

**LOKALNA HIPERTERMIJA PRI ZDRAVLJENJU MALIGNIH TUMORJEV –
TEHNIČNE MOŽNOSTI IN PRVE KLINIČNE IZKUŠNJE
NA ONKOLOŠKEM INŠTITUTU V LJUBLJANI
(I. del)**

**LOCAL HYPERTHERMIA IN THE TREATMENT OF MALIGNANT TUMORS –
TECHNICAL POSSIBILITIES AND FIRST CLINICAL EXPERIENCES
AT THE INSTITUTE OF ONCOLOGY IN LJUBLJANA
(Part I)**

Lešničar H., Budihna M.

Abstract – Recent results of thermobiology offer indisputable evidence on the existence of the synergistic effect of simultaneous exposure to hyperthermia and ionizing irradiation on the tumor tissue. Technologic development promotes the manufacturing of different devices intended for that purpose. The authors report on the in-house developed microwave equipment with the output power of 50 W and operational frequency of 910 MHz. The heating surface of the applicator enables homogeneous distribution of heat in the tissue within the therapeutic range to the depth of 3 cm. With some additional technical improvements, the equipment will be rendered suitable for clinical use as well.

UDC: 616-006.6-009.631-085

Key words: neoplasms-therapy, hyperthermia, induced

Orig. sci. paper

Radiol. Jugosl. 21(3) 241–245, 1987

Uvod – Čeprav so zvišane temperature pri zdravljenju malignomov uporabljali že v starogrški medicini, sicer res predvsem za izžiganje novotvorb, pa vpliv termičnega delovanja na rakavo celico še do danes ni povsem pojasnjen. Različni raziskovalci so konec 19. in v začetku 20. stoletja opisovali regres inoperabilnih malignomov pri stanjih, ki so lokalno ali sistemsko privedla do zvišanih temperatur v telesu. Takrat je veljalo prepričanje, da direktnega protitumorskega učinka ne izzove toplota sama, temveč bakterijski toksini ali pa elektromagnetni valovi oz. ultrazvok, s katerimi so temperaturo uspeli zvišati (12, 16). »Diatermijo« t.j. globinsko pregrevanje tkiva s pomočjo elektromagnetnih valov, so po Nagelschmidtovem odkritju leta 1907 množično uporabljali pri zdravljenju najrazličnejših obolenj. Pri zdravljenju malignomov so jo takrat šteli za kontraindicirano (16). Kljub temu so v tem obdobju izrednega tehničnega napredka izumitelji odkrili večino praktičnih rešitev za izdelavo aparatov s katerimi lahko dosežemo lokalno zvišanje temperatur v organizmu. Nekatere zamisli genialnega N. Tesle so na področju uporabe radiofrekvenc še danes osnovno vodilo pri konstrukciji tudi najmodernejših naprav (12).

Biološke raziskave o vplivu zvišanih temperatur na tumorsko tkivo se v literaturi nekako do leta 1950 porajajo le sporadično (12). Z uvedbo megavoltnih aparatov v radioterapiji in razvojem uporabe citostatikov pa za določen čas celo povsem zapadejo v pozabo.

V zadnjem času pa se predvsem v radioterapiji soočamo z dejstvom, ko tudi z uporabo najmodernejših obsevalnih naprav rezultatov zdravljenja ne moremo več izboljšati. Moderna radiobiologija sicer nakazuje možnost uporabe nevtronov, vendar je že zdaj popolnoma jasno, da tovrstnega zdravljenja tudi najbogatejše družbe na svetu v praksi ne bodo sposobne omogočiti. Potrebno je torej razvijati načine, s katerimi bi uspeli tumorsko tkivo čimbolj senzibilizirati na ionizantno žarčenje in tako z obstoječimi metodami obsevanja izboljšati rezultate zdravljenja (7).

V zadnjih dveh desetletjih so izsledki termobiologije doprinesli k boljšemu razumevanju vplivov zvišanih temperatur tako na zdravo kot na tumorsko tkivo. Pokazala se je nova možnost v zdravljenju rakavih bolezni. Zaradi uspešnega kombiniranja hipertermije (HT) z radioterapijo, omenjeno metodo razvijajo predvsem v radio-

terapevtskih centrih. Ker HT kot pomožni terapiji v onkologiji obetajo vse večjo vlogo, smo se tudi na Onkološkem inštitutu v Ljubljani odločili storiti prve korake v tej smeri.

V pričujočem članku bomo v prvem delu opisali predvsem termobiološke osnove za uporabo HT v praksi ter opisali mikrovalovno aparaturu za površinsko segrevanje lastne izdelave. V nadaljevanju pa bomo podrobneje spregovorili o intersticielni metodi ogrevanja ter opisali naše prve klinične izkušnje.

Termobiologija – Prvi avtorji, ki so pred dobri deset leti preučevali vpliv zvišanih temperatur na celične kulture (25), so ugotovili presenetljivo podobnost krivulje celičnega preživetja, kot jo poznamo za vpliv ionizirajočih žarkov (5). V semilogaritmični koordinatni sistem v tem primeru na absciso nanašamo čas pregrevanja. Pri temperaturah pod 42°C se krivulja po določenem času izravna, kar pomeni da celice na vpliv teh temperatur sčasoma postanejo odporne. Pojav so poimenovali »termotoleranca« in ga bomo posebej opisali. Kasnejše raziskave (10, 20, 8) so pokazale naslednje:

1. Različne celice so na HT različno občutljive. Razlike v občutljivosti med zdravimi in tumorskimi celicami so v glavnem zanemarljive.

2. Energije potrebne za celično smrt so v območju nad 43°C približno dvakrat nižje kot pod to mejo.

3. Najbolj so občutljive celice v »S« fazi celičnega ciklusa.

4. Nizke vrednosti pH močno zvišajo občutljivost celic za HT.

5. Nekatere snovi celico na vplive HT senzibilizirajo (npr. lokalni anestetiki), druge pa jo pred termično poškodbo zaščitijo (glicerol).

6. Mehanizem celične smrti ni pojasnjen.

Vzroki za termično smrt celice so najverjetneje kompleksni, med pomembnejše pa štejemo (17, 21): pojav ruptur lizosomov, poškodbo celične membrane in mitohondrijev ter porušenje ravnotežja kromosomalnih proteinov. Poškodba DNA pri temperaturah okrog 43°C za smrt celice verjetno ne more biti odgovorna, saj jo uničijo šele temperature okrog 87°C.

Vpliv HT na zdrava tkiva je v glavnem precej podoben vplivu na celične kulture (19, 20). V glavnem velja pravilo, da dosežemo isto termično poškodbo, če v območju nad 43°C za vsako zvišano °C skrajšamo čas pregrevanja za polovico (6, 13).

Za tumorsko tkivo pa velja, da je »in vivo« dosti bolj občutljivo za HT kot »in vitro«. Pri tem igra pomembno vlogo predvsem pomanjkljiva cirkulacija znotraj tumorja. Pojav konstrikcije arteriol in staze privede do selektivnega pregrevanja tumorja z ozirom na zdravo okolico. Opazujemo pojav t.zv. »vaskularnega kolapsa«, ki pri tumorskem tkivu nastopi že pri 42°C, pri okolnem zdravem pa šele nad 45°C (4, 14). Poslabšanje pogojev, kot so dobava hranil in znižanje pH, pa še dodatno pripomore k večji termični poškodbi predvsem centralnih predelov tumorja.

Termotoleranca – je prehodni pojav, ko s ponovno zvišano temperaturo na celicah in tkivih ne uspemo izzvati enake termične poškodbe kot prvič. Ta odpornost na vnovično pregrevanje spontano izzveni po preteku cca 72 ur (18). Ta pojav lahko nastopi:

– spontano pri daljšem pregrevanju s temperaturami pod 43°C (krivulja celičnega preživetja se izravna),

– če celice pregrevamo dvakrat zaporedoma nad 43°C, medtem pa so bile za čas, ki je krajši od 72 ur inkubirane pri 37°C.

Pojav ni popolnoma razjasnjen in ga povezujejo z odkritjem t.zv. »heat-shock« proteinov v plazmi, ki naj bi celico začasno zaščitili pred vnovično termično poškodbo (24). V klinični praksi moramo termotoleranco upoštevati, ko se odločamo o frakcioniranju HT. Večina protokolov navaja aplikacijo hipertermije 2 × tedensko z najmanj 72-urnim presledkom.

Kombinacija HT in RT – Več avtorjev je dokazalo, da se učinek RT na celičnih kulturah ob sočasnem pregrevanju močno zviša (2, 7). Nadaljne raziskave so pokazale (3, 7):

1. Temperature med 40° in 43°C, ki same po sebi niso posebno citotoksične, pa v kombinaciji z radioterapijo močno povečajo strmino krivulje celičnega preživetja (reducirajo D_{10}).

2. HT inhibira popravo subletalnih in potencialno letalnih poškodb, ki jih inducira RT.

3. HT močno zviša efekt RT na hipoksičnih t.j. radiorezistentnih celicah (OER zniža od 2,9 na 1,3).

4. Močan sinergizem RT in HT je opisan pri celicah v »S« fazi celičnega ciklusa in celicah, ki žive v kislem okolju.

Ker so za neefektivnost RT v praksi v glavnem odgovorne radiorezistentne celice, ki v centru tumorja žive v posebno slabih pogojih, prav te

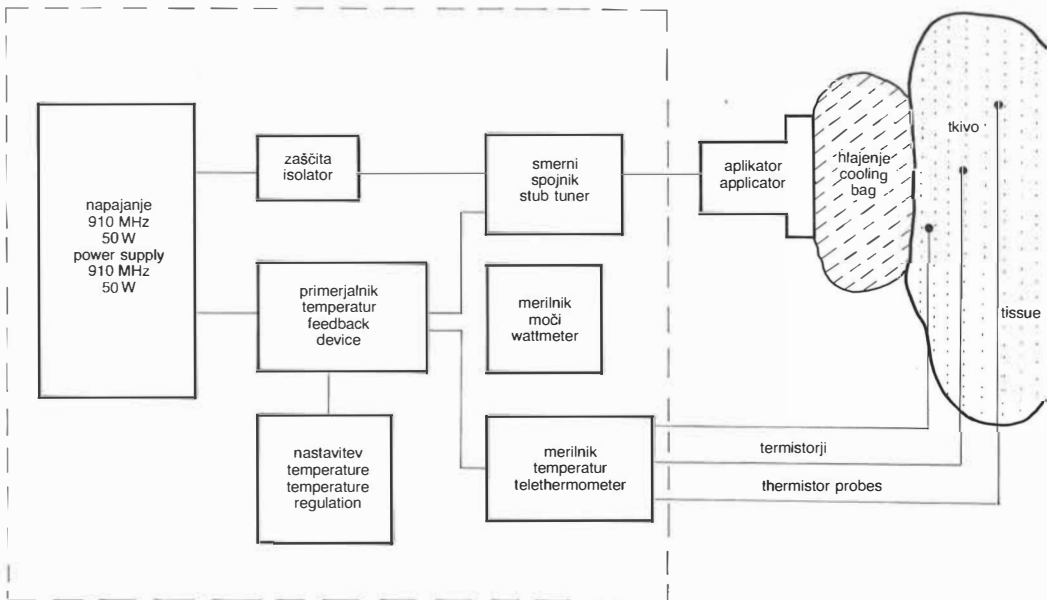
pa so izredno termosenzitivne, se zdi kombinacija obeh pristopov izredno smiselna.

Zaporedje pri uporabi HT in RT – Kakršnakoli kombinacija HT in RT je vedno uspešnejša od samostojne uporabe le ene od njiju. Še posebno pa lahko govorimo o sinergizmu obeh metod, če kombinacijo izvajamo znotraj časovnega intervala 2–4 ur. Pri tem zaporedje samo (t.j. najprej RT nato HT oz. obratno) ni pomembno (15, 22).

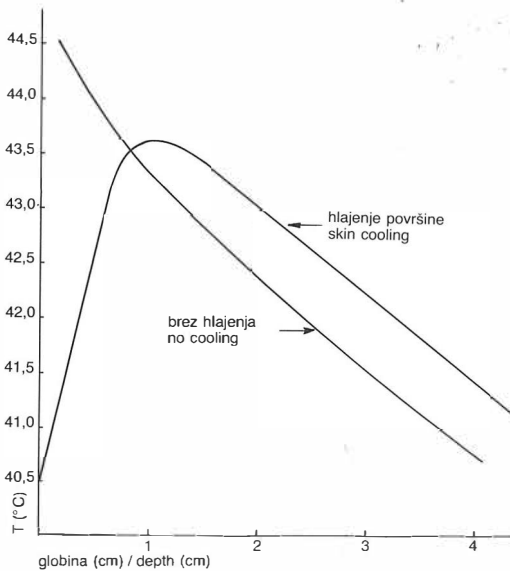
Termometrija – Homogena razporeditev toplote znotraj tumorja je bistvenega pomena za uspeh HT. V glavnem za terapevtske temperature štejemo območje med 42,5° in 45° C. Že razlike nekaj desetink °C pod spodnjo mejo privedejo do terapevtskega neuspeha, presežena zgornja meja pa do ireverzibilnih poškodb zdravega tkiva (7, 11). Zaradi velikih razlik v prekrvljenosti posameznih predelov tumorja je homogeno pregrevanje precej težko vzpostaviti. Zato med izvajanjem HT ves čas potrebujemo čimveč podatkov o gibanju temperature. S pomočjo termistorjev oz. termočlenov, ki jih vstavljamo direktno v ogrevano tkivo, lahko ves čas terapije natančno spremljamo temperaturni profil in v primeru kritičnih vrednosti spreminjamo izhodno moč ogrevalne naprave.

Klinično uporabne metode pregrevanja – Bazične termobiološke raziskave so omogočile znanstveno podlago za postopno uvajanje HT v onkološko klinično prakso. Možnosti za dovajanje toplote tkivu je več. Aparature za klinično lokalno hipertermijo, ki se jih trenutno poslužujejo v svetu, delujejo v glavnem na principu radijskih valov, mikrovalov in ultrazvoka. Dobre in slabe strani vsake od naštetih možnosti smo podrobneje že opisali v enem od prejšnjih poročil (9). Danes v svetu obstaja približno 20 različnih proizvajalcev komercialno dosegljivih aparatov za HT (1). Na tržišču se pojavljajo vse bolj izpopolnjene večinoma kompjutersko vodene naprave. Njihova cena v večini primerov dosega vrednosti več 100.000 ameriških dolarjev in so zato dosegljive le za bogatejše večinoma zapadne inštitucije. Na Onkološkem inštitutu v Ljubljani smo se zato odločili za poizkus uvedbe dveh bistveno cenejših aparatov za lokalno HT. V I. delu našega poročila podajamo opis in osnovne karakteristike aparata za mikrovalovno površinsko pregrevanje, v drugem delu pa bomo opisali še aparaturo za intersticijsko pregrevanje in prve klinične izkušnje z njeno uporabo.

Mikrovalovna aparatura za površinsko pregrevanje – Na podlagi podatkov iz literature smo z zunanjimi sodelavci na Onkološkem inšti-



Slika 1 – Shematski prikaz poizkusne mikrovalovne ogrevalne aparature
Fig. 1 – Schematic diagram of the experimental microwave heating apparatus



Slika 2 – Razporeditev toplote v normalnem tkivu (prašičji mladički) pri ogrevanju z mikrovalovno napravo

Fig. 2 – Heating distribution in normal tissue (baby pigs) obtained by a microwave device

tu v Ljubljani sestavili aparaturo za površinsko pregrevanje.

Osnovne karakteristike te naprave so:

- maksimalna izhodna moč: 50 W,
- mikrovalovna frekvenca: 910 MHz,
- površina aplikacijske antene: 18 cm²,
- skupna teža naprave: 10 kg,
- okvirna cena aparature: 5000–8000 \$ USA.

Skica št. 1 vsebuje shematični prikaz osnovnih sestavnih delov aparature.

S preizkusom na neživem mišičnem tkivu smo ugotovili, da je ob dobrem kontaktu med aplikacijsko anteno in površino tkiva, ki smo ga ogrevali, penetracija toplote v tkivo zadovoljivo homogena. S kamero občutljivo za infrardeče žarke smo distribucijo toplote v tkivu dokumentirali s posnetkom.

Določevanje globinske razporeditve toplote v tkivu v pogojih normalne cirkulacije smo preučevali na živalskem modelu. Zaradi fiziološke podobnosti s človeškim tkivom smo v ta namen izbrali prašičje mladiče.

Anestezirane živali smo pregrevali na večjih mestih glutealno. Pred pregrevanjem smo vsakokrat v tkivo uvedli teflonsko sondo, v katero smo med pregrevanjem vstavili termočlen za merjenje temperatur v različnih globinah.

Prišli smo do naslednjih spoznanj:

1. V pogojih normalne cirkulacije lahko zdravo tkivo z omenjeno aparaturu pregrejemo nad 42° C do globine 3 cm.

2. Temperatura na površini je v teh primerih presegala zgornjo mejo (ca 48° C), pri kateri še lahko ob kratkotrajni terapiji računamo na reverzibilne poškodbe tkiva.

3. Na statičnih površinah tkiv (maščevje-mišičje) je zaradi pčvečanega odboja mikrovalov prišlo do pojava »vročih točk«, ki so privedle do točkastih nekroz v središču ogrevanega tkiva.

4. S pomočjo bolusa z ohlajeno 50 % fiziološko raztopino smo ogrevano površino pred termično poškodbo zadovoljivo zaščitili, pri tem pa globinska razporeditev toplote ni bila motena (skica št. 2).

Na podlagi opisanih preizkusov menimo:

- aparaturo za mikrovalovno površinsko HT domače izdelave omogoča dovolj homogeno dovajanje toplote tkivu,
- aparaturo je primerna predvsem za ogrevanje tistih dostopnih delov telesa, ki vsebujejo malo podkožnega maščevja,
- izdelati je treba dodatne aplikatorje (antene) z večjo kontaktno površino, kar bo omogočilo tudi globlje pregrevanje tkiva,
- sistem za površinsko ohlajevanje je treba kot sestavni del vgraditi v aplikator ter s tem ponovno postaviti rokovanje.

Zaključek – Uporaba HT v onkologiji nudi dodatno terapevtsko možnost. Uvoz drage opreme predstavlja veliko prepreko pri uvajanju tega načina zdravljenja v naše ustanove. Kljub vsemu obstojajo možnosti za izdelavo lastnih naprav, ki nam bodo omogočile pridobivanje prvih izkušenj na tem novem področju zdravljenja. Tvrdka REVOS iz Vrhnike pri Ljubljani s sodelavci nam je omogočila izdelavo poizkusne aparature za mikrovalovno hipertermijo. Z izpopolnitvami opisane naprave bomo čez čas morda sposobni izdelovati cenene klinično preizkušene aparate tudi v komercialne namene.

Povzetek

Sinergistični učinek sočasnega delovanja zvišanih temperatur in ionizantnega sevanja na tumorsko tkivo, je z zadnjimi izsledki termobiologije neizpodbitno dokazan. Razvoj tehnologije omogoča izdelavo različnih aparatov v te namene. Avtorja v članku poročata o mikrovalovni aparaturi domače izdelave z izhodno močjo 50 W in operativno frekvenco 910 MHz. Aktivna

površina kontaktne antene omogoča homogeno distribucijo toplote v terapevtskem območju do globine 3 cm. Z dodatnimi izboljšavami je možno aparaturo uporabiti tudi v klinične namene.

Literatura

1. Bolmsjö M.: Commercially available equipment for hyperthermia. U: *Hyperthermia* (Watmough D. J. and Ross W. M., ed.), Blackie & Son Ltd, Glasgow, 224–242, 1986.
2. Dewey W. C., Hopwood L. E., Sapareto S. A.: Cellular responses to combinations of hyperthermia and radiation. *Radiology* 128: 464–467, 1977.
3. Dewey W. C.: Inactivation of mammalian cells by combined hyperthermia and radiation. *Front. Radiat. Oncol.* 18: 29–40, 1984.
4. Eddy H. A.: Alteration in tumour microvasculature during hyperthermia. *Radiology* 137: 515–521, 1980.
5. Elkind M. M., Whitmore G. F.: The radiobiology of cultured mammalian cells grown in culture. *Radiat. Res.* 13: 556–593, 1960.
6. Gail ter Haar: Effects of increased temperature on cells, on membranes and on tissue. U: *Hyperthermia* (Watmough D. J. and Ross W. M., ed.), Blackie & Son, Glasgow, 14–41, 1986.
7. Hall J. E.: *Hyperthermia*. U: *Radiobiology for the radiologist Harper and Row*, New York, 325–348, 1978.
8. Kim S. H., Kim J. H., Hahn E. W.: Enhanced cell killing of hypoxic tumour cells by hyperthermia. *Br. J. Radiol.* 48: 872–874, 1975.
9. Lešničar H., Umek B., Budihna M., Zwitter M., Furlan L.: Hipertermija v onkologiji – obujeno zanimanje za pozabljeno metodo zdravljenja. *Zdrav. Vestn.* 55: 493–496, 1986.
10. Li G. C., Cameron R. B., Sapareto S. A., Hahn G. M.: Reinterpretation of Arrhenius analysis of cell inactivation by heat. *Natl. Cancer Inst. Monograph.* 61: 111–113, 1982.
11. Martin C. J.: Temperature measurement in tissues by invasive and non-invasive methods. *Hyperthermia* (Watmough D. J. and Ross W. M., ed.), Blackie & Son Ltd, Glasgow, 154–179, 1986.
12. Meyer J. L.: Hyperthermia as an anticancer modality – A historical perspective. *Front. Radiat. Oncol.* 18: 1–22, 1984.
13. Morris C. C., Myers R., Field S. B.: The response of the rat tail to hyperthermia. *Br. J. Radiol.* 50: 569–576, 1977.
14. Overgaard J.: Effects of hyperthermia on malignant cells in vivo. *Cancer*, 39: 2637–2646, 1977.
15. Overgaard J.: Simultaneous and sequential hyperthermia and radiation treatment of an experimental tumor and its surrounding normal tissue in vivo. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 6: 1507–1517, 1980.
16. Ross W. M., Watmough D. J.: Clinical and scientific aspects of hyperthermia. U: *Hyperthermia* (Watmough D. J. and Ross W. M. ed.), Blackie & Son Ltd, Glasgow, 1–13, 1986.
17. Roti Roti J. L., Winward R. R.: The effects of hyperthermia on the protein to DNA ratio of isolated HeLa cell chromatin. *Radiat. Res.* 39: 159–169, 1978.
18. Sciandra J. J., Gerweck L. A.: Thermotolerance in cells. U: *Hyperthermia* (Watmough D. J. and Ross W. M., ed.), Blackie & Son Ltd, Glasgow, 99–120, 1986.
19. Song C. W., Kang M. S., Rhee J. G., Levitt S. H.: The effect of hyperthermia on vascular function, pH and cell survival. *Radiology* 137: 795–803, 1980.
20. Song C. W.: Effect of local hyperthermia on blood flow and microenvironment: a review. *Cancer Res. (Suppl.)* 44: 4721s–4730s, 1984.
21. Spiro I. J., Deneman D. L., Dewey D. C.: Effects of hyperthermia on isolated DNA polymerase-beta. *Radiat. Res.* 95: 68–77, 1983.
22. Stewart F. A., Denekamp J.: Fractionation studies with combined X-rays and hyperthermia in vivo. *Br. J. Radiol.* 53: 346–356, 1980.
23. Stradford I. J., Adams J. E.: Effects of hyperthermia on the differential cytotoxicity of a hypoxic cell radiosensitizer. *Br. J. Cancer* 35: 307–313, 1977.
24. Welch W. J., Feramisco J. R.: Purification of the major mammalian heat shock proteins. *J. Biol. Chem.* 258: 14949–14959, 1982.
25. Westra A., Dewey W. C.: Variation in sensitivity to heat shock during the cell cycle of Chinese hamster cells in vitro. *Int. J. Radiat. Biol.* 19: 467–477, 1971.

Naslov avtorja: dr. H. Lešničar, Onkološki inštitut, Zaloška 2, 61000 Ljubljana.