi ipertermici.

In questo lavoro si è realizzata una procedura ad hoc per la ricostruzione dei volumi partendo da immagini prelevate da pazienti.

Il programma di ricostruzione sviluppato per questo è basato sul software Matlab, l'applicazione sfrutta il pacchetto di ricostruzione 3D legato al programma Comsol.

La ricostruzione del volume avviene attraverso più passi:

4.1 Acquisizione delle immagini

Le immagini ottenute dai macchinari sia TAC che MR, sono generalmente esportate come formato DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine).

In Matlab esiste la funzione *dicomread* che acquisisce le immagini, e crea la matrice corrispondente ai voxel della parte anatomica scansionata con valori che dipendono dalle impostazioni della macchina che li elabora.

4.2 La segmentazione

Il primo passo per la realizzazione del modello tridimensionale consiste nella segmentazione del set di immagini MR ottenute. Per segmentazione si intende la suddivisione della stessa in sottoregioni dette appunto segmenti. In un contesto biomedico questi segmenti corrispondono ai differenti tipi di organo o tessuti.

Nel nostro caso il dataset su cui si è provata la ricostruzione era già segmentato in 7 gruppi

[Digitare il titolo del documento]

1. Aria
2. Tessuti non identificati (Tessuti muscolari, Occhi)
3. Fluido Cerebrospinale
4. Materia Grigia
5. Materia Bianca
6. Edema Perilesionale
7. Massa Tumorale
- 8.

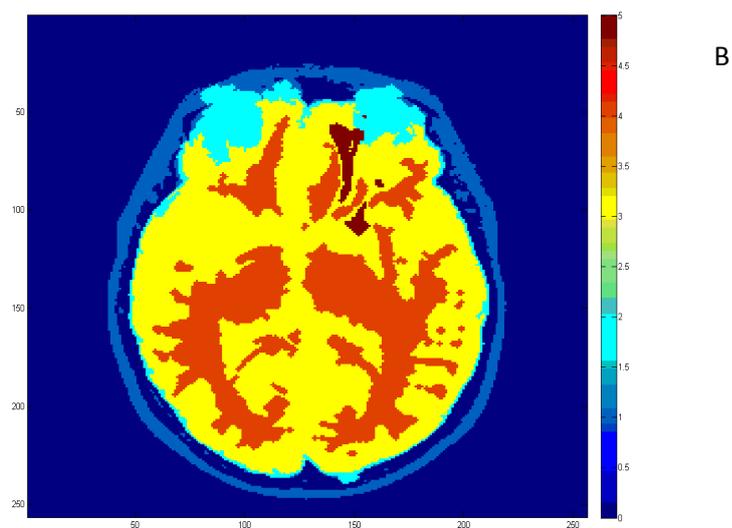
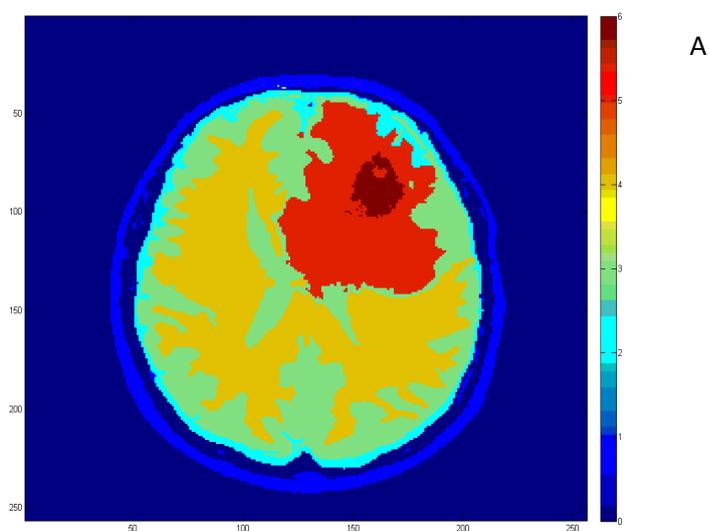


Fig 4.1 Immagini della segmentazione ricostruita A) slice n°6 B)= slice n°17

Per le necessità di uno dei metodi di ricostruzione costituito servono volumi chiusi e connessi, le immagini quindi sono state ulteriormente segmentate in modo da ottenere volumi di tipo desiderato per poi unirli per creare il volume della prima segmentazione, si passa quindi da una segmentazione di 7 segmenti a una di circa 600 sottovolumi, di cui la maggior parte sono di dimensioni ridotte e quindi possono essere o legati ad altri oppure ignorati. Nella seconda segmentazione vengono comunque mantenute le informazioni riguardanti il tessuto selezionato.

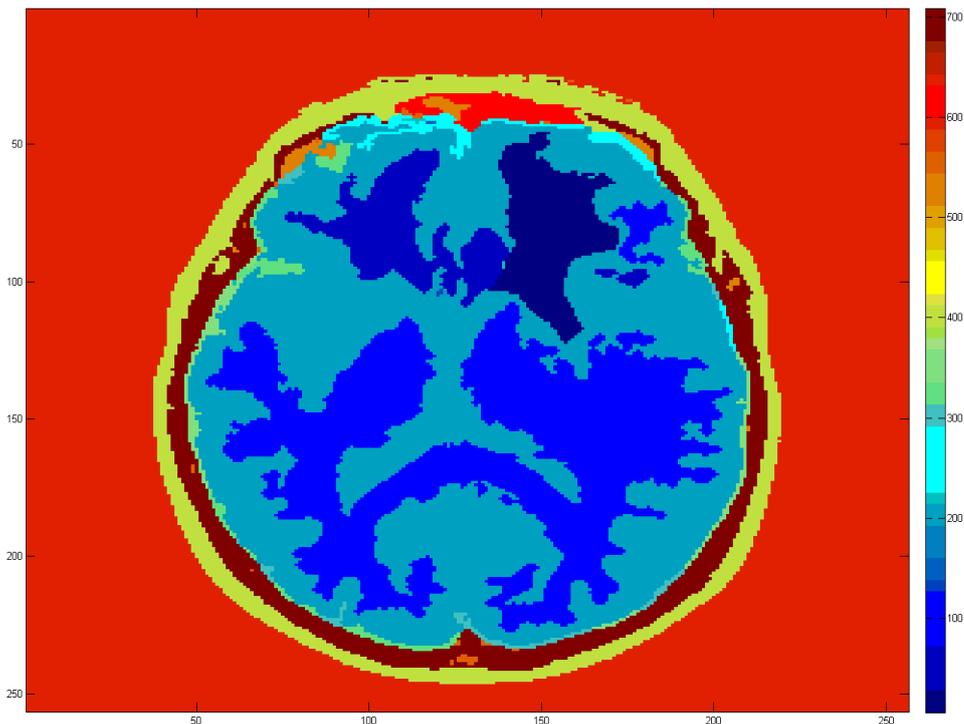


Fig 4.2 Immagine della testa segmentata per la seconda volta

4.3 Ricostruzione dei volumi

Sono stati creati due diversi programmi di ricostruzione

Il primo adatto per la ricostruzione di volumi con immagini ben segmentate e strutture non molto complesse in cui la ricostruzione avviene in due passaggi:

Il primo passo è quello di ottenere delle varie superfici tramite la funzione Matlab *film2curve* una curva che approssima il contorno della zona che viene selezionata. Per velocizzare la funzione e per sapere quali segmenti vengono selezionati si crea una maschera con i valori degli elementi selezionati ponendo tutto il resto a 0. Questa funzione permette di controllare il numero di punti con i quali viene semplificato il contorno, ciò permette inoltre di eliminare delle zone troppo piccole che darebbero problemi sulla ricostruzione, (con questo metodo vengono eliminate delle zone a seconda di una percentuale sulla media inserita dall'utente). Inoltre in caso ci fosse viene restituita anche la curva di regioni interne, utile per eliminare un possibile rumore nelle immagini.

[Digitare il titolo del documento]

Una volta creati i contorni 2D del singolo volume selezionato, delle immagini il secondo passo è di ricostruire l'intero volume 3D con la funzione *loft* che crea un volume unendo i vari vertici delle immagini ottenute in precedenza. La funzione *loft* ha bisogno che il numero di vertici delle figure siano uguali, è possibile definire i collegamenti tra i vari punti della figura definendo le coppie di punti da collegare tra loro. Nel nostro caso i collegamenti vengono effettuati in maniera da minimizzare la somma della lunghezza dei lati che si creano. La ricostruzione porta a ottenere dei volumi chiusi che possono essere esportati in Comsol.

La forma completa del volume viene formata o sommando i vari sottovolumi selezionati.

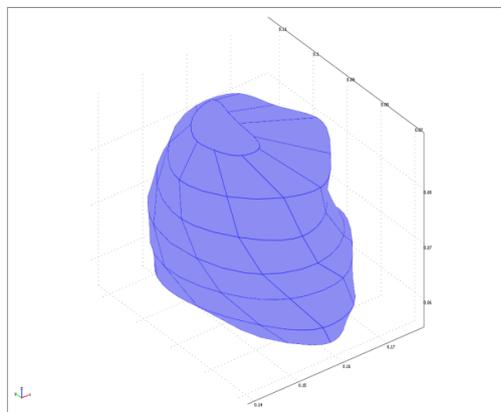


Fig 4.3 Ricostruzione della massa tumorale

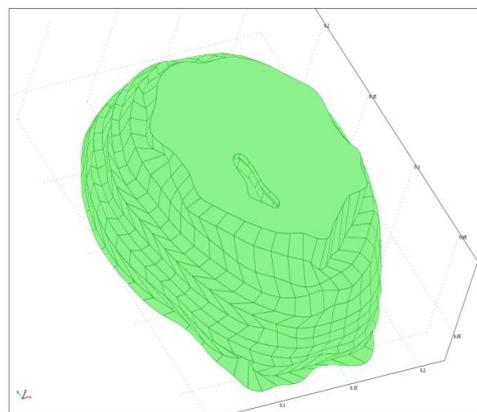


Fig 4.4 Ricostruzione del cervello

La ricostruzione dei volumi è buona considerando il valore del volume e della superficie ottenuto, che sono simili ad altri programmi di ricostruzione commerciali (ad esempio Amira), il programma però ha dei problemi sulla ricostruzione di volumi che sono altamente irregolari poiché si presentano delle difficoltà sulla creazione di legami tra i vari piani creando delle superfici poco reali. Si crea inoltre il problema della composizione delle superfici in Comsol in caso in cui dei volumi siano sovrapposti; questo problema può essere ovviato riducendo in due metodi: il primo è quello di ridurre leggermente uno o più volumi sovrapposti in modo da non indurre delle modifiche sostanziali ma permettere ai volumi a distaccarsi. Il secondo è quello di migliorare la definizione delle maschere in modo che i volumi ricostruiti rimangano distinti. Il programma è stato provato anche su altre acquisizioni dando buoni risultati.

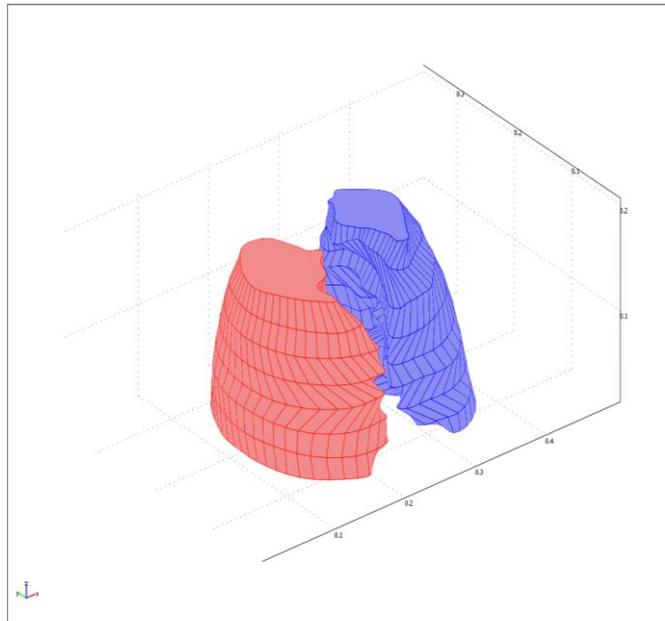


Fig 4.5 Ricostruzione dei polmoni

Il secondo metodo crea figure più grezze (a gradoni), serve per figure dalla forma molto complessa o con un rumore elevato.

Il metodo usa la stessa funzione per generare le curve di contorno e crea la figura solida proiettando dell'altezza stabilita la stessa figura costruendo così i gradoni

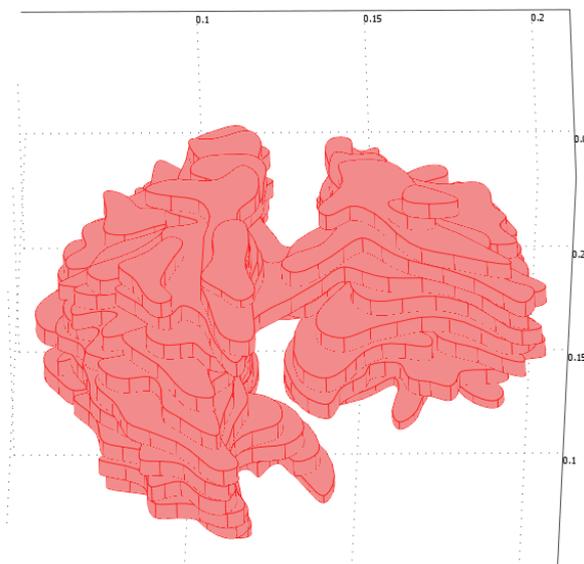


Fig 4.6 Ricostruzione grezza della materia bianca

Il metodo crea immagini più grezze ma è molto più robusto al rumore e alla elevata differenza segmenti in zone successive. Questo metodo crea anch'esso una buona ricostruzione di volumi se

[Digitare il titolo del documento]

la distanza tra piani successivi è ridotta in modo da creare voxel piccoli che approssimano bene la superficie del volume

4.4 Creazione della mesh

Tutti i volumi ricostruiti con il Matlab sono stati esportati in Comsol creando un unico volume con i vari sottodomini che rappresentano i vari tessuti selezionati con la prima segmentazione. La creazione della mesh viene effettuata in maniera automatica dal programma creando una meshatura di tetraedri, su tutto il volume con particolari infittimenti del numero di elementi nelle zone dove la superficie è più irregolare.

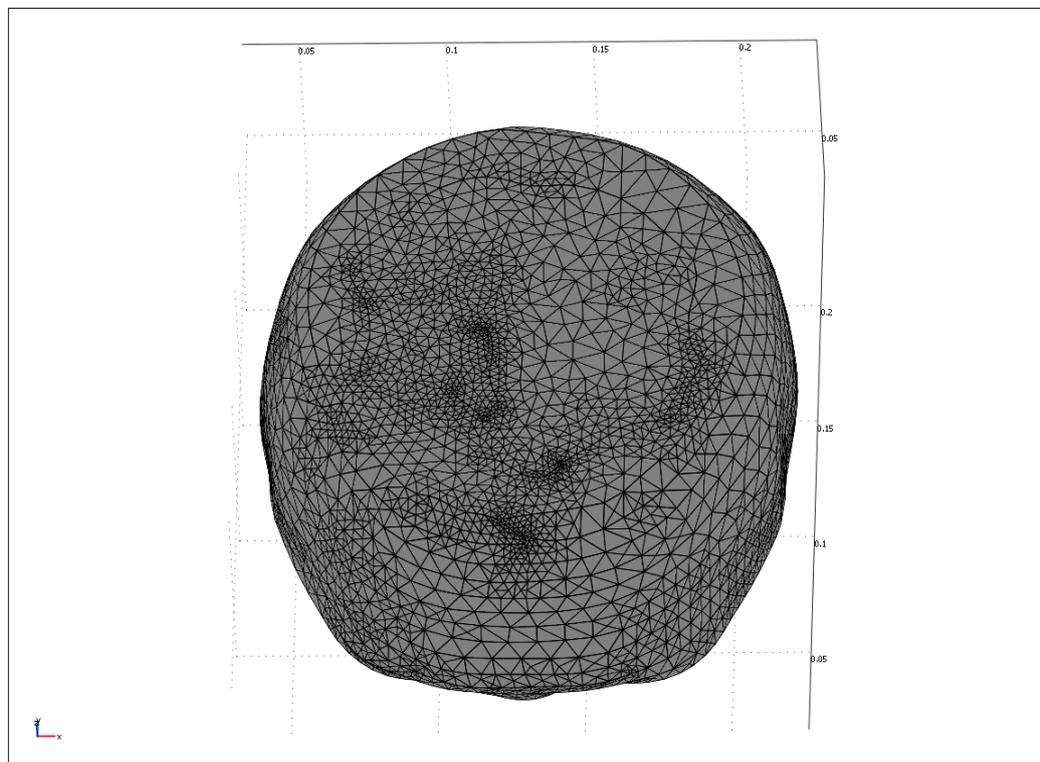


Fig 4.7 Mesh della testa ricostruita

La meshatura porta ad avere circa 900.000 tetraedri, e un eventuale ulteriore infittimento porterebbe a un inutile appesantimento dei calcoli visto che non sono presenti volumi di dimensioni molto ridotte

Capitolo 5

Problema termico

In questo capitolo si tratteranno le relazioni di dissipazione di potenza basate sul rilassamento rotazionale di particelle a singolo dominio magnetico disperse in una matrice liquida, e il conseguente innalzamento della temperatura del tessuto.

Il riscaldamento dovuto a correnti indotte viene considerato trascurabile, vista la piccola dimensione delle particelle considerate (inferiore a 20 nm).

5.1 La dissipazione di potenza

Ricordando la prima legge della termodinamica per un sistema a densità costante, per unità di volume vale l'uguaglianza

$$dU = \delta Q + \delta W \quad (5.1)$$

Dove

U : energia interna;

Q : calore fornito;

W : lavoro magnetico compiuto dal sistema.

Nel caso di processo adiabatico, $\delta Q = 0$, e quindi la (5.1) si riduce a

$$dU = \delta W \quad (5.2).$$

[Digitare il titolo del documento]

Poiché $\delta W = \mathbf{H} \cdot d\mathbf{B}$, sostituendo, la (5.2) diventa

$$dU = \mathbf{H} \cdot d\mathbf{B} \quad (5.3)$$

In cui si è espresso con

\mathbf{H} : l'intensità del campo magnetico [Am^{-1}];
 \mathbf{B} : l'induzione magnetica [T];

} entrambe riferite al campione studiato.

Essendo i campi colineari, la relazione (5.3) si riduce a $dU = H \cdot dB$, con H e B pari all'ampiezza della grandezza a cui corrispondono. Si ricorda che l'induzione magnetica B si ottiene da

$$B = \mu_0(H + M) \quad (5.4)$$

Con

M : magnetizzazione [Am^{-1}];

μ_0 : permeabilità magnetica del vuoto.

Sostituendo l'espressione (5.4) nell'equazione (5.3) e integrando per parti, si ricava l'incremento ciclico dell'energia interna

$$\Delta U = -\mu_0 \oint M dH \quad (5.5).$$

Quando la magnetizzazione è in ritardo sul campo, l'integrazione porta a un risultato positivo che indica la conversione del lavoro magnetico in energia interna. Appare quindi conveniente esprimere la magnetizzazione in termini di suscettibilità complessa χ del fluido magnetico, ovvero

$$\chi = \chi' - i\chi'' \quad (5.6)$$

Con χ' parte reale e χ'' parte immaginaria

Applicando un campo magnetico H , caratterizzato dall'espressione

$$H(t) = H_0 \cos \omega t = \operatorname{Re}[H_0 e^{i\omega t}] \quad (5.7)$$

la magnetizzazione che ne risulta è

$$M(t) = \operatorname{Re}[\chi H_0 e^{i\omega t}] = H_0(\chi' \cos \omega t + \chi'' \sin \omega t) \quad (5.8)$$

con

χ' : componente in fase;

χ'' : componente in quadratura.

Sostituendo i valori delle espressioni (5.7) e (5.8) nell'equazione (5.5) si ottiene

$$\Delta U = 2\mu_0 H_0^2 \chi'' \int_0^{2\pi/\omega} \sin^2 \omega t dt \quad (5.9)$$

in cui solo la componente χ'' permane.

Integrando e moltiplicando il risultato per la frequenza $f = \omega/2\pi$, si giunge alla formulazione della potenza volumetrica dissipata, presentata in:

$$P = f \cdot \Delta U = f \cdot \mu_0 \pi \chi'' H_0^2 \quad (5.10)$$

5.2 Parametri caratteristici dei materiali

L'equazione della variazione della magnetizzazione si riduce alla forma seguente (5.11) con fluidi privi di moto in un campo alternato:

$$\frac{\partial M(t)}{\partial t} = \frac{1}{\tau} (M_0(t) - M(t)) \quad (5.11)$$

Dove

τ : tempo di rilassamento (su una barriera di energia);

M_0 : magnetizzazione di equilibrio nel campo magnetico, data da

$$M_0 = \chi_0 H_0 \cos \omega t = \text{Re}(\chi_0 H_0 e^{i\omega t}) \quad (5.12)$$

χ_0 : suscettibilità di equilibrio.

Sostituendo le espressioni di M_0 e $M(t)$ nell'equazione si ottiene

$$\chi = \frac{\chi_0}{1 + i\omega\tau} \quad (5.13)$$

che fornisce la dipendenza della suscettibilità complessa dalla frequenza.

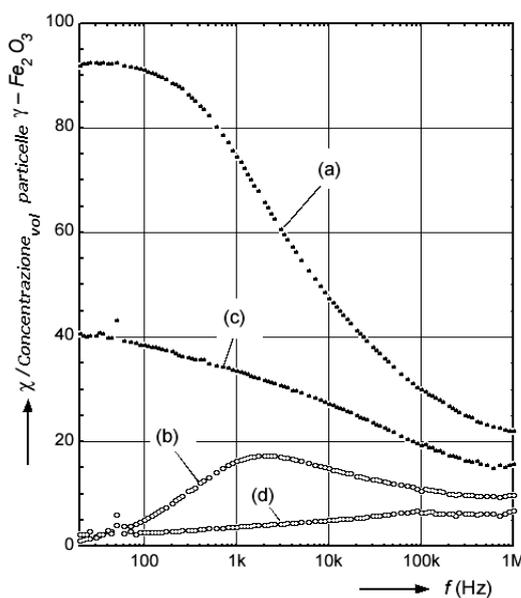


Fig 5.1

Spettro della suscettibilità specifica, (a) reale e (b) immaginaria

di una sospensione acquosa con particelle di maghemite e

(c) reale e (d) immaginaria di una sospensione in gel.

Le sue componenti risultano

$$\chi' = \frac{\chi_0}{1 + (\omega\tau)^2} \quad (5.14)$$

e

$$\chi'' = \frac{\omega\tau}{1 + (\omega\tau)^2} \chi_0 \quad (5.15)$$

e presentano un andamento in funzione della frequenza come illustrato in figura 5-1.

Si può osservare come nel caso (a) e (b) lo spettro della suscettibilità sia dovuto a diversi fenomeni di rilassamento, mentre nel caso (c) e (d) la presenza del gel ha permesso di immobilizzare le particelle eliminando il contributo del rilassamento Browniano. Dal grafico si evidenzia chiaramente quale sia l'influenza dei diversi tipi di rilassamento sul valore della suscettibilità.

I ferromagneti esibiscono frequenze di risonanza comprese fra i 10^8 e 10^{10} Hz; questo porta ad un cambiamento di segno per $\chi'(\omega)$, che diventa negativo, e alla generazione di un picco a punta nell'andamento di $\chi''(\omega)$. Nel caso delle applicazioni biomediche con nanoparticelle le frequenze d'impiego sono dell'ordine dei Megahertz ed inferiori; di conseguenza il problema della risonanza non è necessario venga considerato.

5.3 Costanti di tempo

Nel meccanismo di *rilassamento di Brown*, il momento magnetico è bloccato in corrispondenza all'asse di sviluppo principale dell'anisotropia cristallina e quando si trova allineato con il campo magnetico, porta in rotazione la particella.

Il *rilassamento di Néel* invece, è caratterizzato dalla rotazione termica del momento magnetico all'interno del reticolo, che si verifica quando la barriera di energia anisotropa $E_a = KV$ viene superata. Per ottenere elevate frazioni di calore (potenza dissipata) bisogna fare in modo che il rilassamento di Néel non prevalga su quello di Brown.

[Digitare il titolo del documento]

Si osservi innanzitutto che il tempo di rilassamento di Brown è esprimibile con la seguente relazione:

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{kT} \quad (5.14)$$

in cui

η : viscosità del liquido;

V_H : volume idrodinamico della particella;

k : costante di Boltzmann;

T : temperatura assoluta.

Il volume idrodinamico V_H generalmente è maggiore del volume magnetico V_M di una particella, dato dall'espressione $V_M = 4\pi R^3/3$, in cui R corrisponde al raggio della particella.

Per V_H si assume che valga la

$$V_H = (1 + \delta/R)^3 V_M \quad (5.15)$$

In cui δ rappresenta lo strato di agente tensioattivo assorbito.

Il tempo di rilassamento di Néel è dato da

$$\tau_N = \tau_0 \cdot e^{\frac{KV}{kT}} \quad (5.16)$$

dove

τ_0 : circa 10^{-9} s;

K : costante di anisotropia;

V : volume del nucleo della particella.

Un ferrofluido tipico ha un'ampia distribuzione di particelle di dimensione variabile, il cui valore medio è di circa 10 nm. Poiché i processi di Brown e di Néel si verificano in parallelo, l'effettivo tempo di rilassamento τ è dato da

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_B} + \frac{1}{\tau_N} \quad (5.17)$$

Come si deduce anche dall'espressione sopra, il tempo di rilassamento più breve influisce maggiormente sulla determinazione del tempo di rilassamento complessivo.

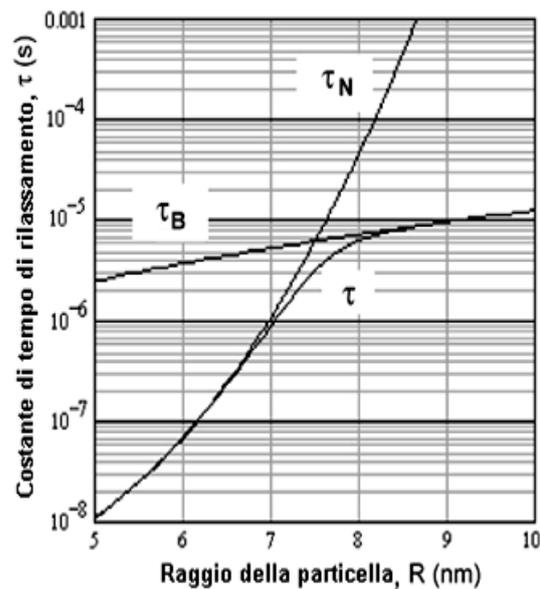


Fig 5.2 Costanti di tempo in funzione della dimensione delle particelle (di Fe_3O_4)

Come appare dal grafico, il processo di rilassamento di Néel mostra un andamento di tipo esponenziale e appare caratteristico delle particelle più piccole; il rilassamento di Brown invece, assume un andamento pressoché lineare e prevale con le particelle più grandi. La transizione fra l'uno e l'altro processo si verifica per un particolare diametro del nucleo della particella; precisamente quando $\tau_N = \tau_B = \tau$.

5.4 L'incremento di temperatura

Dalle equazioni ricavate nei precedenti paragrafi è possibile esprimere la potenza dissipata come

$$P = \pi\mu_0\chi_0 H_0^2 f \frac{\omega\tau}{1 + (\omega\tau)^2} \quad (5.17)$$

L'equazione (5.17) esprime la densità di potenza dissipata per una soluzione *monodispersa*, avendo posto la suscettibilità costante. In realtà, la suscettibilità χ_0 è funzione del campo magnetico.

Attraverso una stima conservativa, che fornisce un limite più basso di P, si assume che χ_0 sia la suscettibilità corrispondente all'*equazione di Langevin*

$$L(\xi) = \frac{M}{M_s} = \coth \xi - \frac{1}{\xi} \quad (5.18)$$

in cui

ξ : parametro di Langevin, ricavabile dal rapporto

$$\xi = \frac{\mu_0 M_d H V_M}{kT} \quad (5.19)$$

M_s : magnetizzazione di saturazione del ferrofluido, ottenuta da

$$M_s = \phi M_d \quad (5.20)$$

dove

M_d : magnetizzazione del dominio della particella sospesa;

ϕ : frazione volumetrica di particelle.

Considerando le formulazioni precedenti, si può esprimere χ_0 come

$$\chi_0 = \chi_i \frac{3}{\xi} \left(\coth \xi - \frac{1}{\xi} \right) \quad (5.21)$$

con

χ_i : suscettibilità iniziale, è pari a

$$\chi_i = \left(\frac{\partial M}{\partial H} \right)_i = \frac{\mu_0 \phi M_d^2 V_m}{3kT} \quad (5.22)$$

L'incremento di temperatura per la soluzione monodispersa si ricava quindi da

$$\Delta T = P \frac{\Delta t}{c} \quad (5.23)$$

dove

c : calore specifico del fluido magnetico;

Δt : intervallo di riscaldamento.

5.5 SAR (*Specific Absorption Rate*)

Il SAR è una misura della quantità di energia assorbita dal corpo quando esposti campo elettromagnetico ad radio-frequenza (RF). Esso è definita come la potenza assorbita per massa di tessuto ed ha unità di watt per chilogrammo [W/Kg].

Ha varie espressioni di misura:

la più usata :

$$\text{SAR} = \frac{\sigma E^2}{\rho} \quad (5.24)$$

Con σ = conduttività elettrica, E = campo elettrico, ρ = densità del materiale

Nel casi di tessuti biologici si è usata maggiormente la formula

$$\text{SAR} = c \frac{\partial T}{\partial t} \quad (5.25)$$

[Digitare il titolo del documento]

Con c = capacità termica del campione

Il SAR è valutato anche come la dissipazione di potenza descritta nel paragrafo precedente

Dove P è la potenza calcolata come somma dei contributi dei due rilassamenti vista nel paragrafo precedente .

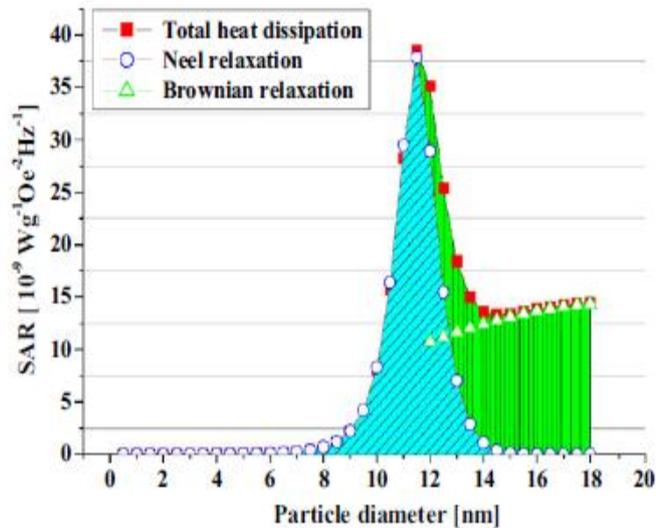


Fig 5.3 Contributi nel SAR

5.6 Formulazione del problema termico

Nei trattamenti ipertermici il meccanismo di trasmissione del calore predominante è la conduzione,

Il fenomeno della conduzione può essere analiticamente descritto attraverso la *legge di Fourier*, in cui si stabilisce una correlazione fra flusso termico specifico e gradiente di temperatura, ovvero

$$\mathbf{q} = -k\nabla T \quad (5.25)$$

dove

\mathbf{q} : flusso termico per unità di volume [W/m^3];

k : conducibilità termica del materiale è [$\text{W}/\text{m}\cdot\text{K}$];

∇T : gradiente di temperatura [K].

Considerato un volumetto infinitesimo dV , si imponga il bilancio termico entro un intervallo dt , tale che la variazione di energia interna dU uguagli la somma della quantità di calore generato all'interno del volumetto dQ_{gen} e quella scambiata per conduzione dQ_{front} sulla frontiera dello stesso. Si ottiene dunque

$$dQ_{gen} + dQ_{front} = dU \quad (5.26)$$

dove

$$dQ_{gen} = dt \int_{dV} w dV \quad (5.27)$$

$$dQ_{front} = -dt \int_{dV} \nabla \cdot (\mathbf{k} \nabla T) dV \quad (5.28)$$

e

$$dU = dt \int_{dV} c\gamma \frac{\partial T}{\partial t} = -w \quad (5.29)$$

Le nuove grandezze introdotte rappresentano

c : calore specifico [J/kg·K];

γ : densità di massa [kg/m³];

w : densità di potenza generata nel volume di controllo [W/m³].

Attraverso opportune sostituzioni e semplificazioni si ottiene l'espressione

$$\mathbf{k} \nabla^2 T - c\gamma \frac{\partial T}{\partial t} = -w \quad (5.30)$$

che rappresenta l'*equazione generale della conduzione termica* per mezzi lineari ed isotropi. Risolvendo l'equazione differenziale lineare del secondo ordine (5.30) si può determinare quella che è la distribuzione della temperatura al variare del tempo t .

5.7 Il problema termico con perfusione sanguigna

Nel primo capitolo è stato messo in luce come la risposta ad uno stress termico sia profondamente diversa fra tessuti neoplastici e tessuti sani. Infatti, quando si raggiungano temperature superiori a 42 °C, le cellule neoplastiche, vista l'incapacità di dissipazione dovuta ad una rete vascolare molto disordinata, presentano un flusso sanguigno pressoché costante; i tessuti sani invece, mostrano un aumento di flusso anche fino a dieci volte il loro valore nominale. Si intuisce allora come la variazione di flusso incida notevolmente sulla distribuzione di temperatura durante un trattamento ed è per questo motivo che l'equazione generale della conduzione termica appare insufficiente a descrivere il problema termico relativo al corpo umano.

Uno degli ostacoli principali alla diffusione dei trattamenti ipertermici è proprio la scarsa conoscenza del processo di trasmissione del calore nei tessuti, quando nell'analisi si comprenda anche l'effetto convettivo della *perfusione sanguigna diffusa*. Con questo termine si indica l'effetto globale prodotto dalla fitta ed intricata rete di capillari con cui si può modellare lo scambio termico che si verifica fra sangue e tessuti. L'approccio tradizionale è quello elaborato nel 1948 da H.H. Pennes,

L'equazione che si basa su questa affermazione è nota come *Bio-Heat Transfer Equation* (BHTE), o anche *equazione di Pennes*, e si esprime nel seguente modo

$$c\gamma \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot (\nabla T) - c_b \gamma_b w_b (T - T_a) + Q_m \quad (5.31)$$

in cui

γ : densità [kg/m³]
 c : calore specifico [J/kg·K]
 k : conducibilità termica [W/ m·K]

} TESSUTO

e

γ_b : densità [kg/m³]
 c_b : calore specifico [J/kg·K]

} SANGUE

T_b : temperatura [K]

T_a : temperatura del sangue arterioso [K];

w_b : perfusione sanguigna [s^{-1}];

$W_b = \gamma_b w_b$: tasso di portata in peso [$kg/m^3 \cdot s$] o meglio noto come *mass flow rate* – corrisponde alla portata di sangue che attraversa un volume unitario di tessuto;

$c_b W_b$: coefficiente di scambio termico [$J/m^3 \cdot s \cdot K$] in cui si considera la perfusione;

Q_m : apporto energetico del metabolismo basale [W/m^3].

In genere l'addendo Q_m viene trascurato, essendo inferiore di circa due ordini di grandezza rispetto alla potenza depositata durante il trattamento ipertermico.

Al fine di agevolare la trattazione, Pennes ha imposto nella sua teoria alcune semplificazioni, che si possono brevemente così riassumere:

- Lo scambio energetico fra vasi sanguigni e tessuto circostante avviene a livello *capillare*; la velocità del flusso risulta molto lenta e da essa deriva una capacità di refrigerazione molto intensa;
- il letto del capillare in cui verifica lo scambio termico è assimilato ad un serbatoio contenente sangue ad una temperatura costante T_a pari a quella dei vasi afferenti;
- il sangue entrante nel “serbatoio” capillare equilibra immediatamente la temperatura del tessuto circostante. In tal modo il flusso uscente dal letto di capillari s'immette nella circolazione venosa alla temperatura T propria dei tessuti perfusi;
- l'energia totale scambiata attraverso perfusione sanguigna si rappresenta con una fonte di calore non direzionale, la cui intensità sia proporzionale all'apporto volumetrico di sangue e alla differenza di temperatura fra tessuto e sangue arterioso ($37^\circ C$).

Uno dei principali problemi che s'incontra quando si voglia realizzare un modello dello scambio termico fra sangue e tessuti, consiste nella difficoltà di determinazione in tempo reale delle variazioni di flusso sanguigno al variare della temperatura.

Si assumono allora per tessuto muscolare, grasso e tumorale i seguenti valori di perfusione sanguigna, di cui, per una miglior comprensione, se ne fornisce in figura 5-1 anche una rappresentazione grafica:

$$W_{grasso} = \begin{cases} 0.36 + 0.36\exp(-(T - 45)^2)/12 & \text{per } T \leq 45 \text{ }^\circ\text{C}; \\ 0.72 & \text{per } T > 45 \text{ }^\circ\text{C}. \end{cases}$$

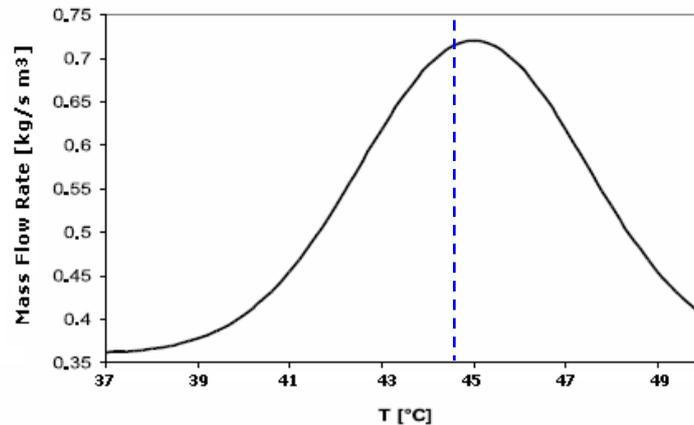


Fig 5.3 Andamento della perfusione in tessuto adiposo al variare della temperatura

Il muscolo e il grasso, tessuti riccamente perfusi e abbondantemente distribuiti nell'organismo, mostrano per la perfusione, aumentando la temperatura fino ad un valore soglia di circa 45 °C, un andamento *sigmoidale*. Oltre tale temperatura, il sangue nei vasi comincia a coagulare e li occlude, portando ad una rapida diminuzione dell'effetto refrigerante. Per questi tipi di tessuti si può osservare un andamento analogo, diversificandosi unicamente per l'aspetto quantitativo: il tessuto muscolare presenta infatti un'irrorazione molto più consistente rispetto a quella del tessuto grasso, essendo quest'ultimo caratterizzato da una ridotta attività metabolica.

Per quanto riguarda il tessuto neoplastico invece, si ha

$$W_{tumore} = \begin{cases} 0.883 & \text{per } T < 37 \text{ }^\circ\text{C}; \\ 0.833 - (T - 37)^{4.8}/5.438 \cdot 10^3 & \text{per } 37 \text{ }^\circ\text{C} \leq T \leq 42 \text{ }^\circ\text{C}; \\ 0.416 & \text{per } T > 42 \text{ }^\circ\text{C}. \end{cases}$$

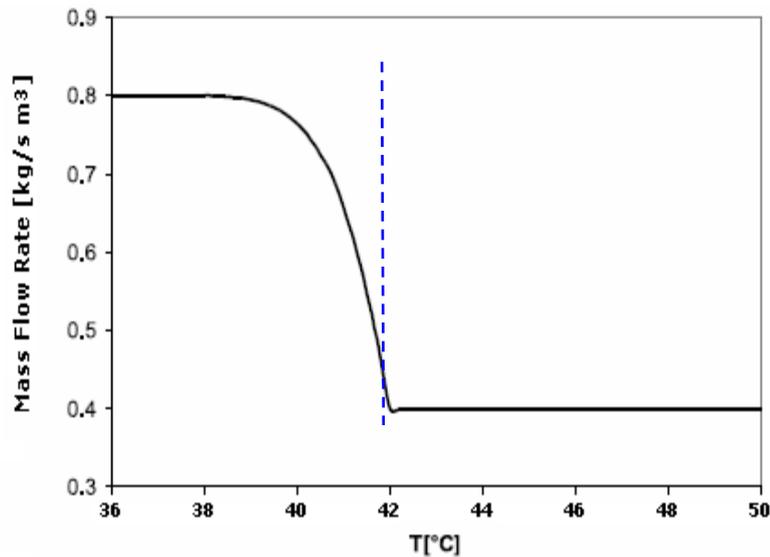


Fig 5.4 Andamento della perfusione in tessuto tumorale al variare della temperatura

Come si nota anche dalla figura 5-1(c), l'abbondante e irregolare irrorazione caratteristica della massa tumorale non subisce incrementi termici per effetto di temperature leggermente superiori a quella basale (inferiori a 42 °C); un ulteriore aumento, per temperature superiori a 42 °C, porta invece ad un rapido calo dell'effetto refrigerante. Ciò si traduce in una maggiore vulnerabilità al calore delle cellule tumorali rispetto a quelle sane, caratterizzate da un margine di sicurezza più ampio.

In tabella 5 si riportano i valori della perfusione sanguigna ottenuti sperimentalmente per i principali tipi di tessuto dell'organismo umano.

Tabella 5.1 Valori di mass flow rate per alcuni tessuti

Tessuto	Mass Flow Rate W [kg s ⁻¹ m ⁻³]
<i>Grasso</i>	W_{grasso}
<i>Ossso</i>	0.540
<i>Tessuto cerebrale</i>	8.600
<i>Tumore</i>	W_{tumore}

I valori assunti hanno solo un carattere qualitativo, poiché nella pratica la perfusione sanguigna varia a seconda dell'individuo in funzione delle sue condizioni generali ed in particolare dello stato di salute del suo sistema cardiovascolare.

Recenti studi sulla perfusione hanno dimostrato che essa varia in modo significativo in base al tipo e alla dimensione della massa tumorale; nonostante questo parametro sia di difficile determinazione, è molto importante cercare di ottenere una sua stima quanto più accurata possibile poiché da esso dipende l'efficacia del trattamento.

È opportuno evidenziare che nelle vicinanze di grossi vasi sanguigni, quali vene ed arterie, è più appropriato riferirsi all'effetto della *perfusione localizzata*; in questo caso si osserva infatti che la teoria di Pennes non risulta più adeguata per descrivere la distribuzione del campo termico, non essendo più possibile ipotizzare un equilibrio termico con i tessuti adiacenti. Si tende allora ad associare al volume del vaso sanguigno una sorgente termica a temperatura costante, generalmente assunta pari a 37 °C. Va inoltre sottolineato che la suddetta teoria non prende in considerazione i meccanismi di scambio termico convettivo dovuto al fluire del sangue, né il possibile scambio di calore tra vasi adiacenti percorsi in controcorrente.

Sono state formulate numerose teorie a riguardo, tuttavia in questo studio si è preferito fare riferimento al modello di Pennes che finora è rimasto l'approccio più diffuso per descrivere lo scambio termico nei tessuti umani, in quanto fornisce risultati realistici per il campo termico purché ci si trovi a ragionevole distanza dai grossi vasi sanguigni.

5.7 Simulazioni

In Comsol sono state effettuate delle simulazioni sul cranio ricostruito per valutare in maniera generale come si diffonde il calore tra i vari tessuti del cranio.

Si è usato il modulo del biocalore che sfrutta l'equazione di Pennes sopra descritta con i valori delle costanti trovate in bibliografia

Tabella 5.2 proprietà dei materiali

Materiale	Conducibilità termica [W/(m*°C)]	Densità tessuto [kg/m ³]	Calore specifico del tessuto [J/(kg*°K)]	Perfusione sanguigna [1/s]
Osso	6	1760	1300	3.4e-4
Materia bianca	0.6	1020	3500	1.085e-2
Materia grigia	0.6	1020	3500	0.542e-2
Tumore	0.6	1030	3330	W _{tum} /1020

Parametri del sangue : $\rho=1050$ [kg/m³], $C_b=3745$ e con temperatura arteriale pari a 37 °C

Le simulazioni considerano che le nano particelle sono uniformemente distribuite in diversi volumi che sono considerati come delle sorgenti di energia.

Le simulazioni considerano tre situazioni diverse il primo caso con le particelle distribuite in su tutto il tumore, il secondo con le particelle confinate in una sfera all'interno del tumore, il terzo si usa una forma ellittica.

Nella prima serie di simulazioni viene applicata a queste zone una potenza per volume uguale .

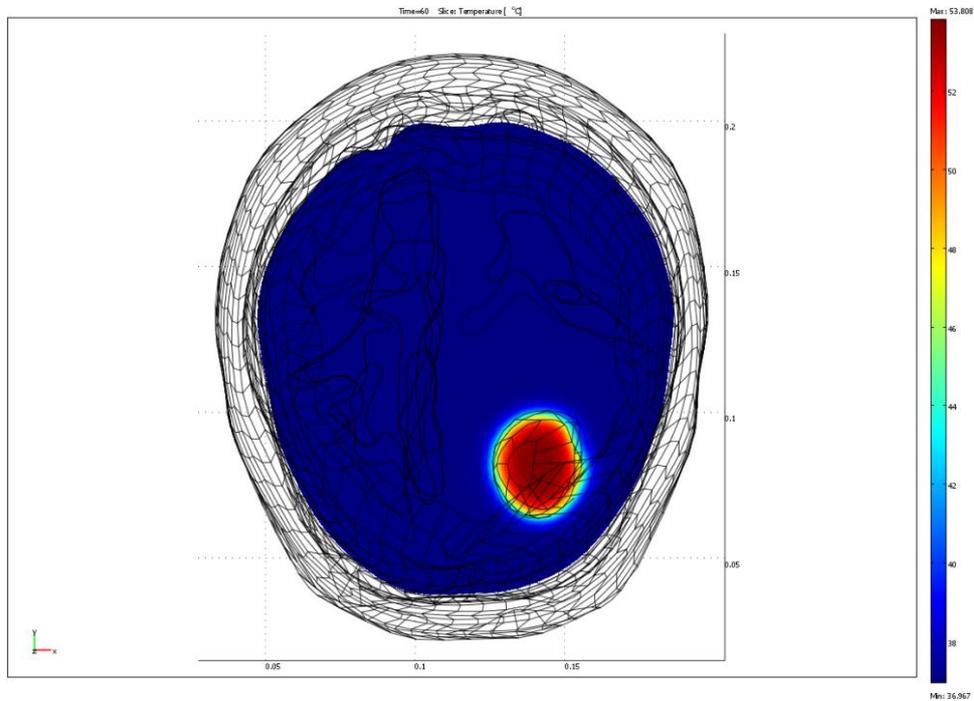


Fig 5.5 Immagine della temperatura ottenuta considerando l'intero volume

Si può notare dalle immagini che le temperature elevate sono confinate nella zona centrale del volume irradiante, mentre nella zona del bordo della superficie la temperatura non raggiunge valori così elevati, dato la presenza di un cambio di calore specifico del materiale e di una più elevata perfusione sanguigna dei tessuti circostanti rispetto al tumore, per cui la temperatura viene riportata velocemente al valore corporeo.

Nel caso del tumore come volume irradiante poiché si vede che il riscaldamento dei tessuti sani è limitato alle sole zone limitrofe del tumore e questo un aspetto molto importante per la cura.

[Digitare il titolo del documento]

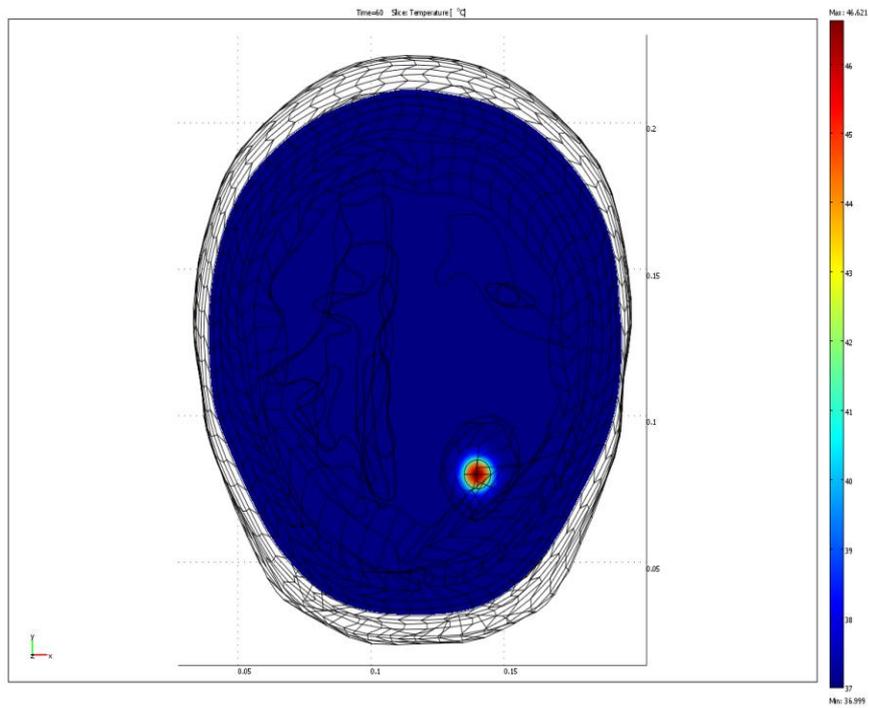


Fig 5.6 Immagine della temperatura ottenuta considerando una sfera inserita nel tumore

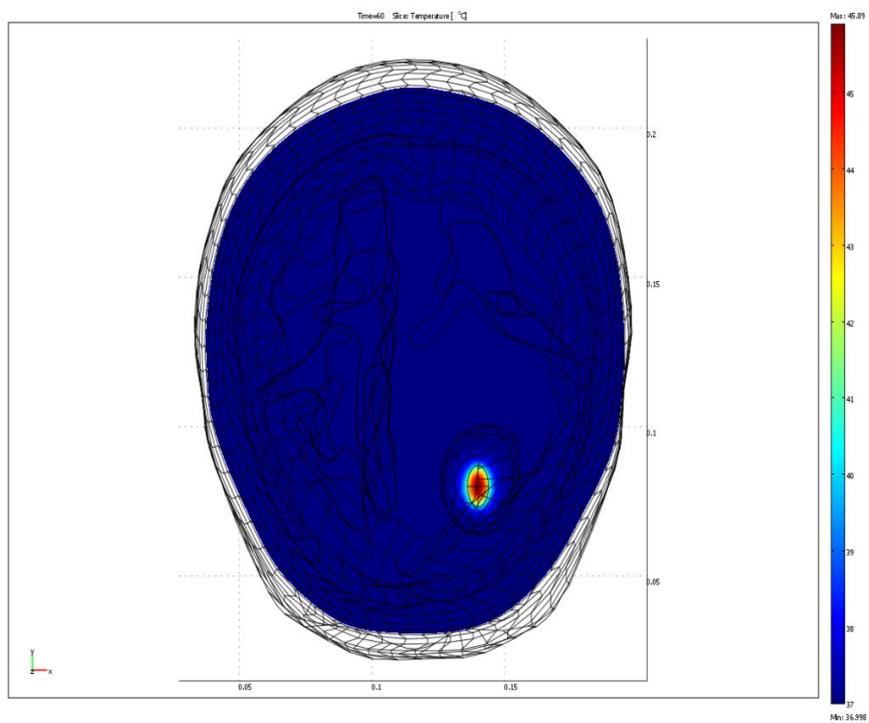


Fig 5.7 Immagine della temperatura ottenuta considerando un'ellisse inserita nel tumore

Le simulazioni con la sfera o un ellisse mimano in maniera molto semplificata l'iniezione di un bolo di nano particelle nel tumore con una successiva diffusione (una con materiale isotropo l'altra con materiale anisotropo).

Le temperature raggiunte sono inferiori data la minor potenza data al sistema, ma si può notare come la temperatura diminuisca meno velocemente poiché all'interno del tumore la perfusione sanguigna è con valore minore per cui non riesce a mitigare la temperatura velocemente.

Un secondo tipo di simulazione è stato fatto mantenendo la potenza irradiata uguale per le tre sorgenti (si usa la potenza irradiata nel caso in cui si usa l'intero tumore come sorgente) per vedere gli effetti termici provocati dall'applicazione della stessa potenza.

I risultati sono visibilmente diversi, si raggiungono temperature non compatibili con un corpo umano (la necrosi comincia a temperature superiori ai 60 °C in questo caso si superano i 500 °C). questo dimostra come sia inutile tentare di aumentare la potenza su un bolo per cercare di riscaldare l'intero tumore poiché la temperatura aumenta solo all'interno della zona irradiante, ma si debba aumentare il numero di sorgenti e distribuire la potenze su queste per riscaldare l'intero volume.

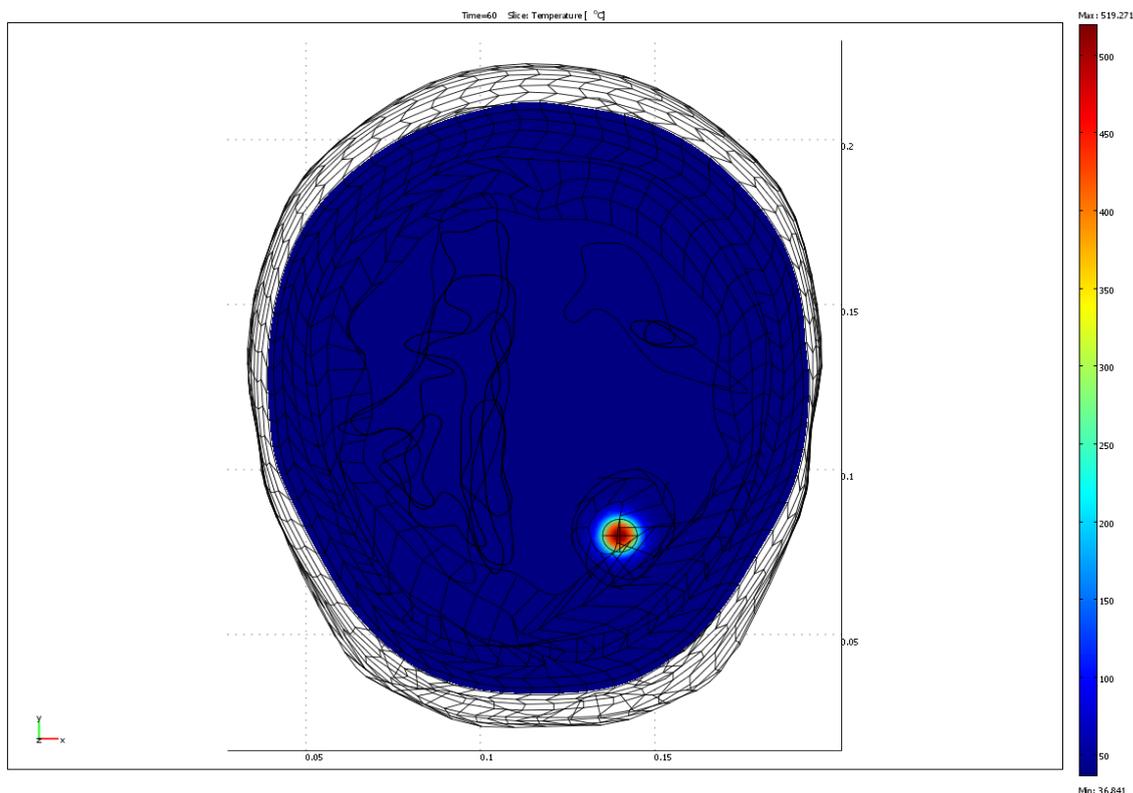


Fig 5.8 Immagine della temperatura ottenuta considerando una sfera con la stessa potenza attribuita all'intero tumore nella simulazione precedente

Capitolo 6

Diffusione

Rappresenta il movimento casuale delle molecole indotto da trasferimenti energetici a seguito di urti tra le molecole stesse. In un fluido che si trova all'equilibrio termodinamico le molecole che lo compongono non sono ferme ma si osserva che ciascuna particella segue un moto assolutamente disordinato (random walk o moto browniano) indotto dalle collisioni che la particella subisce da parte delle molecole del fluido in cui è immersa.

6.1 Leggi di Fick

Il risultato macroscopico del moto molecolare è che la molecola si muove da una regione a concentrazione maggiore verso una regione dove la concentrazione è più bassa.

Il flusso di questo spostamento è proporzionale al gradiente di concentrazione e se la concentrazione ϕ della specie diffondente non varia nel tempo (*condizioni stazionarie*), segue la prima legge di Fick

$$J = -D \frac{\partial \phi}{\partial x} \quad (6.1)$$

descrive il flusso J lungo la direzione x . D è detto *diffusività* o coefficiente di diffusione; e dipende strettamente dall'ambiente in cui è immerso il fluido ed indica la rapidità di propagazione. Il segno negativo è giustificato dal fatto che il flusso va da una concentrazione più alta ad una più bassa.

Nel caso si parli della legge suddetta in due o tre dimensioni Si ottiene la seguente relazione:

$$J = -D \nabla \phi \quad (6.2)$$

nel caso in cui la concentrazione nel volume materiale di riferimento varia nel tempo. L'equazione posta nella forma differenziale è

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} \quad (6.3)$$

in cui:

- ϕ rappresenta la concentrazione che ha per dimensioni [mol m⁻³]
- t è il tempo [s]
- D è il coefficiente di diffusione, che ha per dimensioni [m² s⁻¹].

Essa descrive la variazione nel tempo della concentrazione del fluido. La variazione di concentrazione è funzione del tempo e dello spazio; in questa forma la legge esprime la variazione della concentrazione solo nella direzione x, per il caso bidimensionale la relazione diventa:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \phi}{\partial y^2} \right). \quad (6.4)$$

L'espressione in forma del tutto generale, in due o più dimensioni può essere scritta utilizzando l'operatore nabla (o del) o gradiente ∇ , ottenendo:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D \nabla^2 \phi \quad (6.5)$$

Se il coefficiente non è costante, ma dipende dalle coordinate e/o dalla concentrazione, la seconda legge di Fick diventa:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = \nabla \cdot (D \nabla \phi) \quad (6.6)$$

6.2 Coefficiente di diffusione

Macroscopicamente la diffusione è caratterizzata dal coefficiente di diffusione binario D_{AB} dove A rappresenta il soluto e B il solvente, è in funzione di variabili termodinamiche (temperatura e pressione) e dipende anche dalle caratteristiche chimico fisiche del soluto e del solvente.

Il coefficiente di diffusione varia a seconda dello stato dei soluti, ha valore massimo per i gas nei gas, mentre nei liquidi la diffusione è 10000-100000 volte più lenta. Nelle strutture più complesse quali membrane o tessuti la diffusione è ulteriormente ridotta e dipende dalla diffusione nella fase liquida e dalla struttura della membrana o del tessuto (ostacoli creati dalla matrice).

[Digitare il titolo del documento]

Einstein determinò che il coefficiente di diffusione del soluto che si muove in uno spazio bidimensionale è funzione della distanza media compiuta dalla molecola

$$D_{AB} \propto \frac{\langle x^2 \rangle + \langle y^2 \rangle}{4t} \quad (6.7)$$

Per la teoria idrodinamica il coefficiente di diffusione (\mathcal{D}) per le grandi particelle sferiche o grandi molecole sferiche di raggio r_A è inoltre legato proporzionalmente all' energia cinetica della particella; inversamente all'ingombro della particella (e quindi al suo raggio); inversamente alla viscosità del mezzo.

Queste proprietà sono espresse nella relazione di Stokes-Einstein:

$$\mathcal{D} = \frac{kT}{6\pi r\eta} \quad (6.8)$$

dove:

- kT : proporzionale alla energia cinetica (k costante di Boltzmann)
- r : raggio della particella
- η : viscosità del mezzo,

Altre formule per calcolare la diffusione sono state trovate per via sperimentale ad esempio

Wilke-Chang:

$$D_{AB} = 7.4 \times 10^{-8} \frac{\sqrt{\Psi_B P M_B T}}{\mu V_A^{0.6}} \quad (6.9)$$

Renkin-Curry

$$D_{AB} = 1.013 \times 10^{-4} P M_A^{-0.46} \quad (6.10)$$

Nel caso in cui si valuti il coefficiente di diffusione nei sistemi biologici complessi si è fortemente influenzati dalla notevole eterogeneità che caratterizza i materiali biologici, si consideri che la diffusione nei tessuti deve considerare il coefficiente di diffusione del tessuto, del fluido interstiziale, delle cellule.

Per questi calcoli si fa riferimento spesso a formule pensate per altri campi come l'ingegneria civile o quella chimica e poi adattate all'ambiente biologico.

L'esempio è il calcolo della diffusività attraverso membrane porose che viene adattata dalla relazione di Becke Schultz per il calcolo della diffusione di atomi di uranio attraverso membrane di mica.

$$\begin{aligned}\frac{D_m}{D} &= \left(1 - \frac{a}{r}\right)^2 \left[1 - 2.1 \left(\frac{a}{r}\right) + 2.09 \left(\frac{a}{r}\right)^3 - 0.95 \left(\frac{a}{r}\right)^5\right] \\ &= K \left(\frac{a}{r}\right) \times \omega_r \left(\frac{a}{r}\right)\end{aligned}\quad (6.11)$$

Per lo spazio tessutale il coefficiente può essere stimato in base al modello di maxwell o in base a relazioni empiriche

$$\frac{D_r}{D_0} = \frac{2D_0 + D_{cell} - 2\phi(D_0 - D_{cell})}{2D_0 + D_{cell} - \phi(D_0 - D_{cell})}\quad (6.12)$$

$$\frac{D_r}{D_0} = 1 - \left(1 - \frac{D_{cell}}{D_0}\right) (1.727\phi - 0.8177\phi^2 + 0.09075\phi^3)\quad (6.13)$$

dove ϕ rappresenta la frazione volumetrica cellulare.

Il fluido interstiziale ha una consistenza che lo fa assomigliare a un gel in cui sono state immerse delle diverse macromolecole.

Dato che il soluto deve attraversare una complessa rete di ostacoli (le macromolecole) la relazione empirica determinata da Brinkman per la diffusività D_0 del soluto nel fluido interstiziale è in funzione di un solo parametro dipendente dalla sola microstruttura del gel.

$$\frac{D_0}{D} = \frac{1}{1 + \kappa a + 1/3(\kappa a)^2}\quad (6.14)$$

Tabella 6.1 Vari coefficienti di diffusione

Solute	Gel	Wt% Gel in Solution	Temperature (°C)	Diffusivity (10^{-9} m ² /sec)
Sucrose	Gelatin	0	5	0.285
		3.8	5	0.209
		10.35	5	0.107
		5.1	20	0.252
Urea	Gelatin	0	5	0.880
		2.9	5	0.644
		5.1	5	0.609
		10.0	5	0.542
		5.1	20	0.859
Methanol	Gelatin	3.8	5	0.626
Urea	Agar	1.05	5	0.727
		3.16	5	0.591
		5.15	5	0.472
Glycerin	Agar	2.06	5	0.297
		6.02	5	0.199
Dextrose	Agar	0.79	5	0.327
Sucrose	Agar	0.79	5	0.247
Ethanol	Agar	5.15	5	0.393
Salt (NaCl) (0.05M)	Agarose	0	25	1.511
		2	25	1.398
Water	Potato starch	20	25	0.024
Water	Gelatinized corn	—	70	0.030

Va notato che il processo di diffusione su distanze brevi è molto rapido e efficiente mentre per distanze più lunghe diventa molto lento.

6.2.1 Diffusione allo stato stazionario attraverso una membrana e un mezzo bifasico

Considerando il trasporto allo stato stazionario (nessuna variazione nel tempo della concentrazione) attraverso doppio strato lipidico (membrana) di spessore L . Considerando irrilevanti sia eventuali reazioni chimiche che il trasporto convettivo si ha che il trasporto risulta descritto da

$$0 = D_{eff} \frac{d^2 c_m}{dx^2} \quad (6.15)$$

dove D_{eff} è la diffusività effettiva attraverso la membrana e c_m è la concentrazione del soluto nella membrana.

Integrando la formula del flusso si ottiene che:

$$D_{eff} = \frac{N L}{K(c_0 - c_l)} \quad (6.16)$$

N è il flusso e c è la concentrazione esterna

Ponendo le condizioni al contorno

$$x=0 \rightarrow cm=Kc(0)$$

$$x=L \rightarrow cm=Kc(L)$$

dove K è il coefficiente di partizione (rapporto tra la concentrazione nel bulk e nella membrana)

Considerando in un mezzo bifasico e le stesse ipotesi precedenti si ottiene la stessa equazione per entrambi i mezzi quindi per l'integrazione si devono aggiungere altre due ipotesi che sono quelle che all'interfaccia delle due fasi ci sia la stessa concentrazione e che non ci sia discontinuità nel flusso

$$x = L_1 \rightarrow \frac{c_1}{K_1} = \frac{c_2}{K_2}$$

$$x = L_1 \rightarrow N_1 = N_2$$

integrando e ponendo le nuove condizioni si ottiene che

$$N = \frac{D_1 D_2 K_1 K_2 (c_0 - c_l)}{D_2 K_2 L_1 + D_1 K_1 L_2} = \frac{D_{eff} K_{eff}}{L} (c_0 - c_l) \quad (6.17)$$

è da notare come le resistenze diffusive operano in serie ovvero sono quantità additive

$$\frac{L}{D_{eff} K_{eff}} = \sum_i^n \frac{L_i}{D_i K_i} \quad (6.18)$$

Si noti come sia difficile la diffusione delle nano particelle dal tessuto al vaso sanguigno poiché deve attraversare anche la parete dei capillari, questo può portare a pensare che per la diffusione per tempi brevi (7-8 h) si possa eludere il passaggio delle nanoparticelle nel flusso e quindi una diminuzione della quantità infusa.

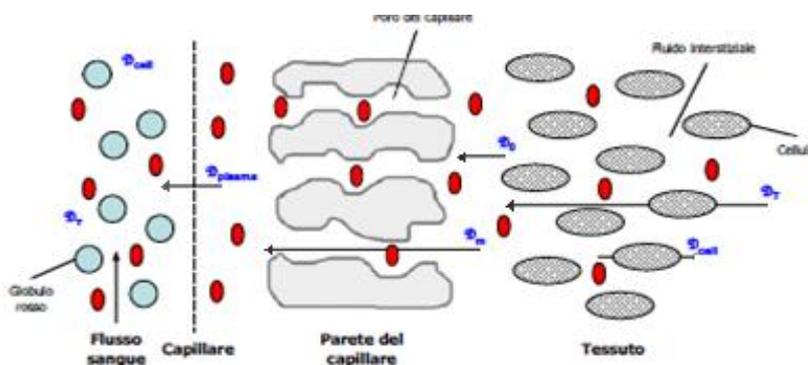


Fig 6.1 Percorso di una nano particella per entrare nel flusso sanguigno

6.3 Modelli con sfere

Per capire come modellizzare la diffusione delle nanoparticelle nei vari tessuti al fine di ottimizzare la concentrazione delle stesse per la cura, abbiamo iniziato a valutare modelli di sfere isotrope con vari tipi di materiale, cercando parametri accessibili dall'esterno che regolano la diffusione.

Utilizzando il Comsol abbiamo simulato la diffusione di nanoparticelle utilizzando il pacchetto per la diffusione che usa le formule:

per i volumi:

$$\delta_{ts} \frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (D \cdot \nabla c) = R \quad (6.19)$$

Con R (che rappresenta la costante con cui il fluido viene eliminato)=0

Per le superfici

$$n(N_1 - N_2) = N_0 + k_{ci}(c_{bi} - c_i) \quad (6.20)$$

$$Ni = -D\nabla c_i$$

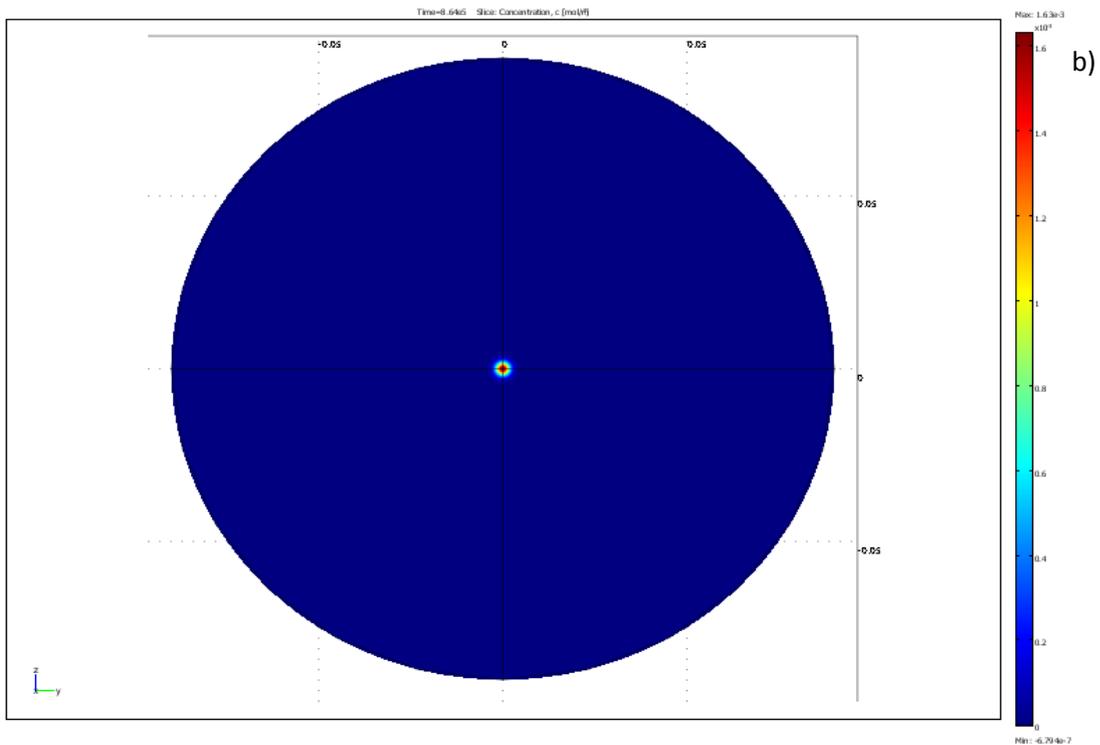
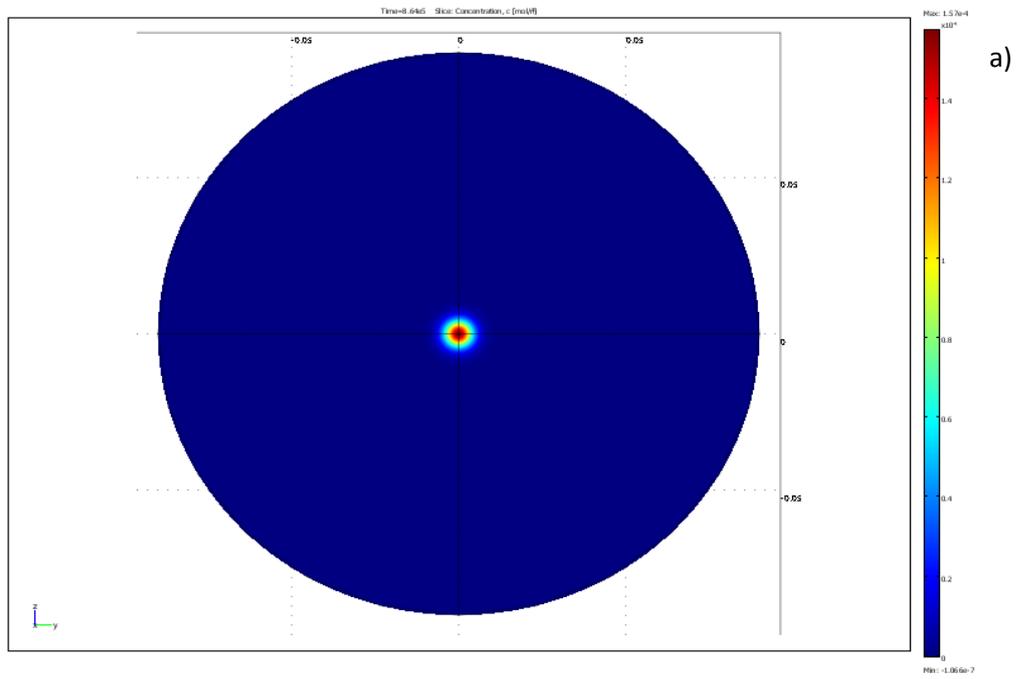
I modelli consistono in sfere di raggio 10 cm al cui centro viene inserito un cilindro dello stesso materiale (per non perturbare il modello) usando la superficie di base come punto di iniezione per le nanoparticelle. Per valori delle costanti per le sfere sono stati ottenuti dalla bibliografia, per tre materiali diversi osso, tumore e materia cerebrale, i valori della diffusività sono stati corretti con la legge di Einstein per il diametro delle nanoparticelle.

Materiale	ADC H2O x1e-3 (mm ² /s)	ADC nano x1e-6 (mm ² /s)
Osso	0.15	1.171
Materia cerebrale	0.80	6.250
Tumore	1.030	8.047

$$D_{(nano,B)} = D_{(H_2O,B)} \cdot \frac{r_{H_2O}}{r_{nano}}$$

Tabella 6.2 di correzione dell'ADC

Il bolo di infusione delle nanoparticelle ha un tempo di infusione di 1 sec.



6.4 Analisi Dati

Dalle simulazione di diffusione calcolata su 10 giorni e campionata ogni ora si ottengono delle curve che rappresentano la concentrazione al variare dello spazio e nel tempo

Fig 6.3 Diffusione delle particelle nello spazio

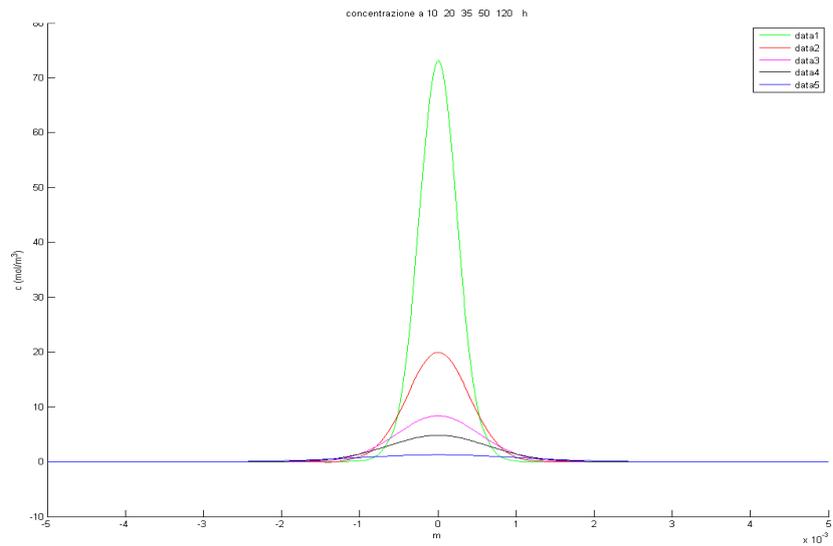
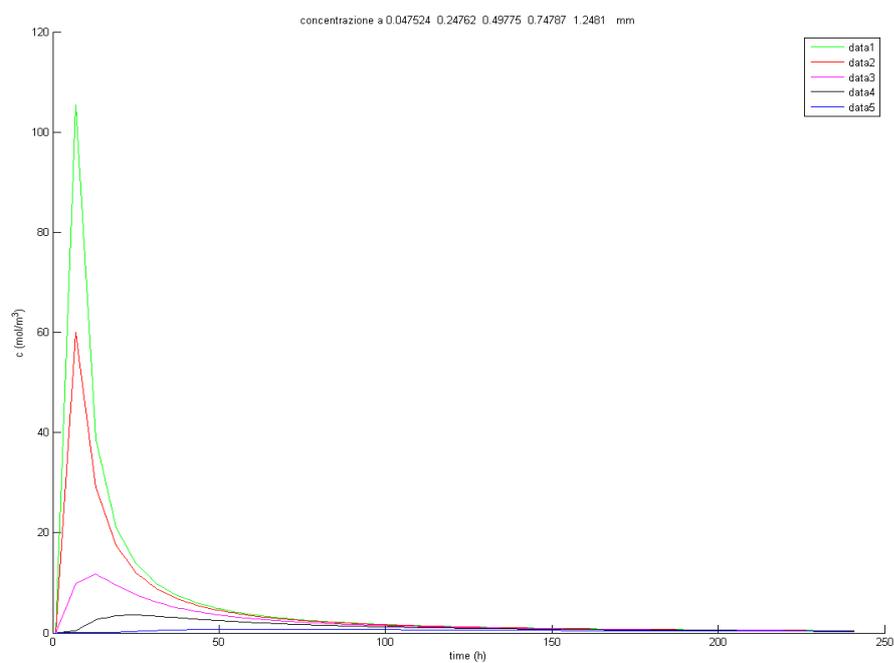


Fig 6.4 Diffusione delle particelle nel tempo



Si nota che queste curve per la diffusione spaziale hanno forma gaussiana per cui vengono analizzati i parametri di media, ampiezza, area sotto la curva e deviazione standard e si valuta come ricostruirle

Fissato quindi un tempo si ricostruisce la distribuzione gaussiana della diffusione delle particelle partendo da parametri estratti dalla curva, la funzione di ricostruzione è

$$y = amp * e^{\left(\frac{(x-m)^2}{a^2}\right)} \quad (6.21)$$

Con

$$a = \frac{\int c(x)dx}{\max(c) * \sqrt{\pi}} \quad (6.22)$$

con ottimi risultati per la ricostruzione

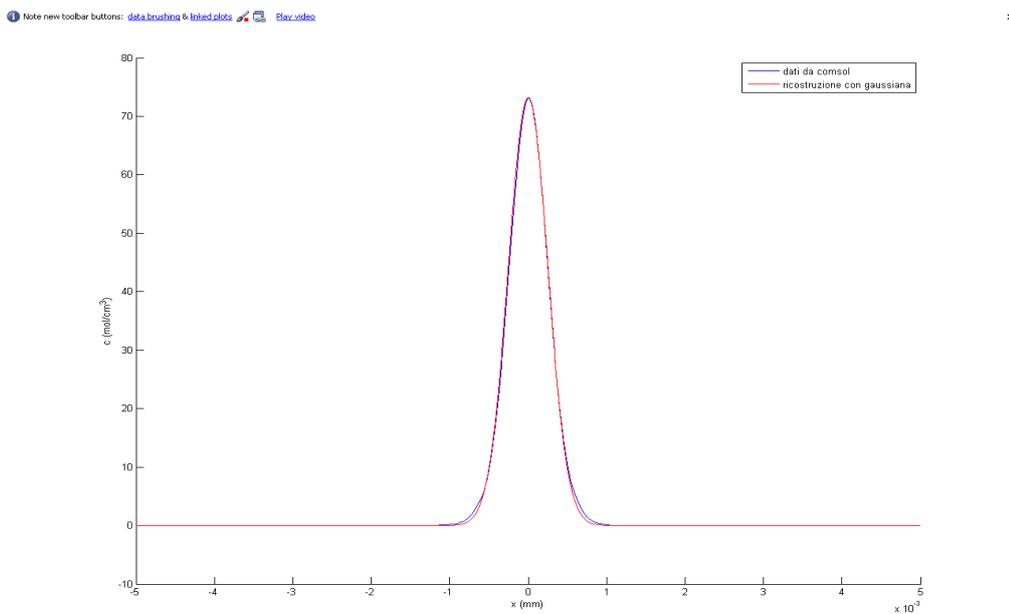


Fig 6.5 Ricostruzione della diffusione delle particelle nello spazio

6.5 Parametri

Dalla ricostruzione delle curve si nota che sono solo 2 i parametri gestibili per ottenere la gaussiana desiderata l'ampiezza (Amp) e la standard deviation (a), si è cercato quindi di capire in che modo si possano modificare e da cosa dipendano.

Media (m)

la media della gaussiana si nota facilmente che dipende dalla posizione nello spazio in cui viene effettuata l'iniezione delle nanoparticelle per cui è completamente gestibile dall'esterno con le sole limitazioni di tipo clinico (si cerca di poter creare il minimo danno per il paziente e punti fisicamente non raggiungibili)

Standard deviation (a)

La standard deviation ossia la 'larghezza' della gaussiana è nota dalla teoria e dipende solo dal coefficiente di diffusione e dal tempo

$$x = \sqrt{2Dt}$$

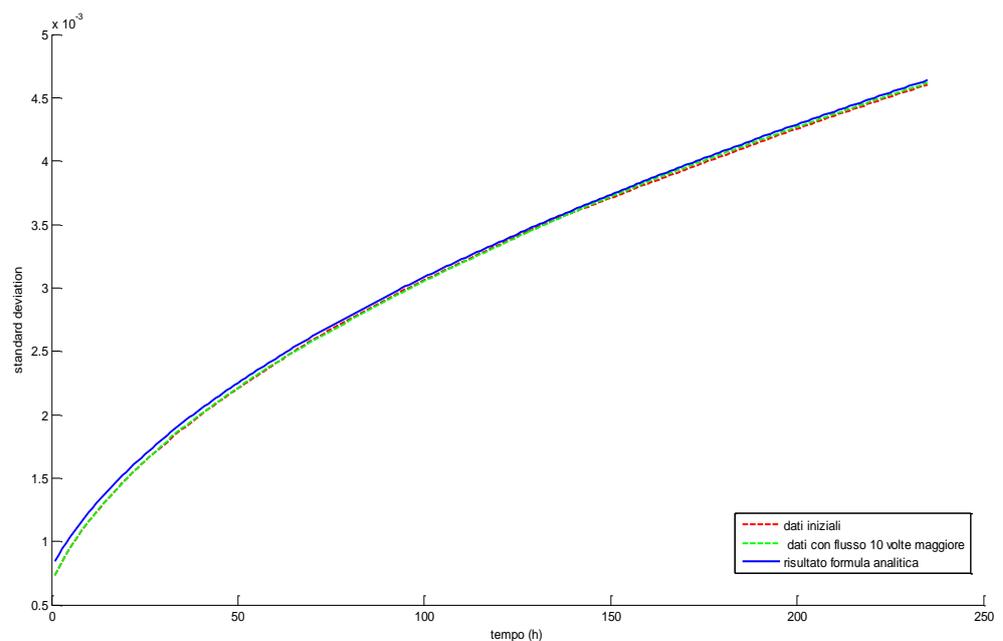


Fig 6.6 Ricostruzione della SD e calcolo con formula analitica

La ricostruzione della SD ricavata dai dati della simulazione segue molto fedelmente la curva teorica per cui va notato che c'è un unico parametro che noi possiamo controllare ed è il tempo di attesa.

Ampiezza (amp)

Una maggior attenzione è riservata all'ampiezza che viene valutata come un fit dei dati ottenuti dall'analisi e può essere fittata con somme di esponenziali (viene esclusa la prima parte di espansione delle particelle dovute al flusso):

$$Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} + Ce^{-\gamma t} \quad (6.23)$$

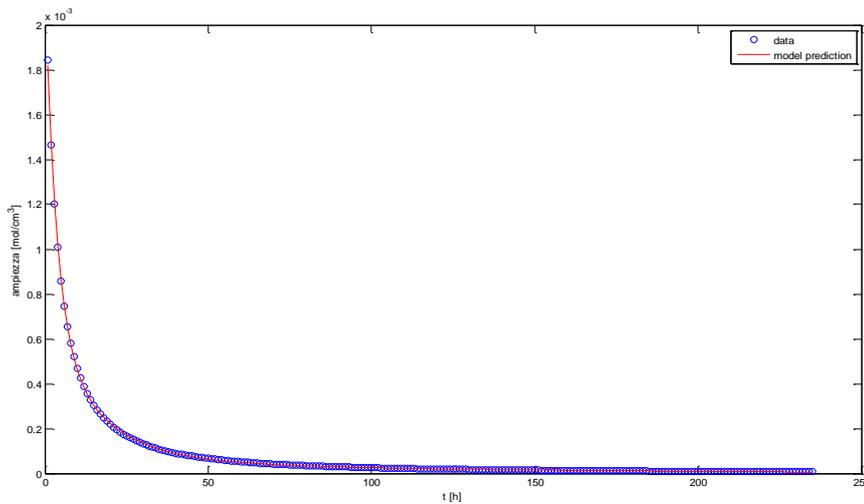


Fig 6.6 Fit dell'ampiezza

Tabella 6.3 Parametri ampiezza nel tessuto tumorale

Dimensione del bolo * $((1.547e-12)/3.105e-8)$	A [mol/cm ³]	α [1/s]	B [mol/cm ³]	β [1/s]	C [mol/cm ³]	γ [1/s]
50	0,3942 e-3	0,3806	0,1803	0,0821	3,2379 e-05	0,0154
100	0,7339 e-3	0,3644	0,3983	0,0875	5,6278 e-05	0,0141
200	1,4308 e-3	0,3534	0,7896	0,0869	1,0809 e-04	0,0136
800	3,5167 e-3	0,3549	1,9547	0,0877	2,6923 e-04	0,0137
1000	5,7796 e-3	0,3557	3,2176	0,0877	4,4263 e-04	0,0137
1400	7,0136 e-3	0,3555	3,9204	0,0877	5,3638 e-04	0,0137

Tabella 6.4 Parametri ampiezza nel tessuto osseo

[Digitare il titolo del documento]

Dimensione del bolo *((1.547e-12)/3.105e-8)	A [mol/cm ³]	α [1/s]	B [mol/cm ³]	β [1/s]	C [mol/cm ³]	γ [1/s]
1	1,2134	0,1952	0,2015	0,0370	0,01869	0,0053
10	12,1695	0,1972	2,1273	0,0396	0,23863	0,0066
100	119,4119	0,1979	20,1365	0,0384	2,14827	0,0062
1e8	1,16910e8	0,1964	1,9733e8	0,0388	2,1461e6	0,0063

dove con vari esperimenti si nota che:

α, β, γ dipendono dal tipo di materiale in cui la materia diffonde poiché rimangono uguali al variare del flusso

A, B, C dipendono linearmente dalla quantità di flusso.

Il fit con un numero maggiore di parametri complica inutilmente i calcoli e peggiora le stime dei parametri, la diminuzione degli esponenziali porta a un fit peggiore oltre a non poter più identificare i parametri che sono indipendenti dal flusso.

Per cui dell'ampiezza si possono controllare due parametri la dimensione del bolo infuso e anche in questo caso il tempo di attesa .

Per cui alla fine si possono considerare solo due parametri per la costruzione della gaussiana che noi vogliamo:

- l'ampiezza del bolo
- il tempo di attesa

ma con questi parametri si possono creare numerose varietà di gaussiane.

6.6 Somma di gaussiane

Si è poi analizzato cosa succede linearmente se si sommano le gaussiane che rappresenta il caso di infusioni multiple.

Si è valutato risultati con distribuzioni di particelle con ampiezze uguali, e standard deviation diverse (si può ottenere variando la quantità di particelle infuse).

Nel nostro caso consideriamo un'ampiezza di concentrazione fissa di $16 \times 10^{-6} \text{ mol/cm}^3$ per tutte le standard deviation prese (i tempi di attesa diversi).

La dosimetria consigliata per ottenere la temperatura terapeutica è compresa tra le 24×10^{-6} e le $8 \times 10^{-6} \text{ mol/cm}^3$.

Per la costruzione della somma delle gaussiane fissiamo l'ampiezza dell'intervallo di analisi (che chiamiamo A_r) a 30 mm e consideriamo gaussiane a destra e a sinistra di quella centrale (posta a $A_r/2$, 15 mm), tenendo fisse il numero delle infusioni ($N_g=7$).

Valutiamo quindi al variare della SD e dell'intervallo di ripetizione dell'infusione come si distribuiscono le particelle nell'intervallo. (Nel caso in cui l'infusione cade fuori dall'intervallo si considerano solo le code della gaussiana generata)

Si utilizzeranno :

- Intervalli di ripetizione [0.2,0.4,0.6,1,2,5] mm
- SD delle gaussiane :

t (h)	7	12	15	20	30
SD* (mm)	0,2278	0,2983	0,3335	0,3851	0,4716

*la SD è calcolata come $\sqrt{2Dt}$

Vengono valutati i seguenti valori

Sull'intero asse

- Il massimo della somma delle gaussiane
- La media
- La differenza max ,min
- Il grado di uniformità ((max-min)/mean).

Sull'intervallo (media-((N_g-1)/2*inter_rip), media+((N_g-1)/2*inter_rip))

- Il minimo
- La media
- Il grado di uniformità ((max-min)/mean).

Si considera il caso in cui l'intervallo è minore di dell' intero asse

Tabella 6.5 Parametri calcolati per la somma delle gaussiane

[Digitare il titolo del documento]

SD=0,2278 (dopo 7 h)

Intervallo ripetizione	Massimo (asse)	Media (asse)	Max-min (asse)	Grado uniformità (asse)	Lunghezza (inter)	Media (inter)	Minimo (inter)	Grado uniformità (inter)
0,2	30,282	1,412	30,282	21,435	0,6	29,079	22,641	0,262
0,4	16,374	1,412	16,374	11,590	1,2	15,110	13,893	0,164
0,8	15,000	1,412	15,000	10,618	2,4	7,5860	1,3742	1,796
1	15,000	1,412	15,000	10,617	3	6,0713	0,2425	2,430
2	15	1,412	15	10,617	6	3,0382	1,2825	4,937
5	15	1,215	15	12,336	-1	-1	-1	-1

*valori negativi indicano che l'intervallo sarebbe maggiore dell'asse considerato

Tabella 6.6 Parametri calcolati per la somma delle gaussiane

SD=0,2983 (dopo 12 h)

Intervallo ripetizione	Massimo (asse)	Media (asse)	Max-min (asse)	Grado uniformità (asse)	Lunghezza (inter)	Media (inter)	Minimo (inter)	Grado uniformità (inter)
0,2	39,631	1,849	39,631	21,423	0,6	36,893	27,327	0,333
0,4	19,990	1,849	19,990	10,806	1,2	19,626	17,495	0,127
0,8	15,022	1,849	15,022	8,120	2,4	9,923	4,9684	1,013
1	15,000	1,849	15,000	8,108	3	7,942	1,8070	1,661
2	15	1,849	15	8,108	6	3,974	0,0003	3,773
5	15	1,590	15	9,430	-1	-1	-1	-1

*valori negativi indicano che l'intervallo sarebbe maggiore dell'asse considerato

Tabella 6.7 Parametri calcolati per la somma delle gaussiane

SD=0,3335 (dopo 15 h)

Intervallo ripetizione	Massimo (asse)	Media (asse)	Max-min (asse)	Grado uniformità (asse)	Lunghezza (inter)	Media (inter)	Minimo (inter)	Grado uniformità (inter)
0,2	44,234	2,068	44,234	21,387	0,6	40,562	29,666	0,359
0,4	22,213	2,068	22,213	10,740	1,2	21,818	18,606	0,165
0,8	15,095	2,068	15,095	7,298	2,4	11,090	7,118	0,719
1	15,003	2,068	15,003	7,254	3	8,876	3,169	1,333
2	15,000	2,068	15,000	7,252	6	4,442	0,003	3,375
5	15	1,777	15	8,437	-1	-1	-1	-1

*valori negativi indicano che l'intervallo sarebbe maggiore dell'asse considerato

Tabella 6.8 Parametri calcolati per la somma delle gaussiane

SD=0,3851 (dopo 20 h)

Intervallo ripetizione	Massimo (asse)	Media (asse)	Max-min (asse)	Grado uniformità (asse)	Lunghezza (inter)	Media (inter)	Minimo (inter)	Grado uniformità (inter)
0,2	50,754	2,388	50,754	21,252	0,6	45,663	33,096	0,386
0,4	25,601	2,388	25,601	10,720	1,2	24,957	20,300	0,212
0,8	15,407	2,388	15,407	6,448	2,4	12,796	10,200	0,406
1	15,035	2,388	15,035	6,295	3	10,246	5,55	0,924
2	15,000	2,388	15	6,280	6	5,127	0,035	2,918
5	15	2,052	15	7,309	-1	-1	-1	-1

*valori negativi indicano che l'intervallo sarebbe maggiore dell'asse considerato

[Digitare il titolo del documento]

Tabella 6.9 Parametri calcolati per la somma delle gaussiane

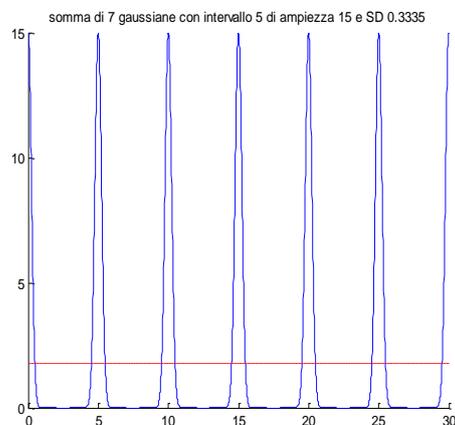
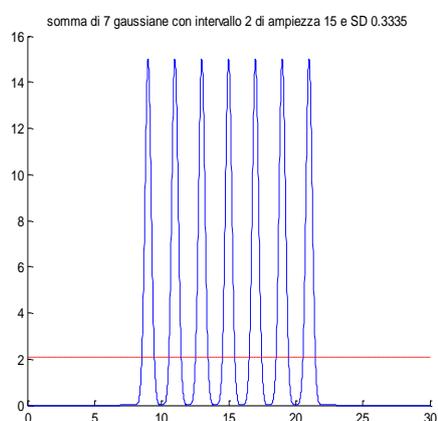
SD=0,4716 (dopo 30 h)

Intervallo ripetizione	Massimo (asse)	Media (asse)	Max-min (asse)	Grado uniformità (asse)	Lunghezza (inter)	Media (inter)	Minimo (inter)	Grado uniformità (inter)
0,2	60,618	2,924	60,618	20,726	0,6	53,473	38,843	0,407
0,4	31,345	2,924	31,345	10,717	1,2	30,026	23,172	0,272
0,8	16,688	2,924	16,688	5,7061	2,4	15,630	14,634	0,131
1	15,334	2,924	15,334	5,243	3	12,537	9,749	0,445
2	15,000	2,924	15,000	5,128	6	6,276	0,334	2,336
5	15	2,511	15,000	5,971	-1	-1	-1	-1

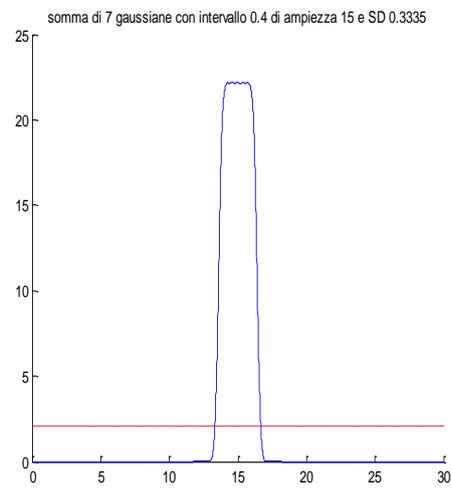
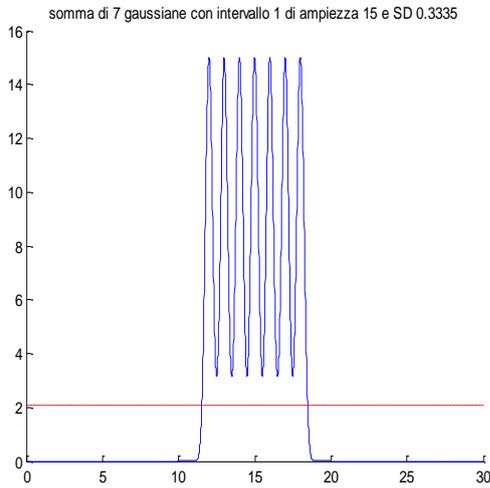
*valori negativi indicano che l'intervallo sarebbe maggiore dell'asse considerato

L'andamento delle somma di gaussiane è ha una forma simile per rapporti uguali di SD e intervallo di ripetizione considerato.

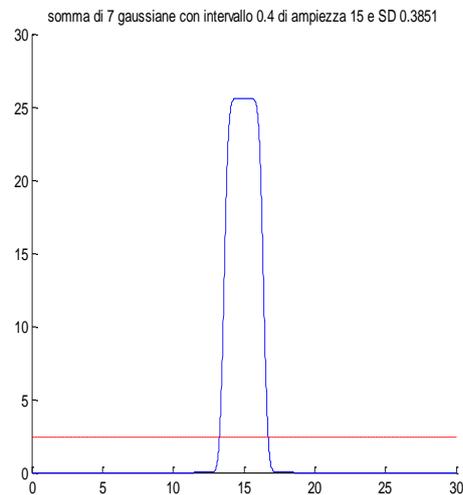
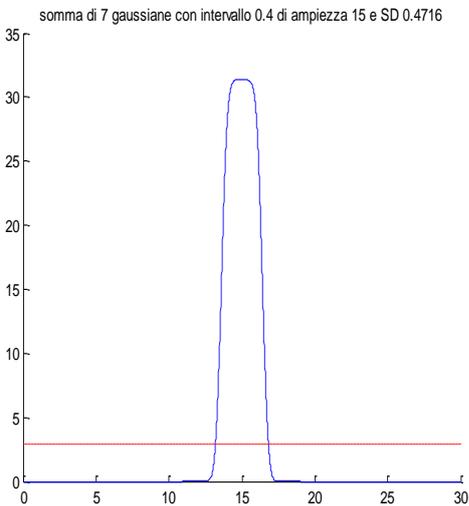
Per gli intervalli di ripetizione molto più grandi ($\text{inter} > 5 \cdot \text{SD}$) si hanno ancora le gaussiane separate e il contributo delle code di quelle adiacenti è ancora trascurabile.



L'andamento comincia a variare quando le dimensioni dell'intervallo di ripetizione cominciano ad essere prossime alla SD ($SD < inter < 3 * SD$) dato che più code si sommano, si crea prima a un'ondulazione marcata poi sempre meno

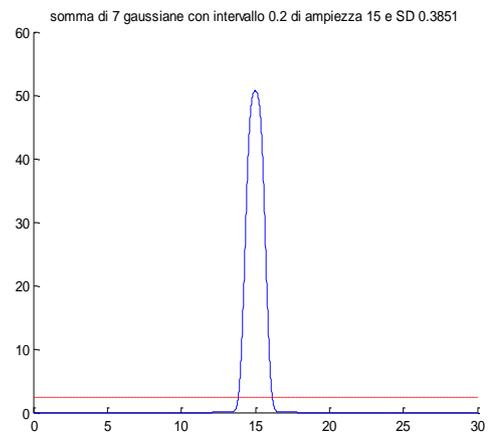
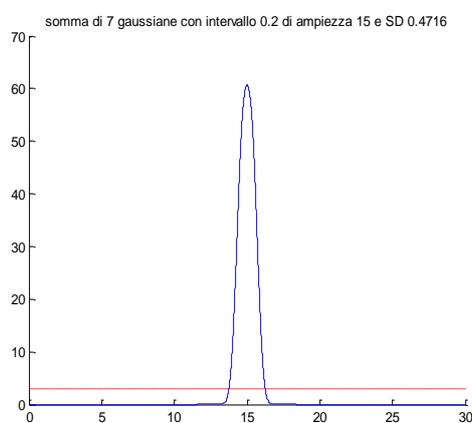


fino a diventare un plateau per valori dell' intervallo uguali o leggermente inferiori a SD



Per diventare infine una gaussiana con ampiezza e SD maggiore

[Digitare il titolo del documento]



Si nota dalla tabella e si è verificato con altre sperimentazioni che l'intervallo di ripetizione migliore per grado di uniformità è circa intervallo di ripetizione $=SD*3/2$

Mentre per l'applicazione di cure mediche l'intervallo di ripetizione può essere ampliato, essendo molto ampio l'intervallo di concentrazione per la terapia, per cui si può accettare anche un ondulazione marcata basta che rimanga all'interno dei limiti di dosaggio (una buona soluzione deve essere che l'intervallo di rip sia circa 2 volte la SD).

Si nota che per avere l'intero asse con una distribuzione sufficiente si devono aumentare le infusioni in modo da mantenere il rapporto intervallo di ripetizione e SD costante.

6.7 Simulazioni sul cervello ricostruito

Con il Comsol sono state fatte delle simulazioni anche sul cervello ricostruito per vedere come si diffondono le particelle nelle tre dimensioni e anche attraverso vari materiali.

Si sono considerati tutti i materiali isotropi di cui il coefficiente di diffusione è stato trovato in bibliografia e poi corretto con la formula di Einstein per le nanoparticelle.

Si è considerato un lasso di tempo maggiore fino ai 15 giorni per la diffusione, si è considerata anche una piccola perdita nella quantità di nanoparticelle per simulare un possibile ingresso di quest'ultime nel flusso sanguigno.

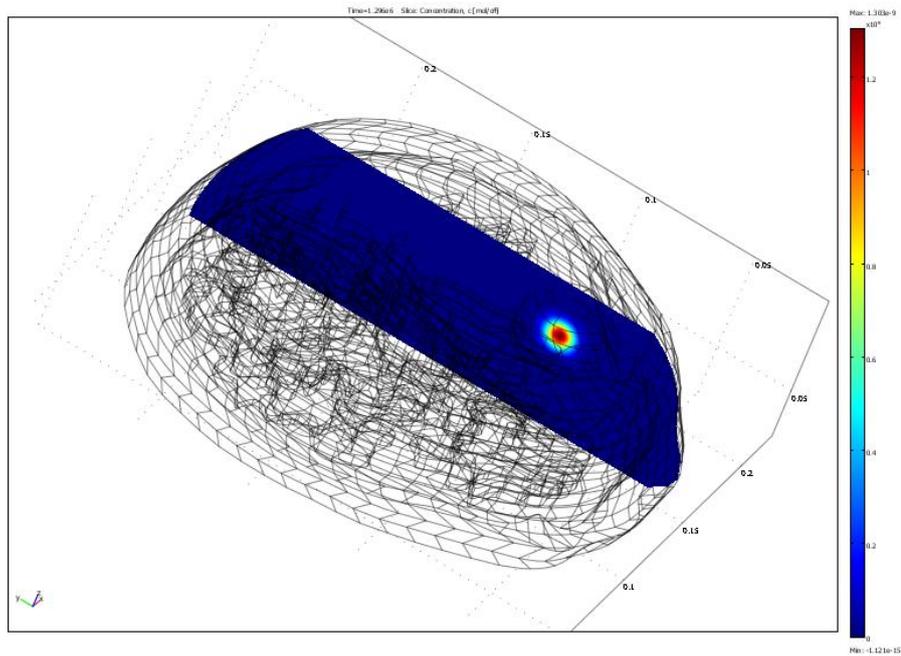


Fig 6.7 Diffusione dopo 15 gg con una sola infusione

Si vede come l'uso di tutti i materiali isotropi porti alla generazione di sfere di concentrazione e solo il variare del tipo di materiale provoca una modifica nelle isosuperfici.

Per valutare la somma spaziale è stata effettuata una simulazione con due infusioni ottenendo una variazione della concentrazione e lo sviluppo di isosuperfici di concentrazioni diverse dalla sfera e più complesse

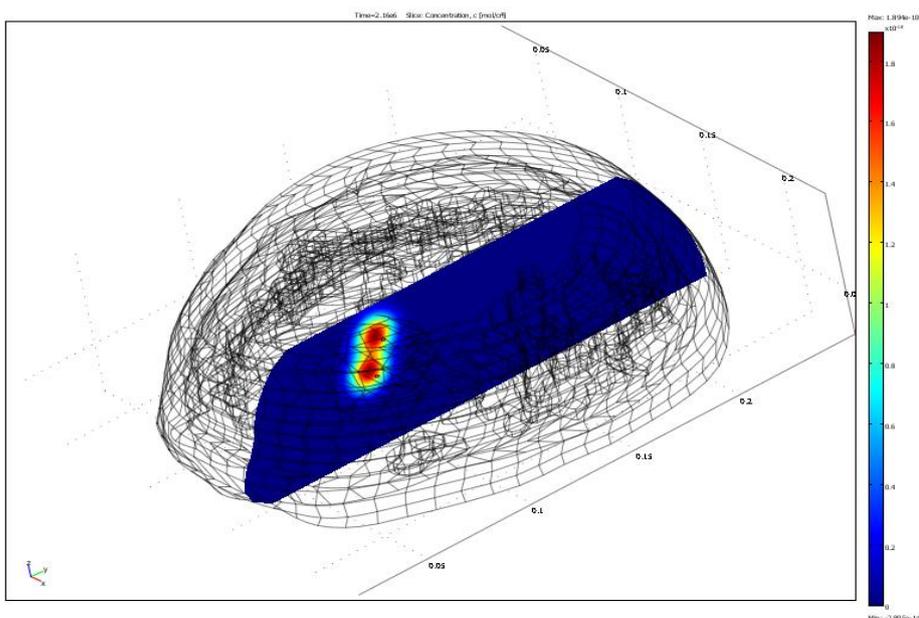


Fig 6.8 Diffusione dopo 15 gg con

[Digitare il titolo del documento]

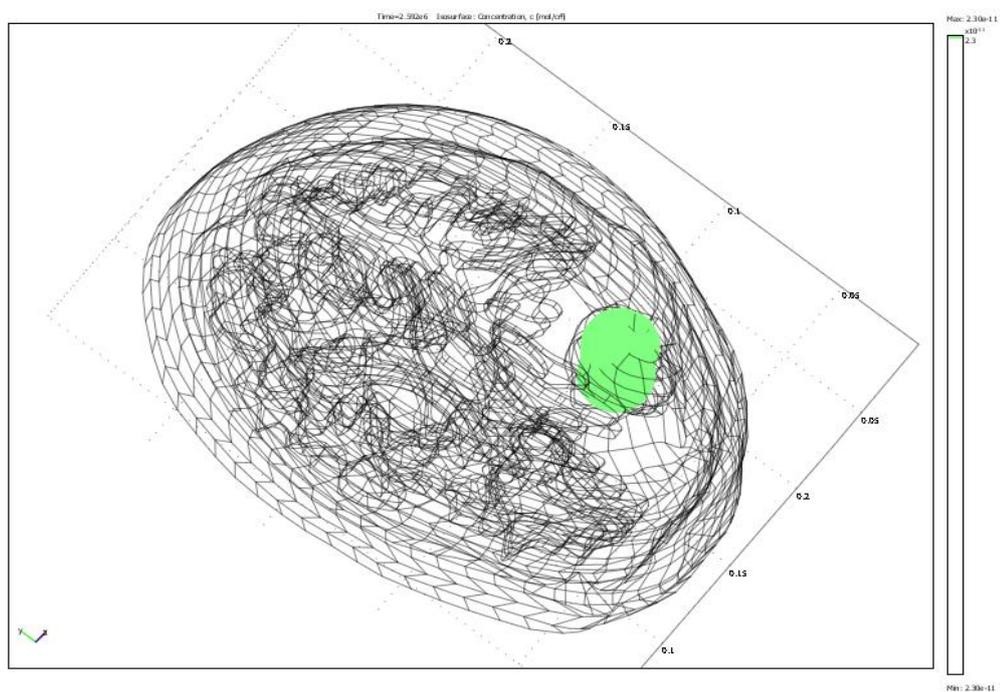


Fig 6.9 Isosuperficie di diffusione dopo 15 gg con due infusioni

Capitolo 7

Multiphysic

Tutte le simulazioni precedenti sia di bio calore che di diffusione, vengono composte con il sistema del multiphysic per valutare le variazioni di temperatura che porta il riscaldamento dei tessuti con le nanoparticelle.

7.1 Comsol multiphysic

La possibilità di creare modelli multifisici, cioè con più di un modelli fisici o l'equazione come i problemi dei campi accoppiati è una delle più potenti funzionalità di COMSOL Multiphysics. In tale modello, il software è in grado di risolvere le equazioni, tratte da vari settori della fisica, come un sistema completamente accoppiato.

All'interno di COMSOL Multiphysics è possibile scegliere tra diversi modi di approccio alla modellazione multifisica e l'analisi accoppiata campo. Spesso si usa il model navigator per specificare la modalità di applicazione e loro proprietà.

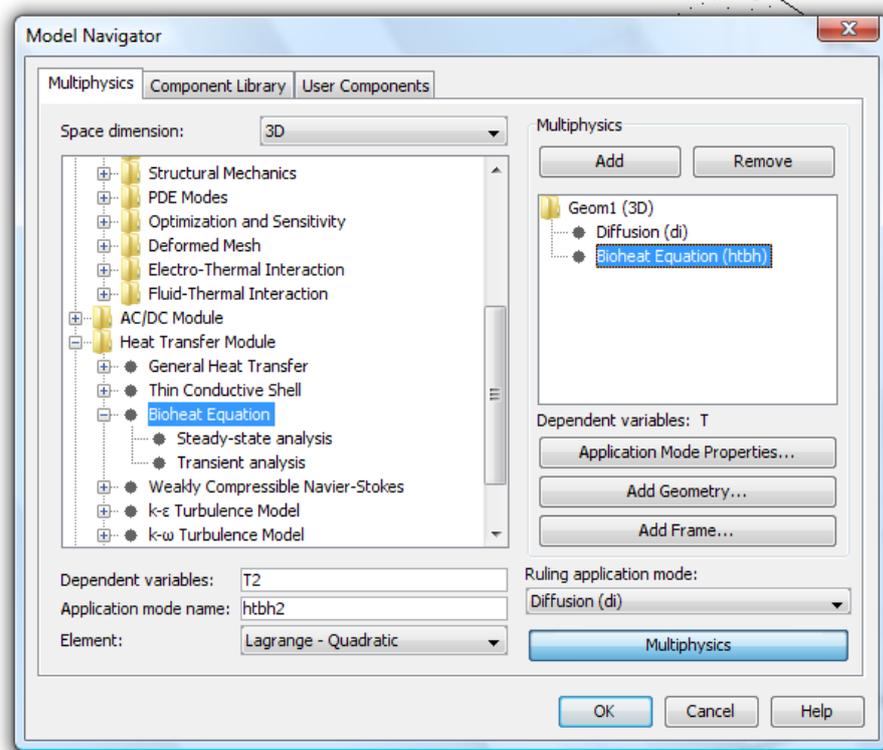


Fig 7.1 Schermata Comsol multiphysic

7.2 Simulazione

Nel caso trattato è stato accoppiato il modello della diffusione con quello del biocalore entrambi con sistemi con transitori.

La simulazione è fatta per ottenere la temperatura dei tessuti in base a come si sono distribuite le nano particelle.

Dal modello di diffusione (in questo caso a 2 infusioni), risolto con un tempo di x giorni, cercando di ottenere una concentrazione in linea con il dosaggio richiesto per la cura dove si considerano le particelle monodisperse.

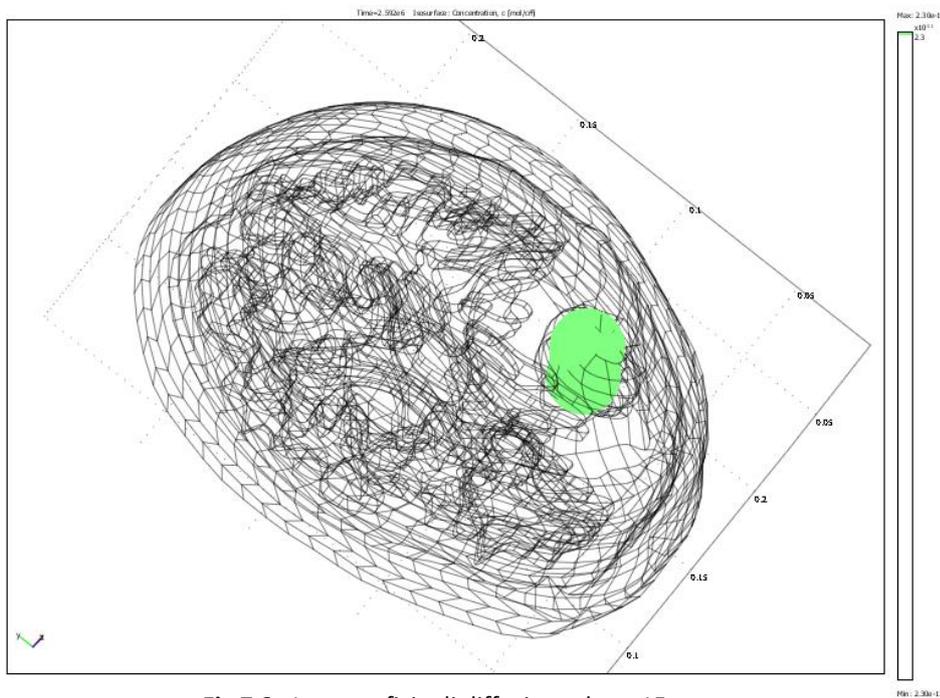


Fig 7.2 Isosuperficie di diffusione dopo 15 gg
con due infusioni

Si applica un'energia ricavata dal SAR

Si considera la potenza fornita solo in funzione, considerando tutti gli altri parametri fissati

$$P=\alpha C$$

Il risultato è un profilo di temperatura molto simile a quello della concentrazione ma l'effetto della perfusione sanguigna è ancora visibile.

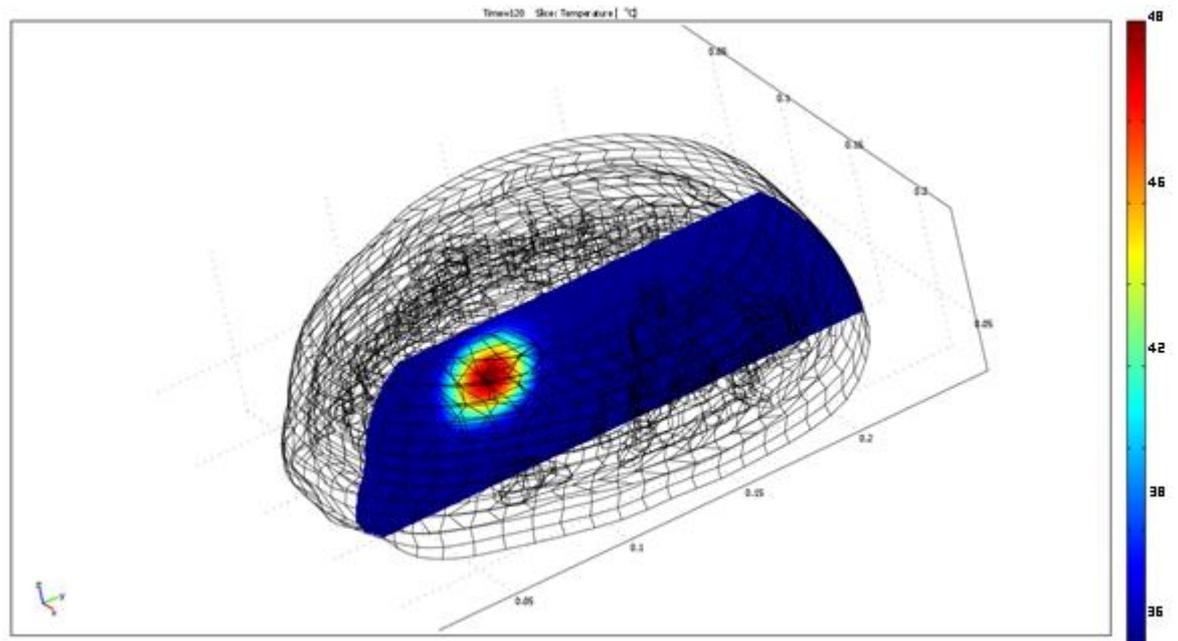


Fig 7.3 Immagine della temperatura ricavata con il

7.3 Differenze tra diffusione calcolata e l'uso di una diffusione omogenea

Si nota facilmente che la temperatura ha una distribuzione notevolmente diversa, visto che con la diffusione ottenuta in Comsol la dissipazione del calore attraverso la perfusione sanguigna risulta molto più efficace, inoltre lo non si vede uno stacco netto della temperatura come accade nella distribuzione uniforme.

Le differenze si vedono anche se si analizza la potenza poiché in un caso si ha una potenza distribuita in maniera uniforme sul volume tumorale (calcolata come nel capitolo 5) e uno stacco netto appena fuori dalla superficie

$$P = \pi \mu_0 \chi_0 H_0^2 f \frac{\omega \tau}{1 + (\omega \tau)^2}$$

mentre con la diffusione si ha un passaggio più graduale e le code di diffusione escono anche nel tessuto sano fornendo potenza anche a quest'ultimo.

$$P = P_{max} e^{\frac{-r^2}{(\alpha \sigma)^2}}$$

Dove r è la distanza dal punto di iniezione σ è la SD della diffusione e α è una costante che lega la SD della diffusione alla potenza

Queste due considerazioni portano alla conclusione che il calcolo con una diffusione omogenea riduce la precisione dei calcoli rispetto alla realtà.

Capitolo 8

Ricostruzione con DTI

8.1 DTI

È un tipo di imaging, di recente scoperta, anche se la teoria risale agli anni 50, le prime applicazioni grazie alla soluzione delle equazioni di Bloch–Torrey

$$M_+(\vec{r}, t) = M_0 e^{-\frac{1}{3}D\gamma^2 G^2 t^3} e^{-j\gamma\vec{r}\cdot\int_0^t dt' \vec{G}(t')}. \quad (8.1)$$

dove si dimostra la dipendenza nel tempo della magnetizzazione trasversa.

Le prime applicazioni arrivarono solo all'inizio degli anni novanta con Michael Moseley e Aaron Filler che svilupparono la tecnica per ottenere i tensori della diffusività.

Questa tecnica misura la diffusione delle molecole d'acqua nei tessuti biologici: in un mezzo isotropico, le molecole di liquido si muovono di moto browniano casuale invece nei tessuti biologici la diffusione può essere anisotropica. Ad esempio una molecola d'acqua all'interno di un assone di un neurone ha una probabilità molto bassa di attraversare la membrana mielinica di conseguenza la molecola si muoverà principalmente lungo l'asse della fibra neurale. Ribaltando il concetto, se misuriamo che le molecole d'acqua in una certa regione si stanno muovendo (*diffondendo*) lungo una particolare direzione, possiamo assumere che la maggior parte della fibre nella regione sono orientate parallelamente a questa direzione.

La tecnica di imaging del tensore di diffusione (*Diffusion tensor imaging*, o *DTI*), permette di misurare la diffusione nelle tre direzioni spaziali e l'anisotropia all'interno del singolo voxel.

Un'altra tecnica di misurazione della diffusione è l'imaging pesato in diffusione (*Diffusion-weighted imaging*, o *DWI*), che permette la misurazione della distanza di diffusione delle molecole d'acqua.

Queste tecniche permettono la tracciatura di mappe delle direzioni delle fibre del cervello per esaminare le connessioni tra le varie aree (usando la trattografia), oppure esaminare aree di degenerazione neuronale e demielinizzazione in malattie come la sclerosi multipla.

8.2 Il segnale MRI di diffusione

L'applicazione di un impulso di gradiente di campo magnetico lungo un asse, crea uno sfasamento Φ del momento magnetico μ dello spin che è funzione della sua posizione x_i ed è pari a

$$\Phi_i = \int_0^{\delta} \gamma G x_i dt \quad (8.2)$$

Dove :

- G = intensità del campo applicato lungo l'asse x
- δ = durata dell'impulso
- γ = rapporto giromagnetico

se lo spin è stazionario l'applicazione di due impulsi in successione uno opposto all'altro, con direzione uguale ma ampiezza opposta, fa sì che lo sfasamento sia nullo.

Nel caso la molecola sia soggetta al processo di diffusione, il suo movimento lungo la direzione del gradiente porta a uno sfasamento nello spin pari a

$$\Delta\Phi = \Phi_1 - \Phi_2 = \gamma\delta G(x_1 - x_2) \quad (8.3)$$

Si può vedere quindi se i nuclei sono in movimento $\Delta\Phi = \Phi_1 - \Phi_2 \neq 0$, altrimenti se $\Delta\Phi = \Phi_1 - \Phi_2 = 0$ i nuclei sono fermi.

Usando una particolare sequenza di acquisizione MRI detta di Stejskal-Tanner il segnale misurato è pari a

$$S = S_0 e^{[-\gamma\delta G]^2 \Delta t D} = S_0 e^{-bD} \quad (8.4)$$

Con

$$b = (-\gamma\delta G)^2 \Delta t \quad (8.5)$$

Che dipende dalla sola sequenza di acquisizione e non dal materiale

[Digitare il titolo del documento]

Variare il valore di b ha degli effetti sulle immagini dato che aumentandolo si ha un aumento della pesatura in diffusione, la riduzione del SNR ma comporta un aumento del tempo di acquisizione.

8.3 Coefficienti di diffusione per l'isotropia e l'anisotropia

Il valore di D può essere valutato in modi diversi a seconda del materiale : se il materiale è isotropo D è un numero che spesso rappresenta il coefficiente di diffusione apparente (ADC) .

Interpretando il segnale come

$$S = S_0 e^{-bADC} \quad (8.6)$$

E ricavando dal segnale

$$\ln\left(\frac{S}{S_0}\right) = -ADC \cdot b \quad (8.7)$$

L'ADC può essere calcolato da una regressione lineare da almeno due sequenze di Stejskal-Tanner applicate con b-value diversi.

e impostando $y = \ln\left(\frac{S}{S_0}\right)$, $x = b$ e $ADC=m$

Nel caso in cui il tessuto sia anisotropo con la sola descrizione tramite ADC si perdono delle informazioni su materiale. Si usa quindi un tensore di diffusione che rappresenta le varie diffusioni nelle tre dimensioni.

La formula diventa quindi una formula vettoriale

$$S = S_0 e^{-\sqrt{b}D\sqrt{b^T}} \quad (8.8)$$

E si cerca la matrice

$$\begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{bmatrix}$$

Dall' equazione:

$$\ln\left(\frac{S}{S_0}\right) = [\sqrt{b_x}, \sqrt{b_y}, \sqrt{b_z}] \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \sqrt{b_x} \\ \sqrt{b_y} \\ \sqrt{b_z} \end{bmatrix} \quad (8.9)$$

Esplicitando :

$$\ln\left(\frac{S}{S_0}\right) = D_{xx} b_x + D_{yy} b_y + D_{zz} b_z + 2D_{xy} \sqrt{b_x} \sqrt{b_y} + 2D_{xz} \sqrt{b_x} \sqrt{b_z} + 2D_{yz} \sqrt{b_y} \sqrt{b_z} \quad (8.10)$$

In generale D è una matrice simmetrica con 6 elementi diversi, per questo motivo per la determinazione del versore in genere è necessario registrare almeno sei immagini lungo sei direzioni non collineari più un immagine non pesata in diffusione.

Una volta nota la matrice D vengono ricavate dalle informazioni dagli auto valori e dagli auto vettori:

con gli auto vettori si ottiene:

➤ Fractional anisotropy [0-1]
$$FA = \sqrt{\frac{1}{2} \frac{\sqrt{(\lambda_1 - \lambda_2)^2 + (\lambda_2 - \lambda_3)^2 + (\lambda_3 - \lambda_1)^2}}{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2}}$$

Che rappresenta in che proporzione il tessuto è anisotropo (1 ha anisotropia lungo una direzione 0 è anisotropo)

➤ Relative anisotropy [0-1]
$$RA = \sqrt{\frac{1}{2} \frac{\sqrt{(\lambda_1 - \lambda_2)^2 + (\lambda_2 - \lambda_3)^2 + (\lambda_3 - \lambda_1)^2}}{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}}$$

Che rappresenta quanto è sbilanciato lungo la direzione principale l'anisotropia

➤ Coefficiente di diffusione apparente
$$ADC = (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3)/3$$

Fig 8.1 Immagine FA

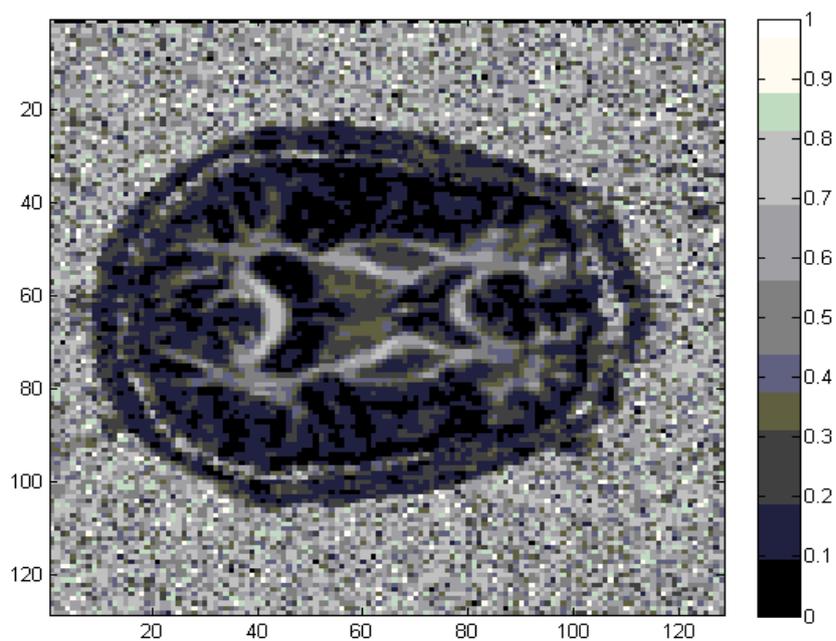
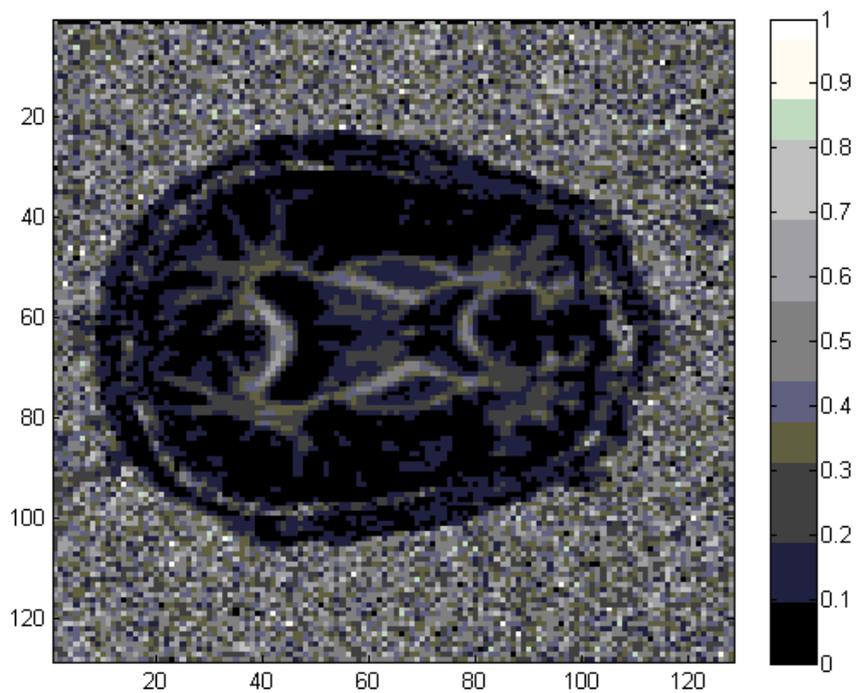


Fig 8.2 Immagine RA



Dagli auto vettori danno informazione relative all'orientamento spaziale di come si sviluppano le direzioni delle fibre, e spesso si utilizza solo il primo autovettore che è assunto rappresentare l'orientamento locale.

8.4 Utilizzo del DTI

L'utilizzo del DTI è finalizzato spesso al fiber tracking per vedere come sono orientate le fibre (materia bianca in genere) .

Nel nostro caso non si è interessati alla ricostruzione delle fibre ma al coefficiente di diffusione in sé e a come individuare zone con coefficiente di diffusione simile in modo da ricostruirle e utilizzarle per una simulazione in Comsol più realistica.

8.4.1 Analisi immagini e segmentazione

Con l'estrazione dei coefficienti di diffusione dalle immagini utilizzando la formula

$$\ln\left(\frac{S}{S_0}\right) = \bar{\mathbf{b}} \cdot \bar{\mathbf{D}} \quad (8.11)$$

Con $\bar{\mathbf{b}} = [b_x, b_y, b_z, \sqrt{b_x}, \sqrt{b_y}, \sqrt{b_z}]$

$$\bar{\mathbf{D}} = [D_{xx}, D_{yy}, D_{zz}, 2D_{xy}, 2D_{xz}, 2D_{yz}]^T$$

Per ogni immagine e per ogni b vector

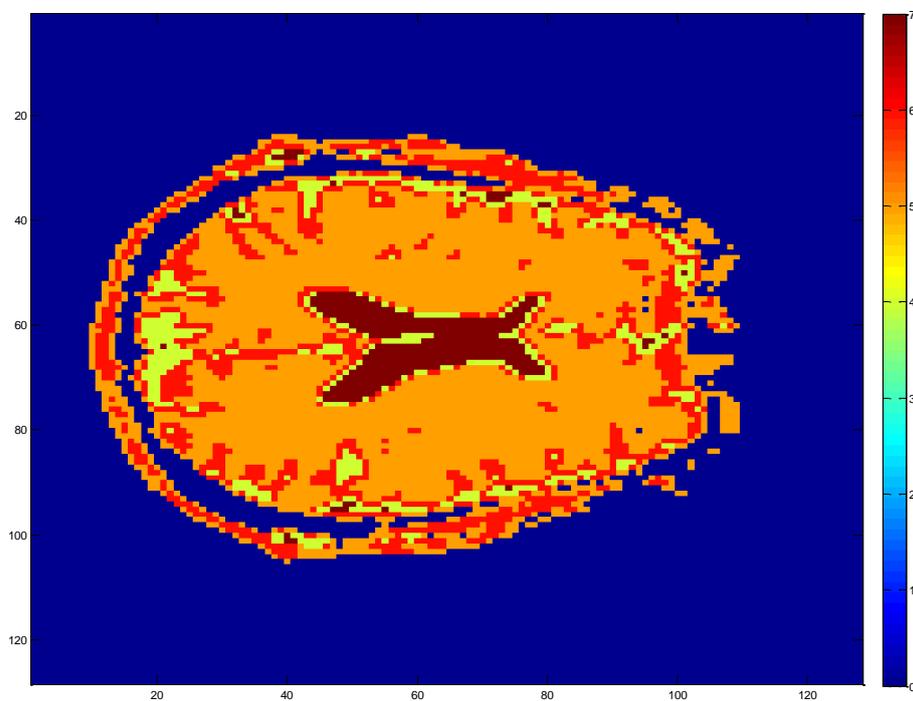
Si riesce così a ottenere una matrice contenente il vettore D per ogni voxel del volume selezionato.

Per segmentare in volumi con caratteristiche simili si è usato il metodo per la clusterizzazione dei dati implementato in Matlab (kmeans), associando quindi i voxel con andamento e valori simili. A ogni voxel del cluster viene quindi associato il valore del centroide e si crea una mappa con il valore dei cluster che è simile alle mappe che abbiamo utilizzato per le prime ricostruzioni.

Si elimina la parte non tissutale(sfondo) selezionando una parte del volume che sicuramente non appartiene al cranio e portando a 0 tutti i voxel dei cluster che appaiono nel volume selezionati

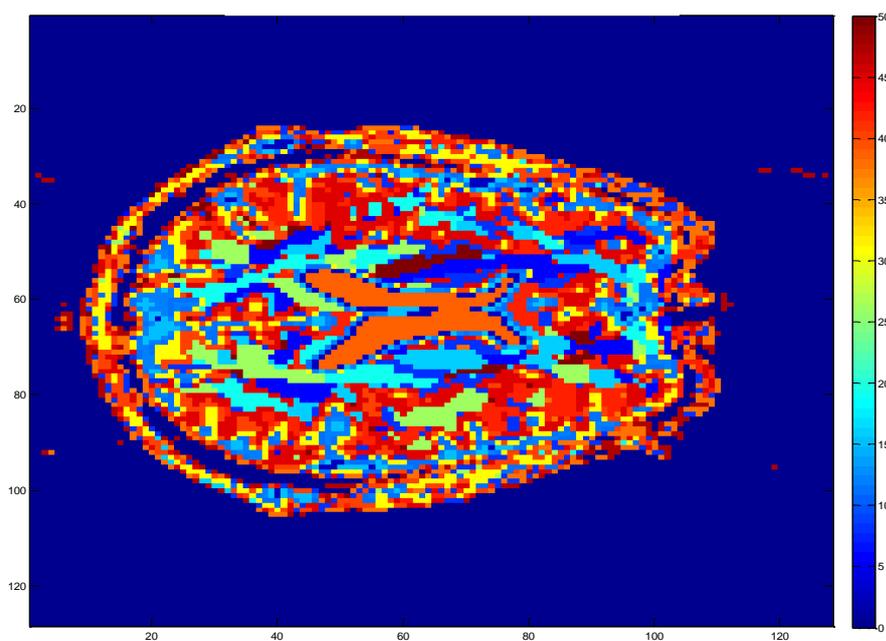
Un problema che appare subito è il numero di cluster da selezionare perché un numero basso di cluster seleziona aree ampie e la divisione vale solo per tessuti con delle differenze sostanziali dei coefficienti D_{ij} trovati si crea anche il problema che circa un quarto dei cluster identifica lo sfondo e quindi vengono eliminati.

Fig 8.3 Immagine DTI con 7 cluster



Una divisione più fine con un numero elevato di cluster evidenzia molte zone con differenze non molto marcate e di piccole dimensioni aumentando molto la complessità nella ricostruzione.

Fig 8.4 Immagine DTI con 50 cluster



Un valore che da una visione delle immagini sembra un buon compromesso tra le necessità di avere un non molto elevato numero di valori e una divisione buona del cranio sembra compreso tra i 13-18 cluster (sono stati selezionati 14).

Conclusioni

L'obiettivo di questa tesi è stato trovare un metodo per la ricostruzione dei volumi dei tessuti da immagini mediche, e la modellizzazione in questi tessuti della diffusione di nanoparticelle per poi calcolare l'aumento di temperatura indotto con campi magnetici.

Il lavoro presentato può essere riassunto come :

- Presentazioni delle principali tecniche di ipertermia
- Descrizione nano particelle utilizzate
- Illustrare i fondamenti teorici di diffusione delle nano particelle e del riscaldamento dei tessuti
- Costruzione di modelli per la simulazione
- Soluzione numerica dei modelli

Si è valutato che per la diffusione è un processo lento e quindi difficile da controllare in maniera molto fine, ma in compenso con l'uso delle nanoparticelle l'aumento della temperatura è molto mirato per i tessuti tumorali.

L'utilizzo delle immagini DTI permette di valutare meglio la diffusione valutando non più il solo coefficiente di diffusione apparente ma il tensore di diffusione migliorando la modellizzazione delle zone di diffusione.

Lo sviluppo degli studi sulle nanoparticelle da un forte impulso a questa tecnica poiché come si è visto la funzionalizzazione delle nano particelle che permette di variare le proprietà delle particelle rendendole ancora più specifiche per le zone bersaglio, permette inoltre di combinare più modalità di cura (es aggiunta di TFK α) per aumentare la possibilità di cura.

La creazione di nano particelle con temperatura di Curie attorno ai 45 °C apre inoltre nuove prospettive sul controllo delle terapia dove si può trascurare il controllo sull'energia che campo magnetico fornisce alle particelle e diventa quindi cruciale cercare di conoscere e ottimizzare la diffusione delle particelle.

Bibliografia

1. C. Marino, G.A. Lovisolo, "Campi elettromagnetici in terapia – Ipertermia"
2. <http://www.elettra2000.it/scienza/lavoriScientifici/IpertermiaL2.htm>, giugno 2005
3. F.A. Steward, J. Denekamp, "Fractionation studies with combined X-rays and hyperthermia in vivo", Br J Radilo, vol. 52, pp. 346-356, 1980.
4. N.B. Hornback, "Historical Aspects of Hyperthermia in Cancer Therapy", Radiologic Clinics of North America, vol. 27, pp 481-487, 1989.
5. W.C. Dewey, L.E. Hopwood, S.A. Sapareto, L.E. Gerweck, "Cellular responses to combinations and radiation", Radiology, vol. 123, pp. 463-474, 1977.
6. A.W. Guy, "History of biological and medical applications of microwave energy", IEEE Trans Microwave Theory Tech, MTT 32, pp. 1182-1200, 1984.
7. P. Vaupel, F. Kallinowski, "Physiological Effects of Hyperthermia", Recent results in cancer Research, vol. 104, pp. 72-109, 1987.
8. C. Marino, A.E. Cividalli, "Combined radiation and hyperthermia: Effect of the number of heat fractions and their sequence on normal and tumor tissues", International Journal of Hyperthermia, vol. 8, pp. 771-781, 1992.
9. C. Streffer, D. van Beuningen, "The biological basis for tumor therapy by hyperthermia and radiation". Recent Results in Cancer Research, vol. 104, pp. 24-71, 1987.
10. J. Overgaard, "The current and potential role of hyperthermia in radiotherapy", Int. J. Radiation, Oncology, Biology and Physics, vol. 16, pp. 535-549, 1989.
11. J.W. Hand, K. Hynynen, P.N. Shrivastava, T.K. Saylor, "Methods of external Hyperthermic heating", Germany, M. Gautherie Edition, 1990.
12. H. Kato, M. Hiraoka, T. Nakajima, T. Ishida, "Deep-heating characteristics of an RF capacitive heating device", International Journal Hyperthermia, vol. 1, pp. 15-28, 1985.
13. W. Hu, Q.He,C. Jiang. "Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and surface functionalization strategies", Nanoscale Research Letters, Volume 3, Number 11 / November, 2008 .

14. R.K.Visaria, R.J.Griffin, B.W.Williams, G.F.Paciotti, C.W.Song. "enhancement of tumor thermal therapy using gold nanoparticle-assisted tumor necrosis factor- α delivery", *Mol Cancer Therapy* 2006 5.
15. X.Huang, .K.Jain, I.H.El-Sayed, M.A.El-Sayed. "plasmonic photothermal therapy using gold nanoparticle", *Lasers in Medical Science*, Volume 23, Number 3 / July, 2008
16. P.P.Fortin, C.Wihelm, J.Servais,C.Menager "Size sorted anionic iron oxide nanomagnets as colloidal mediators for magnetic hyperthermia " *JACS articles* 2008
17. L.H.Pham, A.T.Nguyen, M.H.Do,H.V.Le "magnetic fluid based on Fe_3O_4 nanoparticle : preparation and hyperthermia application " *Jurnal of Physic conference series* 187 (2009)
18. R.Hegat, R.Hiergeist, I.Hilger, Y.Lapatnikov "Maghemite nanoparticle with a very high class AC-loss for application in RF-magnetic hyperthermia", *Journal of magnetism and magnetic materials* 270, 2004.
19. M.Bettge, J.Chatterjee, Y.Haik "physically syntetized Ni-Cu nanoparticle for magnetic hyperthermia",*Biomagnetic Research and technology* 2004.
20. R.Hergt, S.Dutz, R.Muller, M.Zeisberger " Magnetic particle hyperthermia: nanoparticle magnetism and materials development for cancer therapy ", *Jurnal of Physic /September* 2008
21. Ville Alopaeus , Harry V. Norde, "A calculation method for multicomponent mass transfer coefficient Correlations" *Computers and Chemical Engineering* 23 (1999)
22. H.H. Pennes, "Analysis of tissue and arterial blood temperatures in the resting human forearm", *Journal. Applied. Physiolog.*, vol. 1, pp. 93-122, 1948.
23. M. Pavel, G. Gradinariu, and A. Stancu "Study of the Optimum Dose of Ferromagnetic Nanoparticles Suitable for Cancer Therapy Using MFH", *IEEE Transactions on magnetic* vol. 44, NO. 11, November 2008
24. M. Salloum, R.Ma, L.Zhu "Enhancement in treatment planning for magnetic nanoparticle hyperthermia: optimization of th heat absorption pattern", *International Journal of Hyperthermia*, June 2009 (25)
25. R.E. Rosensweig "Heating magnetic fluid with alternating magnetic field" , *Journal of magnetism and magnetic materials* 252, 2002.
26. M. Salloum, R.Ma, L.Zhu,D.Weeks "controlling nanoparticle delivering in magnetic nanoparticle hyperthermia for cancer treatment: Experimental stydy in agarose gel" *International Journal of Hyperthermia*, June 2008 (24)

27. S.N.Tabatabaei S.Martel, "Hyperthermia via electromagnetic field and magnetic nanoparticles integrated in micro-carriers navigable in blood vessel"
28. P.J.Basser, Inferring Microstructural features and physiological state of tissues from diffusion weighted images, NMR in biomedicine Vol 8 333-344(1995).
29. M.Johannsen, U.Gneveckow, L.Eckert, A. Feussner, R.scholz, P.Wust, S. Deger "Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic nanoparticle: Presentation of a new interstitial technique" International Journal of Hyperthermia, November 2005
30. P.Wust, U. Gneveckow, M.Johannsen, T.Henkel, F.Kahmann, J.Shouli, R. Felix, J.Ricke, A.Jordan "Magnetic nanoparticles for interstitial thermotherapy – feasibility, tolerance and achieved temperatures" International Journal of Hyperthermia, December 2006
31. M. Salloum, R.Ma, L.Zhu, D. Weeks "Controlling nanoparticle delivery in magnetic nanoparticle hyperthermia for cancer treatment: Experimental study in agarose gel" International Journal of Hyperthermia, June 2008
32. B.Thiesen, A.Jordan "Clinical application of magnetic nanoparticles for hyperthermia" International Journal of Hyperthermia, September 2006
33. A. Candeo, F. Dughiero "Numerical FEM Models for the Planning of Magnetic Induction Hyperthermia Treatments With Nanoparticles" esho 2009 VR
34. S.E.Barry "Challenges in the development of magnetic particles for therapeutic application" Journal of Hyperthermia, September 2008
35. V.A.Atarkin, L.V.Levkin, S.Posvyanskiy, O.V.Melnikov, M.N.Markelova, O.Y.Grbenko, A.R.Kaul "Solution to the bioheat equation for hyperthermia with $La_{1-x}Ag_xMnO_{3-\delta}$ nanoparticles: The effect of temperature autostabilization" Journal of Hyperthermia, September 2009
36. H.G.Bagaria, D.T.Johnson "transient solution to the bioheat equation and optimization for magnetic fluid hyperthermia treatment" Journal of Hyperthermia, February 2005.
37. Sheng Peng, Chao Wang, Jin Xie, Shouheng Sun "Synthesis and Stabilization of Monodisperse Fe Nanoparticles" J.A.C.S publication 2008
38. A. Candeo and F. Dughiero "Numerical FEM Models for the Planning of Magnetic Induction Hyperthermia Treatments With Nanoparticles", IEEE Trans. On Mag., vol. 45;
39. F. Dughiero, A. Candeo, E. Sieni, "Modelli numerici per il trattamento di tumori mediante ipertermia con nanoparticelle"
40. S.Bicciato "Biongegneria cellulare 2008" Appunti lezione
41. A.Bertoldo "Neuroingegneria 2008" Appunti lezione

[Digitare il titolo del documento]

Ringraziamenti
