

ПОГЛОЩЕНИЕ ЭНЕРГИИ, ТЕМПЕРАТУРНЫЙ РЕЖИМ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛОКАЛЬНОЙ МАГНИТНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Б.Э. Кашевский¹, Ю.П. Истомин², С.Б. Кашевский¹, И.В. Прохоров¹,
Т.И. Терпинская³, В.С. Улащик³

¹ *Институт тепло-и массообмена имени А.В. Лыкова НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь*

² *РНПЦ Онкологии и медицинской радиологии им. А.А. Александрова, г. Минск, Беларусь*

³ *Институт физиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь*

Введение. Существовавшие некогда надежды на универсальные возможности радиотерапии и химеотерапии для лечения рака не оправдались [1], медицина прибегает к разнообразным средствам, включая гипертермию. В последние годы резко вырос интерес к локальной магнитной гипертермии, существо которой составляет нагрев опухоли за счет поглощения энергии переменного магнитного поля введенными в опухоль малыми магнитными частицами. Развитие исследований в этой области отражено в обзорах [2-8]. До настоящего времени лишь одна группа продвинулась до клинических испытаний (см. [9] и ссылки), выполнен ряд исследований на животных, подавляющее же число публикаций относятся к получению магнитных частиц и изучению *in-vitro* процессов поглощения ими энергии переменного поля. Общая точка зрения состоит в том, что для достижения максимального поглощения энергии частицы должны быть однодоменными размерами, а с позиций биосовместимости предпочтительны оксиды железа (магнетит, маггемит). Важнейшая магнитная характеристика частиц, кривая статического намагничивания их твердых дисперсий, может иметь либо обратимый либо гистерезисный характер, указывая на то, что частицы являются суперпарамагнитными или ферромагнитными, что определяется для данного материала их размерами и формой. В настоящее время суперпарамагнитные частицы в относительно слабых переменных поля субмегагерцового диапазона, впервые рассмотренные в целях гипертермии в [10], составляют основной объект исследований. Перспективы применения ферромагнитных наночастиц подвергаются сомнению [2,3]. Однако эти сомнения основаны на единичных экспериментах, не имеют под собой серьезной научной основы. Выполненная в нашей работе [11] из общих принципов сравнительная оценка удельной мощности поглощения энергии переменного магнитного поля, учитывающая физиологическое ограничение на амплитуду и частоту поля, показала, что ферромагнитные частицы в действительности имеют значительное преимущество перед суперпарамагнитными. Закономерности поглощения энергии в суспензиях ферромагнитных частиц с учетом конкурирующих механизмов твердотельного и механического (вращение частиц в жидкой матрице) механизмов перемагничивания изучены в работах [12-13]. Методика получения ферромагнитных наночастиц с заданной величиной коэрцитивной силы описана в [14], а первые эксперименты по гипертермии модельных опухолей на мелких животных - в [15]. В данном сообщении изложены узловые моменты метода магнитной гипертермии с высококоэрцитивными частицами, составляющие основу создания эффективной системы «частицы-поле» и планирования сеансов гипертермии в опытах с животными.

Интегральная динамическая модель локальной гипертермии. Поскольку детализация распределения теплофизических свойств и перфузии в опухоли невозможна, уместно использовать эвристический подход, основанный на интегральной форме уравнения

переноса тепла и интуитивном задании вида искомым функций. При этом необходимые для оценок соотношения получаются в наглядном аналитическом виде. Рассмотрим опухоль сферической формы объемом V , расположенную в неограниченном объеме здоровых тканей. Опухоль имеет одинаковые с ними однородные свойства и однородную исходную температуру тела T_b . Полагаем, что частицы путем инъекции магнитной суспензии равномерно распределяются в области опухоли и создают равномерный источник тепла с объемной плотностью q (Вт/м³). Введем эффективные теплофизические характеристики тканей λ (теплопроводность), c (удельная теплоемкость) и ρ_t (плотность), а также температуру нагрева $\theta = T - T_b$. Запишем нестационарное уравнение сохранения тепловой энергии для случая полного заполнения опухоли частицами в интегральном виде

$$J = Q - c\rho_t V \frac{d\bar{\theta}_1}{dt} \quad (1)$$

Здесь J - полный поток тепла через границу опухоли, $\bar{\theta}_1$ - средняя температура опухоли. Уравнение (6) выражает тот факт, что количество энергии, вытекающей через границу опухоли в единицу времени, равно разнице между полной мощностью тепловыделения и мощностью, затрачиваемой на нагрев опухоли. Предположим, что в процессе установления температуры опухоли θ_1 при нагревании постоянным источником с мощностью $Q_s = 4\pi\lambda R\theta_c$, необходимой для нагрева центра опухоли радиусом R до заданного уровня θ_c , ее средняя температура и тепловой поток J нарастают по экспоненте:

$$J(t) = Q_s [1 - \exp(-t/\tau)], \quad \bar{\theta}_1(t) = \frac{3Q_s}{2\pi\lambda R} [1 - \exp(-t/\tau)], \quad (2)$$

Подставляя (2) в уравнение (1), находим, что наше предположение согласуется с интегральным законом сохранения энергии при условии, что характерное время прогрева опухоли τ имеет значение

$$\tau_s = \frac{2c\rho_t R^2}{\lambda}. \quad (3)$$

Оценивая теплофизические свойства тканей свойствами воды ($\lambda = 0.6$ Вт/м·К, $c = 4.18$ кДж/кг·К, $\rho_t = 10^3$ кг/м³) для опухоли радиусом 1 см получим из уравнения (3) характерное время прогрева $\tau_s = 22$ мин. С учетом асимптотического характера нагрева, для достижения предписанной температуры требуется в 3 раза больше времени. Следовательно, рациональный режим гипертермии должен предусматривать нагрев с переменной мощностью, увеличенной в начале и спадающей со временем до равновесного значения.

Предположим, что мощность источника тепла спадает от начальной величины $Q_0 > Q_s$ по экспоненте, т.е.

$$Q(t) = Q_s + (Q_0 - Q_s)\exp(-t/\tau), \quad (4)$$

и при этом остаются в силе соотношения (2). Подставляя (2) и (4) в уравнение (1), находим, что такая ситуация согласуется с интегральным уравнением сохранения энергии, если характерное время спадания интенсивности источника нагрева τ , равное характерному времени нагрева опухоли, составляет величину

$$\tau_q = \tau_s \frac{Q_s}{Q_0}. \quad (5)$$

Таким образом, в рассматриваемом случае переменного нагрева время выхода на стационарный режим уменьшается по сравнению со случаем нагрева источником с постоянной мощностью, необходимой для поддержания стационарного режима, в Q_0/Q_s раз. Из формулы (5), учитывая уравнения (3) и (4), получим соотношения

$$Q_0 = \frac{8\pi c \rho_t R^3 \theta_c}{\tau_q}, \quad q_0 = \frac{Q_0}{V} = \frac{6c \rho_t \theta_c}{\tau_q} \quad (6)$$

Они определяют начальную мощность источника, необходимую для экспоненциального нагрева опухоли до температуры границы θ_c за характерное время $\tau_q \leq \tau_s = 2c \rho_t R^2 / \lambda$. Пусть на практике принята некая конкретная величина характерного времени нагрева τ_* (полное время выхода на стационарный режим при этом составляет около $3\tau_*$). Тогда условие $\tau_* = \tau_s$, которое выполняется при радиусе опухоли

$$R_* = \left(\frac{\lambda \tau_*}{2c \rho_t} \right)^{1/2}, \quad (7)$$

позволяет разделить опухоли на теплофизически малые ($R \leq R_*$) и большие ($R > R_*$). Для опухоли с теплофизическими свойствами воды пограничный радиус $R_* = 4.64$ мм. Различие между теплофизически малыми и большими опухолями состоит в том, что прогрев малых опухолей за предписанное время может быть достигнут источником постоянной мощности, причем полная мощность источника (следовательно, масса вводимых в опухоль частиц) увеличивается пропорционально радиусу опухоли, а удельная мощность $q_s = Q_s/V = 3\lambda \theta_c R^{-2}$ уменьшается пропорционально квадрату радиуса. На границе между малыми и большими опухолями необходимая удельная мощность источника тепла достигает минимальной величины

$$q_0^* = \frac{6c \rho_t \theta_c}{\tau_q^*} \quad (8)$$

и при переходе в область теплофизически больших опухолей не изменяется. Для нагревания границы опухоли с теплофизическими свойствами воды на температуру $\theta_c = 7$ К необходимая удельная начальная мощность экспоненциального прогрева теплофизически больших опухолей за характерное время 5 мин оценивается значением $q_0^* \approx 0.6$ Вт/см³.

Поглощение энергии переменного поля ферромагнитными наночастицами. Согласно [12,13], в переменном магнитном поле с амплитудой, превышающей коэрцитивную силу частиц, и с частотой, превышающей некоторое критическое значение, механическое вращение частиц в жидкости невозможно, частицы выстраиваются осями легчайшего намагничивания вдоль оси изменения поля, при этом поглощение энергии имеет чисто твердотельный характер и имеет максимальное значение, которое определяется площадью петли динамического гистерезиса в единичном цикле перемагничивания, w_1 . Анализируя полученные в [13,14] результаты измерений, величину удельного поглощения энергии в суспензии высококоэрцитивных частиц можно с практически приемлемой точностью описать соотношением

$$w_1 (\text{Дж} / \text{кг}) = \begin{cases} 0 & (H_0 < H_{c \max}) \\ w_{1 \max} \frac{(H_0 - H_{c \max})^2}{B^2 + (H_0 - H_{c \max})^2} & (H_0 \geq H_{c \max}), \end{cases} \quad (9)$$

Здесь $w_{\max 1}$ - предельное (в пределе больших амплитуд поля) поглощение, B (Э) - подгоночный коэффициент, $H_{c \max}$ (Э) - коэрцитивная сила предельной динамической петли гистерезиса суспензии. При этом минимальное содержание частиц в одном кубическом сантиметре опухоли, которое необходимо для создания оцененного выше тепловыделения $q_0^* \approx 0.6 \text{ Вт/см}^3$ в поле с большой амплитудой и частотой f оценивается соотношением

$$\mu = \frac{q_0^*}{f w_{1 \max}} \quad (10)$$

Для полученных в [] частиц $B = 235 \text{ Э}$, $w_{\max 1} = 10 \text{ Дж/кг}$, $H_{c \max} = 354 \text{ Э}$ и при частоте используемого ниже источника поля $f = 3700 \text{ Гц}$ имеем оценку $\mu = 16 \text{ мг/см}^3$.

Автоматизированный комплекс и методика гипертермии. Магнитные наночастицы для гипертермии получали методом [14]. Размеры частиц – около 80 нм, материал – гамма-окись железа с добавкой кобальта в количестве 2.6 мольных процента от общего содержания металлов. Частицы диспергировали в растворе низкомолекулярного поливинилпирролидона в физиологической жидкости. Содержание частиц в суспензии – 0.25 г/мл. Суспензию вводили путем инъекции в центр опухоли. Для непрерывного контроля температуры использовали термопару, заделанную в медицинскую иглу, которую вводили в здоровые ткани вплотную под нижний полюс опухоли. Еще одну термопару вводили в центр опухоли. Все манипуляции на животных осуществлялись после введения последних в состояние нейролептаналгезии. Для реализации контролируемого нагрева использовали специально созданный программно-аппаратный комплекс. Поле с частотой 3703 Гц и амплитудой от 0 до 850 Э создавалось в соленоиде, включенном в резонансный LC- контур, питаемый от усилителя мощности звуковой частоты. Сеанс гипертермии осуществляли в автоматическом режиме под управлением ПК и разработанного ПО. Для управления использовали поступающие в ПК через АЦП сигналы с контрольной термопары и с датчика тока в соленоиде. На основе анализа величины и темпа изменения температуры, ПК осуществлял регулирование величины тока в соленоиде (следовательно, амплитуды действующего поля) путем изменения амплитуды генерируемого звуковой картой ПК задающего сигнала резонансной частоты, подаваемого на вход УМЗЧ. Таким образом, обеспечивался нагрев опухоли в контрольной точке до предписанной температуры T_c и автоматическое поддержание температуры на заданном уровне в течение предписанного времени t_h . Показания контрольной и дополнительной термопар (температура в центре опухоли T_0), а также показания датчика тока в индукторе, непрерывно выводились на монитор и регистрировались в протокольном файле. На основе зависимости (10) для удельной мощности поглощения энергии частицами от амплитуды поля производился расчет величины выделившейся за весь сеанс тепловой энергии G .

Зависимость эффективности термического разрушения опухолей от режима гипертермии. Целью первой серии экспериментов *in-vivo* было выявление эффективности термического разрушения опухоли при локальной гипертермии. Глубина некрозов опухоли в результате гипертермии оценивалась по функциональному состоянию сосудистого русла методом прижизненной окраски. Для этого, через 24 часа после воздействия животным

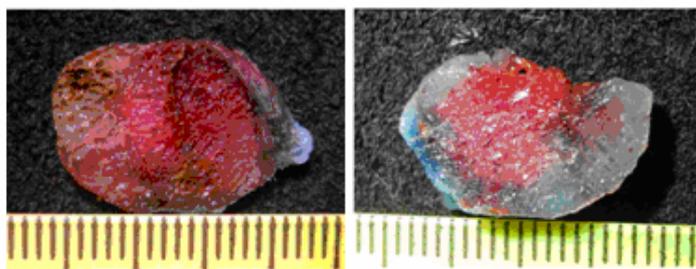


Рисунок 1 – Фотографии поперечных срезов двух опухолей после магнитной гипертермии. Пояснения даны в тексте.

внутривенно вводили 0,6%-ный раствор синьки Эванса, через 2 часа животных умерщвляли хлороформом, опухоль иссекали и фиксировали в течение часа в 10%-ном формалине. После фиксации делали поперечные срезы опухолевого узла по наибольшему диаметру и регистрировали с помощью цифровой фотокамеры. В охваченную вызванным нагревом некрозом область опухоли синька не

проникает и она окрашена в красный цвет, не подвергаясь тепловому разрушению область опухоли – в голубой. Примеры фотографий срезов двух опухолей (с полным и частичным термическим разрушением) представлены на рис. 1. В экспериментах с крысами использовали экспериментальные модели альвеолярного рака печени (РС-1) и полиморфноклеточной саркомы (СМ-1) из банка опухолевых штаммов ГУ РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН (Москва). Опухоли перевивали подкожно в нижнюю треть бедра. По гистологическому строению РС-1 представляет собой солидный рак с участками слизееобразования. Характерной особенностью РС-1 является низкая митотическая активность, что определяет ее слабую чувствительность к различным методам лечения, в том числе к цитостатикам и лучевой терапии. Усредненные результаты гипертермии с различной длительностью и температурой представлены в табл. 1.

Таблица 1

Средние значения некроза и тепловыделения для опухолей РС-1 и СМ-1 при различных режимах гипертермии

Режим гипертермии	Средняя степень некроза, %/ Полная энергия тепловыделения, кДж	
	РС-1	СМ-1
43 ⁰ С, 30 мин	(n=4) 57/1.1	(n=3) 78/ 9.8
44 ⁰ С, 20 мин	(n=10) 80/3.8	(n=7) 81/6.7
45 ⁰ С, 15 мин	(n=5) 92/7.2	(n=6) 89/7.2

Обратим внимание на следующие особенности представленных данных. В опухоли РС-1 повышение контрольной температуры на каждый градус, даже при сокращении длительности сеанса, приводит к резкому увеличению степени некроза, и, что весьма примечательно, к резкому росту поглощаемой энергии, необходимой для поддержания температуры на границе опухоли. Объяснением этого факта может быть периферический характер кровоснабжения этого типа опухоли и резко нарастающая скорость перфузии (следовательно, интенсивность теплоотвода) в окружающих тканях с нарастанием температуры. Отметим, что резкое нарастание скорости кровотока в здоровых тканях в области температур 44-46⁰С зарегистрировано в работе [16]. С точки зрения зависимости общего тепловыделения от режима гипертермии, опухоли СМ-1 кардинально отличаются от опухолей РС-1. С точностью 15% полная энергия тепловыделения пропорциональна времени нагрева и уровню перегрева края опухоли над нормальной температурой: $G \approx 69\Delta t(T_c - 38.5^\circ C)$, Дж. Этот факт свидетельствует об отсутствии существенной зависимости теплофизических характеристик (включая кровоток) в области нагрева опухоли СМ-1 от температуры в изученном температурном диапазоне.

Апробация лечебного эффекта локальной магнитной гипертермии. Работа проводилась на самках мышей линии Af 2-3-месячного возраста, весом 18.0 – 25.0 г. разводки вивария Института физиологии НАН Беларуси. Исследования проводились в соответствии с техническим кодексом «Надлежащая лабораторная практика» (МЗ РБ № 56 от 28.03.2008 г.). Использовали модель асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ). Вводили по 6 млн клеток АКЭ подкожно в области бедра. Цель исследования состояла в выявлении режима гипертермии, эффективного с точки термического разрушения и одновременного безопасного с точки зрения выживаемости животных после проведения сеанса. Достаточно успешным оказался режим гипертермии, в котором температура под нижним полюсом опухоли в здоровых тканях поддерживалась равной 44°C в течение 20 мин. Из семи подвергшихся гипертермии животных (с опухолями объемом 0.6-1.2 см³) лишь одно пало на следующий день после процедуры, у двух первоначальное уменьшение опухоли сменялось ростом и гибелью животных, в четырех случаях достигнут полный некроз опухоли с образованием струпа (см. рис.2).



Рисунок 2 – Локальная магнитная гипертермия модельных опухолей в режиме 44°C/20 мин в более чем 50% случаев приводит к излечению без применения медикаментозных средств

Заключение. Представленные результаты свидетельствуют о практической осуществимости локальной магнитной гипертермии с помощью высококоэрцитивных магнитных наночастиц. Следует отметить, что успешное тепловое разрушение опухолей достигнуто в полях с параметрами, достаточно далекими от физиологически предельно допустимых. Фактически, при использованной амплитуде поля возможно увеличение его частоты, и, следовательно, удельной мощности тепловыделения в два раза. Для дальнейшей оптимизации условий проведения сеанса гипертермии важное значение имеет применение средств визуализации процедуры введения суспензии магнитных частиц в опухоль. Наблюдавшиеся в отдельных экспериментах промахи (малая степень термического разрушения опухоли или гибель животного) связаны с неудачным введением тепловыделяющего препарата, который, о чем свидетельствуют описанные выше наблюдения срезов опухолей, может при введении вслепую концентрироваться не в центре, а на периферии опухоли, слишком далеко, или, наоборот, слишком близко от контрольной термодпары, по показаниям которой регулируется амплитуда воздействующего поля, т.е. мощность теплового источника.

Обозначения

V - объем опухоли, м³; R - радиус опухоли, м; T - температура, °C; q - плотность тепловыделения, Вт/м³; Q - полная мощность объемного источника тепла, Вт; t - время, с; J - полный поток тепла, Вт; c - удельная теплоемкость, Дж/(кг·К); H_0 - амплитуда переменного магнитного поля, Э; H_c - коэрцитивная сила, Э; w_1 - удельная энергия, поглощаемая в одном

цикле перемангничивания, Дж/кг: λ - коэффициент теплопроводности, Вт/(м·К); ρ - плотность, кг/м³, θ - температуру нагрева, °С; τ - характерное время нагрева опухоли, с.

Литература

1. Short J.G., Turner P.F. 1980 Physical hyperthermia and cancer therapy// Proc. of IEEE. 1980. Vol. 68. P. 133-142.
2. Pankhurst Q.A., Connolly J., Jones S. K, Dobson J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine // *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2003. Vol. 36. P. R167–R181.
3. Hergt R., Dutz S., Müller R., Zeisberger M. Magnetic particle hyperthermia: nanoparticle magnetism and materials development for cancer therapy// *J. Phys.: Condens. Matter.* 2006. Vol. 18. P. S2919–S2934.
4. Jordan A., Scholz R., Wust P. et al Magnetic fluid hyperthermia (MFH): cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles// *J. Magn. Magn. Mat.* 1999. Vol. 201. P. 413-419.
5. Moroz P., Jones S. K., Gray B.N. Magnetically mediated hyperthermia: current status and future directions// *Int. J. Hyperthermia.* 2002. Vol. 18. P. 267–84.
6. Duguet E., Vasseur S., Mornet S., Devoisselle J.-M. Magnetic nanoparticles and their applications in medicine// *Nanomedicine.* 2006. Vol. 1. P. 157-168.
7. Latorre M., Carlos R. Applications of Magnetic Nanoparticles in Medicine: Magnetic Fluid Hyperthermia// *Puerto Rico Helth Sci. J.* 2009. Vol. 28. P. 227-238.
8. Pankhurst Q. A., Thanh N. K. T., Jones S. K., Dobson J. Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine// *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2009. Vol. 42. N 224001 (15pp) <http://dx.doi.org/10.1088/0022-3727/42/22/224001>.
9. Maier-Hauff K. et al Efficacy and safety of intratumoral thermotherapy using magnetic iron-oxide nanoparticles combined with external beam radiotherapy on patients with recurrent glioblastoma multiforme// *J. Neurooncol.* 2010. DOI 10.1007/s11060-010-0389-0
10. Jordan A., Wust P., Fahling H., Johns W. et al. Inductive heating of ferrimagnetic particles and magnetic fluids: physical evaluation of their potential for hyperthermia// *Int. J. Hyperthermia.* 1993. Vol. 9. P. 51–68
11. Kashevsky B.E., Istomin, Yu.P. Ulashchik V.S. et al. Low-frequency ferromagnetic hyperthermia is feasible // AIP Conference Proc. 2010. No1311. P.280-287.
12. Kashevskii B.E. Orientational dynamics and energy dissipation in a liquid dispersion of single-domain ferroparticles on exposure to a linearly polarized field// *J. of Engineering Phys. and Thermophysics.* 2005. Vol. 78. P. 293-303
13. Kashevsky B.E., Kashevsky S.B., Prokhorov I.V. Dynamic magnetic hysteresis in a liquid suspension of acicular maghemite particles// *Particuology.* 2009. Vol. 7. P. 451-458.
14. Kekalo K.A., Kashevsky B.E., Agabekov V.E. et al. Influence of Co amount on the efficiency of energy absorption of Fe-Co ferrite nanoparticles// *JMMM.* 2009. Vol. 321. P.1514-1516
15. Кашевский Б.Э., Улащик В.С., Истомин Ю.П. и др Низкочастотная ферромагнитная гипертермия экспериментальных злокачественных опухолей// Докл. НАН Беларуси 2010.Т. 54, №2. С 114-117.
16. Dudar T.E., Jain R.K. Differential response of normal and tumor microcirculation to hyperthermia// *Cancer research.* 1984. Vol.44. P. 605-612.