

ANALISI DIFRATTOMETRICA AL SINCROTRONE DEI CAPELLI IN PAZIENTI CON CANCRO COLORETTALE. UN NUOVO TEST DI SCREENING PER INDIVIDUARE SOGGETTI A RISCHIO – RISULTATI PRELIMINARI

S. Polizzi, P. Panarisi, G. Caruso, (Dipartimento di Prevenzione Oncologica secondaria - Programma di Screening ASLTO5 Carignano, Torino, Italy.
e-mail = mdl8to@cometacom.it)



DIFRAZIONE AI RAGGI X DEI CAPELLI - ANALISI AL SINCROTRONE

Il sincrotrone, un nuovo prodotto della scienza nucleare, è capace di analizzare in dettaglio la struttura molecolare dei materiali. La nuova generazione di sincrotroni sono capaci di individuare cambiamenti molecolari in individui con alta probabilità di patologia da sottoporre ad ulteriori accertamenti di screening evitando condizioni di stress e trauma.
La luce prodotta dal **Sincrotrone di Grenoble ESRF** (ESRF = The *European Synchrotron Radiation Facility*) si caratterizza per l'ampia "luminosità" dei raggi-X; in altre parole il fascio di raggi-X è più fine di un capello e molto intenso. Così come la luce laser è molto più intensa e concentrata di un normale "spot" di luce, il fascio di raggi-X generato dal sincrotrone è centinaia di miliardi di volte più "luminoso" del fascio di raggi-X generato da un apparecchio di radiologia utilizzato in campo medico.

La pista degli elettroni - elementi di un Sincrotrone

Gli elettroni emessi da un "electron gun" vengono prima accelerati in un "linear accelerator" (Linac) quindi trasmessi ad un **acceleratore circolare ("booster synchrotron")** dove vengono ulteriormente aumentati di potenza per raggiungere un livello di energia di 6 miliardi di electron-volts (6 GeV). Questi elettroni ad alta-energia sono quindi immessi in un largo anello ("storage ring") di 844 metro di circonferenza (ESRF - Grenoble), dove circolano per parecchie ore, in un ambiente sotto vuoto, con un'energia costante. Il fascio di luce generato (Beam) viene utilizzato nelle diverse linee di lavoro (Beam Lines) (Grenoble - Numero di "beamlines" = 40).



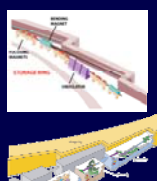
Veduta aerea ESRF (Grenoble)



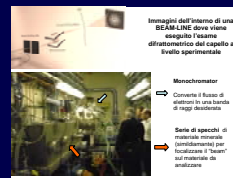
Grenoble (ESRF) schema strutturale e ripresa aerea.



Come viene prodotta la luce del Sincrotrone



Beam line



Immagini dell'interno di una Beam Line dove viene eseguito l'esame diffrattometrico del capello a livello sperimentale
Monochromator
Converte il fascio di elettroni in una intensa e precisa radiazione di raggi X
Sette di specchi di metallo estremo (nichelato) per focalizzare il "beam" sul rivelatore da analizzare

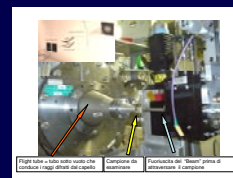
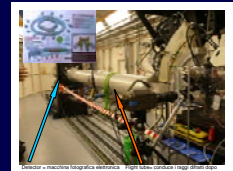


Fig. 1a - Foto dello stato che compare negli ottimi di qualità
Componente di
Fascio del "Beam" prima di entrare in camera



Unità del "Beam" da 70
Camerata con sensori di raggi X da analizzare

IMMAGINI ALL'INTERNO DI UNA BEAM-LINE PER L'ESAME DIFRATTOMETRICO DEL CAPELLO

Diffrazione ai raggi X del capello umano - principi di base.

Nel 1999 una ricercatrice esperta in fisica molecolare, lavorando in Giappone, ha scoperta la presenza di modifiche strutturali intermolecolari dell'alfa cheratina dei capelli, in donne con diagnosi di cancro mammario, sottoposti ad analisi ai raggi X generati da un sincrotrone.

Le basi scientifiche del fenomeno

Dal punto di vista diagnostico l'analisi diffrattometrica del capello, di donne portatrici di neoplasia mammaria, si differenzia dai soggetti sani per la comparsa di un "anello" caratteristico che corrisponde ad uno spazio intermolecolare di 4,4-4,5 nm (45 Å). Esso sarebbe correlato ad un assemblaggio delle fibrille di alfa cheratina, strutturate in modo ripetitivo, ma con un orientamento random, che si sovrappone su un pattern di segnali legato al "packing" delle fibrille (KIF = Keratin Intermediate Filaments) del capello. Questo è illustrato nella figura n. 1 tratta dal lavoro originale della prof.ssa V. James del 1999 che mostra una tipica immagine di un capello al Sincrotrone.
Secondo l'ipotesi della Prof.ssa James la comparsa dell'anello, sarebbe correlata allo spettro molecolare delle alfa cheratine e in particolare alla ripetizione dello spettro diffrattometrico delle "code" dei filamenti intermedi che si ripetono con una distanza costante di 46,7 nm [James 2003 a)], come illustrato nelle immagini a fianco, dove sono riportate le doppie eliche (coiled-coil) assemblate in tetrameri (KIF) (fig. A sopra) e degli octameri (fig. B sotto).

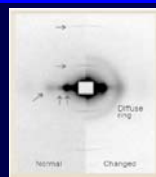


Fig. A

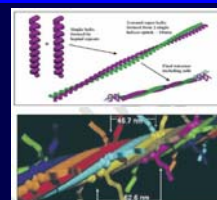


Fig. B

Fig. 1 Esempio di un "Diffuse Ring" (Nature 1999)

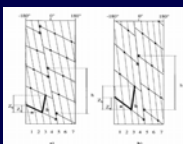


Fig. 2-a)

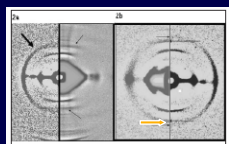


Fig. 2-b)

Fig. 3-a)

Fig. 3-b)

Nella figura 2-a) tratta dal lavoro originale di Kreplak vengono rappresentate, schematicamente, le distanze intermolecolari, gli angoli di diffrazione e le ripetizioni delle componenti elementari dell'alfa cheratina, come prospettato dalla Prof. James.

Nella figura 3-b) gli effetti dello stiramento del capello sugli angoli di diffrazione e sulle distanze intermolecolari.

Nel 2003, attraverso la medesima tecnica, è stato notato lo stesso effetto nei casi di tumore al Colon sia nel capello che nel tessuto connettivo tumorale (James 2003).

Nella figura 3-a) a sinistra è rappresentato il pattern dei capelli di un paziente con cancro del colon, mentre nella metà di destra, della stessa figura, quello di una persona sana.

La freccia indica il tipico "anello" che correla con la presenza di cancro al colon.

Nella fig. 3-b) nella metà immagine di sinistra è rappresentato il tipico pattern dei capelli di un caso con cancro della mammella, mentre nella metà a destra il pattern presente nei capelli di un paziente con cancro al colon. La freccia che indica l'anello di un paziente con cancro mammario, che si colloca molto vicino al meridiano di riflessione, ha un diametro differente nel pattern di diffrazione rispetto all'anello presente in un caso con cancro del colon. Esiste cioè una differenza nel reale spazio del "ring" che è di 4,53 nm per il colon e 4,71 nm per la mammella.

Risultati dei primi Test

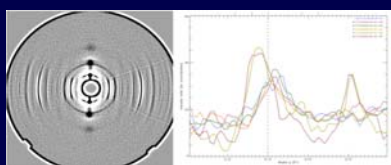
In uno studio preliminare abbiamo analizzato 122 donne invitate al II° livello dello screening mammografico che rappresentano una base di circa quattro mila donne invitate ad una mammografia di I° livello. I risultati concordano largamente con gli standard proposti dalle Guidelines Europee. (Esami eseguiti dalla Fermiscan USA Inc. Synchrotron Advanced Photon Source, Argonne National Laboratories, Chicago U.S.A.)

Visti i risultati dello studio di James sul colon (James 2003) abbiamo valutato 9 pazienti di cui 6 con diagnosi di neoplasia del colon retto confermata dall'esame istologico, 2 pazienti con COPD e 1 con fibrosi polmonare interstiziale da asbesto. Il test diffrattometrico è stato classificato come positivo (comparsa del tipico ring) nei 6 casi con neoplasia del colon operata, 1 caso è risultato falso positivo (paziente con COPD, FOBT positivo e colonscopia negativa), ed 1 caso falso negativo (Fermiscan test classificato come possibile negativo (? Neg), FOBT positivo = 79 ng/ml e colonscopia con riscontro di un micro polipo sessile <1 cm - adenoma tubulare con displasia di basso grado - e un polipo sessile di 2 cm - adenoma villosa con focolaio di 4 mm di adenocarcinoma infiltrante la sottomucosa -), 1 caso vero negativo (FOBT negativo, Colonscopia negativa e Fermiscan Test negativo).

Conclusioni

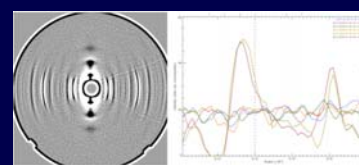
Attualmente l'adesione ai protocolli di screening tradizionale è intorno al 30-40%. La possibilità di utilizzare una metodica non invasiva nel selezionare soggetti con elevata probabilità di patologia del colon offrirebbe la possibilità di un nuovo paradigma di screening da applicare alla popolazione generale.

Ci proponiamo, ai pari dei risultati preliminari sulla mammella, di valutare la sensibilità e specificità in uno studio prospettico con un numero significativo di casi invitati alla sigmoidoscopia o ad una colonscopia di screening dopo un test FOBT positivo. Un aumento dell'adesione con l'utilizzo di metodiche non invasive, consentirebbe di ridurre in modo ancora più significativo la mortalità per neoplasie del grosso intestino. (Esami da eseguire dalla Fermiscan Italia. E.S.R.F. Sincrotrone Europeo, Grenoble Fr.)



Con Patologia

Il segnale prodotto dal Sincrotrone di III generazione nell'attuale studio



Senza Patologia