

Resezione guidata dalla fluorescenza combinata con termoterapia intracavitaria, con l'impiego di nanoparticelle di ossido di ferro superparamagnetiche, nei gliomi recidivanti di alto grado: una serie di casi con enfasi sulla gestione delle complicanze

Michael Schwake ^{1,*}, Michael Mütther ^{1,†}, Ann-Katrin Bruns ¹, Bastian Zinnhardt ^{2,3}, Nils Warneke ¹, Markus Holling ¹, Stephanie Schipmann ^{1,4}, Benjamin Brokinkel ¹, Johannes Wölfer ⁵, Walter Stummer ¹ e Oliver Grauer ⁶

1. Department of Neurosurgery, University Hospital Münster, 48149 Münster, Germany; michael.muether@ukmuenster.de (M.M.); ann-katrin.bruns@ukmuenster.de (A.-K.B.); nils.warneke@ukmuenster.de (N.W.); markus.holling@ukmuenster.de (M.H.); stephanie.schipmann@ukmuenster.de (S.S.); benjamin.brokinkel@ukmuenster.de (B.B.); walter.stummer@ukmuenster.de (W.S.)
2. European Institute for Molecular Imaging (EIMI), University of Münster, 48149 Münster, Niemcy; bastian.zinnhardt@roche.com
3. Biomarkers & Translational Technologies (BTT), Pharma Research & Early Development (pRED), F. Hoffmann-La Roche Ltd., CH-4070 Basel, Szwajcaria
4. Department of Neurosurgery, Haukeland University Hospital, 5021 Bergen, Norvegia
5. Department of Neurosurgery, Hufeland Klinikum, 99974 Mühlhausen, Niemcy; johannes.woelfer@t-online.de
6. Department of Neurology with Institute of Translational Neurology, University Hospital Münster, 48149 Münster, Niemcy; oliver.grauer@ukmuenster.de

* Corrispondenza: michael.schwake@ukmuenster.de; Tel.: +49-251-83-47472; Fax: +49-251-83-45646

† Gli autori Hanno contribuito in eguale misura alla stesura di questo lavoro.

Compendio semplice: I gliomi recidivanti con un alto grado di malignità sono difficili da trattare. Qui descriviamo i nostri esperimenti in un unico centro, mediante combinazione della resezione del tumore guidata dalla fluorescenza, con 5-ALA, e della termoterapia locale con l'impiego di nanoparticelle di ferro superparamagnetiche. Complessivamente, 18 pazienti sono stati operati e hanno ricevuto la termoterapia con o senza radioterapia aggiuntiva. La sopravvivenza mediana libera da progressione della malattia è stata di 5,5 mesi e la sopravvivenza globale mediana è stata di 9,5 mesi. Sebbene durante il trattamento attivo non siano stati osservati effetti collaterali gravi, il 72% dei pazienti ha sviluppato un edema cerebrale che ha richiesto un trattamento con steroidi o persino la rimozione chirurgica delle nanoparticelle. Riassumendo, la combinazione della resezione guidata dalla fluorescenza con la termoterapia intracavitaria rappresenta un'opzione di trattamento nuova e promettente per migliorare il controllo locale del tumore nei gliomi recidivanti di alto grado, ma è necessario un ulteriore perfezionamento del protocollo di trattamento, al fine di ridurre gli effetti collaterali gravi.

Abstract: Descrizione della situazione: sono assolutamente necessarie delle idee per migliorare il controllo locale del tumore nei gliomi di alto grado (high-grade glioma - HGG). Lo scopo dello studio è presentare una serie estesa di casi, trattati combinando la resezione guidata dalla fluorescenza 5-ALA (FGR) con la termoterapia intracavitaria con l'impiego di nanoparticelle di ossido di ferro superparamagnetiche (SPION). Metodica: Abbiamo condotto una revisione retrospettiva a centro singolo di tutti gli HGG recidivanti trattati con FGR e termoterapia intracavitaria (n = 18). I pazienti sono stati sottoposti a sei sessioni di ipertermia in un campo magnetico variabile e hanno ricevuto ulteriori terapie adiuvanti in funzione dei casi. Risultati: Nove pazienti sono stati trattati a seguito della prima recidiva del tumore; tutti gli altri pazienti avevano avuto almeno due recidive. A nove pazienti sono state somministrate radioterapia e termoterapia in combinazione. La sopravvivenza mediana libera da progressione è stata di 5,5 mesi (95% CI: 4,67-6,13) e la sopravvivenza globale mediana è stata di 9,5 mesi (95% CI: 7,12-11,79). Nel corso del trattamento attivo non sono stati osservati effetti collaterali significativi. Tredici pazienti (72%) hanno sviluppato edema cerebrale nel corso dei controlli e i sintomi clinici sono peggiorati, e sono stati inizialmente trattati con desametasone. Sei (33%) di tali pazienti sono stati sottoposti a rimozione chirurgica delle nanoparticelle per edema refrattario. Conclusioni: La combinazione di FGR e termoterapia intracavitaria con SPION rappresenta una nuova opzione per migliorare il controllo locale del tumore nell'HGG recidivante. Un problema essenziale è lo sviluppo dell'edema cerebrale, che richiede un ulteriore perfezionamento del protocollo di cura.

Parole chiave: glioma; cellule mieloidi; nanoparticelle; termoterapia; fluorescenza; infiammazione

1. Introduzione

Nonostante i trattamenti conformi alle linee guida, la prognosi per i gliomi di alto grado (high-grade gliomas - HGG) è sfavorevole [1, 2]. Col passare del tempo, progressi come la resezione guidata dalla fluorescenza (FGR) [3, 4], il neuromonitoraggio intraoperatorio (IOM) [5, 6], la risonanza magnetica

intraoperatoria (ioMRI) [7, 8] e nuovi metodi di cura come il Tumor-Treating Fields [*campi per il trattamento dei tumori*] (TTF) [9] hanno apportato limitati miglioramenti del tempo di sopravvivenza.

La resezione guidata dalla fluorescenza con acido 5-aminolevulinico (5-ALA) è attualmente l'unica procedura approvata e una delle più comunemente utilizzate nella chirurgia dei gliomi negli adulti. Numerosi studi hanno dimostrato l'efficacia della resezione assistita con 5-ALA e il suo influsso sul grado di resezione, sulla sopravvivenza libera da progressione (PFS) e sulla sopravvivenza globale (OS) nei casi primari [3-5, 10, 11]. Stummer et al. hanno riscontrato una OS significativamente più alta nei casi in cui nessun tumore residuo era visibile dopo l'intervento chirurgico (16,7 contro 11,8 mesi, $p < 0,0001$) [12]. Inoltre, questo metodo si fonda sull'accumulo intracellulare di protoporfirina fluorescente IX (PpIX). In virtù di questo accumulo selettivo si ha un'elevata sensibilità e specificità del segnale di fluorescenza [13-18], anche nel caso di tumori cerebrali maligni recidivanti [19].

Le terapie per la recidiva del tumore non sono ben definite e il livello generale di evidenza sui metodi di trattamento disponibili è basso. Le attuali raccomandazioni delle linee guida includono la nuova resezione, la re-irradiazione, la chemioterapia e le opzioni di trattamento sperimentali [20]. Negli ultimi anni, diversi studi clinici hanno prodotto solo risultati limitati [21, 22]. Sebbene l'HGG colpisca l'intero cervello, nella maggior parte dei casi chirurgici si verifica una recidiva locale ai margini delle cavità di resezione [23, 24]. Pertanto, il miglioramento del controllo locale del tumore è anche un obiettivo di tutte le strategie terapeutiche locali, come la chemioterapia topica [25] e la terapia fotodinamica (PDT) [23, 26].

Studi clinici precedenti hanno dimostrato l'efficacia e la sicurezza dell'applicazione stereotassica di nanoparticelle di ossido di ferro superparamagnetico (SPION) esposte a un campo magnetico alternato (AMF) in combinazione con l'irradiazione in pazienti con HGG recidivante [27, 28]. SPION con AMF è un trattamento approvato nell'Unione Europea. È stato dimostrato che l'ipertermia generata da SPION può indurre una forte risposta immunitaria antitumorale [29-31] con una maggiore infiltrazione di cellule NK (*natural killer*), macrofagi, cellule dendritiche e linfociti T CD4+ e CD8+ [32].

Uno dei principali problemi tecnici correlati all'applicazione stereotassica è il posizionamento inappropriato delle SPION [28]. Inoltre, accanto alle procedure stereotassiche non è possibile il trattamento citoriduttivo immediato. In considerazione di ciò, abbiamo elaborato una nuova tecnica di somministrazione delle particelle nella cavità di resezione direttamente dopo la FGR. Il principale vantaggio di questo metodo è che il chirurgo ha un controllo ottimale sulla distribuzione delle particelle e questo gli consente di impiegare volumi maggiori di particelle impedendo contestualmente che si riversino nei ventricoli.

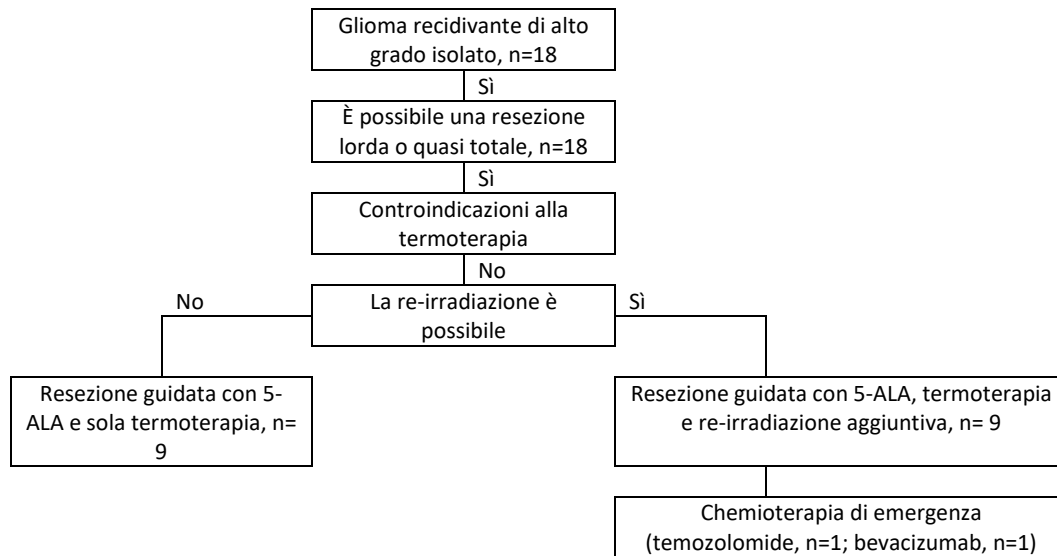
L'obiettivo primario dello studio è presentare i nostri risultati relativi all'efficacia e alla sopravvivenza globale (OS), mentre l'obiettivo secondario è valutare la sicurezza della FGR combinata con la termoterapia intracavitaria locale con nanoparticelle di ossido di ferro superparamagnetiche in una coorte ampliata di pazienti trattati presso il nostro centro.

2. Metodica

2.1. Pazienti

Questa serie di casi comprende tutti i pazienti trattati con la combinazione di FGR e termoterapia SPION intracavitaria in un unico centro accademico dal 2015 al 2020 (Figura 1). A tutti i pazienti con HGG recidivante che erano considerati candidati alla resezione chirurgica è stata offerta la termoterapia intracavitaria supplementare, a integrazione del metodo di trattamento. L'analisi dei dati è stata eseguita retrospettivamente e tutte le procedure e le analisi sono state approvate dal comitato etico locale in conformità alla Dichiarazione di Helsinki (2020-531-f-S). Tutti i partecipanti allo studio hanno prestato il consenso informato alla partecipazione.

Figura 1. Diagramma a blocchi del trattamento.



2.2. Nanoparticelle

Come riportato in precedenza [32], durante l'intervento chirurgico è stata utilizzata una soluzione semiliquida MFL AS-1 (NanoTherm®, Mag-Force AG, Berlino, Germania) contenente SPION con tenore di ferro di 112 mg/ml. Questo fluido è prodotto in conformità alle normative europee sui dispositivi medici ed è stato approvato per il trattamento dei tumori cerebrali dal 2011.

2.3. Resezione guidata dalla fluorescenza e applicazione di nanoparticelle

La resezione del tumore è stata eseguita utilizzando la tecnica microchirurgica standard. L'acido 5-aminolevulinico (5-ALA, Gliolan®, Medac GmbH, Wedel, Germania) è stato somministrato per os, 4 ore prima dell'induzione dell'anestesia, a una concentrazione di 20 mg/kg di peso corporeo. L'obiettivo chirurgico era rimuovere il tumore in fluorescenza. In caso di localizzazione motoria-eloquente del tumore, è stata utilizzata la mappatura MEP dinamica per mappare le vie cortico-spinali. I tumori localizzati nella sede del linguaggio sono stati resecati in stato di veglia, ai fini del monitoraggio del linguaggio, come descritto in precedenza [33]. Dopo la resezione del tumore, la parete della cavità è stata rivestita con una rete di idrossicellulosa (Tabotamp®, Johnson & Johnson Medical GmbH, Ethicon, Norderstedt, Germania), quindi SPION è stato applicato alla rete di idrossicellulosa mediante una siringa da 1 ml. Laddove possibile, sono stati applicati fino a tre strati di idrossicellulosa e SPION. Inoltre, attraverso i depositi di particelle è stato fatto passare un catetere chiuso (TK-01, MagForce AG, Berlino, Germania), per consentire la misurazione della temperatura durante la procedura con dispositivo AMF (Nano-Activator®, MagForce AG, Berlino, Germania). Il lembo osseo è stato nuovamente fissato utilizzando placche riassorbibili non metalliche (SonicWeld Rx®, KLSMartin, Tuttlingen, Germania). Gli impianti corporei metallici fino a 40 cm dal tumore, compresi gli impianti dentali e le piastre di montaggio del lembo osseo, sono stati rimossi durante l'intervento chirurgico o precedentemente. I pazienti la cui resezione del tumore ha portato all'apertura del ventricolo non erano idonei per l'applicazione di nanoparticelle, per ridurre il rischio di distribuzione involontaria di particelle negli ambienti del liquido cerebrospinale.

A causa degli artefatti indotti dalle SPION, non abbiamo potuto fare affidamento sulle scansioni MRI postoperatorie per stimare l'estensione della resezione (EOR). Abbiamo pertanto valutato l'EOR come resezione totale lorda (GTR) se tutto il tessuto tumorale fluorescente era stato rimosso, resezione quasi completa (NTR) se è stato rilevato un segnale di fluorescenza debole e diffuso alla fine dell'intervento chirurgico e resezione subtotale (STR) se è stato necessario lasciare un segnale di fluorescenza forte e compatto, per esempio in aree eloquenti. Precedenti studi hanno dimostrato una stretta relazione tra il segnale di fluorescenza e l'EOR nella risonanza magnetica postoperatoria [3, 5, 12].

2.4. Termoterapia

Dopo l'intervento chirurgico, è stata eseguita la tomografia computerizzata (TC) (Figura 2). Queste immagini sono state combinate con le scansioni MRI preoperatorie utilizzando il software di simulazione del trattamento NanoPlan® (MagForce AG), come precedentemente pubblicato [32, 34-36]. NanoPlan® simula la generazione di calore in funzione della densità delle nanoparticelle e dell'intensità dell'AMF. Tuttavia, a causa della mancanza di mezzi tecnici per misurare la perfusione tissutale locale durante l'applicazione dell'ipertermia, questa simulazione è generalmente imprecisa. Di conseguenza, per regolare nuovamente la simulazione le misurazioni della temperatura devono essere effettuate durante la sessione di trattamento. Durante la prima applicazione dell'ipertermia, è stato inserito un sensore di temperatura a fibra ottica (Optocon, Dresda, Germania) nel catetere chiuso posizionato durante l'intervento chirurgico. La termoterapia è stata eseguita con un applicatore AMF operante ad una frequenza di 100 kHz e un'intensità di campo di 2,5-15 kA/m, in accordo con pubblicazioni precedenti [32]. Per regolare con precisione l'intensità del campo è stata utilizzata la temperatura più alta lungo il percorso del termocatetere. Erano previsti due trattamenti di un'ora in una settimana. Nei casi con radioterapia contestuale, la prima seduta di termoterapia è stata programmata 3 giorni prima dell'inizio della radioterapia e le successive cinque sedute sono state eseguite nei giorni 1, 4, 8, 11, 15 \pm 1 giorno. La radioterapia è stata eseguita come descritto in precedenza [32] e, se programmata per lo stesso giorno, a intervalli di 2 ore per ciascuna seduta di termoterapia.

Figura 2. (A) Risonanza magnetica preoperatoria con mezzo di contrasto, che mostra un tumore nel lobo parietale destro. (B) Tomografia computerizzata con mezzo di contrasto eseguita il primo giorno successivo all'intervento. (C) Tomografia computerizzata del paziente 13, che mostra un edema significativo due mesi dopo l'intervento chirurgico.

2.5. Controllo

Come accennato in precedenza, l'applicazione delle nanoparticelle di ferro non consente di produrre un'adeguata immagine MRI post-operatoria. I pazienti che vivono nei pressi del nostro centro sono stati monitorati mediante F-Fluoro-etil-tirosina (^{18}F -FET)-PET-TC, inclusi esami con contrasto, una volta ogni tre mesi. In tutti gli altri pazienti, per l'osservazione è stata utilizzata la tomografia computerizzata con mezzo di contrasto. Nei casi in cui è risultato necessario rimuovere le nanoparticelle durante il decorso della malattia, la risonanza magnetica è stata nuovamente selezionata come metodo ottimale di diagnostica per immagini. Per evidenziare ulteriormente la risposta immunitaria durante la termoterapia, in alcuni casi abbiamo condotto scansioni di N, N-dietil-2- [4- (2-fluoroetossi) fenil] -5,7-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidina-3-acetammide (^{18}F -DPA-714) PET per la Proteina traslocatrice (TSPO), come precedentemente descritto [37].

2.6. Analisi dei dati

Per le analisi statistiche è stato utilizzato il pacchetto IBM SPSS Statistics 25.0 (IBM, Armonk, New York, NY, USA). I dati sono stati analizzati mediante statistiche descrittive standard, adottando frequenze assolute e relative per le variabili categoriali, mediana e intervallo interquartile (IQR) per le variabili continue e media e deviazione standard (SD) per le variabili metriche. Il test U di Mann-Whitney (MWU) è stato adottato per le variabili ordinali e il test esatto di Fisher per le variabili categoriali. Le analisi temporali sono state eseguite utilizzando le curve di Kaplan-Meier e il test *log-rank*. La sopravvivenza libera da progressione (PFS) è stata definita come il tempo dall'intervento chirurgico alla progressione secondo i criteri RANO modificati o alla morte [38]. La sopravvivenza globale (OS) è stata definita come il tempo dall'intervento chirurgico alla morte. Un valore di probabilità inferiore a 0,05 è stato considerato statisticamente significativo.

3. Risultati

Diciotto pazienti con HGG recidivante sono stati trattati con FGR seguita da termoterapia intracavitaria. Otto pazienti (44%) erano di sesso femminile. La mediana dell'età della popolazione era di 51 anni (IQR: 43-61). Secondo la classificazione dell'OMS del 2006 [39], in sedici pazienti (89%) è stato diagnosticato un glioblastoma e nei restanti due pazienti, rispettivamente: un astrocitoma anaplastico e un oligodendroglioma anaplastico. In quattordici casi (78%) è stato rilevato il tipo selvaggio IDH. Il promotore MGMT era non metilato in 13 casi (76%). Nove pazienti (50%) sono stati trattati per la prima recidiva del tumore; tutti gli altri pazienti hanno avuto almeno due recidive (Tabella 1). Il tempo mediano tra la diagnosi primaria e il trattamento chirurgico in questo studio è stato di 14 mesi (IQR: 7-45). Tutti i pazienti sono stati sottoposti a termoterapia due volte a settimana ad una temperatura media di 47,0 °C (IQR: 44,5-53,3). Nove pazienti (50%) hanno inoltre ricevuto contestuale radioterapia alla dose di 39,6 Gy (5 x 1,8 Gy/settimana); tutti gli altri pazienti non hanno ricevuto radioterapia a causa della limitazione della dose (Figura 1). Inizialmente, non è stata somministrata alcuna chemioterapia di emergenza. Nel corso dei controlli, un paziente ha ricevuto temozolomide e un paziente ha ricevuto bevacizumab per il trattamento palliativo dell'edema (Tabella 2).

Tabella 1. Caratteristiche di base del paziente

Np.	Età (anni)	Sesso	Diagnosi iniziale	Tempo dalla diagnosi iniziale (mesi)	Numero di recidive	Diagnosi attuale	Promotore MGMT	Localizzazione
1	42	F	Glioblastoma, IDH mutato	6	1	Glioma, IDH mutato	metilato	LP
2	60	M	Glioblastoma, Tipo selvaggio IDH	13	2	Glioma, Tipo selvaggio IDH	non metilato	RP
3	59	M	Glioblastoma, Tipo selvaggio IDH	15	1	Glioma, Tipo selvaggio IDH	non metilato	LP
4	65	M	Glioblastoma, Tipo selvaggio IDH	8	2	Glioma, Tipo selvaggio IDH	non metilato	RP
5	75	F	Glioblastoma, Tipo selvaggio IDH	4	1	Glioma, Tipo selvaggio IDH	non metilato	RF
6	42	M	Glioblastoma, Tipo selvaggio IDH	3	4	Glioma, Tipo selvaggio IDH	metilato	LF
7	63	F	Glioblastoma, Tipo selvaggio IDH	13	1	Glioma, Tipo selvaggio IDH	non metilato	LP
8	36	F	Astrocitoma anaplastico, IDH mutato	57	2	Astrocitoma anaplastico, IDH mutato	non metilato	RF
9	38	M	Glioblastoma, Tipo selvaggio IDH	42	2	Glioma, Tipo selvaggio IDH	non metilato	LO
10	62	M	Glioblastoma, Tipo selvaggio IDH	7	1	Glioma, Tipo selvaggio IDH	non metilato	LO
11	42	F	Glioblastoma, Tipo selvaggio IDH	33	1	Glioma, Tipo selvaggio IDH	non metilato	LO
12	40	F	Astrocitoma diffuso, IDH mutato	248	3	Astrocitoma anaplastico, IDH mutato	metilato	RF
13	58	M	Glioblastoma, Tipo selvaggio IDH	6	1	Glioma, Tipo selvaggio IDH	non metilato	RP
14	44	F	Glioblastoma, Tipo selvaggio IDH	8	1	Glioma, Tipo selvaggio IDH	non metilato	LF
15	46	M	Glioblastoma, Tipo selvaggio IDH	10	1	Glioma, Tipo selvaggio IDH	non metilato	RP
16	57	M	Astrocitoma diffuso, IDH mutato	167	3	Oligodendroglioma anaplastico, IDH mutato	non disponibile	LT
17	58	F	Glioblastoma, Tipo selvaggio IDH	16	3	Glioma, Tipo selvaggio IDH	non metilato	LT
18	45	M	Glioblastoma, NOS	133	3	Glioma, IDH mutato	metilato	LT

R, destro. L, sinistro. F, frontale. P, parietale. T, temporale. O, occipitale.

Tabella 2. Dati relativi alla termoterapia e osservazioni.

ID paziente	EOR	Volume delle nanoparticelle (ml)	Temperatura massima (°C)	Re-irradiazione (Gy)	Chemioterapia d'urgenza	Tempo di insorgenza dell'edema (mesi)	Correzione a causa dell'edema	PFS (mesi)	OS (mesi)
1	STR	2,8	59	39,6	-	3,67	Sì	72 *	72 *
2	GTR	3,2	60	39,6	-	0,33	No	7	7
3	NTR	2	56	39,6	-	1,97	Sì	11	24
4	STR	2,1	53	39,6	-	Assente	Sì	6	9
5	GTR	5	53	-	-	4,43	No	5	7
6	NTR	3	54	-	-	Assente	No	3	4
7	NTR	3,2	49	-	-	Assente	No	3	5
8	GTR	4,3	44	-	Temozolomide	5,07	No	35	35
9	GTR	3,4	50	-	-	2,73	No	4	10
10	GTR	3,8	48	39,6	Bevacizumab	3,33	No	8	8
11	NTR	5	45	39,6	-	3,33	No	5	10

12	NTR	3	42	-	-	Assente	No	7	17
13	NTR	7	46	39,6	-	1,5	Sì	6	7
14	GTR	3	39	39,6	-	2,0	No	5	6
15	GTR	1,9	43,3	39,6	-	2,33	Sì	3	15 +
16	NTR	5	45	-	-	Assente	No	7	12
17	STR	5	44,6	-	-	0,77	No	3	5
18	STR	5	45	-	-	1,83	Sì	2	11

EOR, estensione della resezione. GTR, resezione totale lorda, NTR, resezione quasi totale. STR, resezione sub-totale. PFS, sopravvivenza libera da progressione. OS, sopravvivenza globale. * Pazienti senza evidenza di progressione. † pazienti ancora vivi.

3.1. Analisi della sopravvivenza

La progressione della neoplasia è stata definita in conformità ai criteri RANO modificati [38]. La sopravvivenza libera da progressione (PFS) mediana nella popolazione in studio è stata di 5,5 mesi (95% IC: 4,67-6,13) dopo termoterapia, mentre la sopravvivenza globale mediana (OS) di 9,5 mesi (95% IC: 7,12-11,79) (Figura 3). Non è stata rilevata una differenza di sopravvivenza tra i pazienti trattati per la prima recidiva e quelli trattati per la seconda recidiva o successiva ($p = 0,283$ per PFS; $p = 0,608$ per OS), né tra i pazienti cui è stata somministrata sia la termoterapia che la radioterapia e quelli trattati solo con la termoterapia ($p = 0,232$ per PFS; $p = 0,450$ per OS).

Figura 3. Grafici di Kaplan-Meier della sopravvivenza libera da progressione (PFS) e della sopravvivenza globale (OS) in mesi, dopo la resezione guidata dalla fluorescenza (FGR) e la termoterapia. I punti dei dati censurati sono contrassegnati da trattini. La sopravvivenza mediana libera da progressione (PFS) nella popolazione esaminata è stata di 5,5 mesi (95% IC: 4,67-6,13) dopo termoterapia, mentre la sopravvivenza globale mediana (OS) di 9,5 mesi (95% IC: 7,21-11,79).

3.2. Sicurezza e complicanze

Non sono stati osservati effetti indesiderati gravi nell'immediata fase perioperatoria o durante il trattamento con AMF. Tuttavia, in tredici pazienti (72%) nel corso dei controlli sul trattamento (mediana: 70 giorni, IQR: 50-105), è insorto edema cerebrale con sintomi clinici, pertanto sono stati trattati con desametasone. Sei (46%) di questi tredici pazienti sono stati sottoposti a rimozione chirurgica delle nanoparticelle per edema refrattario. Quattro (31%) di loro hanno sviluppato infezioni compromesse del sito chirurgico dopo un trattamento steroideo a lungo termine (mediana: 72 giorni, IQR: 59-116). Un paziente (n. 4) ha sviluppato una mielopatia benigna transitoria, con risonanza magnetica cervicale che suggerisce un danno termico iperintenso al nucleo T2, a causa di un piccolo deposito nel nucleo di nanoparticelle migrate (Figura 4).

Figura 4. Risonanza magnetica pesata in T2 del rachide cervicale del paziente 4 nei piani sagittale (a sinistra) e assiale (a destra). Si nota un'alterazione iperintensiva intramidollare nel midollo spinale a livello C2-3, adiacente agli artefatti metallici (freccia).

La temperatura media di picco durante i trattamenti è stata di 47 °C (IQR: 44,5-53,3). Non è stata rilevata alcuna relazione significativa tra il picco di temperatura e lo sviluppo di edemi ($p > 0,05$). Inoltre, non sono state trovate correlazioni significative tra la temperatura di picco e la terapia steroidea, il nuovo intervento, l'OS, il PFS o l'intervallo di tempo per lo sviluppo dell'edema (tutti $p > 0,05$). Ulteriori analisi non hanno rivelato alcuna relazione tra radioterapia aggiuntiva e sviluppo di edemi ($p > 0,05$).

4. Discussione

In questa analisi estesa della serie di casi abbiamo valutato l'efficacia, la sicurezza e gli aspetti tecnici del trattamento combinato 5-ALA FGR e della termoterapia intracavitaria. Abbiamo rilevato una PFS mediana di 5,5 mesi (95% IC: 4,67-6,13) e una OS mediana di 9,5 mesi (95% IC: 7,12-11,79) dopo chirurgia e termoterapia. Contrariamente a studi precedenti, non abbiamo osservato un beneficio significativo della re-irradiazione in combinazione con la termoterapia su OS e PFS [32, 40, -42]. Inoltre, non abbiamo riscontrato differenze significative tra gli esiti di sopravvivenza dei pazienti trattati per la prima recidiva rispetto a quelli trattati per la seconda recidiva o successive.

A oggi, non esiste un trattamento standard per i pazienti con HGG recidivante. Recenti studi non randomizzati mostrano che i pazienti possono trarre beneficio dalla resezione ripetuta, con una PFS mediana di 1,9 mesi e una OS di 6,5-12,9 mesi [43-46]. La re-irradiazione è stata anche associata a un modesto beneficio per la sopravvivenza rispetto alla migliore terapia di supporto. Il tempo di sopravvivenza poteva migliorare combinando la re-irradiazione con altri metodi di cura (OS mediana 8,2 mesi contro 12,2 mesi) [47]. Per il trattamento sistemico della GBM recidivante, le opzioni terapeutiche includono la chemioterapia di salvataggio con temozolomide, lomustina, bevacizumab, o loro combinazioni, e regorafenib. Sono state rilevate una PFS mediana di 1,5-4,2 mesi e una OS mediana di 6,0-10,6 mesi [48-52]. L'assunzione di decisioni è ancora più

complessa nel caso di una seconda recidiva o successiva. In termini generali, la termoterapia non è un concetto nuovo in neuro-oncologia. La terapia laser interstiziale (LITT), una procedura stereotassica limitata alle lesioni minori, ha mostrato esiti di sopravvivenza comparabili per gliomi recidivanti [53, 54]. Recentemente, il nostro gruppo ha pubblicato anche riguardo a una serie di pazienti con glioma recidivante trattati intraoperatoriamente con terapia fotodinamica a cielo aperto dopo FGR, con curve di sopravvivenza comparabili [23]. È importante sottolineare che, rispetto ad altri metodi, le nanoparticelle NanoTherm® hanno dal 2011 il certificato di conformità alle normative europee sui dispositivi medici per il trattamento dei tumori cerebrali. Inoltre, l'applicazione intracavitale di nanoparticelle consente il trattamento di architetture tumorali più complesse e può essere direttamente collegata alla resezione microchirurgica.

4.1. Combinazione della FGR con l'applicazione di nanoparticelle

Rispetto alla classica applicazione stereotassica delle nanoparticelle [27], la sua aggiunta alla resezione guidata dalla fluorescenza comporta diversi vantaggi. La citoriduzione con l'impiego di FGR e IOM dà buoni risultati oncologici e funzionali [55]. Ciò consente di utilizzare la termoterapia a integrazione dei migliori standard di cura. A differenza dell'applicazione stereotassica delle nanoparticelle, è possibile utilizzare volumi maggiori di nanoparticelle senza indurre un'elevata pressione intracranica. Inoltre, poiché la procedura aperta consente al neurochirurgo di distribuire le particelle in modo più accurato, sotto il controllo visivo diretto, è possibile evitare i problemi comuni associati al metodo stereotassico, tra cui la dispersione e la dissoluzione delle nanoparticelle. Infine, grazie a un unico corridoio chirurgico, non sono necessarie traiettorie multiple, quali sono richieste per tumori più grandi laddove si utilizzi solo il metodo stereotassico [27, 28].

4.2. Procedure in caso di complicanze

A breve termine (mediana: 70 giorni, IQR: 50-105), più della metà dei pazienti ha sviluppato edema perifocale con deficit neurologici associati, che hanno richiesto un trattamento con dosi più elevate di steroidi. Sei di questi pazienti sono stati necessariamente sottoposti a rimozione chirurgica delle nanoparticelle per edema refrattario ($n = 6$; 33%). Nella nostra precedente pubblicazione, ci siamo concentrati sull'aspetto immunologico di questa reazione che deve essere considerata come parte del trattamento. L'istopatologia del tessuto cerebrale ha rivelato grandi quantità di nanoparticelle aggregate situate nel tessuto necrotico, senza evidenza di attività tumorale. Ai margini, sono state rilevate nanoparticelle incorporate dai fagociti. Il tessuto circostante mostrava un forte stato pro-infiammatorio, con aumentata infiltrazione di cellule T, NK e mieloidi [32]. Tali reazioni sono state riscontrate anche nella serie di casi descritta (pazienti 9 e 13). Oltre all'edema, quattro pazienti hanno sviluppato un'infezione del sito chirurgico, probabilmente a seguito del trattamento steroideo a lungo termine ($n = 4$; 22%). Pertanto, deve essere evitata la somministrazione di alte dosi di corticosteroidi (desametasone oltre 4 mg/die) per lunghi periodi di tempo (> 6 settimane). Un'alternativa potrebbe essere l'uso di bevacizumab per controllare l'edema, come è stato dimostrato nel trattamento della radionecrosi [56].

In altri casi, bisogna considerare la rimozione chirurgica delle nanoparticelle e del tessuto necrotico dal nucleo del tumore. Inoltre, la termoterapia dovrebbe essere limitata ai pazienti che non richiedono l'uso di corticosteroidi prima del trattamento. Inoltre, i pazienti con uno stato di efficienza clinica ridotto, che potrebbero non tollerare un aumento transitorio dell'edema secondario a necrosi o che sono a rischio di altri effetti collaterali gravi, non potranno beneficiare di questa terapia, così come di tutte le altre terapie.

Rispetto alle applicazioni stereotassiche [27, 28], l'applicazione di nanoparticelle dopo la resezione del tumore consente una distribuzione molto migliore delle nanoparticelle e una loro maggiore concentrazione ai margini della cavità tumorale. Tuttavia, deve essere evitata l'eluzione nei ventricoli e nelle cisterne basali per prevenire complicazioni come nel paziente 4. Pertanto, qualsiasi contatto tra la cavità di resezione e i ventricoli o le cisterne dovrebbe essere, se possibile, sigillato, ad es., con tamponi di collagene rivestiti di fibrinogeno.

4.3. Prospettive

Poiché è necessario assumere che l'ipertermia sia la causa principale dell'edema, occorre prestare particolare attenzione nell'eseguire la simulazione e la regolazione della temperatura. Attualmente, la temperatura massima registrata lungo il percorso del catetere a punta chiusa è utilizzata per correggere la simulazione e regolare l'AMF. Sarebbe più ragionevole adattare l'AMF alla temperatura al confine tra tumore e SPION, poiché questa è la regione in cui gli effetti termici biologici dovrebbero essere più pronunciati.

Stiamo lavorando a soluzioni che consentano la misurazione simultanea della temperatura in molti punti lungo il catetere termometrico, che dovrebbe essere posizionato preferibilmente lungo il margine della cavità tumorale. Queste misurazioni saranno utilizzate per correggere la simulazione della temperatura in tempo reale, al fine di generare un grafico della temperatura più preciso. Un'altra opzione potrebbe essere quella di

posizionare un secondo catetere, al fine di ottenere più punti di riferimento per la simulazione. Non è facile da immaginare, ma il processo più desiderabile per un controllo preciso della terapia sarebbe un metodo non invasivo in grado di creare un grafico tridimensionale della temperatura nelle condizioni di un campo magnetico alternato ad alta energia.

I principali determinanti della produzione di calore nei tessuti sono: intensità del campo, densità delle nanoparticelle e perfusione tissutale. Attualmente, per simulare la temperatura è utilizzato un valore di perfusione standard mediato su tutto il cervello. A causa delle cicatrici postoperatorie, delle necrosi, della diversa densità cellulare, di edemi preesistenti, ecc., la perfusione locale si discosterà quasi sempre da questo presupposto generalizzato. Poiché la mappatura della perfusione cerebrale può essere eseguita facilmente e regolarmente mediante tecniche di tomografia computerizzata a contrasto dinamico, il programma NanoPlan® è attualmente in fase di modifica per includere questo metodo nella correzione della simulazione basata sui voxel.

Un numero maggiore di fogli di nanoparticelle consente l'impiego di una minore energia AMF, facilitando le regolazioni dell'intensità del campo durante le sessioni di terapia. Tuttavia, volumi troppo grandi possono favorire l'insorgenza di reazioni necrotiche con edema dopo il trattamento, che occupano spazio, come osservato nel caso n. 13 (Tabella 2). Per superare questo problema, è possibile sviluppare soluzioni di SPION più concentrate.

Una delle innovative possibilità di mostrare e monitorare le risposte infiammatorie dopo il trattamento e il microambiente immunitario del tumore (TME) è l'imaging PET a doppio tracciante con ^{18}F -FET e ^{18}F -DPA-714 (ligando della proteina traslocatrice microgliale (TSPO)). Nel caso del paziente 8, questa tecnica per immagini è stata eseguita sei mesi dopo la termoterapia (Figura 5). La segnalazione TSPO era chiaramente superiore al segnale FET, fatto che può indicare l'attivazione di cellule mieloidi associate al glioma oltre i confini del tumore discriminati da FET-PET. La combinazione di questi biomarcatori per l'imaging aiuta nella caratterizzazione del TME, come discusso in un precedente articolo [37]. Per quanto riguarda la termoterapia, l'imaging TSPO mostra risposte immunitarie perifocali che travalicano chiaramente il volume del tumore solido. Pertanto, la PET TSPO può contribuire a una classificazione più ampia delle recidive, aiutando il medico a regolare perfettamente le impostazioni della termoterapia [57].

Figura 5. Paziente 8, sei mesi dopo la conclusione della termoterapia. Combinazione di immagini TC dopo somministrazione di contrasto (A), ^{18}F -FET- (B) e ^{18}F -DPA-714-PET (C). Si evidenzia il volume crescente di rinforzo del contrasto, rispettivamente positività FET e positività DPA; quest'ultima si riferisce all'infiltrazione di cellule mieloidi nel microambiente tumorale.

Attualmente assumiamo che la FGR e la termoterapia intracavitaria siano una buona opzione di trattamento alternativo per i pazienti con HGG recidivante e resecabile, in aree non eloquenti, con edema moderato. Questo riguarda in particolare i pazienti con HGG in prima recidiva con promotore MGMT non metilato e progressione del tumore durante il trattamento con agenti alchilanti, ma anche i pazienti con HGG in seconda recidiva o successiva. I nostri risultati, tuttavia, si basano su una revisione retrospettiva di una serie eterogenea di HGG recidivanti. Sono necessarie ulteriori ricerche per affinare diversi aspetti tecnici, quali il volume di SPION utilizzato e il calcolo e il monitoraggio della temperatura della terapia. Recentemente, è stato istituito un registro dei pazienti per raccogliere in modo prospettico i dati sul trattamento.

5. Conclusioni

La FGR in combinazione con la termoterapia intracavitaria costituisce un metodo interessante per il trattamento di pazienti con glioma maligno. Oltre alla terapia citoriduttiva, l'ipertermia non ablativa può indurre reazioni infiammatorie, ma la frequente comparsa di edema cerebrale richiede una messa a punto del protocollo di trattamento.

Contributo degli autori: Concettualizzazione, M.S., M.M., J.W., O.G.; Metodologia, M.S. e M.M.; Programmazione informatica, M.S. e M.M.; Valutazione, S.S., J.W., O.G., W.S. e B.Z.; Analisi formale, M.S., M.M., B.Z. e O.G.; Ricerca, M.S. e J.W.; Materiali, M.S., A.-K.B. e J.W.; Curatore dati, M.S., A.-K.B. e B.Z.; Protezione dei dati, M.S., A.-K.B. e B.Z.K.B. e B.Z.; Redazione-Preparazione del progetto iniziale, M.S. e M.M.; Redazione-correzione ed edizione, M.S., M.M., S.S., M.H., B.B., N.W., J.W., W.S. e O.G.; Visualizzazione, M.S. e M.M.; Supervisione, W.S.; Gestione del progetto, M.S., J.W. e W.S. Tutti gli autori hanno letto e approvato la versione pubblicata del manoscritto.

Finanziamento: Questo studio non ha ricevuto alcun finanziamento esterno.

Dichiarazione del Comitato di revisione istituzionale: Lo studio è stato condotto in conformità alle linee guida della Dichiarazione di Helsinki e approvato dal Comitato di revisione istituzionale (o Commissione etica) dell'Università di Münster, Germania (2020-531-f-S e data di approvazione: 18 agosto 2020).

Dichiarazione di consenso informato: Il consenso informato è stato ottenuto da tutti i partecipanti allo studio.

Dichiarazione di disponibilità dei dati: Tutti i dati generati o analizzati nel corso di questo studio sono contenuti in questo articolo pubblicato.

Conflitti d'interesse: Walter Stummer segnala l'attività di docenza per le aziende Medac (Wedel, Germania), Carl Zeiss Mediatech (Oberkochen, Germania) e MagForce AG (Berlino, Germania). Oliver Grauer ha ricevuto sostegno finanziario da MagForce AG (Berlino, Germania) per la partecipazione a simposi. Michael Schwake e Stephanie Schipmann riferiscono attività di consulenza per MagForce AG (Berlino, Germania). Tutti gli altri autori non hanno alcun interesse personale, finanziario o istituzionale per alcuno dei farmaci, materiali o dispositivi descritti in questo articolo.