



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE BIOMEDICHE**

*Direttore della Scuola: Prof. Franca Deriu*

**INDIRIZZO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA**

*Responsabile di Indirizzo: Prof. Roberto MANETTI*

**XXVI CICLO**

**TITOLO TESI**

**L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non  
invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno  
studio prospettico in doppio cieco**

***Direttore:***

Prof. Franca Deriu

***Tutor:***

Prof. Maria Pina DORE

***Tesi di dottorato di:***

Dott. Onofrio Marcello TUFANO

**Anno Accademico 2012 – 2013**

## **RIASSUNTO**

**Background:** il cancro del colon-retto è una delle neoplasie più comuni al mondo. Allo stato attuale, la colonscopia è la modalità diagnostica di elezione per la sua sicurezza e affidabilità, ma è associata a costi elevati e disagi per il paziente. La necessità di elaborare e testare metodi di screening accurati e non invasivi da inserire nell'iter diagnostico è evidente ed auspicabile.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'accuratezza diagnostica di un oscillatore sintonizzabile non lineare, il Tissue Resonance Interaction Method (TRIM) in grado di rilevare le differenze nelle proprietà elettromagnetiche di tessuti biologici anormali e normali rispetto al Gold Standard, ovvero la colonscopia associata alla istologia nel rilevare le lesioni del colon.

**Metodi:** Il presente lavoro è il risultato di uno studio-pilota monocentrico. Prima della colonscopia, ciascun paziente già sottoposto, nei giorni precedenti, ad una accurata toilette intestinale, è stato studiato con il TRIMprobe per la ricerca di lesioni del colon, da un operatore in cieco. Il dispositivo è stato fatto scorrere sulla parete addominale con il paziente in piedi tra l'operatore ed il ricevitore del sistema. Sono state quindi registrate le variazioni delle tre linee spettrali del segnale di 465-, 930-, e 1395 MHz. Dopo questa fase preliminare si è proceduto all'esame colonscopico, considerato al momento ed universalmente il gold standard.

**Risultati:** E' stato arruolato un totale di 305 pazienti consecutivi, programmati per la colonscopia (età media  $\pm$  59 13 7 anni, 118 maschi). Il sistema TRIMprobe è stato in grado di rilevare 134 adenomi (17 con displasia di alto grado; 42 con displasia di basso grado e

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

75 polipi iperplastici) con una sensibilità complessiva, specificità ed accuratezza diagnostica del 98,7%, 90,6%, e del 94,8% rispettivamente. Le lesioni adenocarcinomatose sono state rilevate nel 100% dei casi (12/12). La concordanza dei risultati delle due prove è risultata altamente significativa ( $p < 0.0001$ ).

**Conclusioni:** L'elevata resa diagnostica e la semplicità del TRIMprobe insieme alla mancanza di invasività ed ai bassi costi suggerisce come questo metodo potrebbe essere adatto ed usato quale strumento di screening di primo livello nel rilevare lesioni del colon.

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

## **INTRODUZIONE**

Il cancro colon-rettale (CRC) è una patologia comune in tutto il mondo ed è associata ad una elevata morbilità e mortalità<sup>1</sup>. Anche se i tassi di mortalità continuano a diminuire per tutte i principali tipi di tumore compreso il CRC, l'American Cancer Society stima che più di 50 mila americani, affetti da stadi avanzati di malattia, saranno destinati alla morte da CRC nel 2013.<sup>2</sup> Il decorso clinico e la morte del paziente, sono strettamente legati alla estensione della malattia al momento della diagnosi. Gli attuali programmi di prevenzione del cancro del colon sono basati sulla identificazione e la rimozione delle lesioni quando sono ancora precancerose o non hanno ancora invaso la sottomucosa. Per lo screening di popolazione sono attualmente utilizzati il test del sangue occulto nelle feci, l'endoscopia, e la radiologia<sup>3</sup>, nel tentativo di ridurre sia l'incidenza che la mortalità per CRC.

La colonscopia è il test migliore per la diagnosi di CRC, considerato che è in grado di identificare le lesioni in tutto il grosso intestino, rilevare neoplasie sincrone, e qualora presenti, rimuovere i polipi.<sup>4</sup> Poiché la maggior parte dei tumori del colon retto origina da adenomi, la colonscopia, attraverso la rimozione dei polipi (lesioni precancerose) è potenzialmente in grado di rendere il CRC un tumore prevenibile e curabile. Tuttavia, la popolazione a rischio è enorme e la colonscopia è scomoda e non priva di rischi.

Attualmente circa il 50% dei casi di cancro al colon-retto vengono diagnosticati ancora in ritardo.<sup>5</sup> Fattori quali il sesso, età, istruzione, reddito, stato civile, luogo di residenza, storia di fumo, il paese di origine, e lo stato di salute auto-percepita hanno dimostrato essere preditori, statisticamente significativi, di accesso alla colonscopia.<sup>6</sup>

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

Recentemente, il fisico italiano, Clarbruno Vedruccio, ha sviluppato un dispositivo elettronico in grado di rilevare anomalie biologiche del tessuto con l'impiego di frequenze dovuto all'assorbimento selettivo (risonanza) di onde elettromagnetiche.<sup>7-9</sup>

Questa tecnologia è basata sulla risonanza data dall'accoppiamento di un oscillatore non lineare attivo (il probe), ed uno passivo (il tessuto) nel range di radiofrequenza dello spettro delle onde elettromagnetiche. Il sistema utilizza una sonda non lineare, oscillatore a radiofrequenza in grado di emettere un'onda elettromagnetica molto debole, di 462-465 MHz più le armoniche. La frequenza fondamentale delle onde emesse è di circa 465 MHz. Altresì vengono trasmesse le onde di 930 MHz e 1395 MHz. Il tessuto sospettato di alterazioni patologiche viene così irradiato attraverso la sonda manuale (probe) vicino al campo di emissione e catturato da un analizzatore di spettro collocato ad 1-2 metri di distanza dal paziente utilizzando una speciale antenna per valutare l'interazione oscillatore-tessuti. Il dispositivo è caratterizzato da un elevato range dinamico, dell'ordine di 30 decibel (dBm) o più, in grado di rilevare anche piccole lesioni. Quando una particolare risonanza viene rilevata, l'oscillatore si blocca su quella specifica frequenza di interazione risultando in una finestra spettrale acuta, centrata su 462 MHz. Questa è visualizzata nell'analizzatore di spettro come una netta diminuzione nella propagazione della riga spettrale 462 MHz. L'interazione di risonanza non lineare fornisce una caratterizzazione selettiva, che può essere paragonata ad una " biopsia elettronica" dei tessuti.

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

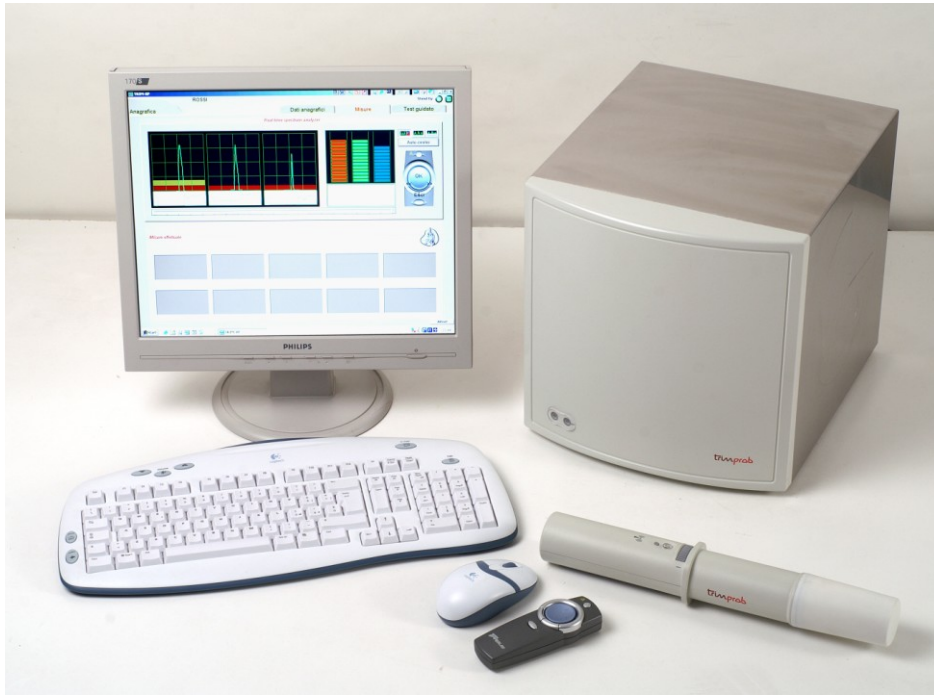


Figura 1.

Il metodo diagnostico, basato sulla frequenza di assorbimento selettivo di onde elettromagnetiche da parte del tessuto alterato, è in grado di rilevare l'infiammazione, la fibrosi, i diverticoli ed i tumori maligni ad eccezione delle patologie ematologiche. I meccanismi biofisici responsabili delle differenze di assorbimento delle onde elettromagnetiche non sono stati ancora del tutto chiariti. Nel caso del cancro, per descrivere il meccanismo del TRIMprobe, è stato proposto da parte del fisico J Pokorny<sup>10,11</sup> un malfunzionamento mitocondriale (effetto Warburg), associato ad un aumentata riduzione dello stato di vibrazione elettrico/elastica dovuto ai microtubuli cellulari. Questi cambiamenti sono rappresentati da un calo nell'ampiezza del segnale nelle frequenze fondamentali dell'oscillatore non lineare di microonde - il nucleo del dispositivo diagnostico - quando accoppiato al tessuto canceroso analizzato mediante il campo vicino. Questo repentino abbassamento in ampiezza non si manifesta per il tessuto sano.<sup>10-12</sup>

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

L'accuratezza diagnostica del TRIMprobe è stata valutata per il rilevamento del cancro della prostata<sup>9,13-15</sup>, del cancro al seno<sup>16</sup>, ed il cancro della vescica<sup>17</sup>, nei carcinomi in pazienti con gozzo multinodulare<sup>18</sup>, nel carcinoma gastrico<sup>19</sup>, e nelle lesioni maligne del retto.<sup>20</sup> Secondo queste precedenti esperienze cliniche, il TRIMprobe ha dimostrato di essere un metodo di indagine semplice ed affidabile con una elevata resa diagnostica.

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari -

## **SCOPO DELLO STUDIO**

Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare l'accuratezza diagnostica del TRIMprobe nel rilevare le lesioni del colon rispetto alla colonscopia con conferma istologica come il gold standard.

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari -



## **PAZIENTI E METODI**

**Disegno dello studio:** Si è trattato di uno studio pilota monocentrico ed in doppio cieco. Sono stati arruolati pazienti consecutivi, di età superiore ai 18 anni, afferenti agli ambulatori di Endoscopia Digestiva delle Clinica Medica, Azienda Ospedaliero Universitaria di Sassari. Tutti i pazienti con indicazione alla colonscopia, per qualsiasi ragione medica, sono stati invitati a partecipare allo studio. Sono stati esclusi i pazienti con pacemaker impiantato e le donne in stato di gravidanza (entrambi per scopo cautelare non esistendo precise controindicazioni dimostrate da studi precedenti).

Il protocollo di studio è stato approvato dal Comitato Etico Locale. Non c'è stato nessun finanziamento pubblico o privato o sponsor aziendale.

Il consenso informato scritto è stato ottenuto da parte di ciascun partecipante a seguito di una dettagliata spiegazione dello studio da parte degli operatori (MPD, MC, VF).

**Procedura con il TRIMprobe:** Un singolo ricercatore (MOT), all'oscuro "in cieco" di tutte le informazioni cliniche, ha eseguito il test utilizzando il sistema TRIMprobe (Galileo Avionica, Torino, Italia) lo stesso giorno dell'appuntamento per la colonscopia come da programma. Il paziente era stato preparato con una toilette intestinale standard per la colonscopia. L'operatore era un radiologo esperto in ecografia ed addestrato per il sistema TRIMprobe con un'esperienza pregressa di oltre 5 mila esami.

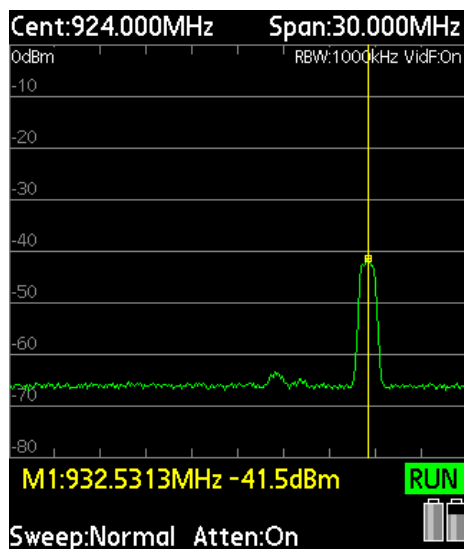
Il sistema è costituito da una stazione di lavoro, integrata con un oscillatore autonomo sintonizzabile lineare, una sonda di circa 30 cm di lunghezza in grado di emettere onde elettromagnetiche di bassa intensità (simili a quelle generate durante l'uso di un telefono

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

cordless). La stazione di lavoro è composta da un personal computer assistito da un analizzatore di spettro-ricevitore allo scopo di visualizzare ed elaborare l'interazione tra le radiofrequenze emesse dalla sonda e dal tessuto malato<sup>7</sup>.

Inoltre in questo studio, è stato utilizzato per la prima volta, un computer palmare (PSA2701T - 2.7 GHz RF Spectrum Analyzer Thurlby Thandar Instruments, Ltd, Huntingdon, Regno Unito). Le variazioni sono state mostrate sullo schermo del personal computer utilizzando una scala logaritmica ed espresse in unità arbitrarie comprese tra 0-255 ed in dBm sull'analizzatore di spettro tenuto in mano dall'operatore al fine di facilitare l'interpretazione del segnale ricevuto (Figura 2).



**Fig 2:** Lo screen del computer palmare con la linea verde che rappresenta le variazioni di ampiezza rappresentate in decibel.

Durante l'esecuzione dell'esame, con il paziente vestito, la sonda veniva spostata su tutta la superficie dell'addome, ad una distanza dagli abiti di circa 10 cm, dal diaframma ai quadranti inferiori di destra e sinistra, compresa la zona pelvica per eseguire l'esame completo dei segmenti del colon e del retto. La zona perineale è stata esplorata con

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

particolare attenzione per escludere segnali inviati alla sonda dall'utero o dalla prostata. L'analizzatore di energia, costituito da un'antenna ed un analizzatore di spettro, era situato a circa un metro di distanza dalla sonda e dal paziente.

Il colon è stato indagato attraverso la parete addominale dal campo risultante prodotto dall'emettitore-sonda TRIMprobe (Figura 3).



**Fig 3:** Operatore e paziente durante l'esecuzione della procedura TRIMprob

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

L'interazione della risonanza non lineare con il tessuto riduce l'energia delle onde emesse a distinte frequenze sulla base dello stato patologico del tessuto esaminato, pertanto la riduzione in ampiezza del segnale indica la presenza di strutture o tessuti anomali. Per ogni posizione esaminata sono stati registrati in un file elettronico i cambiamenti in ampiezza di ciascun segnale emesso a 465 MHz, 930 MHz, e 1395 MHz, con il valore delle corrispondenti linee spettrali espresse in dBm. L'intero esame del colon aveva una durata compresa tra i 5 ed i 10 minuti.

**La colonscopia:** La preparazione intestinale consisteva di quattro litri di polietilene glicole combinato con una rigorosa dieta liquida per un giorno intero. Più precisamente, quattro bustine di Selg Esse 1000 (Promefarm, Milano, Italia) ciascuna contenente 58,30 gr macrogol 4000, 5,68 gr di solfato di sodio anidro, 1,68 gr di bicarbonato di sodio, 1,46 gr di cloruro di sodio, 0,74 gr di cloruro di potassio, più simeticone 0,08 gr sono stati sciolti in quattro litri di acqua e consumati la sera prima del giorno della colonscopia (tra le ore 18:00 e le 22:00). I pazienti sono stati inoltre istruiti a seguire una dieta liquida il giorno prima dell'esame e dopo la mezzanotte di bere solo acqua. Le colonscopie sono state eseguite da uno dei tre endoscopisti "in cieco" rispetto ai risultati del TRIMprobe, con colonscopi Olympus EXERA 145, con il paziente in sedazione cosciente, Le procedure colonscopiche sono state registrate su videocassetta digitale per la successiva revisione. L'esame è stato condotto sino al cieco, fino alla individuazione della valvola ileocecale da parte del primo endoscopista e dell'endoscopista esperto.

**Determinazione polipi:** Durante la fase di ritiro del colonscopio, gli endoscopisti hanno ispezionato sequenzialmente tutti i segmenti (cieco, colon ascendente, trasverso, discendente, sigma e retto anche in retroversione).

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

La dimensione di ogni singolo polipo è stata valutata confrontando le dimensioni dello stesso con la massima larghezza delle ganasce di una pinza biotica completamente aperta (nove millimetri). Polipi inferiori per dimensione alla metà della pinza biotica aperta, sono stati definiti piccoli polipi (< cinque millimetri), quelli di dimensioni maggiori sono stati considerati polipi clinicamente significativi. Sono stati fatti tutti i tentativi per rimuovere e recuperare i polipi indipendentemente dalla dimensione ed il materiale biotico è stato sottoposto ad esame istologico per ricercare mutazioni carcinomatose o altre anomalie. I polipi piccoli sono stati rimossi con ansa a freddo o sottoposti a biopsia. Tutte le colonscopie sono state effettuate tra le ore 09:00 e le 14:00.

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L’accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari -

## **ANALISI STATISTICA**

Per valutare la performance diagnostica del TRIMprobe nei confronti della mucosa normale, dei polipi iperplastici, degli adenomi con displasia di basso ed alto grado nonché dei carcinomi, è stato calcolato il miglior valore soglia per ciascuna delle tre righe spettrali sulla base di analisi preliminari condotte in vivo su 100 pazienti e in vitro per le feci. Le curve di ROC sono state tracciate attraverso l'intera gamma dei possibili valori di frequenza ed è stata stimata l'area sotto la curva. Successivamente, utilizzando la media dei due valori di segnale più bassi ottenuti per ogni acquisizione da ciascun campione (tessuto normale, lesioni maligne del colon, polipi e feci), testate per i singoli valori ottenuti con il TRIMprobe insieme ai risultati dell'istologia come gold standard, è stato calcolato il valore dell'area sotto ciascuna delle tre diverse curve come riportato nella Tabella 1.

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

**Tabella 1:** Valore di soglia rappresentato in decibel per il computer portatile ( PSA2701T - 2.7 GHz RF Spectrum Analyzer Thurlby Thandar Instruments, Ltd , Huntingdon, Regno Unito ), analizzatore di spettro, per ciascuna delle tre righe spettrali per la condizione normale e ciascuna anomalia biologica della mucosa del colon.

<b>Linee Spettrali</b>	<b>Mucosa Normale</b>	<b>polipo iperplastico</b>	<b>polipo* a basso grado</b>	<b>polipo* alto grado</b>	<b>adenocarcinoma</b>
<b>465 MHz</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>25-30</b>	<b>30-35</b>	<b>60-70</b>
<b>930 MHz</b>	<b>0</b>	<b>&gt;40</b>	<b>&gt;40</b>	<b>&gt;40</b>	<b>35-40</b>
<b>1395 MHz</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>30-40</b>

\* basso grado di displasia; \*alto grado di displasia

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L’accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari -

Le interazioni tra il campo elettromagnetico emesso dalla sonda ed il tessuto per i diversi tipi di lesione sono rappresentati nelle figure 4, 5, 6, 7, e nella Tabella 1. La presenza di feci ha comportato una riduzione nella prima riga spettrale non superiore ai 25 dB. I risultati del TRIMprobe sono stati espressi con una variabile binaria (valori zero/uno) in ciascun paziente esaminato, dando uno quando si registrava almeno un segnale di attenuazione uguale o superiore di 40 dB a 930 MHz o 1395 MHz, e zero quando non si aveva attenuazione significativa in entrambe le frequenze. Per ciascun partecipante allo studio, è stata considerata la lesione del colon più importante (nel caso di coesistenza di più quadri patologici) per assegnare il paziente a ciascuna categoria diagnostica. Le proporzioni delle diagnosi ottenute con il TRIMprobe sono state correlate con il gold standard ed sono stati calcolati i valori di sensibilità, specificità, valore predittivo positivo e negativo.

E' stato anche calcolato il coefficiente di correlazione di Matthews (MCC) <sup>21</sup> quale misura di accordo tra i due metodi a confronto. Tutte le analisi sono state effettuate con il programma di statistica SPSS (v. 16.0, Chicago, USA) ed i valori di P- inferiori a 0.05 sono stati considerati statisticamente significativi.

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L’accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.



## **RISULTATI**

Sono stati arruolati un totale di 305 pazienti consecutivi che rientravano nei criteri di inclusione (118 maschi, età media  $60,0 \pm 13,2$  anni, 187 femmine, età media  $58,4 \pm 14,0$  anni). La procedura TRIMprobe è stata ben accettata da tutti i pazienti e non sono stati osservati effetti avversi. L'esame TRIMprobe è risultato normale in 137 pazienti su 305 esaminati (44,9%). Sono stati ottenuti risultati positivi in 168 soggetti secondo quanto rappresentato nella Tabella 2. I risultati della colonscopia/istologia sono risultati essere concordanti con il TRIMprobe nel 94,7% e più specificamente in 156 casi positivi ed in 149 casi negativi con un coefficiente di correlazione di 0,897. Considerando colonscopia/istologia come il gold standard per la rilevazione di adenomi, la sensibilità, la specificità, il valore predittivo positivo e negativo del TRIMprobe sono stati 91,1% , 98,5%, 98,7%, e 90,0%, rispettivamente (Tabella 2). Il TRIMprobe, in accordo con il gold standard, è stato in grado di identificare correttamente la presenza o l'assenza di lesioni del colon in 289 casi, con una accuratezza diagnostica del 94,8%. Ci sono stati 16 casi discordanti; due falsi negativi (1,5%) e 14 falsi positivi (9,3%). Una parte di questo sottogruppo di pazienti mostrava un aumento della percentuale di cicatrici alla colonscopia (8/14), rispetto all'intera coorte. Questa condizione potrebbe aver simulato la presenza di adenomi durante il test con il TRIMprobe interagendo con il segnale di frequenza di 465 MHz. La specificità del TRIMprobe nel rilevare adenomi avanzati e cancro del colon sono state del 100% e 99% rispettivamente.

La correlazione tra colonscopia e TRIMprob sul numero di polipi è risultata statisticamente significativa ( $\rho$  di Spearman = 0,917,  $p = 0.0001$ ). I valori predittivo positivo, e negativo

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

sono stati più elevati nel genere maschile rispetto al genere femminile (97,6% vs 86,0%; 100% vs 98,3% rispettivamente) ( $p = 0,0001$ ).

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L’accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari -

**Table 2.** Sensitività, specificità, valore predittivo positivo e negativo del TRIMprobe analisi comparata con il gold-standard (colonscopia ed istologia) nella ricerca di lesioni o anomalie della mucosa del colon.

Istologia	N° positivi/N° totale dei casi		Sensitività (%)	Specificità (%)	Valore predittivo positivo (%)	Valore predittivo negativo (%)
	Colonscopia	TRIMProbe				
Tutti i casi	156/305	168/305	91.1	98.5	98.7	90.0
Iperplastici*	76/305	81/305	98.7	97.4	92.6	99.6
Adenomi§	51/305	44/305	86.3	100	100	97.3
Adenomi avanzati°	17/305	17/305	82.4	100	82.4	100
Cancro	12/305	14/305	100	99.3	85.7	100.

\*Polipi iperplastici di ogni dimensione. §Adenomi di ogni dimensioni con morfologia tubulare o villosa e displasia di basso grado. °Adenomi di ogni dimensioni con morfologia tubulare o villosa e displasia di alto grado.

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L’accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

## DISCUSSIONE

Gli adenomi del colon-retto sono lesioni precancerose. Individuare gli adenomi e rimuoverli è l'obiettivo primario per la prevenzione del cancro del colon-retto.<sup>22</sup> Attualmente, la colonscopia è percepita come il miglior strumento di screening disponibile poiché in grado di rilevare e rimuove le lesioni precancerose.<sup>23</sup> Tuttavia, la colonscopia è impegnativa, costosa, e la sua disponibilità è notevolmente inferiore alla dimensione della popolazione a rischio. Come su descritto, sono stati fatti dei tentativi per studiare popolazioni a più elevato rischio, con metodiche meno invasive quali l'uso del test per la ricerca del sangue occulto nelle feci (FOBT), e la colonscopia virtuale con Tomografia Computerizzata (TC).<sup>24</sup> Tuttavia il FOBT ha mostrato una scarsa sensibilità per l'individuazione degli adenomi e la colonscopia virtuale ha un significativo carico di radiazioni.<sup>25</sup>

I risultati di questo studio pilota suggeriscono la possibilità di utilizzare un metodo di rilevamento non invasivo come il TRIMprobe per identificare le lesioni precancerose del colon, senza la necessità di esporre i pazienti a radiazioni. Nel confronto con la colonscopia/istologia utilizzata come gold standard, il TRIMprobe ha prodotto una sensibilità come il 98,7% con una concordanza elevata (superiore al 90%), tra i due metodi. Questi risultati sono simili a quelli riportati per il cancro della prostata (95,5% - 86%),<sup>9,13-15</sup>, il cancro del seno (84%)<sup>16</sup>, nella rilevazione di carcinomi in pazienti con gozzo multinodulare (100%)<sup>18</sup>, nel cancro gastrico (100%)<sup>19</sup>, e nelle lesioni maligne rettali (94%)<sup>20</sup>. Per il cancro della vescica il livello di accordo tra TRIMprobe e cistoscopia è stato altrettanto elevato (K di Cohen = 0,77,  $p < 0.001$ )<sup>17</sup>. Il punto di forza del metodo TRIMprobe nel rilevare le lesioni del colon è la bassa frequenza di falsi negativi (1,5%)

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

osservati nel nostro studio, il che suggerisce che i pazienti con CRC raramente possono sfuggire alla diagnosi quando effettuata con il TRIMprobe. Nella nostra serie solo in due pazienti, risultati poi positivi per gli adenomi alla colonscopia, non sono stati individuati gli adenomi con il metodo TRIMprobe.

Le performance del TRIMprobe sono notevolmente migliori di quelle fornite dai tests di screening alternativi, come ad esempio il FOBT, la cui sensibilità è stata riportata a partire da 30%.<sup>25</sup> La sensibilità del metodo TRIMprobe era più elevata nelle lesioni di dimensioni maggiori, ma non differiva significativamente sulla base della morfologia dei polipi come osservato nella colonscopia. E' più importante il fatto che nell'identificare i carcinomi, la sensibilità TRIMprobe è stata del 100% indipendentemente dallo specifico segmento di colon considerato e dalla morfologia. Anche la specificità del metodo TRIMprobe ha dimostrato di essere elevata. Solo in 14 pazienti positivi all'esame TRIMprobe, la successiva colonscopia non ha mostrato evidenza di lesioni. Tuttavia questa discordanza è stata osservata più frequentemente per polipi iperplastici ed adenomi a basso grado di displasia. La specificità potrebbe ulteriormente essere migliorata da un approccio combinato, quindi prescrivendo la colonscopia come test di conferma in quei pazienti che hanno mostrato un risultato positivo con il TRIMprobe. In questo caso, supponendo che i nostri 14 pazienti, risultati essere falsi positivi al TRIMprobe, sarebbero stati correttamente ri-diagnosticati come liberi da lesioni alla colonscopia successiva, ciò potrebbe potenzialmente aumentare la sensibilità e la specificità della strategia combinata TRIMprobe-colonscopia fino al 98,8% e 100% rispettivamente. Questo richiederebbe l'esecuzione della colonscopia solo nei casi risultati positivi al TRIMprobe, cosa che ci si aspetterebbe in media nella metà dei casi esaminati. E' stato notato da diversi utilizzatori

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

del sistema TRIMprobe che alcuni falsi positivi, risultati negativi con le metodiche tradizionali, sono state in seguito rilevate positive con le metodiche tradizionali a distanza di due anni (il sistema è stato in grado di rilevare lesioni pre-cancerose e cancro anche con un anticipo di due anni rispetto alla insorgenza manifesta del tumore con le comuni metodiche) (Esperienza personale, dati non pubblicati).

Le oscillazioni della sonda con i tessuti biologici producono il fenomeno della "risonanza non lineare di interazione" che può essere rilevata dal ricevitore del TRIMprobe. Poiché l'intensità delle onde elettromagnetiche richieste è molto bassa, non vi è alcun pericolo per la salute associato all'uso del TRIMprobe. Questo rende il dispositivo altamente accurato nel rilevamento delle lesioni ed affatto invasivo per i pazienti.

E' nostra opinione che il dispositivo TRIMprobe posseda le potenzialità per essere utilizzato come uno strumento coadiuvante nel armamentario per lo screening delle lesioni precancerose del colon. In principio il dispositivo è stato sviluppato dall'inventore per scopi bellici, con l'obiettivo di rilevare, a distanza, i nemici nel campo di guerra. Allo stesso modo di quanto è accaduto per la risonanza magnetica o l'ultrasonografia, sviluppati per scopi militari, la risonanza non lineare di interazione rilevata dal TRIMprobe può offrire nuove opportunità per la diagnosi di lesioni maligne ed aprire una nuova opportunità per lo screening del cancro del colon e più in generale per la medicina, grazie alla semplicità ed al costo modesto del sistema. In realtà, l'intero costo del sistema TRIMprobe è di circa € 45.000. Inoltre un beneficio secondario del dispositivo è la possibilità di rilevare altre lesioni potenziali situate nelle aree di scansione, indipendentemente dalla loro origine dal tratto gastro-intestinale. Limitazione del sistema TRIMprobe è che gli operatori

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

dovrebbero essere istruiti e formati, cosa peraltro necessaria anche per un operatore di ecografia, di tomografia computerizzata o di risonanza magnetica.

Anche se il TRIMprobe è una tecnica operatore dipendente, in uno studio precedente sul cancro prostatico è stata osservata una variabilità intra -ed inter- osservatore del 100% tra due procedure TRIMprobe eseguite da un singolo ricercatore ad un intervallo di 24 ore, e l'8% di discordanza, per due distinti investigatoriche non concordavano su due pazienti in un totale di 25, con ipertrofia prostatica benigna.<sup>9</sup> Variabilità inter- o intra-operatore non sono state riscontrate nella valutazione dei pazienti con cancro della prostata.<sup>9</sup> Sono stati ottenuti risultati simili in uno studio condotto in una coorte di pazienti con sospette lesioni mammarie palpabili rilevate alla mammografia ed ecografia.<sup>16</sup>

In conclusione, il metodo TRIMprobe ha dimostrato di essere un valido strumento diagnostico per la diagnosi delle lesioni del colon e maggiormente del CRC, principalmente a causa della sua elevata sensibilità e specificità, e pertanto merita di essere raccomandato nello screening di routine dei tumori gastrointestinali. Tuttavia, prima che il sistema TRIMprobe possa essere incluso nelle linee guida come un metodo di routine per lo screening del CRC, i risultati riportati nel nostro studio pilota devono essere ulteriormente confermati su grande scala nell'ambito di trial clinici multicentrici.

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L'accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

## BIBLIOGRAFIA

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. [Global cancer statistics. \*Cancer J Clin\* 2011; 61: 69-90.](#)
2. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; **63**: 11-30.
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Use of colorectal cancer tests-- United States, 2002, 2004, and 2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008; **57**: 253-8.
4. Levin B, Lieberman DA, McFarland B, et al. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *Gastroenterology* 2008; **134**: 1570-95.
5. Henley SJ, King JB, German RR, Richardson LC, Plescia M, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance of screening-detected cancers (colon and rectum, breast, and cervix) - United States, 2004-2006. *MMWR Surveill Summ* 2010; **59**: 1-25.
6. Stock C, Brenner H. Utilization of lower gastrointestinal endoscopy and fecal occult blood test in 11 European countries: evidence from the Survey of Health, Aging and Retirement in Europe (SHARE). *Endoscopy* 2010; **42**: 546-56.

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L’accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.



7. Vedruccio C, Meessen A. EM cancer detection by means of non linear resonance interaction. In: Proceedings PIERS progress in electromagnetics research symposium, Pisa, Italy, March 28–31, 2004; pp 909–912
8. Gervino G, Autino E, Kolomoets E, Leucci G, Balma M. Diagnosis of bladder cancer at 465 MHz. *Electromagn Biol Med* 2007; **26**: 119–134.
9. Bellorofonte C, Vedruccio C, Tombolini P, Ruoppolo M, Tubaro A. Non-invasive detection of prostate cancer by electromagnetic interaction. *Eur Urol* 2005; **47**: 29–37.
10. Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science* 1956; **123**: 309–314.
11. Warburg O, Posener K, Negelein E. U"ber den Stoffwechsel der Carcinomzelle. *Biochem Z* 1924; **152**: 309–344.
12. Pokorný J, Vedruccio C, Cifra M, Kučera O. Cancer physics: diagnostics based on damped cellular elasto-electrical vibrations in microtubules. *Eur Biophys J* 2011; **40**: 747-59.
13. Da Pozzo L, Scattoni V, Mazzoccoli B, et al. Tissue-resonance interaction method for the noninvasive diagnosis of prostate cancer: analysis of a multicentre clinical evaluation. *BJU Int* 2007; **100**: 1055–1059.
14. Tubaro A, De Nunzio C, Trucchi A, Stoppacciaro A, Miano L. The electromagnetic detection of prostatic cancer: evaluation of diagnostic accuracy. *Urology* 2008; **72**: 340–344.

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L’accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

15. Gokce O, Sanli O, Salmaslioglu A, Tunaci A, Ozsoy C, Ozcan F. Tissue resonance interaction method (TRIMprob) has the potential to be used alongside the recognized tests in the screening protocols for prostate cancer. *Int J Urol* 2009; **16**: 580–583.
16. De Cicco C, Mariani L, Vedruccio C, et al. Clinical application of spectral electromagnetic interaction in breast cancer: diagnostic results of a pilot study. *Tumori* 2006; **92**: 207–212.
17. Gervino G, Autino E, Kolomoets E, Leucci G, Balma M. Diagnosis of bladder cancer at 465 MHz. *Electromagn Biol Med* 2007; 26: 119–134.
18. Sacco R, Innaro N, Pata F, Lucisano AM, Talarico C, Aversa S. Preoperative diagnosis of incidental carcinoma in multinodular goitre by means of electromagnetic interactions. *Chir Ital* 2007; **59**: 247–251.
19. Sacco R, Sammarco G, De Vinci R, et al. Relief of gastric cancer with an electromagnetic interaction system (TRIMprob) in outpatients. *Chir Ital* 2007; **59**: 823–828.
20. Vannelli A, Leo E, Battaglia L, Poiasina E. Diagnosis of rectal cancer by electromagnetic interactions: preliminary results. *Dis Colon Rectum* 2009; **52**: 162–166.
21. Baldi P, Brunak S, Chauvin Y, Andersen CAF, Nielsen H. Assessing the accuracy of prediction algorithms for classification: an overview. *Bioinformatics* 2000; **16**: 412–424.

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L’accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

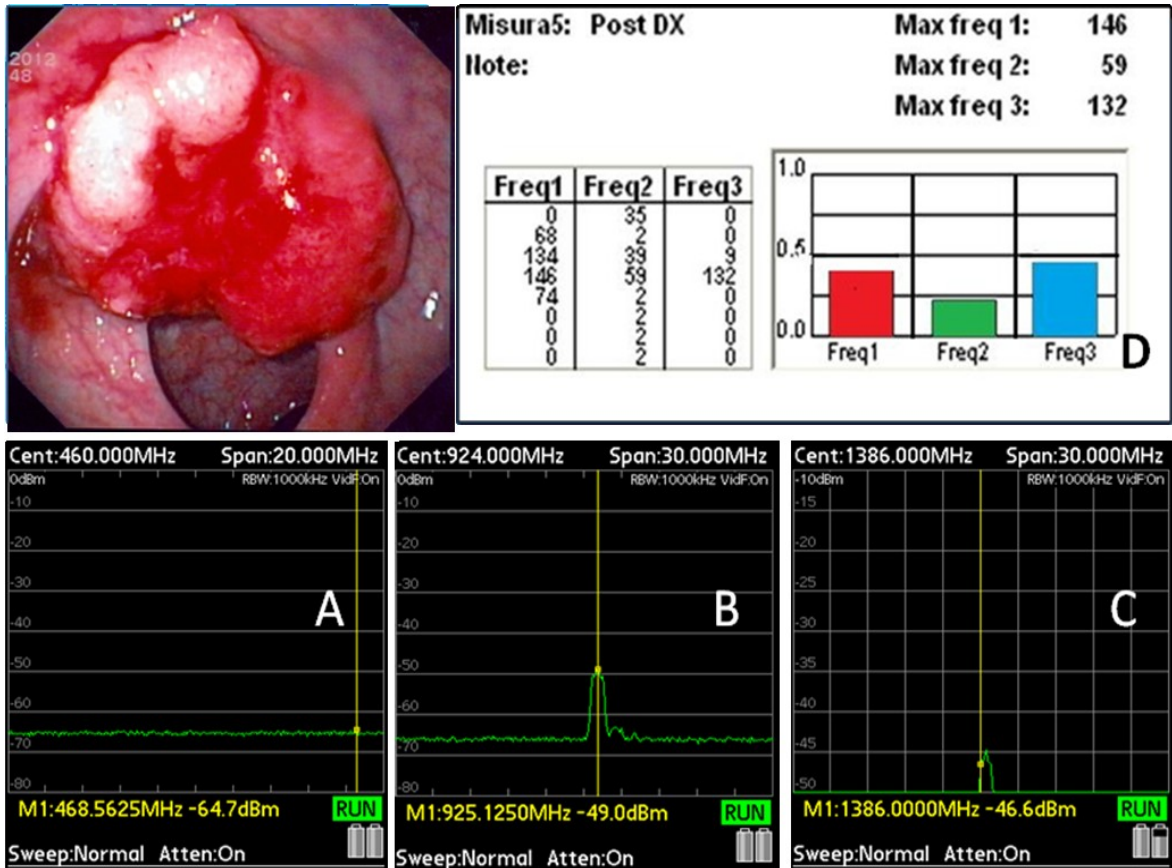
22. Winawer SJ, Zauber AG. The advanced adenoma as the primary target of screening. *Gastrointest Endosc Clin North Am* 2002; **12**: 1–9.
23. Levin B, Lieberman DA, McFarland B, et al. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *Gastroenterology* 2008; **134**: 1570–1595.
24. Winawer SJ, Flehinger BJ, Schottenfeld D, Miller DG. Screening for colorectal cancer with fecal occult blood testing and sigmoidoscopy. *J Natl Cancer Inst* 1993; **85**: 1311-18.
25. Brenner DJ, Georgsson MA. Mass screening with CT colonography: should the radiation exposure be of concern? *Gastroenterology* 2005; **129**: 328–337.

**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L’accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

**Figura 4:**

Il cancro del colon, come osservato nella colonscopia e dal TRIMprobe. Le righe spettrali A, B e C corrispondono alle barre rosse, verdi e blu, rispettivamente nel riquadro D. In questo caso vi è la scomparsa della prima riga (A), una drammatica deflessione della seconda (B), e della terza linea (C) (per il tumore e angiogenesi).

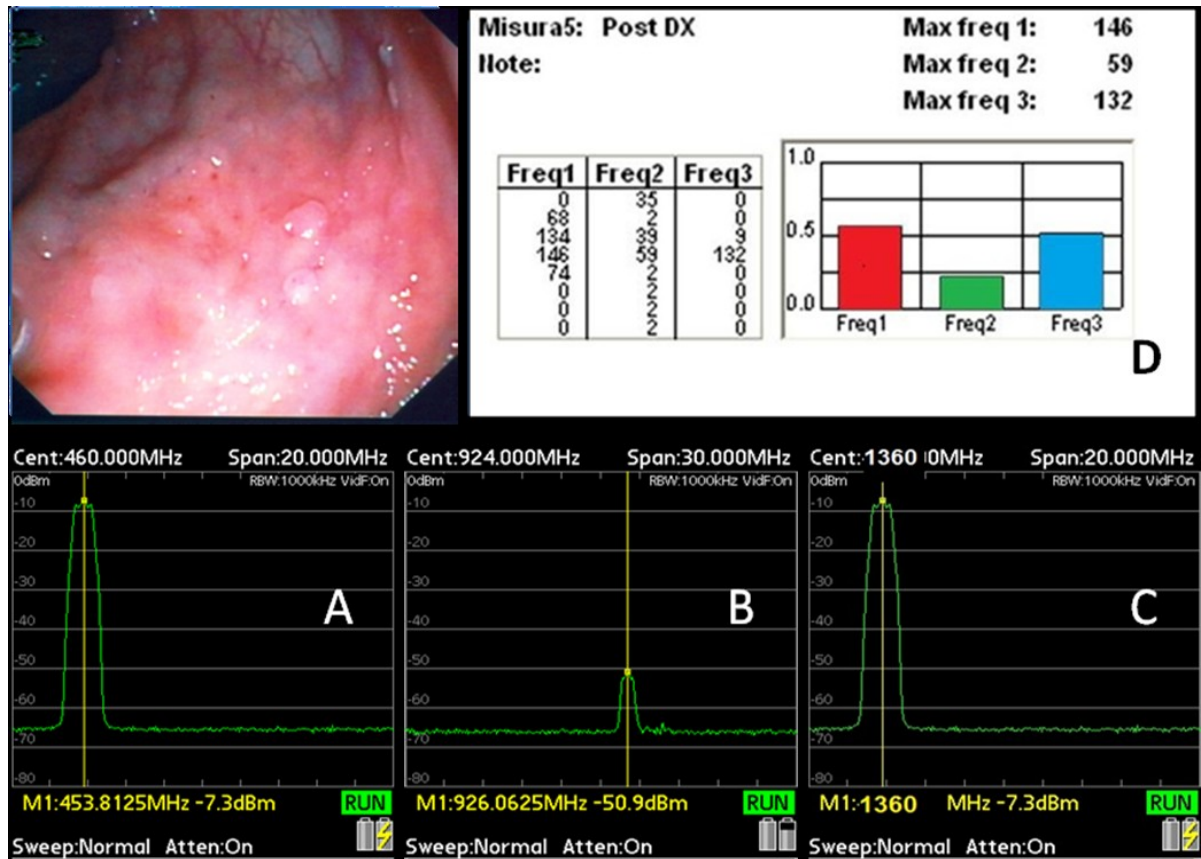


**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L’accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

**Figura 5:**

Polipi iperplastici, come osservato durante la colonscopia e dal TRIMprobe. Le righe spettrali A, B e C corrispondono alle barre rosse, verdi e blu, rispettivamente nel riquadro D. In questo caso è peculiare la deflessione profonda della seconda riga spettrale (B).

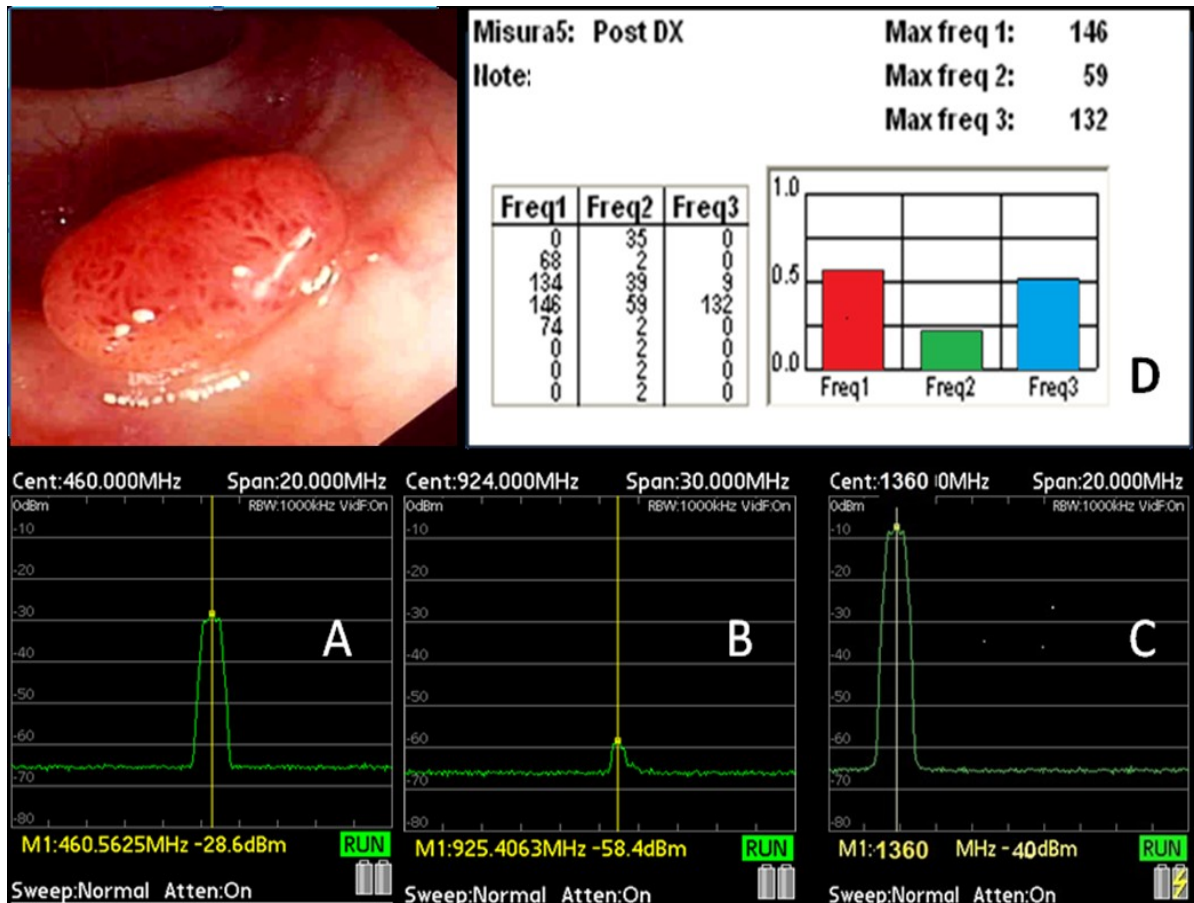


**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L’accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

**Figura 6:**

Rappresentazione dei polipi con displasia di basso grado come osservati durante la colonscopia e rilevati dal TRIMprobe. Le righe spettrali A, B e C corrispondono alle barre rosse, verdi e blu, rispettivamente, nel riquadro D. In questo caso vi è una modesta deflessione della riga spettrale A e più profonda della seconda (B).

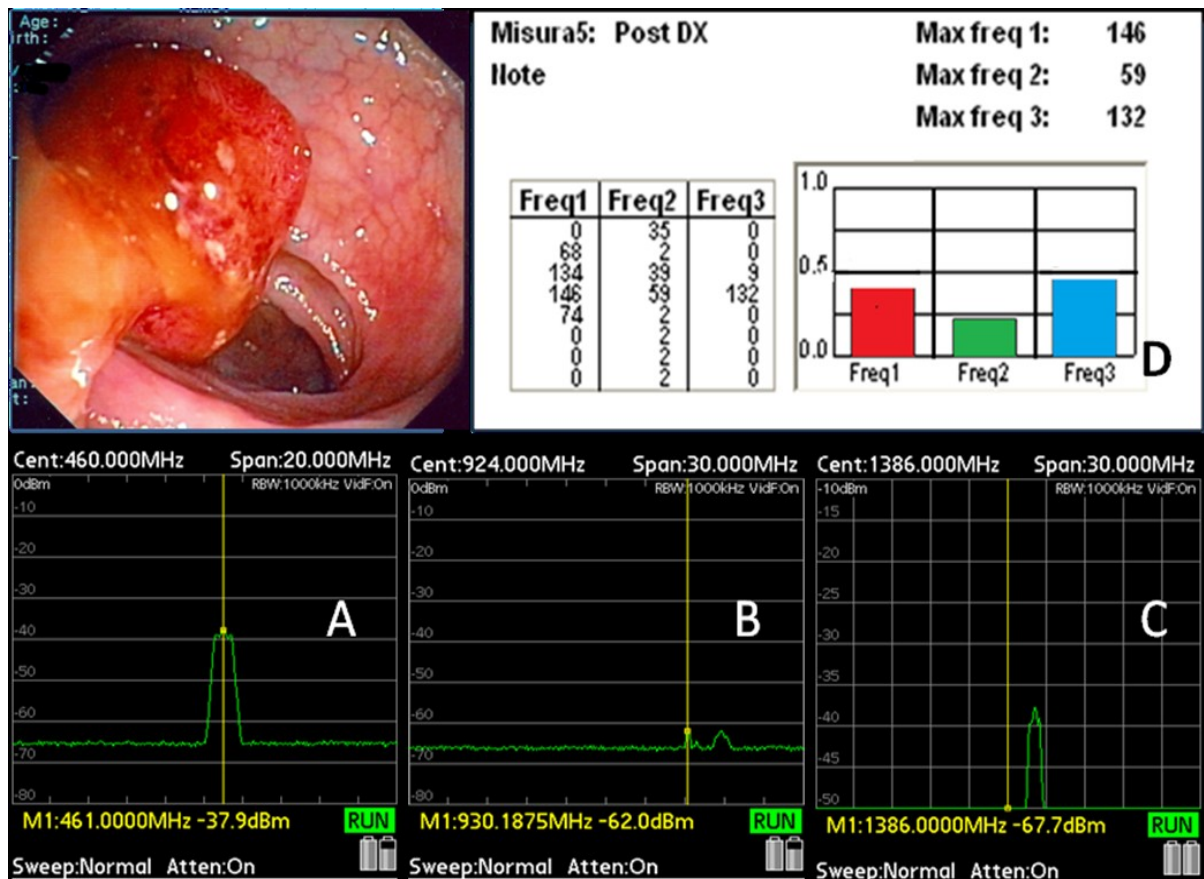


**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L’accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.

**Figura 7:**

Rappresentazione dei polipi con displasia ad alto grado come osservato durante la colonscopia e registrato dal TRIMprobe. Le righe spettrali A, B e C corrispondono alle barre rosse, verdi e blu, rispettivamente nel riquadro D con una importante deflessione di tutte tre le righe spettrali ma più marcata per quella B.



**Dr. Onofrio Marcello Tufano,**

“L’accuratezza diagnostica del bioscanner Trimprob: uno strumento non invasivo per la diagnosi delle lesioni pre-neoplastiche del colon. Uno studio prospettico in doppio cieco”.