

Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta

Specializace ve zdravotnictví
Zdravotnická technika a informatika
5345T018



Diplomová práce

Vliv feritových nanočástic na termální expozici fantomu biologické tkáně mikrovlnnou termoterapií

Effect of Ferrite Nanoparticles on the Thermal Exposure of biological Tissue
Phantom by Microwave Thermotherapy

Vypracoval:

Bc. Ivan Fišer

Vedoucí práce:

Ing. Mgr. Jaroslav Vorlíček

Oponent:

Ing. David Vrba Ph.D.

Praha, květen 2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

pro **Bc. Ivana F I Š E R A**
obor **ZDRAVOTNICKÁ TECHNIKA A INFORMATIKA**

Název tématu: *Vliv feritových nanočástic na termální expozici fantomu biologické tkáně mikrovlnnou termoterapií.*

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í

Prostudujte současnou literaturu o mikrovlnné termoterapii. V diplomové práci se zaměřte na popis termálního působení na biologickou tkáň, jakož i na interakce elektromagnetického pole s biologickou tkání, typy aplikátorů pro mikrovlnnou termoterapii a obecný popis nanočástic.

Vášim úkolem bude vytvořit fantomy biologické tkáně, modelující z elektrického hlediska dielektrické parametry měkké tkáně, přičemž do části z nich implantujte feritové nanočástice homogenně a do druhé na základě bodové injektáže. Poté provést termální expozici těchto fantomů elektromagnetickým polem. Následně sejmout termokamerou distribuci rozložení teplot v těchto fantomech a zhodnotit výsledky.

Termální expozice fantomů:

- Vytvořte min 20 agarových fantomů s feritovými příměsemi a proveďte jejich termální expozici.
- Sejměte termokamerou FLIR P 25 distribuci rozložení teploty v agarovém fantomu.
- Výsledky zhodnoťte v podobě T - testu.

Rozsah průvodní zprávy: cca 50 stran textu

Seznam doporučené odborné literatury:

- [1] Vrba, J. Úvod do mikrovlnné techniky, skriptum ČVUT, Praha 2003, dotisk 2.vydání, ISBN 80-01-02112-2
- [2] Vrba, J. Lékařské aplikace mikrovlnné techniky, skriptum ČVUT, Praha 2003, 1.vydání, ISBN 80-01-02705-8
- [3] Falk, H. M., Issels, R. D. Hyperthermia in Oncology. International Journal of Hyperthermia, Volume 17, Issue 1 January 2001, pages 1 – 18.
- [4] Horsman, R. M. Tissue physiology and the response to heat. International Journal of Hyperthermia, Volume 22, Issue 3 May 2006, pages 197 – 203.
- [5] Repasky, E., Issels, R. Physiological consequences of hyperthermia: heat, heat shock proteins and the immune response. International Journal of Hyperthermia, Volume 18, Issue 6 November 2002, pages 486 – 489.

Vedoucí diplomové práce: Ing. Mgr. Jaroslav Vorlíček

Katedra elektromagnetického pole

Fakulta elektrotechnická ČVUT

Technická 2

166 27 Praha 6 - Dejvice

Tel.: 224 352 271, email: vorlijar@fel.cvut.cz

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci, Vliv feritových nanočástic na termální expozici fantomu biologické tkáně mikrovlnnou termoterapií, vypracoval samostatně a použil jsem k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím na konci této diplomové práce.

Dále beru na vědomí, že odevzdáním této diplomové práce poskytuji svolení ke zveřejnění a k půjčování této diplomové práce za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou přednáškovou nebo publikační aktivitu, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v Digitálním repositáři Univerzity Karlovy v Praze (<http://repozitar.cuni.cz>). Práce je zpřístupněna pouze v rámci Univerzity Karlovy v Praze.

Souhlasím – Nesouhlasím*

V Praze dne 1. 6. 2012

.....

podpis

*Nehodící se škrtněte

Poděkování:

Za všestrannou pomoc, užitečné připomínky a za čas, který mi věnoval, děkuji svému vedoucímu práce Ing. Mgr. Jaroslavu Vorlíčkovi.

Abstrakt

Cílem této diplomové práce je popsat vliv feritových nanočástic FeSi a FeH na termální expozici fantomu biologické tkáně mikrovlnnou termoterapií.

Byly vytvořeny agarové fantomy bez obsahu nanočástic a agarové fantomy obsahující stoupající koncentrace nanočástic FeSi a FeH. Ty byly vystaveny termální expozici mikrovlnnou energií z otevřeného rezonátoru pracujícího na frekvenci 2, 45 GHz. Teplotní profily fantomů byly sejmuty termokamerou Flir P25. Byly porovnány výsledky obou typů fantomů a zjištěné rozdíly byly statisticky interpretovány pomocí T-testu.

Agarové fantomy obsahující feritové nanočástice FeSi a FeH vykazují vyšší nárůst teploty, než fantomy bez obsahu těchto částic. Zjištěné rozdíly však nejsou statisticky významné.

Klíčová slova: Mikrovlnná termoterapie, nanočástice

Abstract

Goal of this master thesis is describe effect of ferrite nanopartickles FeSi and FeH on the thermal exposure of biological tissue phantom by microwave Thermootherapy.

Blank samples and the samples with increased concentration nanopartickles FeSi and FeH were prepared. Exposition was performed by open cavity resonator with 2, 45 GHz generator. Temperature profiles were taken by thermocamera Flir P25. Results of both types of samples were compared and were statistically interpreted.

Agar samples with nanopartickles FeSi and FeH show higher increase of temperature, than blank samples. The differences are not statistically significant.

Keywords: Microwave thermootherapy, nanopartickles

Obsah

Seznam použitých symbolů a zkratk	8
1. Úvod	9
1.1 Nádorová onemocnění a jejich léčba	9
1.2 Struktura diplomové práce	10
2. Hypertermie	11
2.1 Hypertermie a její typy	11
2.2 Biologické principy hypertermie	12
2.3 Vliv hypertermie na buňky	14
2.4 Vysokofrekvenční elektromagnetická hypertermie	16
3. Mikrovlnná termoterapie	19
3.1 Technické vybavení pro léčbu mikrovlnnou termoterapií	19
3.2 Používané veličiny a hygienické normy	20
3.3 Typy používaných aplikátorů a jejich rozdělení	23
3.4 Typy elektromagnetických vln	24
4. Magnetické nanočástice	26
4.1 Stavba a výroba nanočástic	26
4.2 Magnetické nanočástice v hypertermii	27
4.3 Nanočástice v živém organismu	28
5. Cíle práce	30
6. Materiál a metody	31
6.1 Model biologické tkáně	31
6.1.1 Typy fantomů	31
6.2 Nanočástice FeSi a FeH	34
6.3 Otevřený rezonátor	35
6.4 Termometrie	36
6.4.1 Termokamera	38
7. Výsledky měření a diskuse	40
7.1 Blank	40
7.2 Vliv přítomnosti nanočástic FeSi a FeH v agarových fantomech na termální expozici mikrovlnnou energií	41
7.3 Rozdíl vlivu nanočástic FeSi a FeH na termální expozici agarových fantomů mikrovlnnou energií	43
7.4 Vliv stoupající koncentrace nanočástic FeSi a FeH na termální expozici agarových fantomů mikrovlnnou energií	44
7.5 Vliv způsobu implantace nanočástic FeSi a FeH na termální expozici agarových fantomů mikrovlnnou energií	46

8.	Statistické zhodnocení výsledků	50
8.1	Vliv přítomnosti nanočástic FeSi a FeH v agarových fantomech na termální expozici mikrovlnnou energií	50
8.2	Rozdíl vlivu nanočástic FeSi a FeH na termální expozici agarových fantomů mikrovlnnou energií	51
8.3	Vliv stoupající koncentrace nanočástic FeSi a FeH na termální expozici agarových fantomů mikrovlnnou energií.....	51
8.4	Vliv způsobu implantace nanočástic FeSi a FeH na termální expozici agarových fantomů mikrovlnnou energií.....	52
9.	Závěr	54
10.	Seznam použité literatury.....	55
11.	Seznam obrázků, tabulek a grafů.....	56
11.1	Obrázky	56
11.2	Tabulky.....	57
11.3	Grafy.....	57
12.	Příloha	59
12.1	Příloha č. 1	59
12.2	Příloha č. 2	60
12.3	Příloha č. 3	61
12.4	Příloha č. 4.....	62
12.5	Příloha č. 5	63
12.6	Příloha č. 6.....	64

Seznam použitých symbolů a zkratek

ARD	Absorbtion Rate Density [$\text{W}\cdot\text{m}^{-3}$]
c	měrné teplo tkáně [$\text{J}\cdot\text{kg}\cdot\text{K}^{-1}$]
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
E	vektor intenzity elektrického pole [$\text{V}\cdot\text{m}^{-1}$]
f	frekvence [Hz]
G	vodivost [S]
H	vektor intenzity magnetického pole [$\text{A}\cdot\text{m}^{-1}$]
Hz	herz
m	hmotnost [kg]
mm	milimetr
P	výkon elektromagnetické vlny [W]
p	hustota výkonu dopadající elektromagnetické vlny [$\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$]
pH	vodíkový exponent [-]
SAR	Specific Absorbtion Rate [$\text{W}\cdot\text{kg}^{-1}$]
T	teplota [K]
t	čas ohřevu [s]
V	objem biologické tkáně [m^3]
VEGF	Vascular endothelial growth factor
W	energie elektromagnetické vlny [J]
WHO	Světová zdravotnická organizace
ϵ_r	relativní permitivita [-]
λ_v	vlnová délka ve volném prostoru [m]
μ_r	relativní permeabilita [-]
ρ	hustota biologické tkáně [$\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$]
σ	měrná elektrická vodivost tkáně [$\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$]
tg δ	ztrátový činitel

1. Úvod

1.1 Nádorová onemocnění a jejich léčba

V České republice dle nejnovějších statistik každoročně onemocní různým typem nádorového onemocnění téměř 79 000 lidí, z celkového počtu nemocných potom každoročně 27 680 lidí na toto onemocnění zemře [1]. To dělá z tohoto onemocnění druhou nejčastější příčinu úmrtí po nemocech kardiovaskulárního systému u nás. Dle informací WHO jsou zhoubné nádory dokonce celosvětově hlavní příčinou úmrtí. Nemůže být proto sporu, že hledání nových léčebných metod tohoto onemocnění patří mezi nejvýznamnější biomedicínské problémy současnosti.

Kromě zdokonalování dnes již klasických léčebných postupů jako jsou chemoterapie, radioterapie, chirurgická extrakce nádoru dochází také k testování mnohých nových metod, které buď samy o sobě, nebo spolu s již užívanými metodami dokáží zlepšit léčebné výsledky. Jednou z takových metod je i mikrovlnná termoterapie.

Tato metoda fyzikální terapie, využívá k léčebnému působení na lidský organismus teplo. Vždyť pozitivní účinky tepla působícího na tumor popisoval už Hippocrates. Sám dokonce navrhoval, aby nádory na povrchu těla byly vypalovány horkým železem. Přes tyto na začátku velmi primitivní metody se z termoterapie stal dnes již běžně etablovaný obor. V minulých dekádách moderní medicína popsala biologické účinky tepla při léčbě nádorových onemocnění, v posledních letech pak byly objasněny mnohé molekulární pochody zodpovídající za změny buněčného metabolismu a dělení.

Hlavním problémem většiny termoterapeutických systémů je dosažení homogenní distribuce tepla a dosažení dostatečné terapeutické teploty hluboko v exponované tumorózní tkáni. Chyba při použití termální terapie může vést k nedostatečnému zvýšení teploty částí nádoru, mající za následek další růst nádoru, nebo se mohou projevit negativní výsledky působení příliš vysokých teplot na zdravou tkáň [2].

Vhodným způsobem řešení výše zmiňovaných problémů využití termoterapie k léčbě nádorových onemocnění se jeví být použití biokompatibilních magnetických nanočástic. Tyto částice rozptýlené ve vhodném vodném roztoku mohou být aplikovány přímo do tumoru nebo jsou aplikovány nitrožilně.

1.2 Struktura diplomové práce

Tato diplomová práce se zabývá problematikou implantace feritových nanočástic do tumorózní tkáně za účelem posílení termální disipace mikrovlnné energie v této tkáni, pro urychlení její degradace dle principů hypertermického působení na biologickou tkáň.

Cílem práce je experimentálně ověřit vliv příměsových nanočástic na termální disipaci elektromagnetického pole ve fantomech, modelujících z elektrického hlediska dielektrické parametry měkké tkáně. Diplomová práce je rozdělena do několika kapitol. V úvodních kapitolách jsou vysvětleny základní principy interakce elektromagnetické energie s biologickou tkání, jsou popsány typy aplikátorů pro mikrovlnnou termoterapii a obecné vlastnosti nanočástic.

Druhou část práce tvoří experimentální část, kde jsou podrobně popsány vlastní experimenty termální expozice fantomů a poté jsou zde analyzovány a diskutovány výsledky. V závěru práce jsou shrnuty veškeré dosažené výsledky.

2. Hypertermie

2.1 Hypertermie a její typy

Hypertermie, neboli přehřátí lidského organismu je stav, při kterém dochází ke zvýšení teploty na takovou úroveň, že už se organismus není schopen přebytečného tepla zbavit. Dochází k ní z důvodu selhání termoregulace, což může mít více příčin např. poruchu látkové výměny, onemocnění a, nebo jako v rámci terapeutického působení to může být stav vyvolaný uměle. K hypertermii může taktéž vést celkově zvýšená teplota prostředí, ve kterém se organismus nachází. Z fyziologického hlediska můžeme hypertermii definovat, jako zvýšení hodnoty teploty lidského těla nad 37°C. Jako termoterapeutickou metodu je možné hypertermii označit za záměrné zvýšení teploty sledované části, nebo celého lidského těla nad běžnou fyziologickou teplotu.

Hypertermii můžeme aplikovat na různé části lidského těla, ve kterých můžeme dosahovat zvýšení teploty v námi nastaveném rozmezí (zpravidla 41 – 45°C). Aplikátory a způsob ohřevu pro aplikaci mikrovlnné energie potřebné k hypertermickému ohřevu vybíráme na základě velikosti cílové oblasti. Vhodným výběrem zamezíme možným nežádoucím účinkům a jsme schopni dosáhnout co největší efektivity hypertermického ohřevu.

Klinickou hypertermii dělíme v závislosti rozsahu dosažených teplot v objemu léčené tkáně na [3]:

- **celotělovou hypertermii** (40 až 42 °C)
- **regionální hypertermii** (42 až 43 °C)
- **lokální hypertermii** (42 až 45 °C)

Celotělová hypertermie (40 až 42 °C) – tento typ hypertermie je nejvhodnější při celosystémových onemocněních, nebo při léčbě generalizovaných nádorových onemocnění s výskytem metastáz. Jde o zvýšení terapeutické teploty v celém objemu lidského těla. Pacienti, kteří jsou podrobena tomuto způsobu léčby, nesmí z důvodu snášenlivosti vysokých teplot vykazovat známky infekčního onemocnění. I tak je pro organismus pacienta několikahodinové zvýšení teploty nad 41°C stresující a velmi zátěžová situace, která může mít mnohé nežádoucí účinky, jako například celkové přehřátí lidského organismu.

Regionální hypertermie (42 až 43 °C) – jde o zvýšení terapeutické teploty pouze v postižené části lidského těla (např. pouze jeden orgán).

Lokální hypertermie (42 až 45 °C) – jde o zvýšení terapeutické teploty pouze v malém objemu lidského těla (např. konkrétní nádor) Její pomocí může docházet k léčení i hluboko uložených nádorů. Může však při ní docházet k lokálním bolestem.

2.2 Biologické principy hypertermie

Abychom byli schopni porozumět biologickým procesům při hypertermii, je nutné zaměřit se na jevy, odehrávající se na buněčné až molekulární úrovni.

Podstatou léčebného účinku hypertermie je ničení nádorových buněk, které jsou většinou více citlivé na tepelnou zátěž, než buňky zdravých tkání. To je zapříčiněno už jejich samotným nekontrolovaným růstem a replikací, jejichž výsledkem je tvorba defektních, porušených málo odolných buněk. Nároky na výživu a zásobení kyslíkem těchto buněk jsou mnohem větší než u buněk normálních, v tom smyslu, že spotřeba převyšuje příjem. Rozdílná reakce buněk tumorózní tkáně a normálních buněk lidského organismu na působení různých stresových faktorů je tedy souhrou působení vícero mechanismů na buněčné úrovni. Zdravé buňky odolají běžně bez poškození teplotám do 45°C, zatímco nádorové buňky umírají již při teplotě 42°C. Pokud tedy zahřejeme oblast nádoru na teplotu v rozmezí od 42 °C do 45°C dochází k selektivnímu usmrcování jeho buněk. Kromě toho bývá obvykle teplota nádorové tkáně vyšší než teplota tkáně zdravé. To je zřejmě způsobené zvýšenou metabolickou aktivitou uvnitř nádoru.

Většina buněk je nenávratně poškozena působením teplotního šoku 40 – 50 °C. Při teplotách v tomto rozmezí nedochází ještě k nezvratné denaturaci bílkovin, ale pouze k ovlivnění jejich terciální struktury. Ta je tvořená hydrofóbními interakcemi, které jsou závislé právě na teplotě.

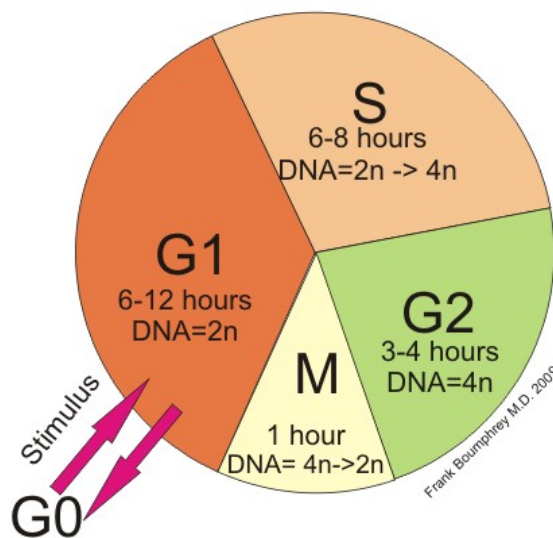
V tkáních je hypertermie příčinou mnohých morfologických a fyziologických změn, jako například ztráty integrinů z povrchu buněk, díky čemuž může docházet k rozpadu plazmatické membrány. Zvýšení teploty nad normální hodnotu způsobuje taktéž narušení metabolických drah uvnitř buňky, což má za následek její smrt. Za normálních okolností by došlo při poškození buňky k aktivaci reparačních enzymů, ty jsou však působením tepla inaktivovány, to znamená, že ztratí schopnost opravit

poškození DNA, které je způsobené nejrůznějšími vnějšími vlivy (např. hypertermie, ionizační záření atd.), tím se zabrání přežití nádorové buňky.

Cévní systém nádorové tkáně má mnoho defektů, a tak část tepla nemůže pohlit bazální membrána a perikapilární buňky [4].

Dělení buněk (obr. 1) stejně jako ostatní buněčné procesy uvnitř buňky řídí složité regulační mechanismy. U eukaryotických organismů se buněčný cyklus (cyklus dělení buňky) skládá z interfáze a fáze mitotické, která je označována jako M fáze. V této fázi probíhá proces dělení buňky. Jako interfázi označujeme čas mezi koncem jedné a začátkem druhé M fáze. Interfázi můžeme dále rozdělit na G_1 , S, G_2 , G_0 fázi. Během G_1 fáze se buňka připravuje na replikaci chromozomů, tzn. na zdvojení DNA, které probíhá v průběhu S (syntetické) fáze. G_2 fáze je přípravou na samotnou replikaci buňky na dvě buňky dceřiné. Některé buňky zůstávají v G_0 fázi. To je ve stádiu, kdy se buňka nedělí.

Samotnou mitózu je možné rozdělit na čtyři cytologicky rozlišitelná stádia. Jsou jimi profáze, metafáze, anafáze a telofáze. K přesnému řízení jednotlivých etap buněčného cyklu a procesů v nich probíhajících, nebo se v nich připravujících má každá fáze několik kontrolních bodů. Pokud dojde k zaznamenání poruchy buněčného cyklu v některém z těchto bodů buněčné dělení je buď zastaveno, nebo je navozena apoptóza - programovaná buněčná smrt.



Obr. 1. Schéma dělení eukaryotických buněk

Hlavním mechanismem degradace nádorových buněk je programovaná buněčná smrt, apoptóza. Ta v organismu probíhá během embryogeneze i při běžných fyziologických podmínkách. Při apoptóze dochází k fragmentaci buněk a k tvorbě tzv. apoptotických tělísek s obsahem chromatinu, které fagocytují makrofágy bez tvorby zápalových bílkovin. Stresovou reakcí a to např. poškozením DNA, odstraněním růstových faktorů, poškozením membrány buněk, nebo jako v případě hypertermie zvýšením teploty. V tomto případě dojde ke spuštění mechanismu navození apoptózy stresovou cestou přes endoplazmatické retikulum. Od začátku apoptózy do jejího konce, kterým je úplné histologické vymizení buňky, uplyne asi 1 – 2 hodiny [5].

Druhým způsobem odstraňování buněk z těla je nekróza. Dochází k ní při poškozeních, která mají za následek rupturu buněčné membrány, případně vlivem toxických látek. Buňka nedokáže kontrolovat výměnu iontů a vody. Dochází k uvolňování vysoce reaktivních látek, které vyvolají intenzivní zápalový proces s následnou fibrózou tkáně. Někdy se v buňce může spustit proces apoptózy, který však končí jako nekróza [6].

2.3 Vliv hypertermie na buňky

Nádorové buňky jsou v mnohých ohledech odlišné od buněk normálních. Liší se jak svojí stavbou, růstem, ale i metabolismem.

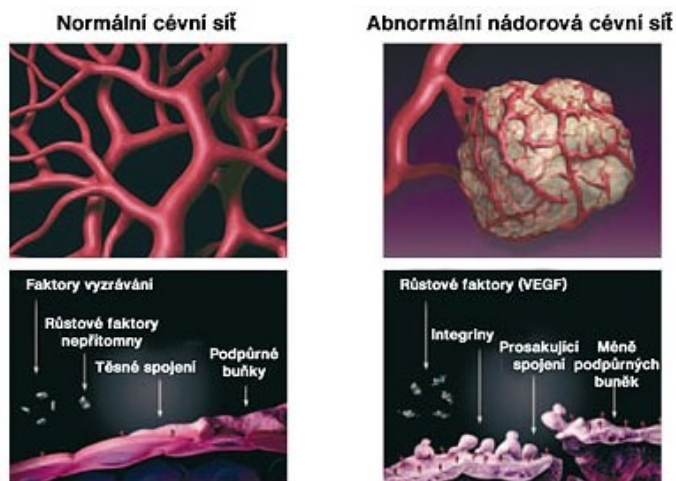
Zánik a stárnutí buněk lidského organismu je řízen složitým mechanismem zkracování specifických zakončení eukaryotických chromozomů, tzv. telomerů. Jsou však i buňky, které nejsou tímto replikačním limitem omezeny. Mezi ně patří buňky zárodečné, kmenové a, nebo právě buňky nádorové. Tyto buňky produkují ribonukleoproteinový enzym telomerázu. Ten zajišťuje replikačním procesem udržení telomerů v dostatečné délce a tím je schopen zajistit buňce v podstatě „nesmrtelnost“. Telomeráza je totiž schopná přidat k zakončení chromozómu specifickou sekvencí několika nukleotidů, u člověka je to opakovaná sekvence TTAGGG [7].

Pokud vystavíme zdravou buňku vyšší teplotě, začne velice intenzivně produkovat stresové proteiny, proteiny teplotního šoku, tzv. chaperony. Ty zabraňují změně správné prostorové struktury proteinů v buňce, pokud dojde ke zvýšení teploty na 42°C. Buňka je schopna adaptace, jejíž rozsah je však omezený a při větších stresech dojde i přesto k poškození buňky.

Díky odlišné struktuře reagují nádorové buňky na zvýšení teploty (nad 41°C) mnohem citlivěji než zdravé. Všeobecně hypertermie zásadně ovlivňuje některé funkce buňky, včetně dělení buňky. Nejvíce postižitelné jsou dělicí se buňky v S fázi dělení, hypoxické buňky a buňky s nižším pH. Většina nádorových buněk je hypoxických a také jejich pH je nižší, a proto jsou méně odolné vůči zvýšené teplotě prostředí.

Před zvyšováním teploty a tepelným poškozením se zdravá lidská tkáň brání zvýšením přítoku krve. Tento mechanismus je účinný až do teploty 45 °C. U tumorů, které jsou v průměru větší než 2 cm, tento ochranný mechanismus selhává už při teplotě 41°C. Tumory mají totiž mnohem horší krevní zásobení, což je způsobeno velmi rychlým dělením nádorových buněk, kdy růst krevního zásobení nádoru zaostává za jeho samotným růstem. Síť krevního zásobení nádoru není potom kompaktní a obsahuje početné trhliny. Pokud je nádorová tkáň vystavena terapeutické teplotě (tzn. $t > 41^{\circ}\text{C}$) delší čas, dochází k destrukci buněčných komponent a se zahříváním se počet trhlín zvyšuje [8; 9].

Na obrázku (obr. 2) můžeme vidět abnormální síť nádorových cév v porovnání s krevním řečištěm normální tkáně.



Obr. 2. Porovnání angiogeneze v normální a nádorové tkáni

Tím, že nádor produkuje nadměrné množství VEGF růstového faktoru, dojde k zabránění apoptózy, To má za následek nekontrolovatelný růst a delší přežití těchto cév. Z důvodu vyživování nádoru je tvorba nového krevního řečiště (angiogeneze) nutná už při jeho samotném vzniku, tak i při vzniku jeho generalizovaných ložisek. Nádorové buňky jsou schopné přímo a, nebo nepřímo stimulovat endoteliální buňky k proliferaci a

růstu. Nové krevní cévy na periferii nádoru jsou často defektní, což usnadňuje vstup nádorových buněk do krevního řečiště a současně vede k porušení krevního toku uvnitř nádoru, přičemž dochází k poruše jeho metabolismu, vzniká hypoxie, nedostatečné zásobení živinami, zároveň dochází k hromadění odpadních látek a tím ke zvyšování pH. Takové buňky jsou zatěžované zevnitř, a proto pokud jsou zatíženy ještě vnějšími vlivy, reagují mnohem citlivěji než buňky zdravé. Dále postupující hypoxie v nádoru stimuluje tvorbu dalších cév. Nově vytvořené cévy jsou kapiláry, kde jsou svalové kontraktilní buňky nahrazené kolagenovou tkání [10]. Pokud dojde v okolí takové cévy ke zvýšení teploty, nedokáže reagovat běžným způsobem. To je zúžením svého lumen a reflexním stažením, tím nedokáže zvýšit objem přitékající krve, a tak umožnit rychlejší proudění krve s nižší teplotou, která by nádor ochladila.

Cílem při hypertermii je minimálně ovlivnit zdravé buňky a inhibovat zejména funkce buněk nádorových. Pro tyto účely je nejvhodnější teplota nad 41°C, která se nazývá terapeutická teplota.

2.4 Vysokofrekvenční elektromagnetická hypertermie

Jednou z termoterapeutických metod, při které dochází ke zvýšení teploty v určité oblasti tkáně aplikací energie vysokofrekvenčního elektromagnetického záření s krátkými vlnami a mikrovlnami je vysokofrekvenční elektromagnetická hypertermie. Tato metoda využívá rozmezí teplot 41 až 45 °C. Tyto teploty už selektivně ničí nádorové buňky, zatímco normální buňky jsou schopné těmto teplotám odolávat.

Vysokofrekvenční střídavé proudy s frekvencí nad 1 MHz mají pouze tepelné účinky, nepůsobí dráždivě ani elektrolyticky. Mechanismus jejich biologického působení spočívá v přeměně tkání absorbované elektromagnetické energie na teplo. Volbou frekvence jsme schopni upravovat hloubku ohřevu tkání. Čím nižší použijeme frekvenci, tím větší je hloubka průniku do tkáně. Například při použití frekvence 2,5 GHz je hloubka ohřevu 2,5 - 3 cm, při nižší frekvenci 434 MHz je hloubka ohřevu už 3,5 - 4 cm. Abychom mohli aplikovat libovolné frekvence je potřeba mít k dispozici dostatečně stíněné prostory.

Vysokofrekvenční elektromagnetické pole se po průniku do lidského těla šíří jako elektromagnetická vlna. Lidské tělo se vůči této vlně chová jako ztrátové dielektrikum. Právě proto pokud jím prochází, dochází k její absorpci a přeměně na

teplo. Tím se zvyšuje teplota v ozařované oblasti. Podle dielektrických vlastností je možné jednotlivé typy biologických tkání rozdělit na tkáně s nízkým obsahem vody a tkáně s vysokým obsahem vody. Voda je polární a v živých objektech se vyskytuje volně i ve vázané formě. V elektrickém poli dochází k orientaci dipólů. V střídavém poli kmitají zároveň s kmitočtem, to se projevuje zvýšením teploty. To znamená, že tkáně s vysokým obsahem vody se ve vysokofrekvenčním poli ohřívají více, než tkáně s malým obsahem vody. Čím je látka vodivější, tím rychleji se zahřívá.

Přitom nádorová tkáň se chová vůči vysokofrekvenčnímu elektromagnetickému záření podobně jako svaly a tedy jako tkáň s vysokým obsahem vody. Na základě těchto parametrů a hloubky uložení nádoru se určuje frekvence aplikovaného elektromagnetického záření. Přitom platí, jak již bylo popsáno výše, že čím menší je frekvence elektromagnetické vlny vydávané hypertermickou soupravou (obr. 3), tím větší je hloubka ohřevu tkáně.



Obr. 3. Hypertermická souprava BSD-2000

Důležitým faktorem je i čas samotné aplikace, v důsledku vedení tepla dochází totiž s přibývajícím časem k nárůstu teploty i ve větší hloubce. Při určitých frekvencích může docházet k rezonancím elektromagnetické energie mezi přechody dvou tkání a tím ke vzniku horkých míst, to je k překročení původně nastavené teploty (např. 44 °C, 45°C) i ve zdravé tkáni léčené oblasti. K tomu může docházet zejména tehdy, když tloušťka takové

vrstvy je srovnatelná s délkou vlny, případně s její polovinou a podobně. Proto je potřeba počítat vlnovou délku pro komplexní permitivitu tkáně.

Z klinického hlediska je velmi důležitým parametrem (efektivní) hloubka průniku elektromagnetické vlny do biologické tkáně. To je hloubka $d_{1/2}$, ve které výkonová hustota klesne na 50% původní hodnoty, která je na povrchu ozařované tkáně. Úměrně odmocnině své hodnoty se uplatňují i dielektrické konstanty. Při dopadu elektromagnetické vlny z volného prostoru na povrch stejnorodé tkáně se polovina výkonu odrazí zpět a zbytek projde do tkáně, kde dojde v důsledku vodivosti prostředí k exponenciálnímu útlumu výkonu postupující vlny [11]. Při intenzitách a výkonových hustotách, při kterých absorpce energie v lidském organismu způsobí vzestup teploty (celkový nebo lokální přesahující termoregulační schopnosti organismu), dochází i k nežádoucím účinkům působení na biologický systém. Hypertermie jako nespecifický tepelný efekt vzniká po překročení úrovně výkonové hustoty řádově 10 mW.cm^{-2} (100 W.m^{-2}). Tepelné účinky elektromagnetického pole pak výrazně rostou se stoupající frekvencí. Nejzávažnější jsou v mikrovlnném pásmu.

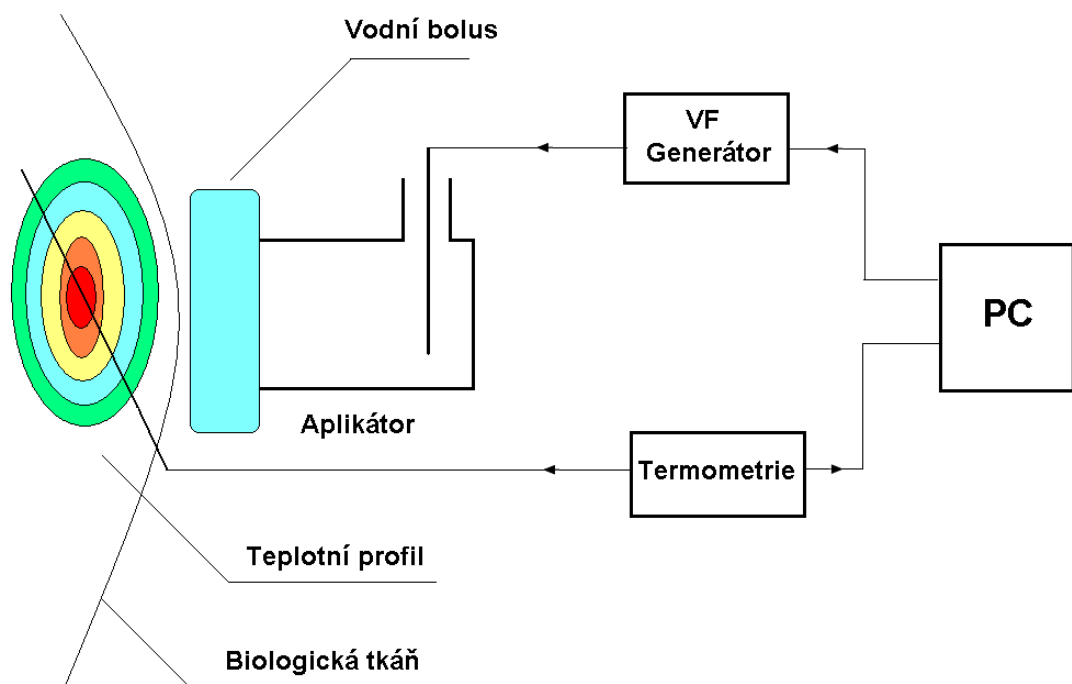
Prostorové rozložení vysokofrekvenční elektromagnetické hypertermie bez použití magnetických nanočástic závisí na mnoha faktorech. Na typu elektromagnetické vlny a její frekvenci, prostorovém rozložení tkáně v ozařovaném objemu a na dielektrických a tepelných parametrech jednotlivých typů tkáně v ozařované oblasti. Situaci také komplikuje nerovnoměrnost krevního zásobení a reakce cév na zvýšení teploty. Nádorová tkáň je dynamickým systémem přičemž tvar, velikost a krevní zásobení se morfologicky velice rychle mění.

3. Mikrovlnná termoterapie

3.1 Technické vybavení pro léčbu mikrovlnnou termoterapií

Následující obrázek (obr. 4) znázorňuje typické blokové schéma soupravy používané v onkologii pro aplikaci lokální respektive regionální termoterapie [12].

Základní částí je výkonový generátor řízený počítačem, který po celou dobu aplikace kontroluje teplotu v léčené oblasti. Ta musí být neustále v nastaveném rozmezí, aby nedošlo buďto k nedostatečnému prohřátí oblasti, nebo naopak poškození pacienta vlivem vysoké teploty. Výkonový generátor dodává mikrovlnnou energii o výkonu 0 až 400 W na frekvencích, které jsou Českým telekomunikačním úřadem určeny pro medicínské a vědecké aplikace (27.12, 434, 915 a 2450 MHz). Pokud je pracoviště odstíněno Faradayovou klecí je možné použít i jiné frekvence.



Obr. 4. Schéma hypertermické soustavy

K aplikátoru je elektromagnetická energie vedena zpravidla koaxiálem. Z aplikátoru je tato energie vyzářena do biologické tkáně, kde vytváří námi zadané prostorové rozložení teploty. K ochraně povrchu lidského těla před nežádoucími tepelnými účinky elektromagnetické energie je mezi povrchem těla a aplikátorem umístěn vodní bolus (destilovaná voda). Ten napomáhá také ke zlepšení kontaktu s tkání.

Teplotní profil vyzářený do biologické tkáně je snímán další součástí termoterapeutické soupravy a to termometrickým systémem. Ten snímá sledovaný teplotní profil pomocí invazivních (termistorové, termočláňkové) či neinvazivních čidel (termokamera, magnetická rezonance). Na základě dat získaných z těchto čidel řídicí počítač upravuje výkon generátoru, aby po celou dobu terapie byly odchylky od námi požadované terapeutické teploty co nejmenší.

3.2 Používané veličiny a hygienické normy

Dlouhodobým výzkumem byly stanoveny hygienické normy pro kontakt člověka, který je vystaven elektromagnetickému poli. Tyto normy udávají maximální hodnoty intenzity elektrického pole, nebo maximální hodnoty dopadajícího výkonu, kterým může být člověk dlouhodobě vystaven, tak aby nedošlo k poškození jeho zdraví. Pro popis účinků elektromagnetického pole používají tyto normy několik veličin z teorie elektromagnetického pole. Je to intenzita elektrického (magnetického) pole, SAR a ARD.

Hustota dopadajícího výkonu: p [W/m^2]

Velmi dobře měřitelná veličina, vhodná pro mikrovlnnou část kmitočtového spektra. Sama o sobě však nemá dostatečnou vypovídající hodnotu o expozici biologické tkáně elektromagnetickým polem. Část dopadajícího výkonu je totiž od tkáně odražena a do tkáně se proto dostane jen část celkového vyzářeného výkonu. Před vstupem České republiky do Evropské unie a před přistoupením ne jednotné evropské normy se u nás (ČR) běžně používala.

SAR (Specific Absorption Rate): SAR [W/kg]

Hygienická norma zavedená ANSI (American National Standard Institute). Tato veličina velmi přesně definuje míru expozice biologické tkáně elektromagnetickým polem. Na druhou stranu je však obtížněji měřitelná. Je definována jako výkon absorbovaný jedním kilogramem tkáně

Je udávána v následujícím tvaru:

$$SAR = \frac{\partial}{\partial t} \left(\frac{\partial W}{\partial m} \right) = \frac{\partial}{\partial t} \left(\frac{\partial W}{\rho \partial V} \right) = \frac{\partial P}{\partial m} = \frac{\partial P}{\rho \partial V} [W / kg] \quad (1.1)$$

kde: W-absorbovaná elektromagnetická energie v biologické tkáni
 t-čas
 m-hmota
 ρ-hustota tkáně
 P-výkon elektromagnetické vlny, která se šíří biologickou tkání
 V-objem

Vztah lze upravit pro tvar prostorového rozložení intenzity elektrického pole E (x, y, z):

$$SAR = \frac{\sigma}{\rho} \frac{|E(x, y, z)|^2}{2} \quad (1.2)$$

kde: σ-elektrická vodivost uvažované tkáně

Pokud by bylo možné zanedbat teplotní vodivost studovaného biologického objektu, lze SAR vyjádřit pomocí časové derivace časově závislého prostorového rozložení teploty.

$$SAR = c \frac{\partial T(x, y, z, t)}{\partial t} = c \frac{\Delta T(x, y, z, t)}{\Delta t} \quad (1.3)$$

kde: c-měrné teplo biologické tkáně

ARD (Absorption Rate Density): ARD [W/m³]

Jde o veličinu podobnou SAR, jenom absorbovaný výkon je udáván ve vztahu k objemu.

$$ARD = \rho c \frac{\partial T(x, y, z)}{\partial t} = \rho c \frac{\Delta T(x, y, z)}{\Delta t} \quad (1.4)$$

Intenzita elektrického pole: E [V/m]

Veličina vhodná pro popis elektromagnetického pole od stejnosměrných složek až po oblast k frekvencím řádově stovky megahertz. (asi do $f=300$ MHz). Po přepočtu na hustotu výkonu dostáváme vztah:

$$p = \frac{|E(x, y, z)|^2}{120\pi} \quad (1.5)$$

Intenzita magnetického pole: H [A/m]

Veličina analogická k předchozí

$$p = 120\pi |H(x, y, z)|^2 \quad (1.6)$$

Za nejvhodnější veličinu, která nejlépe vyjádří množství elektromagnetické energie rozložené v biologické tkáni, lze dle textu výše považovat SAR.

Hygienická norma dle ANSI a norma Evropské unie

Hygienická norma rozlišuje situace, kdy účinky elektromagnetického pole mohou být nebezpečné, od případů, kdy nepříznivý vliv těchto účinků lze zcela vyloučit.

V USA je stanovena hranice bezpečné absorpce elektromagnetické energie v biologické tkáni na úroveň SAR= 4W/kg. Pokud je tato hranice překročena, dochází ke zvyšování teploty exponované biologické tkáně. Hranice hygienické normy byla proto stanovena na SAR=0,4W/kg, vzhledem k požadovanému bezpečnostnímu faktoru 10. [12]

3.3 Typy používaných aplikátorů a jejich rozdělení

Abychom pro hypertermickou léčbu vybrali nejvhodnější aplikátor, musíme znát rozložení teplotních polí, vyvolaných jak na povrchu, tak do hloubky exponované tkáně. Stejně důležité je znalost dielektrických a tepelných parametrů nádorové i zdravé tkáně jako např. permitivita, měrné skupenské teplo tkáně, vliv krevního oběhu (ochlazování tkání přitékající krví, růst objemu přitékající krve se stoupající teplotou).

Typy elektromagnetických aplikátorů využívaných na hypertermii jsou různé. Můžeme je rozdělit buď podle druhu aplikátoru samotného, nebo druhu léčby, která se jím provádí.

Rozdělení dle druhu aplikátoru:

- vlnovodné aplikátory-dosahují velké hloubky ohřevu, použití k léčbě malých i velkých nádorů
- aplikátory tvořené úsekem vedení-při jejich použití může dojít k nerovnoměrnému ohřevu
- kapacitní aplikátory-jednoduché na realizaci
- induktivní aplikátory-používány v šroubovicovém, toroidálním nebo smyčkovém provedení

Rozdělení aplikátorů dle druhu léčby

- aplikátory pro lokální termoterapii
 - povrchové
 - podpovrchové
 - hloubkové
- aplikátory pro intrakavitární termoterapii
 - koaxiální
 - planární
 - šroubovicové
 - vlnovodné
- aplikátory pro intersticiální termoterapii
- aplikátory pro regionální terapii
- aplikátory pro celotělovou termoterapii

Použití vhodných aplikátorů je závislé zejména na oblasti lidského těla, pro kterou jsou určeny. Například intrakavitární aplikátory jsou nejvíce vhodné pro použití v oblastech, které se nachází na stěnách tělních dutin. Kvůli svému umístění přímo uvnitř těchto dutin mívají válcový tvar a jejich apertura je přesně uzpůsobena dané tělní dutině. Co se týká provedení. Nejčastěji se u intrakavitárních aplikátorů používá koaxiální provedení.

U intersticiálních aplikátorů jde zpravidla o systém miniaturních sond, které jsou dočasně voperovány do těla pacienta, a pro samotný ohřev je používán vysokofrekvenční proud protékající mezi sondami.

Aplikátory pro regionální léčbu využívají sbíhavé válcové vlny nebo její části. Při nesprávné aplikaci regionální nebo lokální hypertermie je riziko vzniku nežádoucích teplých míst (tzv. „hot spots“) v léčené oblasti. Aplikátory je proto nutné testovat na různých typech fantomů (např. agarové), pokusných zvířatech. Při aplikaci vyšších energetických výkonů (nad 500 W) je nutný monitoring životních funkcí pacienta.

3.4 Typy elektromagnetických vln

Vlny vybuzené v aplikátoru a šířící se dál do biologické tkáně můžeme rozdělit do třech skupin.

Hlubkové Vlny

Šíří se ve směru vyzařování aplikátoru dovnitř do tkáně. Naší snahou je, aby tyto vlny přenášely maximum energie. Ideální případ by nastal, kdyby byly buzeny jen tyto vlny.

Povrchové vlny

Jejich šíření je radiální s povrchem těla. Ohřívají tkáň jen do malé hloubky. Aby v místech jejich maxim nedocházelo k lokálnímu přehřátí povrchu tkáně, vkládá se mezi aplikátor a tělo vodní bolus, který chladí pacientovu pokožku.

Odražené vlny

Tyto vlny jsou zcela nežádoucí, protože zatěžují výkonový generátor. Je to jedno z několika hledisek, na které se bere ohled při návrhu vhodného aplikátoru.

Vzhledem k tomu, že se tělo skládá z tkání s různými dielektrickými vlastnostmi, může docházet k nerovnoměrnému ohřevu celkového objemu biologické tkáně. Na základě tohoto jevu může docházet ke vzniku tzv. „horkých míst“. Označovaných také jako hot spots. Jejich vzniku se samozřejmě snažíme zabránit.

4. Magnetické nanočástice

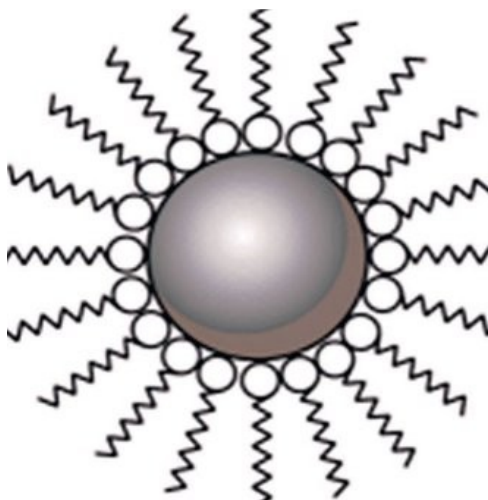
4.1 Stavba a výroba nanočástic

Za magnetické nanočástice (obr. 5) můžeme považovat částice o velikosti 4-100 nm složené z magnetického jádra nemagnetického obalu a stabilizační vrstvy. Jejich rozměr může být i větší, záleží na použitém feromagnetiku.

Nanočástice se vyrábějí z biokompatibilních materiálů jako je například magnetit Fe_3O_4 , gregit Fe_2S_4 , nebo z jiných různých typů feritů [13].

Feromagnetika jsou velmi dobrá dielektrika, to znamená, že prakticky nevedou elektrický proud. Díky této vlastnosti jsou vhodné k použití ve střídavých a zejména potom ve vysokofrekvenčních magnetických polích. Nedochází totiž u nich ke vzniku indukovaných proudů a tím nežádoucích Jouleových ztrát. Obsahují dva různé magnetické ionty (v případě feritu železa je to Fe^{2+} a Fe^{3+}).

Nanočástice se vyrábějí dvěma základními metodami a to redukcí velikosti nebo chemickým vysrážením. První z metod je založená na míchání magnetického prášku s mikronovými zrníčky s rozptylovačem a rozpouštědlem. To vše probíhá několik týdnů v kuličkovém mlýnku. Nejvíce používanou metodou výroby magnetických nanočástic současnosti je však chemické vysrážení. Princip této metody spočívá v míchání FeCl_2 a FeCl_3 s vodou. Po přidání NH_4OH dojde k jejich vzájemnému sražení. Poté následuje ještě celá řada různých procedur jako peptidace, magnetická separace, filtrace a nakonec zředění [11].



Obr. 5. Schéma nanočástice

Jádro magnetických nanočástic se obvykle připravuje chemickou reakcí, při které vznikají mikročástice železa nebo magnetitu. Dalším krokem přípravy je disperze magnetických částic v kapalném nosiči za využití surfaktantu. Ten se přidává do kapalného média během přípravy částic a je na ně povrchově vázaný, způsobuje elektrostatický odpor částic a tím kompenzuje přitažlivé síly. Obalení částic surfaktantem způsobuje také jejich sférické odpuzování, což brání jejich přímému kontaktu. Délka řetězců surfaktantu je oproti velikosti částic o dost větší, proto vzdálenost mezi jednotlivými částicemi je dostatečná na to aby mezi nimi nepůsobili dostatečné přitažlivé síly, díky kterým by mohlo docházet k tvorbě agregátů. Elektrostatický odpor způsobuje náboj na koncích surfaktantu, které jsou orientované do nosné kapaliny. Všechny částice jsou obalené stejným surfaktantem, proto mají na povrchu stejný náboj a odpuzují se [14].

4.2 Magnetické nanočástice v hypertermii

Magnetické částice jsou schopné absorbovat energii elektromagnetického záření různých frekvencí. Při aplikaci vysokofrekvenčního elektromagnetického pole se zahřívají na základě Brownova a Neeloho efektu. To znamená, pokud zvolíme vhodnou frekvenci a sílu elektromagnetického pole, budou se přednostně zahřívát magnetické částice s minimálním ohřevem okolní tkáně. Jako takovou ideální frekvenci vysokofrekvenčního elektromagnetického pole se jeví frekvence 3,5 MHz. Při ní dochází k uplatnění Brownova – Neeloho efektu a nastává přednostní ohřev magnetických částic s rozměry 4 – 100 nm. Důležitým parametrem je z klinického hlediska hloubka průniku (efektivní hloubka) elektromagnetické vlny do biologické tkáně. Hloubka průniku vysokofrekvenčního pole této frekvence je 42,5 cm. To je dostačující hloubka k průniku do jakékoliv části lidského těla. Zároveň při se při této frekvenci zahřívají zejména magnetické nanočástice. Lidská tkáň je zahřívána až druhotným vedením tepla.

Mechanismů jakým magnetické částice při vysokofrekvenční hypertermii ničí nádorové buňky je vícero. Může dojít k narušení buněčné membrány, tím pádem k porušení iontové rovnováhy, popřípadě se částice mohou dostat do buněk a rozrušit jejich vnitřní struktury. Nejdůležitější je makroskopické hledisko, z kterého je podstatné, že nanočástice zahřívají tkáň nepřímo vedením tepla. Nárůst jejich teploty je

samozřejmě daleko rychlejší než nárůst teploty okolních tkání, a tím při jejich použití dochází ke zkracování doby aplikace vysokofrekvenčního pole.

Naproti hypertermické léčbě bez magnetických nanočástic, využitých jako médium k zahřátí nádorových buněk, při které se aplikátor energie nachází taktéž mimo tělo pacienta má hypertermická léčba tu výhodu, že není potřeba počítat s různými fyzikálními vlastnostmi tkání ani s odrazem energie na rozhraní. Naproti vnitřním aplikátorům je to daleko méně invazivní metoda. Magnetické nanočástice se však nehodí na celotělovou hypertermii. Jejich využití je zejména při regionální a lokální hypertermii [15].

4.3 Nanočástice v živém organismu

Pokud chceme aplikovat magnetické nanočástice v lidském organismu, je nejprve nutné zajistit jejich biokompatibilitu upravením jejich povrchu organickými látkami. Mezi nejdůležitější kritéria pro biokompatibilitu, které musí suspenze magnetických nanočástic splňovat patří pH. To by mělo být přibližně 7,4. Dále musí obsahovat nanočástice na svém povrchu funkční skupinu, která brání vychytávání částic retikuloendoteliárním systémem. Pro biokompatibilitu, která je nutná pro využití nanočástic v lidském organismu jsou kromě jejich samotné toxicity důležité i fyzikální vlastnosti jako velikost částic, jejich povrchové napětí a jejich schopnost absorbovat proteiny [16].

Vhodnou velikost magnetických částic, to je celkový průměr magnetického anorganického jádra a jeho obalu, pro in vivo aplikace můžeme odvodit od velikosti nejmenších kapilár v lidském těle. I ta nejmenší částice by měla být schopna průchodu těmito kapilárami, jejichž nejmenší možná velikost je 4 μm . Pokud by byla částice větší, mohlo by dojít k plicní embolii. Pokud dojde k intravenóznímu vstříknutí částic do organismu, následuje po jejich rozpoznání jako cizorodé látky imunitní reakce. Vychytávání částic makrofágy probíhá podle jejich velikosti na různých místech (tab. 1).

částice < 4 μm	vychytání buňkami retikuloendoteliárního systému játra (60-90%), (slezina 3-10%)
částice < 100 μm	fagocytóza jaterními buňkami
částice > 200 μm	zachycení v žilních dutinách sleziny

Tab. 1. Vychytávání částic v lidském organismu

Po aplikaci částic o velikosti mezi 30 a 100 nm dojde nejprve k vychytání částic větších, ty totiž ve větší míře zvyšují aktivitu fagocytů. Je tedy zřejmé, že absorpci částic můžeme rozdělit (v závislosti na velikosti částic) na fagocytózu (absorpce všech částic) a pinocytózu (absorpce částic < 150 nm). Velké částice budou tedy vychytány jen buňkami, které jsou schopny fagocytózy, naproti tomu malé částice mohou být odstraněny všemi typy buněk pomocí pinocytózy. Za normálního fyziologického stavu není částice větší než 10 nm schopna proniknout endotelem. Během patologického stavu jako například během zánětu nebo u nádoru dochází ke změně této skutečnosti. Endotelem pak mohou proniknout částice i o velikosti 700 nm. Toho lze využívat právě při diagnostice a léčení nádorových onemocnění [16].

Další vlastností, která má vliv na odstraňování částic z lidského těla je povrchové napětí. Čím je větší, tím větší je i míra fagocytózy. U tohoto jevu nezáleží na znaménku elektrického náboje. Z výše popsaného je tedy zřejmé, že částice je z organismu vyloučena o to déle, čím menší má povrchové napětí [17].

Po vniknutí částic do krevního řečiště dochází k okamžité interakci s plazmatickými proteiny, což se projevuje jako jejich absorpce na povrch částic. Tento jev se nazývá opsonizace. Velmi důležitou úlohu mají absorbující proteinové složky v distribuci, odbourávání a vylučování nanočástic. Množství takto absorbujících proteinů je závislé na velikosti částic, povrchovém napětí a hydrofobičnosti povrchu vzorku. Pokud dochází ke zvyšování těchto parametrů, zvyšuje se i kapacita absorbujících proteinů. Proteiny podporující fagocytózu (imunoglobulin G, komplement), i ty které jí inhibují (dysopsoniny) spolu s ostatními neaktivními proteiny krevní plasmy odpovídají za chování nanočástic v lidském organismu [17].

5. Cíle práce

Tato diplomová práce se zabývá problematikou implantace feritových nanočástic do tumorózní tkáně za účelem posílení termální disipace mikrovlnné energie v této tkáni, pro urychlení její degradace dle principů hypertermického působení na biologickou tkáň. Cílem práce je experimentálně ověřit vliv příměsových nanočástic na termální disipaci elektromagnetického pole ve fantomech, modelujících z elektrického hlediska dielektrické parametry měkké tkáně.

Ve své práci jsem se zabýval:

- 1) Rozdílem v přírůstku teplot, po termální expozici mikrovlnnou energií, mezi fantomy biologické tkáně bez obsahu feritových nanočástic a fantomy obsahujícími ve svém objemu homogenně rozptýlené feritové nanočástice FeSi a FeH.
- 2) Rozdílem teplotních přírůstků fantomů biologické tkáně po termální expozici mikrovlnnou energií při použití dvou různých typů feritových nanočástic. A to FeSi a FeH.
- 3) Vlivem stoupající koncentrace feritových nanočástic FeSi a FeH na teplotní přírůstky fantomů biologické tkáně po termální expozici mikrovlnnou energií.
- 4) Rozdílem v přírůstku teplot fantomů biologické tkáně, po termální expozici mikrovlnnou energií, mezi homogenní implantací a bodovou injektáží feritových nanočástic FeSi a FeH dovnitř fantomů.

Důvodem mé práce je pokus o zlepšení termální disipace mikrovlnné energie při léčbě nádorových onemocnění mikrovlnnou termoterapií, způsobem, který by z hlediska vedlejších efektů nikterak neměnil kvalitu života pacienta a zlepšil by klinické výsledky léčby.

6. Materiál a metody

6.1 Model biologické tkáně

K dokonalému zhodnocení účinků termální disipace mikrovlnné energie v biologické tkáni, jsem vytvořil modely biologické tkáně, které jsem použil k implantaci feritových částic. Tyto modely neboli fantomy biologické tkáně, musí splňovat následující parametry jak z hlediska dielektrika, tak i tepelné vodivosti.

- permitivita tkáně
- elektrická vodivost tkáně
- teplotní vodivost tkáně
- měrné teplo tkáně
- vliv nehomogenity biologické tkáně a její obrany vůči tepelnému stresu
- prostorové rozložení biologické tkáně v uvažované oblasti

Dodržení výše zmiňovaných parametrů, obzvláště prvních čtyř, není úplně jednoduché, ale je vcelku proveditelné, avšak dokonalé namodelování posledních dvou faktorů, to je prostorová nehomogenita biologické tkáně a její složení s uvážením vlivu krevního řečiště s jeho cirkulací je záležitost velmi nesnadná. Proto pokud by byla potřeba přesnějších výsledků našich experimentů například v rámci dalších přísnějších klinických testů, bylo by nutné použití experimentálních zvířat.

6.1.1 Typy fantomů

Existuje velké množství nejrůznějších druhů fantomů a je nutné vzít v potaz, k jakému účelu budeme daný fantom využívat, zda potřebujeme mít fantom, pro dokonalé modelování biologické tkáně a tedy i hypertermického ohřevu, anebo nám bude stačit fantom pro měření distribuce elektromagnetického pole. V prvním případě je nutné splnit pokud možno všechny výše zmiňované parametry, v druhém se potom stačí zaměřit na parametry dielektrické, kdy například permitivita je úměrná druhé odmocnině, a proto i s poměrně nepřesným fantomem se dá dosáhnout dobrých výsledků.

Existuje celá řada typů fantomů. Pro fantomy, které mají simulovat svalovou tkáň, nebo tkáň s vysokým obsahem vody používáme agarové želatiny (používané v potravinářství), kde přidáním různých přísad jako například solí, hliníkového prášku apod. můžeme upravit dielektrické parametry. Ve zdravotnictví jsou často využívanými materiály například agarový materiál DUBLAGA (tab. 2), nebo SUPERSTUFF (tab. 3). Jejich složení a dielektrické parametry jsou uvedeny v následujících tabulkách.

Vzorek	ϵ_r	$\text{tg } \delta$	σ
DUBLAGA	56,5	2,95	0,18
Svalová tkáň-měření	103	3,42	0,24
Svalová tkáň-fyziologie	118	3,5	0,1-0,2

Tab. 2. Dielektrické parametry fantomu DUBLAGA ve srovnání s biologickou tkání

Superstuff	
60%	solný roztok (2,5% Na Cl, 97,5% H ₂ O)
22,5%	cukr
17,5%	TX 150 (Superstuff)

Tab. 3. Složení fantomu z materiálu Superstuff

f [MHz]	ϵ_r	λ_v [mm]
434	54	94
915	54	45
2450	52	17

Tab. 4. Relativní permitivita ϵ_r a délka vlny λ_v ve fantomu Superstuff pro základní frekvence

Jiným příkladem může být varianta agarového fantomu svalové biologické tkáně dle následující tabulky (tab. 5).

96%	solný roztok (0,33% Na Cl, 95,67% H ₂ O)
4%	agar

Tab. 5. Složení agarového fantomu biologické tkáně

Pro fantomy, které mají simulovat tkáně s nízkým obsahem vody, jako například tukovou tkáň můžeme využít mnoho běžně dostupných látek (např. med nám může dobře simulovat tukovou tkáň). Příklad fantomu tukové nebo kostní tkáně, který je v praxi velmi často používán uvádí následující tabulka (tab. 6).

3%	solný roztok (0,9% Na Cl, 99,1% H ₂ O)
30%	olej
67%	mouka

Tab. 6. Složení fantomu tukové respektive kostní tkáně

Pro vytvoření fantomů biologické tkáně pro účely této práce jsem pro výrobu fantomů použil agar a solný roztok Na Cl. (tab. 5). Agar je jako polysacharid, lineárním polymerem galaktózy, který je vyráběn z mořských řas a má vysokou gelující schopnost. Agarové fantomy jsem vytvořil rozpuštěním agaru v zahřátém solném roztoku, vzniklou viskózní kapalinu jsem poté odlil do Petriho misek. Do každé misky 28 ml agaru. Celkem jsem vytvořil 34 fantomů.

6.2 Nanočástice FeSi a FeH

Jako vhodné feritové nanočástice pro využití v experimentální části mé diplomové práce jsem vybral FeSi (ferosilicium) a FeH (čisté železo redukované vodíkem). Rozdílné množství těchto nanočástic rozptýlené v jednom mililitru destilované vody jsem poté buď homogenně, nebo bodovou injektáží implantoval do vytvořených agarových fantomů (obr. 6). Vznikly fantomy s různou koncentrací nanočástic. Přesné koncentrace obou typů nanočástic v jednotlivých fantomech jsou uvedeny v tabulce (tab. 7)



Obr. 6. Agarové fantomy s implantovanými nanočásticemi

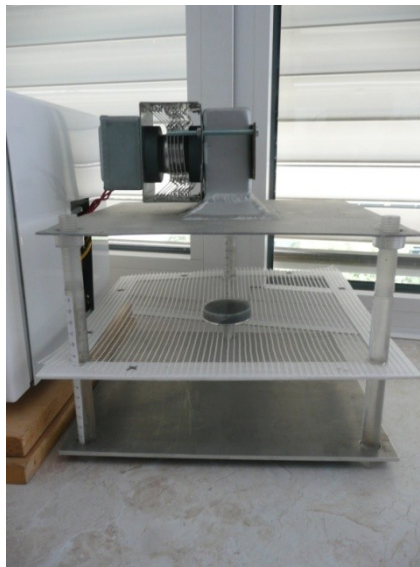
Do patnácti fantomů jsem implantoval částice FeSi do dalších patnácti částice FeH. Zbylé čtyři fantomy jsem nechal bez příměsi nanočástic a později je využil při expozici elektromagnetickým polem jako blank pro srovnání s fantomy, do kterých byly nanočástice implantovány.

Koncentrace (množství nanočástic [g]/fantom)															
	homogenní rozptyl										injektáž				
Fe Si	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
Fe H	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0

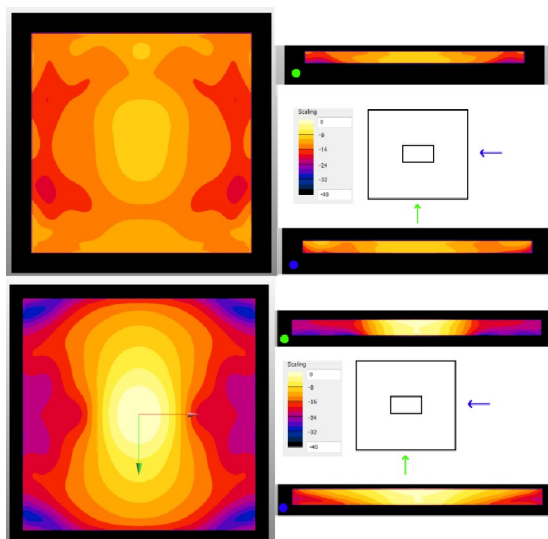
Tab. 7. Koncentrace FeSi a FeH v jednotlivých fantomech

6.3 Otevřený rezonátor

K samotné expozici mnou vytvořených agarových fantomů elektromagnetickým polem jsem použil otevřený rezonátor (obr. 7) pracující na frekvenci 2,45 GHz. Tento rezonátor se vyznačuje velmi vysokou homogenitou elektromagnetického pole v ozařované oblasti (obr. 8) Ověřeno simulací rozložení elektromagnetického pole v programu SEMCAD 14.6 Aletsch.



Obr. 7. Otevřený rezonátor



Obr. 8. Distribuce SAR v otevřeném rezonátoru

Samotná expozice agarových fantomů probíhala dle následujícího schématu. Nejprve byl sejmuto teplotní profil neexponovaného fantomu. Dalším krokem byla pětivteřinová expozice elektromagnetickým polem v otevřeném rezonátoru, po které došlo k sejmuto dalšího teplotního profilu exponovaného fantomu. Před další expozicí následovala pauza šedesáti sekund. Tato prodleva byla zařazena k eliminaci různých teplotních ztrát fantomu v důsledku různě dlouhého časového úseku od jednoho sejmuto teplotního profilu k dalšímu. Tento postup jsem opakoval, dokud celková doba expozice fantomu nedosáhla třiceti sekund.

I přes vysokou homogenitu elektromagnetického pole vyzařovaného otevřeným rezonátorem (obr. 8) jsem kvůli rovnoměrné expozici vložených fantomů pokládal fantomy vždy stejně orientované v prostoru a na stejné místo. To bylo umožněno označením fantomu a mřížky rezonátoru pozičními značkami. Stejně tak byla označena podložka pod fantomy na snímání teplotních profilů.

Abych minimalizoval změny teploty fantomů způsobené změnou teplot v měřící místnosti, byla místnost během celého experimentu klimatizována na stálou teplotu. Během celého experimentu jsem používal pro veškerou manipulaci s fantomy azbestové rukavice, aby nedošlo ke změnám teplot fantomů vedením tepla z mé ruky.

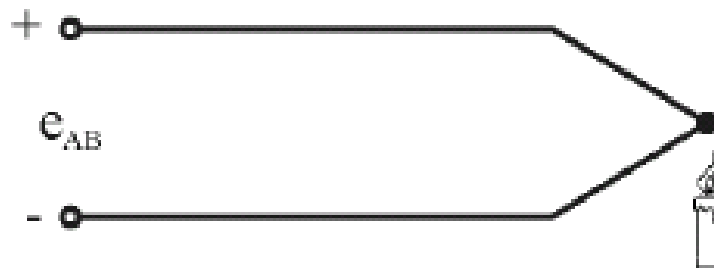
6.4 Termometrie

K měření teplotního profilu v biologické tkáni je možné využívat různých teplotních čidel. Tyto čidla můžeme podle způsobu aplikace rozdělit na invazivní a neinvazivní. Zatímco neinvazivní čidla snímají teplotní profil z povrchu biologické tkáně nebo jeho těsné blízkosti, tak čidla invazivní musí být za pomoci injekčních jehel či katetrů vpravena do biologické tkáně.

Invazivní čidla jsou realizována teplotní sondou, která je zavedena do tkáně. Tato sonda je tvořena teflonovou kanylou s několika teplotními čidly. Před zavedením do biologické tkáně je celá kanyla uvnitř kovové jehly, z které se dostane až po aplikaci dovnitř do tkáně rozlomením jehly. Jako teplotní čidla se používají termočlánky nebo termistory.

Termočlánky

Termočlánek využívá principu termoelektrického jevu (Peltier – Seebeckův jev). Tento jev můžeme pozorovat, když dva rozdílné vodiče, vodivě spojené na obou koncích, vystavíme různé teplotě, dojde v takovém obvodu přesunem elektronů ke vzniku proudu. Jsou-li oba vodiče spojeny pouze na jednom konci, potom po zahřátí tohoto spoje je možné zaznamenat napětí mezi těmito vodiči na otevřeném konci (obr. 9) Toto napětí je přímo úměrné teplotě spoje a nazývá se Seebeckovo napětí.



Obr. 9. Princip Seebeckova jevu

Termistory

Termistor je elektrotechnická součástka polovodičového charakteru [18] jejíž odpor je závislý na teplotě. Termistory jsou vyráběny práškovou metalurgií z oxidů různých kovů (např. Co, Ni, Mn a mnohých dalších)

V praxi se rozlišují dva základní typy termistorů. Prvním je NTC neboli negistor. Ten má negativní teplotní koeficient (jeho zahřáním odpor klesá).

Teplotní závislost na odporu je u negistorů vyjádřena vztahem:

$$R = Ae^{\frac{B}{T}} \quad (1.7)$$

$A[\Omega]$ - materiálové závislá konstanta

$B[18]$ - teplotně závislá konstanta.

Druhým typem jsou PTC termistory neboli pozistory. Ty mají pozitivní teplotní koeficient (jeho zahřátím odpor roste).

Teplotní závislost na odporu je u pozistorů vyjádřena vztahem:

$$R = R_0 e^{AT} \quad (1.8)$$

R_0 - odpor termistoru za teploty $T=273.15K$

A - teplotní konstanta.

6.4.1 Termokamera

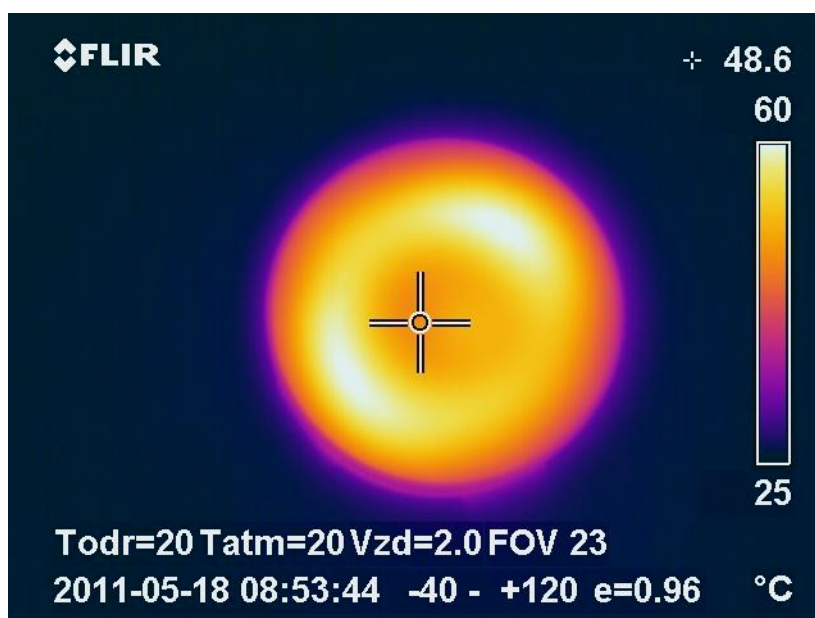
V případě mé diplomové práce jsem zvolil neinvazivní metodu snímání teploty uvnitř fantomů. Zvolenou senzorkou metodou k sejmutí teplotních profilů fantomů bylo použití termokamery. Ta funguje na principu Max-Planckova vyzařovacího zákona. Jedná se tedy o neinvazivní metodu. Výsledky rozložení teplotního profilu v agarových fantomech, byly pořízeny na pracovišti fakulty Elektrotechnické ČVUT v Praze v Dejvicích. Použitou termokamerou byla termokamera Flir P25. (obr. 10)

Základním prvkem této termokamery je výkonný nechlazený mikroboletický detektor typu FPA (Focal Plane Array, pole fokální roviny), který pracuje v rozsahu spektra 7,5 až 13 μm . Tento detektor má rozlišení 320 x 240 bodů (76 000 pixelů). Termokamera FLIR P25 je schopna zaznamenávat teploty v měřicím rozsahu -40 až 120 $^{\circ}C$. Při použití rozšíření pomocí volitelných prvků je možné rozsah navýšit až do 1000 $^{\circ}C$. Teplotní citlivost termokamery při teplotě snímaného objektu 30 $^{\circ}C$ je udávána jako 0,08 $^{\circ}C$. Rozsah pracovních teplot je -15 do 50 $^{\circ}C$. Obrazová frekvence 60Hz umožňuje snímat teplotu i rychle se pohybujících objektů. Pro snímání termogram objektu je možné v kameře nastavit mnohé parametry jako například emisivita, zdánlivě se odrážející teplota, teplota atmosféry, vzdálenost a relativní vlhkost.

Termokamera snímala teplotu pomocí funkce zaměřovacího kříže (obr. 11) ze stejného cílového místa fantomu. (orientace fantomu v prostoru byla vždy stejná, viz text výše).



Obr. 10. Snímání teplotního profilu termokamerou FLIR P25

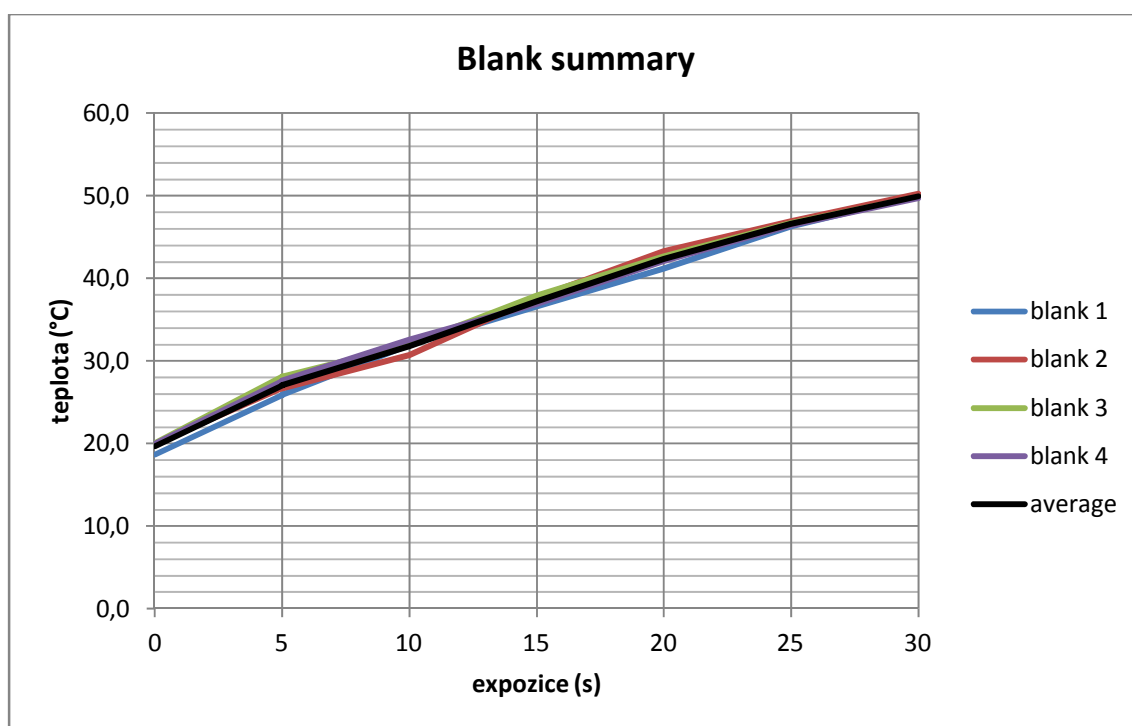


Obr. 11. Zaměření cílového místa termokamerou FLIR P25

7. Výsledky měření a diskuse

7.1 Blank

Jako blank jsem použil čtyři agarové fantomy bez příměsi nanočástic. Provedl jsem jejich expozici dle zvoleného schématu. K porovnávání s fantomy s implantovanými nanočásticemi bylo potřeba určit střední hodnotu ze všech čtyřech nezávislých měření jednotlivých blanků. Všechny čtyři měření byla téměř totožná, a protože se v teplotní řadě neobjevovaly odlehle hodnoty, použil jsem ke stanovení střední hodnoty aritmetický průměr spočítaný ze všech čtyřech blanků. Hodnoty jednotlivých měření spolu s výsledným aritmetickým průměrem jsou uvedeny v příloze.



Graf 1. Průměrná hodnota blanku

V grafu č. 1 je vyjádřena závislost mezi dobou expozice a teplotou agarových fantomů bez implantovaných nanočástic (blank). Z grafu vyplývá, že se stoupající dobou expozice termální mikrovlnnou energií stoupala i teplota fantomů. Toto zvyšování teploty je téměř lineární. Po třiceti sekundové expozici byla teplota agarového fantomu 50 °C (průměr ze všech čtyřech měření).

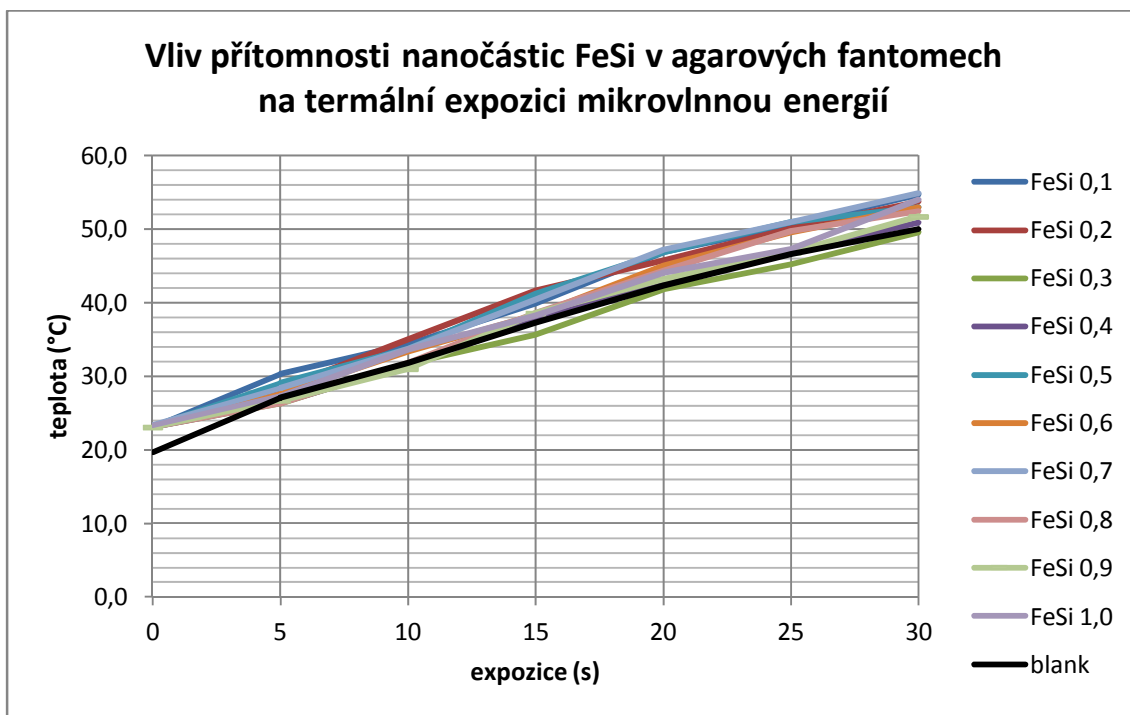
7.2 Vliv přítomnosti nanočástic FeSi a FeH v agarových fantomech na termální expozici mikrovlnnou energií

Prvním cílem mé diplomové práce bylo srovnání přírůstku teplot, po termální expozici mikrovlnnou energií, mezi agarovými fantomy bez obsahu feritových nanočástic a fantomy obsahující feritové nanočástice FeSi a FeH.

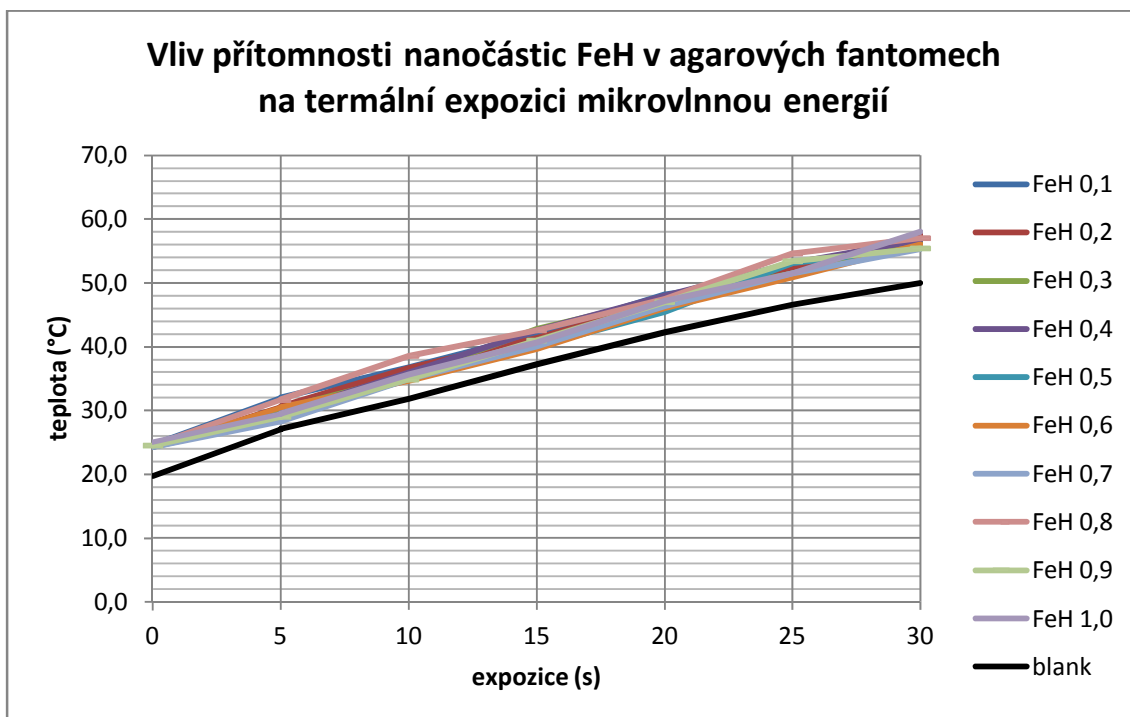
Nejprve jsem provedl expozici čtyř fantomů bez feritových nanočástic FeSi a FeH. Výsledky měření jsem používal jako blank. (viz výše) Poté jsem provedl expozici fantomů obsahující nanočástice FeSi a FeH. Výsledky jsou zaznamenány v grafech č. 2 a č. 3.

V grafu č. 2 je vyjádřena závislost mezi dobou expozice a teplotou agarových fantomů obsahujících nanočástice FeSi a fantomů bez implantovaných nanočástic (blank). Z grafu vyplývá, že se stoupající dobou expozice termální mikrovlnnou energií stoupala teplota u fantomů bez obsahu nanočástic tak i teplota u fantomů obsahujících nanočástice FeSi. Toto zvyšování teploty je u blanku, tak u fantomů s nanočásticemi FeSi téměř lineární. V důsledku Brownova - Neeloho pohybu částic ve vysokofrekvenčním elektromagnetickém poli se nanočástice FeSi zahřívají a přispívají tak k makroskopickému vzrůstu teploty fantomů. Jak je patrné z grafu fantomy obsahující nanočástice FeSi vykazují za dobu expozice třiceti sekund až o 4,8 °C vyšší nárůst teploty než blank.

V grafu č. 3 je vyjádřena závislost mezi dobou expozice a teplotou agarových fantomů obsahujících nanočástice FeH a fantomů bez implantovaných nanočástic (blank). Z grafu vyplývá, že se stoupající dobou expozice termální mikrovlnnou energií stoupala teplota u fantomů bez obsahu nanočástic tak i teplota u fantomů obsahujících nanočástice FeH. Toto zvyšování teploty je u blanku, tak u fantomů s nanočásticemi FeH téměř lineární. V důsledku Brownova - Neeloho pohybu částic ve vysokofrekvenčním elektromagnetickém poli se nanočástice FeH zahřívají a přispívají tak k makroskopickému vzrůstu teploty fantomů. Jak je patrné z grafu fantomy obsahující nanočástice FeH vykazují za dobu expozice třiceti sekund až o 8 °C vyšší nárůst teploty než blank.



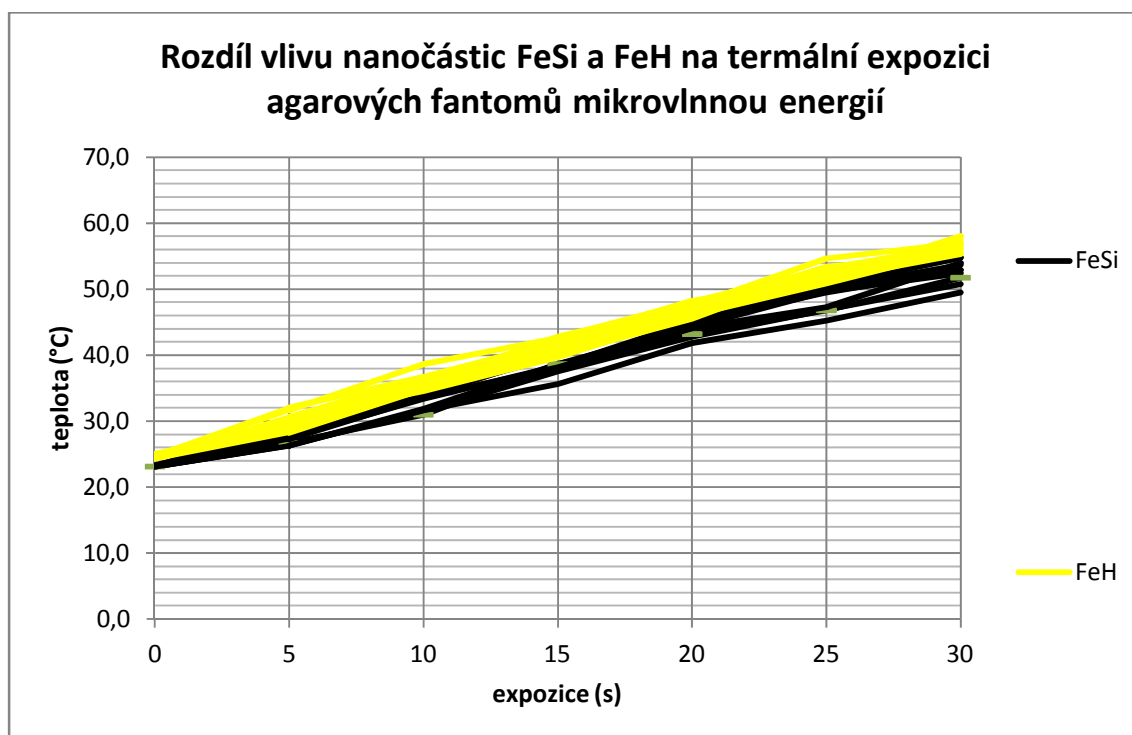
Graf 2. Vliv přítomnosti nanočástic FeSi v agarových fantomech na termální expozici mikrovlnnou energií



Graf 3. Vliv přítomnosti nanočástic FeH v agarových fantomech na termální expozici mikrovlnnou energií

7.3 Rozdíl vlivu nanočástic FeSi a FeH na termální expozici agarových fantomů mikrovlnnou energií

Dalším cílem bylo zjistit jaký je rozdíl mezi použitím dvou různých typů nanočástic. A to FeSi a FeH. Úkolem bylo porovnat, jestli u fantomů s obsahem nanočástic FeSi dochází k jiným teplotním změnám po termální expozici mikrovlnnou energií než u fantomů obsahující nanočástice FeH.



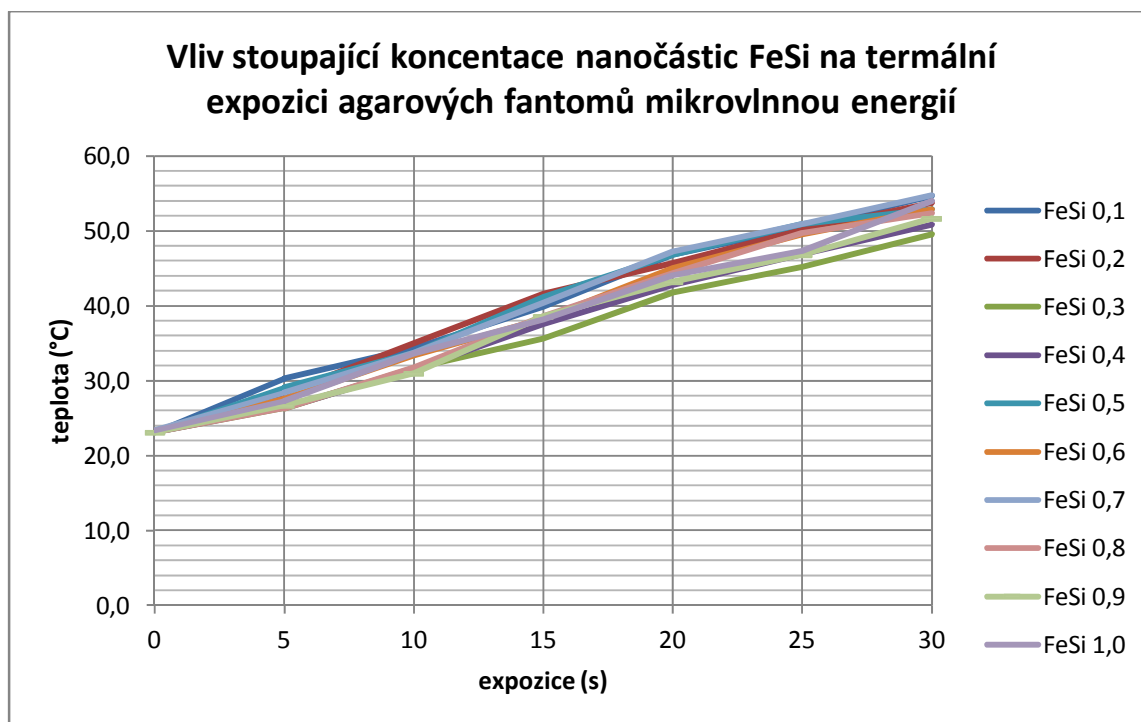
Graf 4. Rozdíl mezi vlivem nanočástic FeSi a FeH na termální expozici fantomů mikrovlnnou energií

V grafu č. 4 je vyjádřena závislost mezi dobou expozice a teplotou agarových fantomů, obsahujících nanočástice FeSi (černá řada) a fantomů obsahujících nanočástice FeH (žlutá řada). Z grafu vyplývá, že se stoupající dobou expozice termální mikrovlnnou energií stoupala teplota u fantomů obsahujících nanočástice FeSi tak i teplota u fantomů obsahujících nanočástice FeH. Toto zvyšování teploty je u obou typů fantomů téměř lineární. V důsledku Brownova - Neeloho pohybu částic ve vysokofrekvenčním elektromagnetickém poli se nanočástice FeSi a FeH zahřívají a přispívají tak k makroskopickému vzrůstu teploty fantomů. Z grafu je patrné, že

fantomy obsahující nanočástice FeH vykazují za dobu expozice třiceti sekund až o 3,2 °C vyšší nárůst teploty než fantomy obsahující nanočástice FeSi. Z toho je možné vyvodit závěr, že nanočástice FeH se při expozici termální mikrovlnnou energií zahřívají více a pro využití v klinické praxi by byly tedy vhodnější.

7.4 Vliv stoupající koncentrace nanočástic FeSi a FeH na termální expozici agarových fantomů mikrovlnnou energií

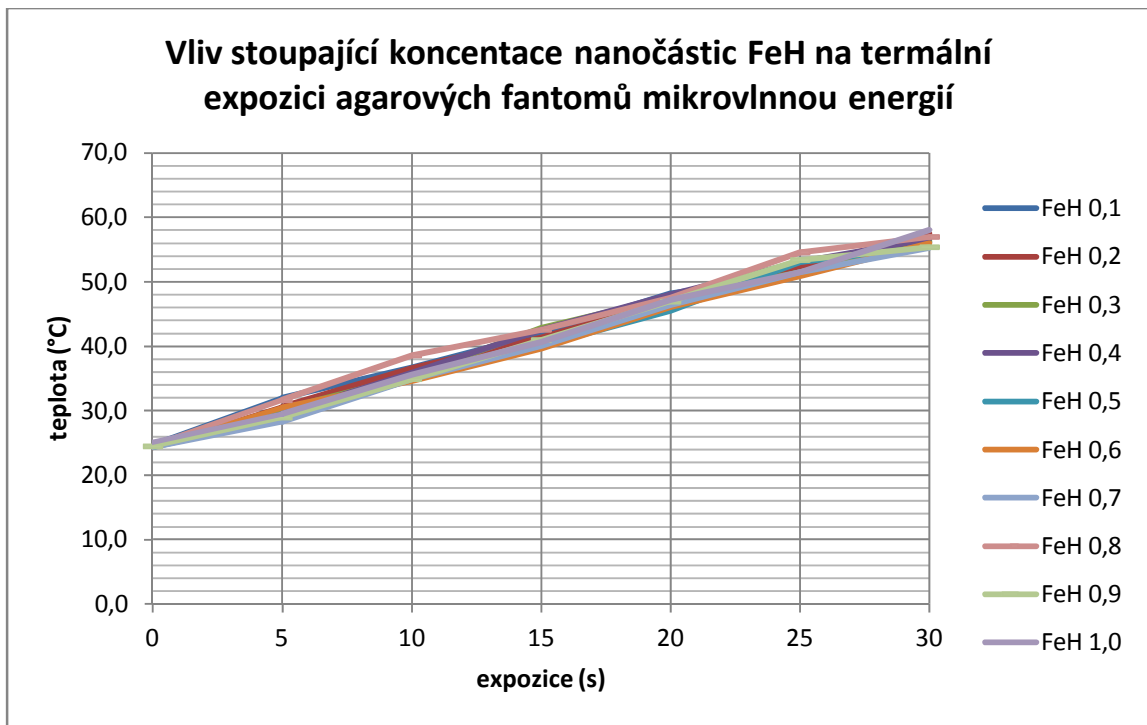
Dalším cílem bylo zjistit jaký vliv má stoupající koncentrace nanočástic FeSi a FeH na termální expozici agarových fantomů. V grafu č. 5 je vyjádřena závislost mezi



Graf 5. Vliv stoupající koncentrace nanočástic FeSi na termální expozici fantomů biologické tkáně mikrovlnnou energií

dobou expozice a teplotou agarových fantomů obsahujících různé koncentrace nanočástic FeSi (0,1 – 1g/fantom). Z grafu vyplývá, že se stoupající dobou expozice termální mikrovlnnou energií stoupala teplota u všech fantomů obsahujících nanočástice FeSi neohledě na koncentraci. Tento růst teploty byl téměř lineární. Z obecného hlediska

by u fantomů s větší koncentrací nanočástic měl být nárůst teploty větší, protože větší množství částic je schopné akumulovat větší množství elektromagnetické energie a tu pak přeměnit na teplo. Z mých měření ale není tento nárůst prokazatelný. Domnívám se, že je způsobeno malými rozdíly koncentrací, které jsem zvolil. Tím pádem teplotní rozdíly nejsou tak patrné.



Graf 6. Vliv stoupající koncentrace nanočástic FeH na termální expozici agarových fantomů mikrovlnnou energií

V grafu č. 6 je vyjádřena závislost mezi dobou expozice a teplotou agarových fantomů obsahujících různé koncentrace nanočástic FeH (0,1 – 1g/fantom). Z grafu vyplývá, že se stoupající dobou expozice termální mikrovlnnou energií stoupala teplota u všech fantomů obsahujících nanočástice FeH nezávisle na koncentraci. Tento růst teploty byl téměř lineární. Z obecného hlediska by u fantomů s větší koncentrací nanočástic měl být nárůst teploty větší, protože větší množství částic je schopné akumulovat větší množství elektromagnetické energie a tu pak přeměnit na teplo. Z mých měření ale stejně jako u nanočástic FeSi není tento nárůst prokazatelný. Domnívám se, že je způsobeno malými rozdíly koncentrací, které jsem zvolil. Tím pádem teplotní rozdíly nejsou tak patrné.

7.5 Vliv způsobu implantace nanočástic FeSi a FeH na termální expozici agarových fantomů mikrovlnnou energií.

Posledním cílem mé diplomové práce bylo porovnat dva způsoby implantace feritových nanočástic FeSi a FeH. Prvním typem implantace byl homogenní rozptyl v celém objemu agarového fantomu, druhým pak bodová injekce do jednoho místa uvnitř fantomu.

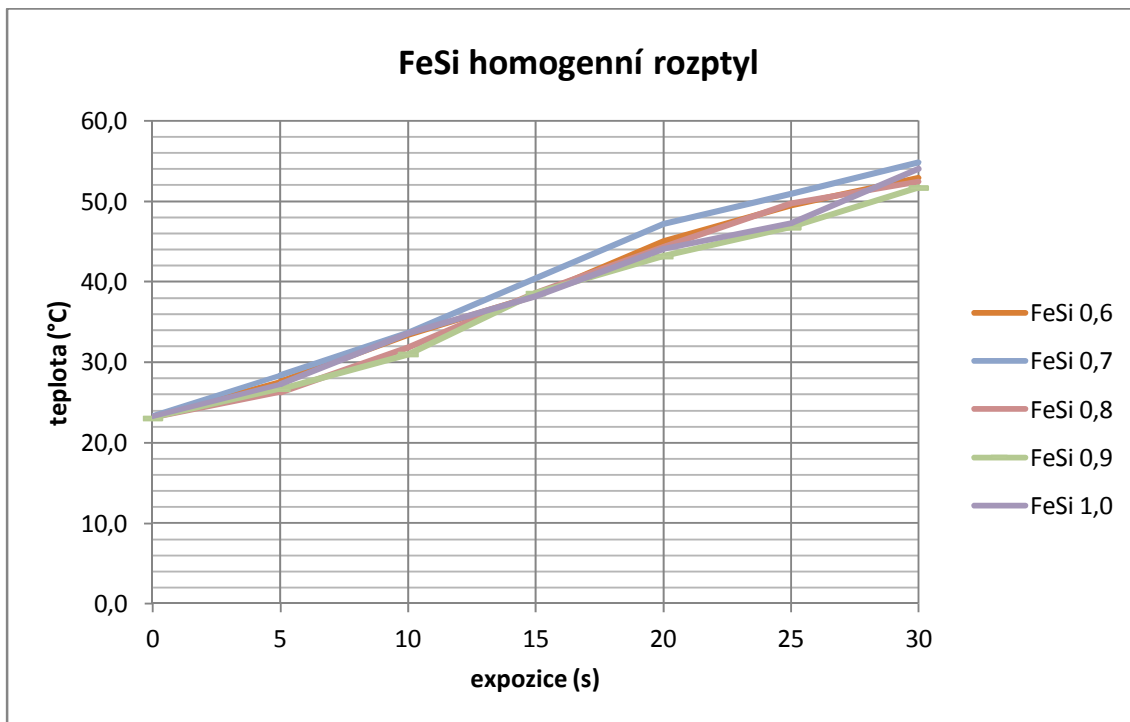
V grafech č. 7 a č. 8 je vyjádřena závislost mezi dobou expozice a teplotou agarových fantomů obsahujících nanočástice FeSi implantované buď homogenně, nebo bodovou injekcí. Z grafů vyplývá, že se stoupající dobou expozice termální mikrovlnnou energií stoupala teplota u všech fantomů obsahujících nanočástice FeSi neohledě na způsob implantace.

U fantomů, do kterých byly nanočástice FeSi rozptýleny homogenně je závislost mezi dobou expozice a teplotou fantomů téměř lineární a za dobu expozice 30 sekund došlo k ohřátí fantomů až na teplotu 54,8 °C.

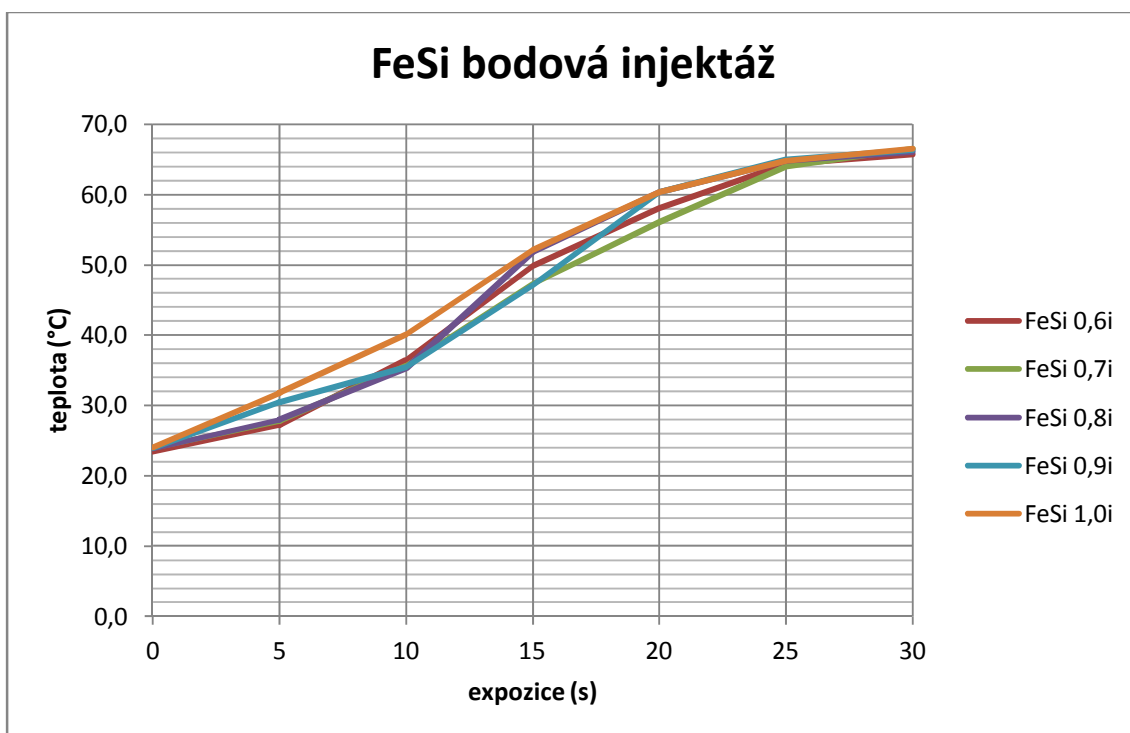
U fantomů, do kterých byly nanočástice FeSi implantovány bodovou injekcí je závislost mezi dobou expozice a teplotou fantomů také téměř lineární a za dobu expozice 30 sekund došlo k ohřátí fantomů až na teplotu 66,5 °C.

Z toho vyplývá, že při bodové injekci nanočástic FeSi se fantomy za dobu expozice 30 sekund zahřáli o 11,7 °C více, než fantomy ve kterých byli nanočástice rozptýleny homogenně. Rozdíl mezi dosaženou teplotou při použití odlišných způsobů implantace nanočástic FeSi si vysvětlují kumulací částic FeSi v jednom bodě při implantaci bodovou injekcí. Kumulací částic v jednom bodě totiž dochází primárně k ohřevu tohoto místa, a proto za kratší časový úsek dojde k většímu zvýšení teploty než částic homogenně rozptýlených uvnitř fantomu.

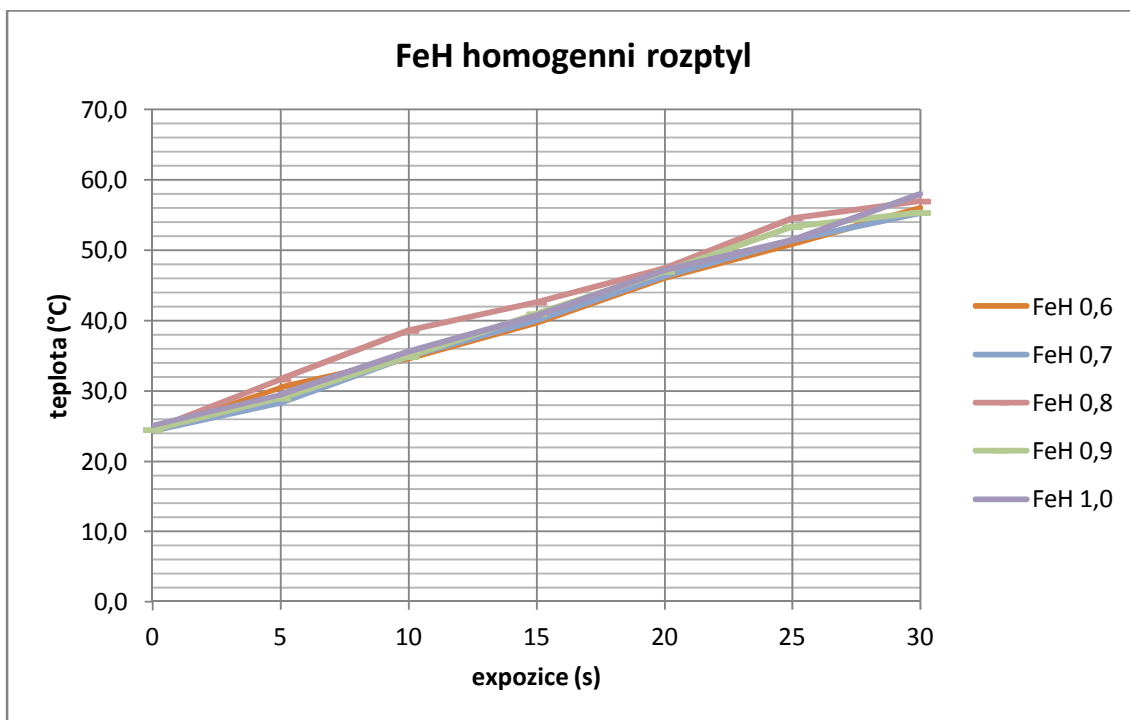
V grafech č. 9 a č. 10 je vyjádřena závislost mezi dobou expozice a teplotou agarových fantomů, obsahujících nanočástice FeH implantované buď homogenně, nebo bodovou injekcí. Z grafů vyplývá, že se stoupající dobou expozice termální mikrovlnnou energií stoupala teplota u všech fantomů obsahujících nanočástice FeH neohledě na způsob implantace.



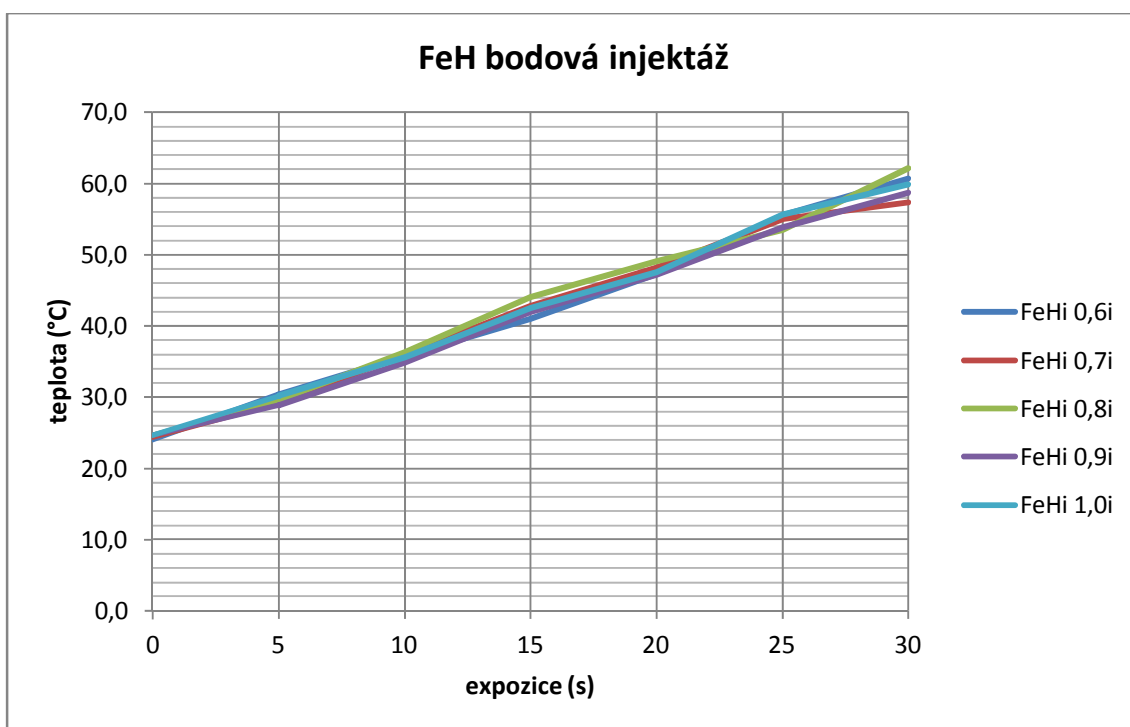
Graf 7. FeSi homogenní rozptyl



Graf 8. FeSi bodová injektáž



Graf 9. FeH homogenní rozptyl



Graf 10. FeH bodová injektáž

U fantomů, do kterých byly nanočástice FeH rozptýleny homogenně je závislost mezi dobou expozice a teplotou fantomů téměř lineární a za dobu expozice 30 sekund došlo k ohřátí fantomů až na teplotu 58 °C.

U fantomů, do kterých byly nanočástice FeH implantovány bodovou injektáží je závislost mezi dobou expozice a teplotou fantomů taktéž téměř lineární a za dobu expozice 30 sekund došlo k ohřátí fantomů až na teplotu 62,1 °C.

Z toho vyplývá, že při bodové injektáži nanočástic FeH se fantomy za dobu expozice 30 sekund zahřáli o 4,1 °C více, než fantomy ve kterých byli nanočástice rozptýleny homogenně. Rozdíl mezi dosaženou teplotou při použití odlišných způsobů implantace nanočástic FeH si vysvětlují kumulací částic FeH v jednom bodě při implantaci bodovou injektáží. Kumulací částic v jednom bodě totiž dochází primárně k ohřevu tohoto místa, a proto za kratší časový úsek dojde k většímu zvýšení teploty než částic homogenně rozptýlených uvnitř fantomu.

Při porovnání obou zmiňovaných metod implantace nanočástic FeSi a FeH se ze zde prezentovaných výsledků jako účinnější metoda jeví bodová injektáž a to proto, že při použití stejné koncentrace nanočástic jsme schopni dosáhnout za stejnou dobu expozice vyšší teploty.

8. Statistické zhodnocení výsledků

Ke statistickému zhodnocení výsledků jsem použil dvouvýběrový T-test s rovností rozptylů. Před samotným testováním bylo nejprve nutné formulovat alternativní a nulové hypotézy. Hladinu významnosti jsem si u všech prováděných testů definoval na 5% ($\alpha=0,05$).

8.1 Vliv přítomnosti nanočástic FeSi a FeH v agarových fantomech na termální expozici mikrovlnnou energií

U vlivu přítomnosti nanočástic FeSi v agarových fantomech na termální expozici mikrovlnnou energií jsem jako alternativní hypotézu zvolil tvrzení, že při přítomnosti nanočástic FeSi v agarových fantomech dojde po jejich termální expozici mikrovlnnou energií k většímu zvýšení teploty, než u fantomů bez těchto částic. Nulová hypotéza naopak tvrdí, že u fantomů obsahujících nanočástice FeSi bude po termální expozici mikrovlnnou energií vzestup teploty stejný jako u fantomů bez těchto částic. Z mnou vypočtené hodnoty hladiny významnosti $P= 0,952$ ($P> 0,05$) vyplývá, že nelze zamítnout nulovou hypotézu. To znamená, že vzrůst teploty po termální expozici mikrovlnnou energií ve fantomech obsahujících nanočástice FeSi se signifikantně neliší od fantomů bez těchto částic a že sledované rozdíly jsou způsobeny náhodností výběru analyzované množiny dat.

U vlivu přítomnosti nanočástic FeH v agarových fantomech na termální expozici mikrovlnnou energií jsem jako alternativní hypotézu zvolil tvrzení, že při přítomnosti nanočástic FeH v agarových fantomech dojde po jejich termální expozici mikrovlnnou energií k většímu zvýšení teploty, než u fantomů bez těchto částic. Nulová hypotéza naopak tvrdí, že u fantomů obsahujících nanočástice FeH bude po termální expozici mikrovlnnou energií vzestup teploty stejný jako u fantomů bez těchto částic. Z mnou vypočtené hodnoty hladiny významnosti $P= 0,414$ ($P> 0,05$) vyplývá, že nelze zamítnout nulovou hypotézu. To znamená, že vzrůst teploty po termální expozici mikrovlnnou energií ve fantomech obsahujících nanočástice FeH se signifikantně neliší od fantomů bez těchto částic a že sledované rozdíly jsou způsobeny náhodností výběru analyzované množiny dat.

8.2 Rozdíl vlivu nanočástic FeSi a FeH na termální expozici agarových fantomů mikrovlnnou energií

U rozdílu mezi vlivem nanočástic FeSi a FeH na termální expozici fantomů biologické tkáně mikrovlnnou energií jsem jako alternativní hypotézu zvolil tvrzení, že při použití nanočástic FeSi a FeH ve fantomech biologické tkáně dojde po jejich termální expozici mikrovlnnou energií k různému zvýšení teploty. Nulová hypotéza naopak tvrdí, že ve fantomech obsahujících nanočástice FeSi a FeH bude po termální expozici mikrovlnnou energií vzestup teploty stejný. Z mnou vypočtené hodnoty hladiny významnosti $P = 0,400$ ($P > 0,05$) vyplývá, že nelze zamítnout nulovou hypotézu. To znamená, že vzrůst teploty po termální expozici mikrovlnnou energií ve fantomech obsahujících nanočástice FeSi se signifikantně neliší od vzrůstu teploty fantomů obsahujících nanočástice FeH a že sledované rozdíly jsou způsobeny náhodností výběru analyzované množiny dat.

8.3 Vliv stoupající koncentrace nanočástic FeSi a FeH na termální expozici agarových fantomů mikrovlnnou energií

U vlivu stoupající koncentrace nanočástic FeSi na termální expozici fantomů biologické tkáně mikrovlnnou energií jsem jako alternativní hypotézu zvolil tvrzení, že při použití vyšší koncentrace nanočástic FeSi ve fantomech biologické tkáně dojde po jejich termální expozici mikrovlnnou energií k vyššímu zvýšení teploty. Nulová hypotéza naopak tvrdí, že mezi fantomy obsahujícími různé koncentrace nanočástic FeSi není po termální expozici mikrovlnnou energií rozdíl v teplotním přírůstku. Z mnou vypočtené hodnoty hladiny významnosti $P = 0,725$ ($P > 0,05$) vyplývá, že nelze zamítnout nulovou hypotézu. To znamená, že vzrůst teploty po termální expozici mikrovlnnou energií ve fantomech s nižší koncentrací nanočástic FeSi se signifikantně neliší od vzrůstu teploty fantomů obsahujících vyšší koncentrace FeSi.

U vlivu stoupající koncentrace nanočástic FeH na termální expozici fantomů biologické tkáně mikrovlnnou energií jsem jako alternativní hypotézu zvolil tvrzení, že při použití vyšší koncentrace nanočástic FeH ve fantomech biologické tkáně dojde po jejich termální expozici mikrovlnnou energií k vyššímu zvýšení teploty. Nulová

hypotéza naopak tvrdí, že mezi fantomy obsahujícími různé koncentrace nanočástic FeH není po termální expozici mikrovlnnou energií rozdíl v teplotním přírůstku. Z mnou vypočtené hodnoty hladiny významnosti $P= 0,915$ ($P> 0,05$) vyplývá, že nelze zamítnout nulovou hypotézu. To znamená, že vzrůst teploty po termální expozici mikrovlnnou energií ve fantomech s nižší koncentrací nanočástic FeH se signifikantně neliší od vzrůstu teploty fantomů obsahujících vyšší koncentrace FeH.

8.4 Vliv způsobu implantace nanočástic FeSi a FeH na termální expozici agarových fantomů mikrovlnnou energií.

U vlivu způsobu implantace nanočástic FeSi na termální expozici fantomů biologické tkáně mikrovlnnou energií jsem jako alternativní hypotézu zvolil tvrzení, že při použití bodové injektáže nanočástic FeSi do fantomů biologické tkáně dojde po jejich termální expozici mikrovlnnou energií k vyššímu zvýšení teploty než ve fantomech, ve kterých jsou nanočástice FeSi homogenně rozptýleny. Nulová hypotéza naopak tvrdí, že mezi fantomy do nichž byly nanočástice FeSi implantovány různými způsoby není po termální expozici mikrovlnnou energií rozdíl v teplotním přírůstku. Z mnou vypočtené hodnoty hladiny významnosti $P= 0,236$ ($P> 0,05$) vyplývá, že nelze zamítnout nulovou hypotézu. To znamená, že vzrůst teploty po termální expozici mikrovlnnou energií ve fantomech, do nichž byly nanočástic FeSi implantovány bodovou injektáží se signifikantně neliší od vzrůstu teploty fantomů, obsahujících nanočástice FeSi homogenně rozptýlené a že sledované rozdíly jsou způsobeny náhodností výběru analyzované množiny dat.

U vlivu způsobu implantace nanočástic FeH na termální expozici fantomů biologické tkáně mikrovlnnou energií jsem jako alternativní hypotézu zvolil tvrzení, že při použití bodové injektáže nanočástic FeH do fantomů biologické tkáně dojde po jejich termální expozici mikrovlnnou energií k vyššímu zvýšení teploty než ve fantomech, ve kterých jsou nanočástice FeH homogenně rozptýleny. Nulová hypotéza naopak tvrdí, že mezi fantomy do nichž byly nanočástice FeH implantovány různými způsoby není po termální expozici mikrovlnnou energií rozdíl v teplotním přírůstku. Z mnou vypočtené hodnoty hladiny významnosti $P= 0,827$ ($P> 0,05$) vyplývá, že nelze zamítnout nulovou hypotézu. To znamená, že vzrůst teploty po termální expozici

mikrovlnnou energií ve fantomech, do nichž byly nanočástic FeH implantovány bodovou injektáží se významně neliší od vzrůstu teploty fantomů, obsahujících nanočástice FeH homogenně rozptýlené a že sledované rozdíly jsou způsobeny náhodností výběru analyzované množiny dat.

9. Závěr

Předložená diplomová práce se zabývá problematikou implantace feritových nanočástic do tumorózní tkáně za účelem posílení termální disipace mikrovlnné energie v této tkáni, pro urychlení její degradace dle principů hypertermického působení na biologickou tkáň. Cílem práce bylo experimentálně ověřit vliv příměsových nanočástic FeSi a FeH na termální disipaci elektromagnetického pole ve fantomech, modelujících z elektrického hlediska dielektrické parametry měkké tkáně. Z výsledků provedených experimentů jsou možné vyvodit následující závěry.

Fantomy obsahující nanočástice FeSi a FeH vykazovaly po termální expozici mikrovlnnou energií vyšší nárůst teploty než fantomy bez těchto nanočástic. Přičemž vyšší nárůst byl zaznamenán u fantomů obsahujících nanočástice FeH.

Vliv koncentrace nanočástic FeSi a FeH v agarových fantomech na nárůst teploty po termální expozici mikrovlnnou energií se nepodařilo prokázat.

Vhodnějším způsobem implantace nanočástic do nádorové tkáně je bodová injekce. U této metody byla při použití obou typů nanočástic dosažena vždy vyšší teplota než u homogenního rozptylu nanočástic uvnitř fantomu.

Žádný z uvedených výsledků nebyl shledán statisticky významným. Dle mého názoru byla statistická nevýznamnost výsledků zapříčiněna malou velikostí výběrových souborů (málo vzorků). I přes to si myslím, že jsou tyto výsledky pro praxi přínosem. Zejména jako prvotní ověření použitelnosti nanočástic FeSi a FeH. Aby měli zjištěné výsledky i klinický dopad bylo by potřeba udělat další experimenty s větším počtem vzorků. Lepší vlastnosti při všech experimentech prokazovali nanočástice FeH, proto bych jako další postup navrhol provedení rozsáhlejší studie účinků těchto nanočástic na disipaci mikrovlnné energie in vivo.

Domnívám se, že díky použití nanočástic se stane mikrovlnná termoterapie s jejich využitím v budoucnu plnohodnotnou metodou léčby nádorových onemocnění.

10. Seznam použité literatury

- [1] Zhoubné nádory v roce 2009. In: *Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR* [online] 2012 [cit. 2012-02-20]
Dostupné z: <http://www.uzis.cz/rychle-informace/zhoubne-nadory-roce-2009>
- [2] Thermotherapy using magnetic nanoparticles. In: *European Society for Hyperthermic Oncology* [online]. 2007 [cit. 2012-03-03].
Dostupné z: http://www.esho.info/esho2007/pdf/jordan_esho2007.pdf
- [3] Falk, H. M. a R. D. ISSELS: *Hypertermia in Oncology*. International Journal of Hyperthermia, Volume 17, Issue 1 January 2001, pages 1 – 18.
- [4] HATINA, Jiří a Bryan SYKES. *Lékařská genetika*. Academia, Praha, 1999
ISBN 80-200-0700-8.
- [5] PLANK, Lukáš a Jan HANDOUŠ. *Patologická anatomia a patologická fyziológia*. Osveta, 2007. ISBN 978-80-8063-241-0.
- [6] KOVÁČ, Š. a kol. : *Spektroskopické metody v biochémi*. SPN, Bratislava, 1983.
- [7] CARNEIRO, Jose, Carlos L. JUNGUEIRA a Robert O.KELLEY.
Základy histologie. Praha: H+H, 2002. ISBN 80-85787-37-7.
- [8] VRBA, J., LAPEŠ, M. *Mikrovlnné aplikátory pro lékařské aplikace*,
Vydavatelství ČVUT, Praha, 1987.
- [9] THOMPSON M. T.: *Simple Models and Measurements of Magnetically Induced Heating Effect in Ferromagnetic Fluids*, IAEEEE. Transaction on Magnetics, Vol. 34 (5), 1988, 3755 – 3764.
- [10] TIRPÁK A., *Eletkromagnetizmus*, Polygrafia SAV, Bratislava, 1999.
ISBN 80-88780-26-8
- [11] ROSENWEIG R. E., *Magnetic fluids*, Inter Sei Tech., Vol. 65, 1965, 104 – 118.
- [12] VRBA J.: *Lékařské aplikace mikrovlnné techniky*, skriptum ČVUT, Praha 2003,
1. vydání, ISBN 80-01-02705-8
- [13] BABINCOVÁ M., P.BABINEC a CH. BERGEMANN: *High – gradient magnetic capture of ferrofluids: Implications for drug targeting and tumor embolisation.*, Naturforsch., Vol. 56, 2001, 909 – 911.
- [14] *Aplikácia Magnetozómov v protinádorovej terapii*. Bratislava, 2007.
Diplomová práce. Univerzita Komenského v Bratislavě, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Katedra jadrovej fyziky a biofyziky.
- [15] KAUSITZ, J., Č. ALTANER: *Onkológia*, VEDA, Bratislava 2003

- [16] *Studium magnetických částic oxidů železa metodami jaderné magnetické rezonance*. Kladno 2010. Diplomová práce. ČVUT Praha, Fakulta biomedicínského inženýrství, Katedra přírodovědných oborů
- [17] NEUBERGER T., et al., *Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: Possibilities and limitations of a new drug delivery system*. *J. Magn. Magn. Mater.* 2005, 293, s. 483-496.
- [18] Kreidl, M.: *Senzory*. Skripta ČVUT, Praha 1992

11. Seznam obrázků, tabulek a grafů

11.1 Obrázky

Obr. 1.

Schéma dělení eukaryotických buněk

Dostupné z: <http://www.genetika-biologie.cz/bunecny-cyklus>

Obr. 2.

Porovnání angiogeneze v normální a nádorové tkáni

Dostupné z:

<http://www.mojemedicina.cz/kapitola-1-uvod-principy-lecby-zhoubnych-novotvaru-anti-vegf-preparaty-1/nezbytna-uloha-nadorove-angiogeneze/>

Obr. 3.

Hypertermická souprava BSD-2000

Dostupné z: http://www.bsdmc.com/products_bsd2000.php

Obr. 4.

Schéma hypertermické soustavy

Obr. 5.

Schéma nanočástice

Dostupné z: <http://zivot.azet.sk/clanok/9198/v-bratislave-vznika-laboratorium-na-svetovej-urovni.html>

Obr. 6.

Agarové fantomy s implantovanými nanočásticemi

Obr. 7.

Otevřený rezonátor

Obr. 8.

Distribuce SAR v otevřeném rezonátoru

Obr. 9.

Princip Seebeckova jevu

Obr. 10.

Snímání teplotního profilu termokamerou FLIR P25

Obr. 11.

Zaměření cílového místa termokamerou FLIR P25

11.2 Tabulky

Tab. 1. Vychytávání částic v lidském organismu

Tab. 2. Dielektrické parametry fantomu DUBLAGA ve srovnání s biologickou tkání

Tab. 3. Složení fantomu z materiálu Superstuff

Tab. 4. Relativní permitivita ϵ_r a délka vlny λ_v ve fantomu Superstuff pro základní frekvence

Tab. 5. Složení agarového fantomu biologické tkáně

Tab. 6. Složení fantomu tukové respektive kostní tkáně

Tab. 7. Koncentrace FeSi a FeH v jednotlivých fantomech

11.3 Grafy

Graf 1.

Průměrná hodnota blanku

Graf 2.

Vliv přítomnosti nanočástic FeSi ve fantomech biologické tkáně na termální expozici mikrovlnnou energií

Graf 3.

Vliv přítomnosti nanočástic FeH ve fantomech biologické tkáně na termální expozici mikrovlnnou energií

Graf 4.

Rozdíl mezi vlivem nanočástic FeSi a FeH na termální expozici fantomů mikrovlnnou energií

Graf 5.

Vliv stoupající koncentrace nanočástic FeSi na termální expozici fantomů biologické tkáně mikrovlnnou energií

Graf 6.

Vliv stoupající koncentrace nanočástic FeH na termální expozici fantomů biologické tkáně mikrovlnnou energií

Graf 7.

FeSi homogenní rozptyl

Graf 8.

FeSi bodová injektáž

Graf 9.

FeH homogenní rozptyl

Graf 10.

FeH bodová injektáž

12. Příloha

12.1 Příloha č. 1

Teploty fantomů s feritovými nanočásticemi FeSi v závislosti na době expozice (homogenní rozptyl)

expozice (s)	Teplota (°C)									
	FeSi 0,1	FeSi 0,2	FeSi 0,3	FeSi 0,4	FeSi 0,5	FeSi 0,6	FeSi 0,7	FeSi 0,8	FeSi 0,9	FeSi 1,0
0	23,1	23,2	23,1	23,1	23,2	23,3	23,4	23,1	23,1	23,3
5	30,3	28,3	26,3	26,4	29,1	27,6	28,4	26,3	26,7	27,3
10	34,3	35,0	31,7	31,5	33,7	33,4	33,7	31,8	31,0	33,6
15	39,9	41,6	35,6	37,6	41,2	38,3	40,4	38,6	38,6	38,2
20	46,8	45,7	41,8	42,8	46,8	45,0	47,2	44,3	43,2	44,1
25	50,5	50,1	45,2	46,9	50,9	49,5	50,9	49,7	46,8	47,3
30	54,7	53,7	49,5	50,8	52,9	52,9	54,8	52,4	51,7	54,0

12.2 Příloha č. 2

Teploty fantomů s feritovými nanočásticemi FeH v závislosti na době expozice (homogenní rozptyl)

expozice (s)	Teplota (°C)									
	FeH 0,1	FeH 0,2	FeH 0,3	FeH 0,4	FeH 0,5	FeH 0,6	FeH 0,7	FeH 0,8	FeH 0,9	FeH 1,0
0	24,7	24,3	24,6	24,7	24,3	24,4	24,3	24,6	24,5	25,1
5	32,0	30,6	30,2	29,5	28,8	30,5	28,3	31,7	29,0	29,5
10	36,7	36,6	35,4	35,9	34,9	34,6	34,9	38,6	34,9	35,6
15	42,0	41,4	42,8	42,6	40,1	39,7	40,1	42,6	41,0	40,7
20	48,2	47,2	47,6	48,0	45,5	46,1	46,4	47,5	47,0	47,2
25	51,2	52,3	51,5	53,1	53,1	50,9	51,5	54,6	53,4	51,5
30	56,1	57,5	56,3	56,7	55,4	56,0	55,3	57,0	55,4	58,0

12.3 Příloha č. 3

Teploty fantomů s feritovými nanočásticemi FeSi v závislosti na době expozice (injektáž)

expozice (s)	Teplota (°C)				
	FeSi 0,6i	FeSi 0,7i	FeSi 0,8i	FeSi 0,9i	FeSi 1,0i
0	23,4	24,0	23,9	24,1	24,1
5	27,2	27,8	28,0	31,8	31,8
10	36,5	35,7	35,3	40,1	40,1
15	49,9	47,3	51,9	52,1	52,1
20	58,1	56,1	60,3	60,3	60,3
25	64,3	64,0	64,8	64,8	64,8
30	65,7	66,5	66,1	66,5	66,5

12.4 Příloha č. 4

Teploty fantomů s feritovými nanočásticemi FeH v závislosti na době expozice (injektáž)

expozice (s)	Teplota (°C)				
	FeH 0,6i	FeH 0,7i	FeH 0,8i	FeH 0,9i	FeH 1,0i
0	24,1	24,4	24,7	24,7	24,7
5	30,4	29,2	29,6	28,9	30,2
10	35,8	36,0	36,3	34,9	35,6
15	41,0	42,8	44,1	42,0	42,5
20	47,3	48,2	49,1	47,2	47,6
25	55,6	55,0	53,5	53,9	55,7
30	60,7	57,4	62,1	58,7	59,9

12.5 Příloha č. 5

Teploty fantomů bez implantovaných feritových nanočástic v závislosti na době expozice

	Teplota (°C)				
expozice (s)	blank 1	blank 2	blank 3	blank 4	average
0	18,7	20,0	20,1	20,0	19,7
5	25,9	26,7	28,1	27,6	27,1
10	32,0	30,7	32,0	32,6	31,8
15	36,6	37,7	37,9	36,9	37,3
20	41,2	43,3	42,7	42,1	42,3
25	46,3	46,9	46,7	46,5	46,6
30	50,0	50,3	49,9	49,7	50,0

12.6 Příloha č. 6

Termokamera FLIR P25 technické parametry

ThermaCAM® P25 Technical Specifications

Imaging Performance	
Field of view/min focus distance	24° x 18° / 0.3 m
Spatial resolution (IFOV)	1.3 mrad
Thermal sensitivity @ 50/60Hz	0.08° C at 30° C
Electronic zoom function	2.4, interpolating
Focus	Automatic temperature span adjustment
Digital image enhancement	Normal and enhanced
Detector type	Focal plane array (FPA) uncooled microbolometer; 320 x 240 pixels
Spectral range	7.5 to 13 µm
Image Presentation	
Viewfinder	Built-in high-resolution color LCD (TFT)
External display (optional)	Built-in high-resolution color LCD (TFT) with redundant controls
Video output	RS 170 EIA/NTSC or CCIR/PAL
Measurement	
Temperature ranges	-40° C to +120° C (-40° F to +248° F) 0° C to +500° C (+32° F to 932° F) Up to +1000° C (+1832° F), optional
Accuracy (% of reading)	± 2° C or ± 2%
Measurement modes	Fixed spot in center of image
Emissivity correction	Variable from 0.1 to 1.0 or select from listings in pre-defined material list
Measurement features	Automatic corrections based on user input for reflected ambient temperature, distance, relative humidity, atmospheric transmission, and external optics
Optics transmission correction	Automatic, based on signals from internal sensors
Image Storage	
Type	Removable CompactFlash® (128 MB) memory card
File format	Standard JPEG; 14 bit thermal measurement data included
System Status Indicator	
LCD display	Shows status of battery and storage media. Indication of power, communication and storage modes.
Power Source	
Battery type	Li-Ion, rechargeable, field-replaceable
Battery operating time	2 hours continuous operation
Charging system	In camera (AC adapter or 12V from car) or 2 bay intelligent charger
External power operation	AC adapter 110/220 VAC, 50/60Hz or 12V from car (cable with standard plug optional)
Power saving	Automatic shutdown and sleep mode (user-selectable)
Environmental	
Operating temperature range	-15° C to +50° C (5° F to 122° F)
Storage temperature range	-40° C to +70° C (-40° F to 158° F)
Humidity	Operating and storage 10% to 95%, non-condensing
Encapsulation	IP 54 IEC 529
Shock	Operational: 25G, IEC 68-2-29
Vibration	Operational: 2G, IEC 68-2-6
Physical Characteristics	
Weight	1.4 kg (3 lbs) w/battery
Size	100mm x 120mm x 220 mm (3.9" x 4.7" x 8.7")
Tripod mounting	1/4" - 20

ThermaCAM P25 System Includes:	
IR camera	
Carrying case, lens cap, shoulder strap, hand strap	
Manual (multi-lingual)	
Batteries (2)	
Power supply	
Battery charger	
Video cable with RCA plug	
USB cable	
128 MB CompactFlash® card	
ThermaCAM QuickView™ software	
Interchangeable lenses (optional)	
Field of view/ minimum focus distance	3X Telescope (7° x 5.39/4m) 2X Telescope (12° x 9.9/1.2m) 0.5X Wide angle (45° x 349/0.1m) 0.3X Wide angle (80° x 609/0.1m) 200 µm Close-up (64mm x 48mm/150mm) 100 µm Close-up (34mm x 25mm/80mm) 50 µm Close-up (15mm x 11mm/19mm) Wearable Optics/Heads-up Display
Interfaces	
USB / RS232	Image, measurement data, voice and text transfer to PC