TRATTAMENTI INTEGRATIVI IN ONCOLOGIA

i fattori di differenziazione cellulare come integrazione della chemioterapia

Comitato scientifico
(in ordine alfabetico)

Prof. Mariano Bizzarri
Università La Sapienza di Roma

Prof. Michele Carruba
Università degli Studi di Milano

Dott. Vincenzo Costigliola
Presidente European Medical Association - Bruxelles

Prof. Enzo Nisoli
Università degli Studi di Milano

Prof. Guido Torzilli
Istituto Clinico Humanitas IRCCS - Rozzano

Segretario scientifico:
Dott. Andrea Pensotti
Centro Studi SalutEuropa

EMA European Medical Association

INTRODUZIONE

A cura del prof. Michele Carruba
Presidente Comitato Scientifico

Scoprire di avere un tumore è un evento drammatico che rende il paziente fragile e disorientato.

I medici non possono esimersi dall'applicazione dei protocolli classici e poi ognuno segue i suoi pazienti con la solerzia, l'attenzione e la carica umana di cui è capace.

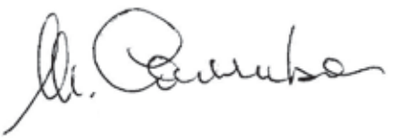
A volte qualche paziente si sente solo, non avverte il beneficio della chemioterapia e di tutti i trattamenti standard e va così in depressione. Consulta internet, cerca altre vie e scopre soluzioni alternative/integrative come una dieta appropriata, uno stile di vita nuovo o un altro medico che lo ascolta di più, gli da sostegno morale e gli consiglia prodotti integrativi che prima non gli erano stati proposti.

Internet però è pieno anche di notizie imprecise ed il rischio per il paziente di affidarsi a soluzioni inutili o peggio ancora dannose è molto alto.

In questo contesto, dove oggi tramite il web le notizie viaggiano molto più velocemente e senza controllo, capita sempre più spesso che informazioni dal mondo della ricerca giungano prima ai pazienti che ai medici, magari mal riportate: il rischio che prendano piede teorie e terapie inutili è così sempre più alto.

Per questa ragione ho sentito il bisogno di istituire un comitato scientifico con l'obiettivo di studiare e valutare le innovative ricerche nell'ambito della riprogrammazione epigenetica delle cellule tumorali con i fattori di differenziazione staminale così da evitare che vengano diffuse notizie scorrette o parziali ed aiutare i colleghi universitari e clinici ad inquadrare al meglio il tema di ricerca e le sue prospettive per il futuro. Abbiamo analizzato con attenzione tutta la letteratura scientifica ad oggi a disposizione ed identificato quegli aspetti di valore che è necessario approfondire con ulteriori studi, nell'interesse sia della ricerca che soprattutto della salute dei pazienti.

Spero che questo breve testo possa essere un valido supporto nell'orientamento di tutti i medici e i ricercatori interessati ad approfondire questo filone di ricerca.



TRATTAMENTI INTEGRATIVI IN ONCOLOGIA

i fattori di differenziazione cellulare come integrazione della chemioterapia

Parallelamente al sequenziamento del codice genetico è emerso un altro ambito di ricerca, quello dell'epigenetica. Si parla pertanto di due tipi di codice, quello genetico e quello epigenetico che sta sopra al codice genetico e ne regola il funzionamento. Nell'ambito degli approcci epigenetici in campo oncologico si è consolidata da diversi anni la ricerca sulla riprogrammazione delle cellule staminali tumorali con i fattori di differenziazione embrionale.

Di fatto si è dimostrato che i fattori di differenziazione delle cellule staminali prelevati dall'uovo di Zebrafish, che ha oltre il 90% di proteine in comune con quelle umane, sono in grado di normalizzare il ciclo cellulare delle cellule cancerose. Si tratta degli stessi meccanismi che in natura sono attivi durante le fasi di organogenesi, quando cioè avvengono tutti i processi di differenziazione delle cellule staminali che portano alla formazione di tessuti ed organi. In queste fasi, dove è molto alto il rischio di sviluppare errori nella replicazione, i fattori di differenziazione hanno anche un importante ruolo correttivo verso quelle cellule che vanno incontro ad errori. La riconferma di questo meccanismo si è avuta quando, impiantando cellule tumorali in un embrione durante la fase di organogenesi sono stati osservati processi differenziativi ed apoptotici sulle cellule tumorali impiantate; al contrario impiantando cellule tumorali in un embrione dopo la fase di organogenesi le cellule tumorali hanno continuato a proliferare. Si può pertanto parlare di "riprogrammazione" epigenetica delle cellule malate attraverso l'azione di quei peptidi che sono in grado di riportare la cellula nell'ambito della sua normale fisiologia.

Queste ricerche, iniziate già nella fine degli anni '80 dal dr. Biava, sono state sviluppate anche dal Children Hospital di Chicago, dalla Northwestern University e dall'Università La Sapienza di Roma ed ultimamente da molte altre istituzioni.

Emerge che i fattori di differenziazione sono in grado, in associazione con i trattamenti chemioterapici standard, di rallentare e spesso bloccare il ciclo cellulare delle cellule tumorali, sia attivando il gene onco-repressore p53, sia regolando in modo post-traduzionale la proteina del retino blastoma (pRb) che ha anch'essa un'attività di blocco del ciclo cellulare. Contestualmente vengono attivate dagli stessi fattori di differenziazione anche una serie di cascate di geni regolatori che tentano di riparare i danni cellulari all'origine della malignità: se le alterazioni non sono troppo gravi queste vengono effettivamente riparate; se invece le mutazioni sono troppo gravi e non sono riparabili vengono attivati i geni della morte cellulare programmata/apoptosi e le cellule cancerose muoiono. Di fatto dopo il trattamento con i fattori di differenziazione le cellule tumorali escono dal ciclo della moltiplicazione cellulare.

Sono già state realizzate una serie di importanti ricerche sulla sinergia fra agenti chemioterapici e fattori di differenziazione, nel 2011 ad esempio è stata pubblicata su *Apoptosis* una ricerca condotta presso l'Università La Sapienza di Roma dove si è osservato "in vitro" che il trattamento con i fattori di differenziazione induce non solo un rallentamento della crescita tumorale, ma un significativo aumento della morte cellulare. Un successivo studio, pubblicato su *Current Pharmaceutical Biotechnology* ha permesso di capire che questo effetto è mediato dalla ridotta espressione di fattori che, nelle cellule tumorali, proteggono il tumore dall'apoptosi. Inoltre, i fattori di differenziazione determinano il rallentamento della crescita di cellule del tumore del colon CaCo2: un rallentamento del 35% si è ottenuto con il trattamento col solo 5 Fluoro-Uracile, un rallentamento del 98% è invece stato ottenuto con la contemporanea somministrazione di 5 Fluoro-Uracile e fattori di differenziazione. Lo stesso Richard Ablin (scopritore del PSA) ha riportato in un articolo pubblicato nel 2014 un effetto notevolmente benefico della sinergia fra fattori di differenziazione e ablazione chirurgica o altri trattamenti tradizionali del tumore della prostata. I fattori di differenziazione staminale hanno dimostrato infine di migliorare il performance status e la qualità della vita nell'82% dei pazienti trattati e di ridurre gli effetti collaterali avversi della chemioterapia.

PUNTI SALIENTI DELLA RICERCA

Lo stato dell'arte della ricerca comprende sia lavori "in vitro" sulle dinamiche molecolari in cui sono implicati i fattori di differenziazione staminale, sia lavori "in vivo" su topi e su uomini. Resta necessario implementare la ricerca "in vivo", specialmente clinica.

Nello specifico sono stati realizzati studi sui seguenti aspetti:

Studi su animali

Gli effetti dei fattori di differenziazione staminale sull'inibizione della crescita dei tumori sono stati testati "in vivo" su femmine di topi singenici C57BL/6.

Analisi proteica dell'estratto di uova di Zebrafish

È stata realizzata un'analisi proteica dell'estratto embrionale dalle uova di Zebrafish operando con gel elettroforesi monodimensionale (SDS-PAGE) e con la spettrometria di massa.

Rallentamento della crescita di linee cellulari tumorali trattate con i fattori di differenziazione

Trattando diverse linee cellulari tumorali con i fattori di differenziazione estratti dalle uova di Zebrafish si è osservato il rallentamento della crescita del tumore stesso.

Meccanismi biologici di rallentamento o blocco del ciclo cellulare

- Attivazione p53
- Regolazione post-traduzionale della proteina del retinoblastoma (pRb)
- Inibizione dei fattori che antagonizzano l'apoptosi e attivazione dei processi che portano alla morte cellulare programmata (Caspasi-3, Caspasi 8, Bcl2, Bax, Bc-xl, c-Flip).

Studi clinici

- Studio clinico preliminare su 200 pazienti per verificare la sicurezza nell'integrazione delle terapie standard con i fattori di differenziazione nei pazienti con tumori in stadio avanzato
- Studio clinico randomizzato su 179 pazienti affetti da epatocarcinoma in stadio medio avanzato
- Studio clinico randomizzato su 49 pazienti affetti da epatocarcinoma in stadio medio avanzato

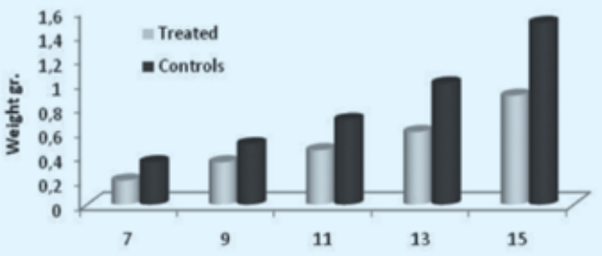
Effetto sinergizzante con la chemioterapia osservato su linee cellulari CaCo2

Trattando linee cellulari tumorali CaCo2 con 5-fluorouracile associato ai fattori di differenziazione emerge un importante effetto di rafforzamento sinergico.

STUDI SU ANIMALI

Gli effetti dei fattori di differenziazione staminale sull'inibizione della crescita dei tumori sono stati testati "in vivo" su femmine di topi singenici C57BL/6 dal peso di 18 - 20 gr a cui veniva effettuata un'iniezione subcutanea di carcinoma primario del polmone di Lewis.

Sono quindi state valutate sia le dimensioni, a vari giorni, del tumore primario, sia il tempo di sopravvivenza dei topi. In termini di sviluppo del tumore primario si è osservata una differenza estremamente significativa ($P<0.001$) tra i topi trattati e quelli di controllo e così anche per quanto riguarda il rapporto di sopravvivenza, sempre in favore del topo trattato.



Days after tumors' implantation

Biava, P.M.; Bonsignorio, D.; Hoxha, M.; Impagliazzo, M.; Frosi, A.; Larese, F.; Negro, C. (2002) Mother-embryo cross-talk: the anti-cancer substances produced by mother and embryo during cell differentiation. A review of experimental data. J. Tumor Marker Oncol., 2002, 17, 55-58

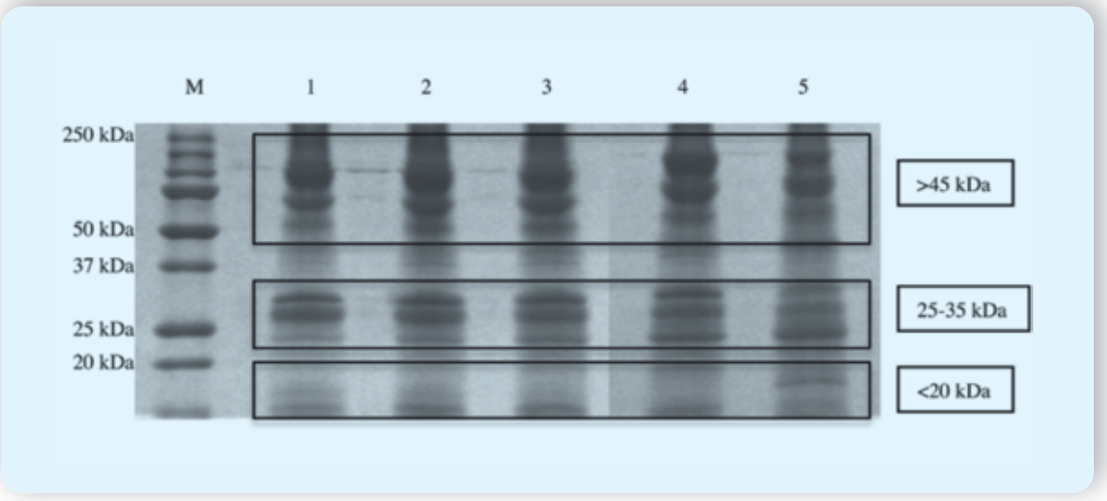
ANALISI PROTEICA DELL'ESTRATTO DI UOVA DI ZEBRAFISH

Analisi con gel elettroforesi monodimensionale

È stata realizzata un'analisi proteica di 5 estratti embrionali di Zebrafish prelevati in 5 differenti fasi dello sviluppo.
È stata realizzata la gel elettroforesi monodimensionale (SDS-PAGE).

Si evidenziano alcune differenze tra le varie fasi con concentrazioni raggruppabili in tre categorie:
- sopra i 45 kDa
- intorno ai 25-35 kDa
- sotto i 20 kDa.

La maggiore attività è stata riscontrata con il raggruppamento sotto i 20 kDa.



Analisi con spettrometria di massa

Di seguito la lista delle proteine che sono state individuate con l'analisi di spettrometria di massa. Con l'asterisco (*) sono elencate le proteine mai prima descritte nell'embrione di Zebrafish.

LIST OF PROTEIN IDENTIFIED USING THE NANO LC-ESI-Q-TOF IN ZEBRAFISH EMBRYO AT MIDDLE-BASTULA-GASTRULA STAGE

Accession	Protein name	Score	Molecular weight	pI Calculated	Coverage
gi|166795887	vitellogenin 1 precursor	1108	150308	8,68	19
gi|94733730	vitellogenin 1	1039	149825	8,74	21
gi|94733733	novel protein similar to vitellogenin 1 (vg1)	913	149828	8,92	19
gi|94733734	novel protein similar to vitellogenin 1 (vg1)	835	150550	8,83	16
gi|145337918	Vtg1 protein	780	116965	9,07	18
gi|94733731	novel protein similar to vitellogenin 1 (vg1)	762	149911	8,84	19
gi|94732723	novel protein similar to vitellogenin 1 (vg1)	745	147826	8,73	17
gi|159155252*	Zgc: 136383 protein	720	124413	8,78	17
gi|68448530	vitellogenin 5	559	149609	8,77	13
gi|92097636	Zgc: 136383	402	28924	9,33	36
gi|63100501	Vtg1 protein	345	36580	9,23	28
gi|57864789	vitellogenin 7	341	24490	8,37	40
gi|57864783	vitellogenin 4	334	31304	9,48	27
gi|113678458	vitellogenin 2 isoform 1 precursor	323	181208	8,70	11
gi|125857991	Zgc: 136383 protein	171	149328	8,93	9
gi|15209312*	procollagen type l alpha 2 chain	169	147826	9,35	4
gi|57864779	vitellogenin 2	122	69906	7,84	8
gi|11118642	vitellogenin 3 precursor	117	140477	6,92	2
gi|303227889	vitellogenin 6	73	151677	8,84	4
gi|13242157*	egg envelope protein ZP2 variant A	71	48194	6,04	5
gi|6644111*	nucleoside diphosphate kinase- Z1	69	17397	7,77	14
gi|18859071*	nucleoside diphosphate kinase 3	69	19558	7,68	7
gi|126632622*	novel prot. cont. a galactose binding lectin domain	67	19245	9,33	13
gi|66773080*	mitochondrial ATP synthase beta subunit-like	66	55080	5,25	4
gi|38541767*	Ppia protein	60	19745	9,30	13
gi|1865782	HSC70 protein	58	71473	5,18	2
gi|28279108	heat shock protein 8	58	71382	5,32	4
gi|41152402*	histone H2B 3	49	13940	10,31	11
gi|41393113*	collagen, type l, alpha 1b precursor	46	137815	5,39	4
gi|94732492	ras homolog gene family, member F	46	24035	9,00	6
gi|47778620*	tryptophan hydroxylase D2	45	55686	6,56	1
gi|68448517*	zona pellucida glycoprotein 3.2 precursor	44	47365	4,92	2
gi|326677766*	PREDICTED: RIMS-binding protein 2-like	41	138659	5,86	0
gi|112419298	Vtg3 protein	40	60622	6,32	2
gi|54400406*	glutaredoxin 3	39	36541	5,18	11
gi|41152400*	peptidylprolyl isomerase A, like	37	17763	8,26	7

Ions score is -10*Log(P), where P is the probability that the observed match is a random event.
Individual ions scores > 36 indicate identity or extensive homology ($p < 0,05$).
Protein scores are derived from ions scores as a non-probabilistic basis for ranking protein hits.

RALLENTAMENTO DELLA CRESCITA

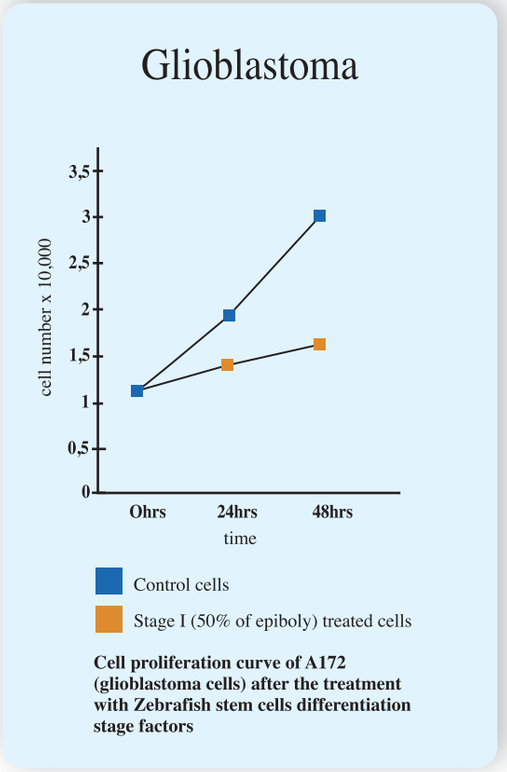
di linee cellulari tumorali trattate con i fattori di differenziazione

Trattando diverse linee cellulari tumorali con i fattori di differenziazione estratti dalle uova di Zebrafish si è osservato il rallentamento della crescita delle colture.

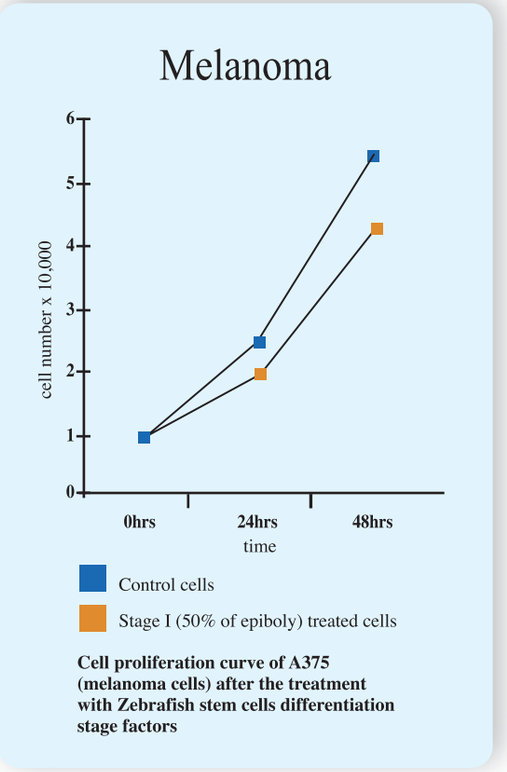
Nello specifico sono state studiate linee cellulari tumorali di:

- **Glioblastoma**
- **Melanoma**
- **Tumore al seno**
- **Leucemia Linfoblastica**
- **Adenocarcinoma del rene**

Di seguito vengono riportate le curve di crescita ricavate dalla ricerca:

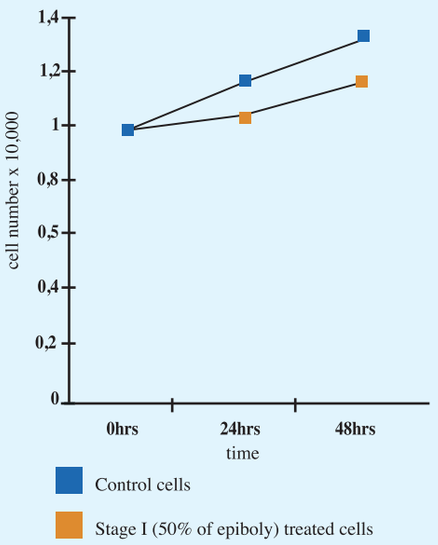


Cell proliferation curve of A172 (glioblastoma cells) after the treatment with Zebrafish stem cells differentiation stage factors



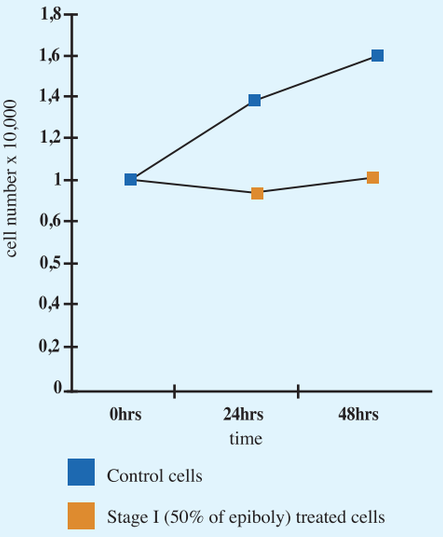
Cell proliferation curve of A375 (melanoma cells) after the treatment with Zebrafish stem cells differentiation stage factors

Tumore al seno



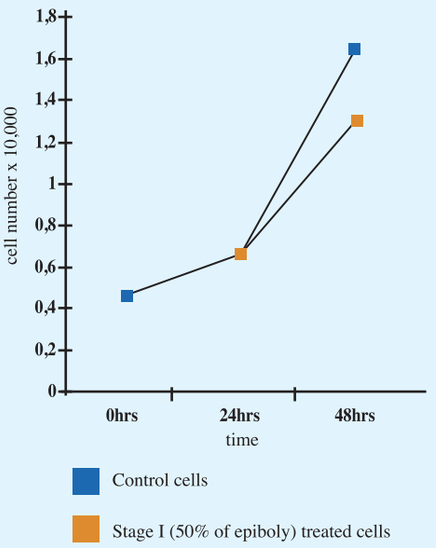
Cell proliferation curve of Breast carcinoma after the treatment with Zebrafish stem cells differentiation stage factors

Leucemia Linfoblastica



Cell proliferation curve of Lymphoblastic Leukemia after the treatment with Zebrafish stem cells differentiation stage factors

Adenocarcinoma del rene



Cell poliferation curve of ACHN (Kidney adenocarcinoma cells) after the treatment with Zebrafish stem cells differentiation stage factors

MECCANISMI BIOLOGICI DI RALLENTAMENTO O BLOCCO DEL CICLO CELLULARE

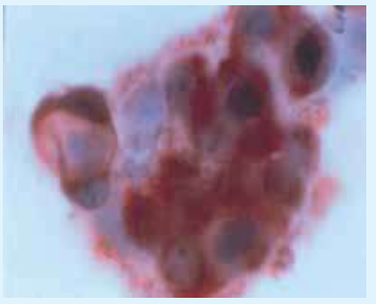
È stata fatta un'analisi approfondita sui meccanismi alla base del rallentamento o blocco della crescita cellulare. Si è potuto dimostrare che i fattori di differenziazione estratti dalle uova di Zebrafish sono in grado di regolare sia l'espressione del gene oncorepressore p53, sia l'attività dei fattori pRb/E2F il cui bilanciamento modula la scelta della cellula tra proliferazione e apoptosi. Trattando infatti con i fattori di differenziazione staminale cellule di diverse linee tumorali si è osservato un blocco del ciclo cellulare nella fase G0-G1.

Attivazione p53

Attraverso citofluorometria ed immunoistochimica si è evidenziato un significativo incremento nella concentrazione della proteine p53, in specifiche linee cellulari tumorali quali il glioblastoma multiforme, il melanoma e l'epatocarcinoma trattate con i fattori di differenziazione staminale. Tale incremento è conseguenza delle regolazione trascrizionale del gene oncosoppressore p53 evidenziato in queste immagini dal colore rosso.

PRIMA

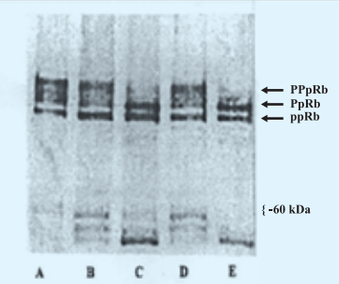
DOPO



Biava, P.M.; Carluccio, A. Activation of anti-oncogene p53 produced by embryonic extracts in vitro tumor cells. J. Tumor Marker Oncol., 1997, 12, 9-15

Regolazione post-traduzionale della proteina del retinoblastoma (pRb)

Trattando linee cellulari tumorali come quelle dell'adenocarcinoma del rene è stata osservata una regolazione post-traduzionale della proteina del retinoblastoma (pRb), nota per la sua funzione di blocco del ciclo cellulare; questa regolazione comporta modificazioni del rapporto tra la forma fosforilata e la forma non fosforilata della proteina pRb in favore della forma non fosforilata che blocca il ciclo cellulare ostacolando la trascrizione del gene E2F-1



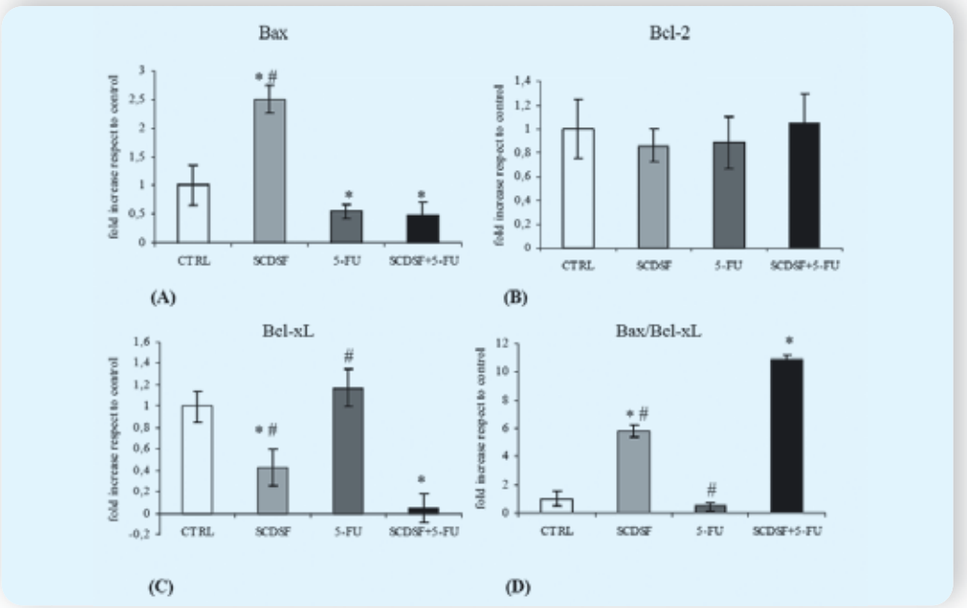
Immunostaining of whole ACHN cell lysabes with α-pRb antibody after fractionation of proteins on a 5% SDS-PAGE and Western Blotting. **A**: untrealed cells. **B**:24-hours treated cells with 3 µg of extract. **C**: 48-hours treated cells with 3 µg of extract. **D**: 24-hours treated cells with 15 µg of extract. **E**: 48-hours treated cells with 15 µg of extract.
PPpRbc: Hyperphosphorylated pRb. PpRb: phosphorylated pRb. ppRb: hypophosphorylated pRb.

Biava, P.M.; Bonsignorio, D.; Hoxa, M.; Facco, R.; Ielapi, T.; Frati, L.; Bizzarri, M. Post-traslational modification of the retino-blastoma protein (pRb) induced by in vitro administration of Zebrafish embryonic extracts on human kidney adenocarcinoma cell line. J. Tumor Marker Oncol., 2002, 17, 59-64

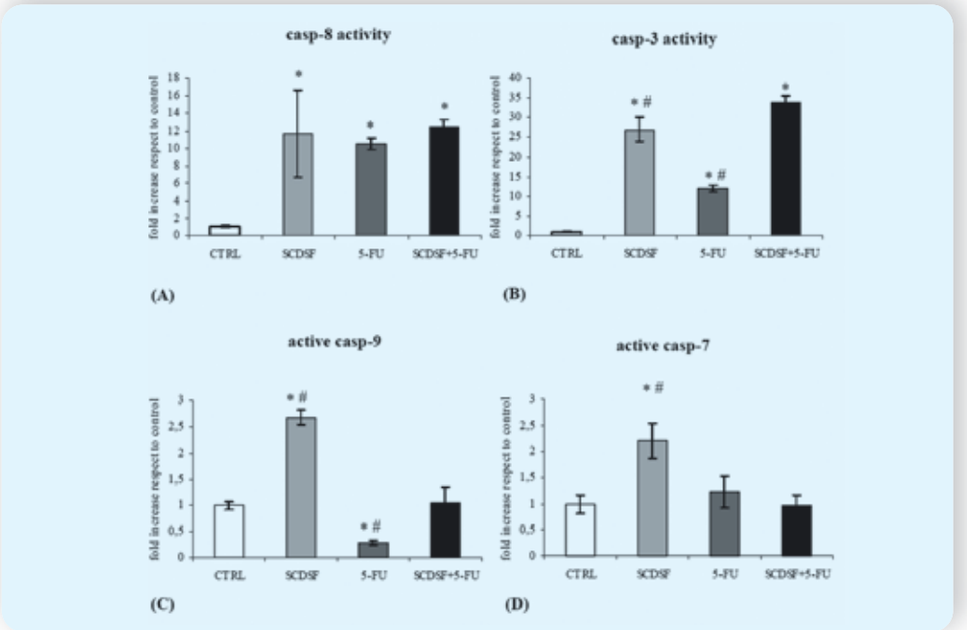
Inibizione dei fattori che antagonizzano l'apoptosi

Apoptosi

I fattori di differenziazione determinano un significativo aumento dell'apoptosi nelle cellule di tumore del colon. Tale aumento è giustificato dallo shift del rapporto tra Bcl-2, Bcl-x (proteina anti-apoptotica) e Bax (proteina pro-apoptotica) in favore di Bax come riportato nell'immagine sottostante:



Tale shift comporta un'attivazione delle caspasi, come riportato sotto, da cui si vede come tutte le caspasi sono attivate.



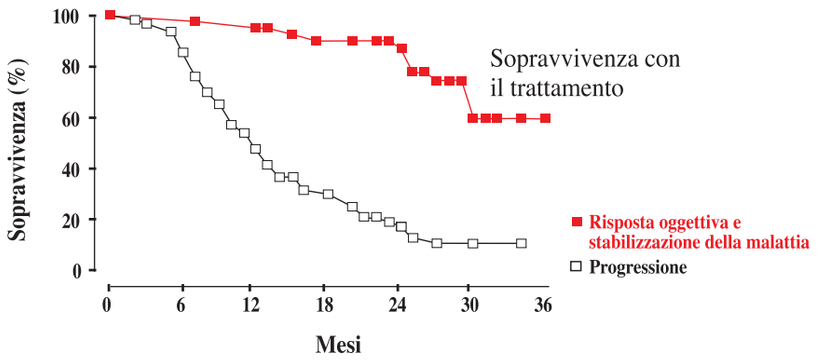
STUDI CLINICI

Studio clinico randomizzato su 179 pazienti affetti da epatocarcinoma in stadio medio avanzato

È stato realizzato uno studio clinico randomizzato su 179 pazienti affetti da epatocarcinoma di stadio intermedio avanzato. I risultati hanno evidenziato una differenza statisticamente significativa a favore del gruppo trattato con la sinergia di fattori di differenziazione e trattamenti standard ed il gruppo di controllo (P=0.03). Si sono registrate il 19,8% di regressioni (2,5% delle quali regressioni totali) ed il 16% di stabilizzazione della malattia.

Nella tabella sottostante viene riportata la curva di sopravvivenza ottenuta nello studio clinico randomizzato su 179 pazienti.

Curva di sopravvivenza dei pazienti con epatocarcinoma trattati con fattori di differenziazione embrionali che presentano una risposta oggettiva e la stabilizzazione in confronto con pazienti che presentano una progressione



Livraghi T, Meloni F, Frosi A et al. Oncol res 2005

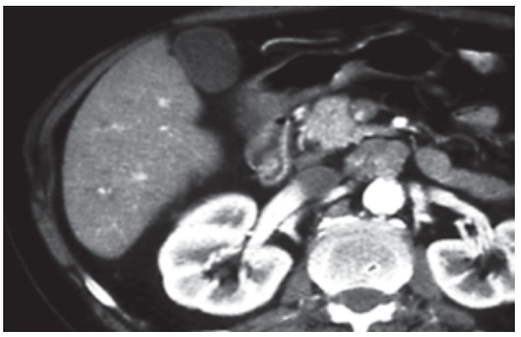
Tac

A titolo esemplificativo riportiamo gli esami diagnostici di due pazienti arruolati nello studio.

La TAC durante la fase arteriosa prima del trattamento con i fattori di differenziazione mostra multipli noduli di epatocarcinoma in diversi segmenti epatici.

PRIMA

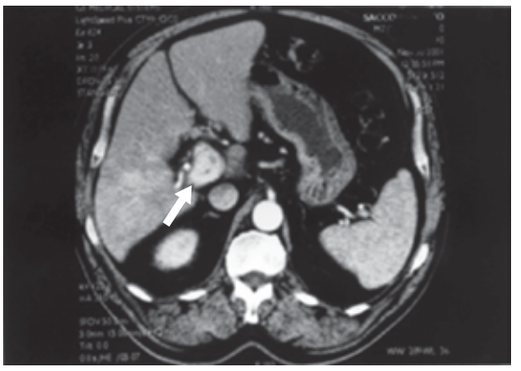
La TAC registrata 6 mesi dopo il trattamento con i fattori di differenziazione (SCDSFs) mostra la scomparsa di tutti i noduli neoplastici a livello epatico.



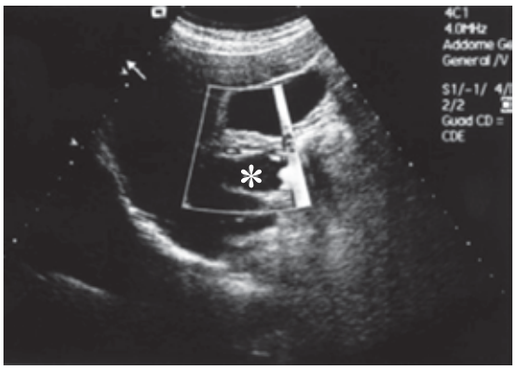
DOPO

PRIMA

TAC spirale durante la fase arteriosa prima del trattamento con i fattori di differenziazione staminale (SCDSFs). Mostra un epatocarcinoma in stadio avanzato nel lobo destro. Nel settimo segmento sono presenti delle aree di multipli noduli neoplastici, e un trombo (freccia) nella Porta.

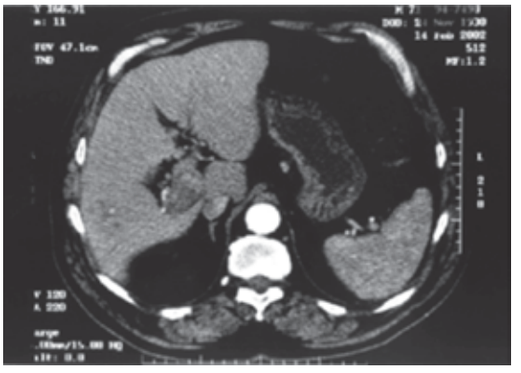


Nello stesso paziente, l'eco doppler, prima del trattamento conferma la trombosi all'interno della vena Porta principale (asterisco).

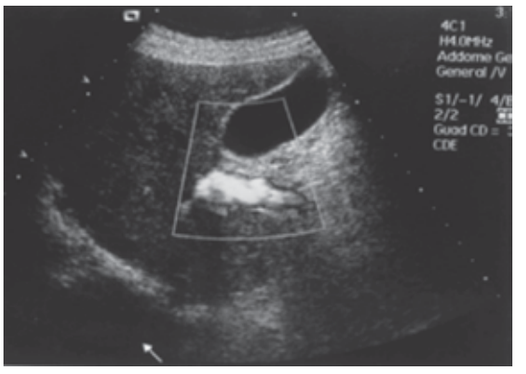


DOPO

TAC spirale realizzata dopo 6 mesi di trattamento con i fattori di differenziazione (SCDSFs) evidenzia il restringimento del trombo alla vena Porta e la scomparsa di tutti i noduli di epatocarcinoma cellulare nel lato destro.



L'eco doppler dopo 6 mesi di trattamento conferma la pressoché scomparsa del trombo nella vena Porta.



Livraghi, T.; Meloni, F.; Frosi, A.; Lazzaroni, S.; Bizzarri, M.; Frati, L.; Biava, P.M. Treatment with stem cell differentiation stage factors of intermediate-advanced hepatocellular carcinoma: an open randomized clinical trial. Oncol. Res., 2005, 15, 399-408

STUDI CLINICI

Studio clinico preliminare su 200 pazienti per verificare la sicurezza nell'integrazione delle terapie standard con i fattori di differenziazione nei pazienti con tumori in stadio avanzato

È stato effettuato uno studio su 200 pazienti, inclusi 60 con tumore al seno in stadio avanzato, per valutare i possibili effetti collaterali: per questa ragione nello studio non è stato previsto un gruppo di controllo.
Il protocollo prevedeva la somministrazione ai pazienti di 1 ml per 3 volte al giorno di soluzione sotto forma di gocce sublinguali contenente i fattori di differenziazione staminale in bassa concentrazione (3 microgrammi/ml). Dopo 3 anni di trattamento non sono stati registrati effetti avversi in nessuno dei 200 pazienti trattati; in aggiunta l'80% di questi pazienti ha evidenziato un miglioramento del "performance status", valutato con la scala E.C.O.G.: generalmente lo stato di "performance status" si spostava da uno stato di 4 o 3 ad uno di 2 o 1.
Nei 60 pazienti affetti da tumore al seno inoltre si sono registrati 4 casi di parziale regressione ed il 70% di sopravvivenza dopo 3 anni.

Biava, P.M.; Bonsignorio, D.; Impagliazzo, M.; Frosi, A.; Larese, F.; Negro, C.; Hermann, G.F.; Matarese, S.; Malzac, J.; Pontiggia, P. Embryonic differentiation factors with anticancer properties: preliminary clinical results in the therapy for advanced tumors. J. Tumor Marker Oncol., 2002, 17(3), 65-69

Studio clinico randomizzato su 49 pazienti affetti da epatocarcinoma in stadio medio avanzato

È stato realizzato uno studio su 49 pazienti affetti da epatocarcinoma in stadio medio avanzato per verificare e confermare i risultati del precedente lavoro. Anche in questo caso si è confermata l'attività sinergica dei fattori di differenziazione in associazione ai trattamenti chemioterapici standard.

Livraghi, T.; Meloni, F.; Frosi, A.; Lazzaroni, S.; Bizzarri, M.; Frati, L.; Biava, P.M. Treatment with stem cell differentiation stage factors of intermediate-advanced hepatocellular carcinoma: an open randomized clinical trial. Oncol. Res., 2005, 15, 399-408

BIBLIOGRAFIA

Per consultare direttamente l'ampia bibliografia, consultare Oncovita.it, dove sono stati raccolti i principali lavori scientifici pubblicati su PUB MED.

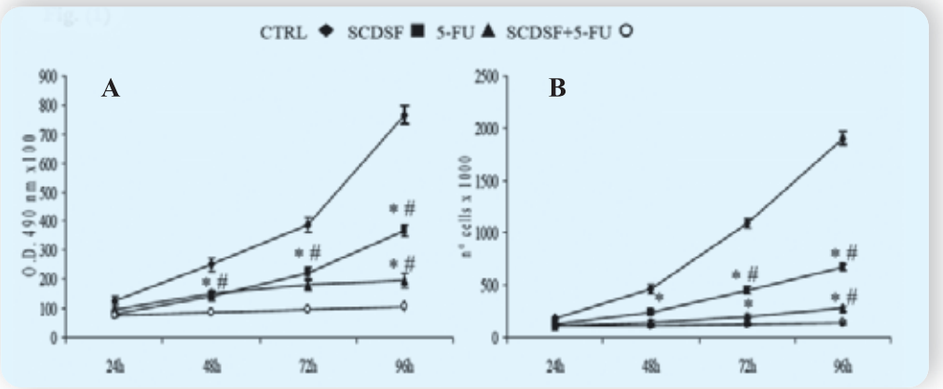
EFFETTO SINERGIZZANTE CON LA CHEMIOTERAPIA

Osservato su linee cellulari CaCo2 trattate con 5-fluorouracile in associazione con i fattori di differenziazione

Per verificare l'effetto sinergico tra chemioterapia e fattori di differenziazione sono state trattate linee cellulari di tumore al colon CaCo2 con:

- **5-fluorouracile da solo**
- **Fattori di differenziazione da soli**
- **5 fluorouracile + fattori di differenziazione**

Come si evince dai grafici riportati emerge una potente attività sinergizzante nell'associazione dei fattori di differenziazione con il 5-fluorouracile.



CONCLUSIONI

Il comitato riunitosi per valutare la solidità scientifica delle ricerche descritte ha confermato l'importanza di questo filone di studio e suggerisce che vengano promosse ulteriori ricerche, sia su modello animale che a livello clinico, con l'obiettivo specifico di valutare se l'associazione tra chemioterapia e fattori di differenziazione possa dare luogo ad una efficace sinergia terapeutica.

Esiste inoltre la possibilità di mettere a punto integratori che, ispirandosi a queste ricerche, possano fornire ai medici un valido supporto per integrare buona parte di quei fattori di differenziazione descritti in letteratura. Tali soluzioni sono da intendersi solo come integrazione alle terapie standard e ci si auspica che possano essere preventivamente validate mediante opportuni studi clinici.