

**L'ipertermia nella cura dei tumori:
basi biologiche ed applicazioni cliniche**

Prof. Paolo Pontiggia

Specialista in Oncologia – Ematologia Clinica e di Laboratorio Malattie Tubo Digerente,
Sangue e Ricambio – Pavia

La mortalità per tumori colloca questa malattia al secondo posto come numero di decessi, dopo le malattie cardiovascolari, in tutti i paesi industrializzati.

In questo ventesimo secolo si sono avuti progressi sostanziali in medicina.

La chirurgia ha fatto enormi progressi e attualmente le tecniche chirurgiche più avanzate permettono sia un allungamento della sopravvivenza (grazie soprattutto agli interventi in campo cardiovascolare), sia un miglioramento della qualità della vita, soprattutto grazie alle sempre migliori tecniche ortopediche di sostituzione protesica dell'anca o di altre articolazioni.

Per quanto riguarda i tumori la situazione sembra meno brillante, nonostante le guarigioni chirurgiche di numerosi tumori (basti pensare ai tumori cutanei, ai tumori del collo dell'utero, ai tumori della mammella in fase iniziale).

Tali successi tuttavia erano possibili fino dai primi anni del novecento e le innovazioni tecniche hanno di poco migliorato la situazione. Attorno agli anni sessanta si era avuta l'impressione di un mutamento radicale nelle nostre possibilità di vincere la malattia tumorale. Risalgono a quell'epoca i primi sostanziali successi legati all'uso terapeutico di associazioni di farmaci citostatici, la cosiddetta polichemioterapia.

In questi anni la terapia medica ha consentito di migliorare notevolmente la prognosi di alcune malattie ematologiche, per esempio la leucemia linfatica acuta del bambino o del giovane adulto, i linfomi e, in associazione alla radioterapia, di ottenere indiscutibili vantaggi nella terapia del linfoma di Hodgkin.

Negli anni successivi risultati statisticamente significativi e degni di rilievo sono stati ottenuti nella terapia di alcuni tumori del bambino, ad esempio nel tumore di Wilms o nell'osteosarcoma.

È del 1971 l'emanazione da parte del Governo degli Stati Uniti del *Cancer Act*, un programma di investimento massiccio nella ricerca contro i tumori, voluto e propagandato dal Presidente Nixon con l'obiettivo di ottenere la vittoria definitiva nei confronti del tumore.

A trent'anni di distanza il bilancio è sicuramente positivo per quanto riguarda la nostra conoscenza dei meccanismi di insorgenza e di sviluppo di un tumore, non altrettanto si può dire delle nostre possibilità terapeutiche.

Negli ultimi cinque anni le percentuali di morte per quanto riguarda le malattie tumorali hanno subito, soprattutto negli Stati Uniti, una certa flessione. Questa, ad un'analisi statistica più approfondita, sembra più legata ad una migliore diagnostica e ad un intervento precoce (ad esempio nel tumore della prostata) che non a un miglioramento delle nostre possibilità di intervenire a malattia conclamata o in uno stadio avanzato.

Chirurgia, radioterapia e chemioterapia hanno dato risultati che, ricontrollati nel tempo, hanno fornito sempre le stesse percentuali valutate in termini di sopravvivenza, con eventuale lieve miglioramento in alcuni casi delle percentuali di risposta terapeutica che però non sono andate ad incidere in misura significativa sulla sopravvivenza dei malati. Questa situazione di stallo, che dura da circa trent'anni, non è stata granché modificata dall'introduzione di nuove molecole terapeutiche come i derivati del platino, i derivati del taxolo, ecc.

Oggi nuove molecole, nuovi spiragli terapeutici, la promessa o la speranza di ottenere risultati con manipolazioni genetiche aprono nuovi interrogativi.

Un bilancio realistico attuale ci deve dire che noi abbiamo alcune malattie tumorali nella quale la percentuale di guarigione è elevata (e questo riguarda soprattutto i tumori del bambino e del giovane adulto e i tumori ematologici); abbiamo un certo numero di tumori nei quali una terapia efficace può consentire un controllo di malattia a medio-lungo termine; abbiamo però la stragrande maggioranza dei tumori solidi dell'adulto che rispondono poco e male a terapie anche aggressive con effetti collaterali imponenti ed un bilancio che, in termini di costi, di disagio per l'ammalato e di interventi sanitari per la cura di tali effetti collaterali, non può essere considerato favorevolmente.

I tumori solidi dell'adulto ad elevata diffusione per i quali non esiste concretamente una terapia sicura sono il tumore della mammella, dell'ovaio, del pancreas, dello stomaco, del colon: quindi nella stragrande maggioranza dei casi noi non abbiamo solide prospettive terapeutiche quando non riusciamo ad individuare il tumore in una fase iniziale di malattia, dove l'intervento chirurgico radicale e precoce può consentire di portare a guarigione una certa percentuale di malati.

In questa situazione, tenendo anche conto del fatto che il progressivo allungamento dell'età media dell'uomo comporta necessariamente un aumento dell'incidenza nella popolazione di malattie tumorali (fenomeno legato all'invecchiamento e al conseguente deterioramento dello stato immunitario), hanno portato a rivedere le nostre strategie terapeutiche di attacco alla malattia tumorale in un'ottica di maggior realismo.

Quando la malattia è in fase avanzata e, concretamente, una terapia adeguata non è possibile bisogna valutare se valga la pena di impegnarsi in schemi terapeutici aggressivi, onerosi per quanto riguarda gli effetti collaterali, oppure se risultati analoghi o forse migliori possono essere ottenuti con metodiche biologiche più dolci, in grado di consentire al paziente condizioni di vita migliori per una minore incidenza di effetti collaterali.

Obiettivo di questa visione terapeutica sono soprattutto i pazienti in età matura o avanzata nei quali gli effetti collaterali da farmaci e radiazioni risultano sempre più pesanti, pazienti nei quali il coesistere di altre situazioni, come malattie renali, cardiopatie, ecc. o la consapevolezza di essere in presenza di tumori insensibili a farmaci o radiazioni suggerisce di prediligere una buona conservazione della qualità di vita all'ottenimento di un risultato, comunque transitorio, a prezzo di effetti collaterali a volte devastanti.

È questo un concetto che si è andato affermando negli anni Ottanta con la convinzione e la dimostrazione, ottenuta in numerosi casi, che è possibile convivere con il tumore per lunghi periodi di tempo conservando al paziente una qualità di vita dignitosa.

La limitazione degli obiettivi con l'accettazione realistica di una terapia non radicale può essere ottenuta attraverso l'ottimizzazione della terapia esistente.

Utilizzando ipertermia ed immunoterapia noi possiamo ottenere un miglioramento della resa terapeutica dei chemioterapici e delle radiazioni.

Si è calcolato che l'utilizzazione combinata di ipertermia e radiazioni consente un risparmio del trenta per cento delle dosi massime di raggi.

Questo comporta un abbattimento drastico degli effetti collaterali.

Calcoli analoghi non sono stati ancora fatti su base estesa per quanto riguarda i chemioterapici, ma i dati finora ottenuti sono dello stesso tipo. Possiamo quindi affermare che l'utilizzazione combinata di farmaci chemioterapici, radiazione ed ipertermia consente un risparmio di dose che si riflette in un drastico abbattimento degli effetti collaterali legati alle terapie tradizionali. Per di più i dati che emergono dall'esperienza personale e dall'esame della letteratura consentono di affermare che l'utilizzazione combinata di chemio e radioterapia in aggiunta all'ipertermia può, in numerosi casi, consentire, se utilizzata come strategia neoadiuvante in fase pre-operatoria, una riduzione sensibile della massa tumorale, un abbassamento del grado di stadio clinico della malattia e un netto miglioramento dei risultati della chirurgia che si riflettono in un aumento della sopravvivenza.

Ipertermia e immunoterapia sono metodiche sinergiche che hanno come obiettivo quello di ottenere, innanzitutto, una riduzione della massa tumorale attraverso un processo di citolisi diretta.

Secondariamente provocano l'induzione di quel fenomeno biologico, in parte responsabile della proliferazione indisturbata del tumore, che è il controllo dell'apoptosi.

Noi sappiamo che l'apoptosi è il meccanismo con il quale la natura regola lo sviluppo di un organo limitandone le dimensioni e regolandone la funzione. Nei tessuti tumorali questo meccanismo viene alterato e l'apoptosi viene inibita.

Ipertermia e immunoterapia reintroducono l'apoptosi come meccanismo di controllo della proliferazione. Inoltre, come abbiamo già detto, l'ipertermia e l'immunoterapia consentono un potenziamento dell'efficacia di radio e chemioterapia oltre ad assicurare una protezione indiretta, attraverso la stimolazione midollare, nei confronti degli effetti collaterali di tali metodiche.

L'importanza della stimolazione immunitaria è nota da decenni per studi effettuati sia nell'animale che nel tumore umano. Nei primi anni Settanta Georges Mathè a Parigi aveva introdotto l'uso del BCG per infiltrazione locale nella terapia delle localizzazioni cutanee del melanoma.

Successivamente il BCG è stato utilizzato sia come terapia immunostimolante per mantenere la remissione indotta da farmaci in caso di leucemia acuta del bambino, sia nella terapia del tumore vescicale mediante instillazione locale.

Questi furono i primi casi nei quali l'immunoterapia ha dimostrato di essere efficace. Successivamente dimostrazioni analoghe di efficacia dell'immunoterapia si sono ottenute con l'utilizzazione del levamisolo nei tumori del colon, l'utilizzazione dell'interferon nell'*Hairy Cell Leukemia* o leucemia a cellule cappelute.

Fin da allora Mathè ha potuto dimostrare che l'azione del BCG si esplicava attraverso una stimolazione dei macrofagi, cioè delle cellule ancestrali del sistema immunitario.

Il meccanismo attraverso il quale il BCG esplica la sua azione sui macrofagi è l'esocitosi lisosomiale, una stimolazione cellulare che induce la fuoriuscita dei lisosomi attivati carichi di enzimi proteolitici nell'ambiente extracellulare.

Fenomeno analogo abbiamo potuto dimostrare, sempre in collaborazione con Georges Mathè, in numerosi casi di malattie tumorali mediante studi di microscopia elettronica. Quindi possiamo confermare oggi quello che è stato ottenuto trent'anni or sono con l'utilizzazione di uno stimolante batterico.

L'ipertermia esercita esattamente lo stesso meccanismo.

IL DILEMMA TERAPEUTICO DEI TUMORI.

Il concetto moderno di oncologia nasce dalle esperienze terapeutiche effettuate a cavallo tra gli anni '40 e '50 con l'utilizzazione di sostanze che interferivano con la sintesi degli acidi nucleici (ad esempio il metotrexate) o che utilizzavano fenomeni tossici cellulari analoghi a quelli provocati da gas venefici utilizzati nella prima guerra mondiale (ad esempio la ciclofosfamide o endoxan).

L'utilizzazione di questi citostatici di base, ancora oggi largamente utilizzati, ha portato ad alcuni risultati clinici misurabili, anche se parziali.

Negli anni '60 e '70 l'utilizzazione in combinazione di molte di queste sostanze ha consentito apprezzabili risultati nel campo delle malattie del sangue (linfomi e leucemie). Oggi l'oncologia moderna di trova a discutere, valutare e anche fare autocritica su promesse di guarigione che non sono state mantenute. Di fronte ad innegabili risultati ottenuti nelle emopatie vi è indubbiamente un risultato molto modesto per quanto riguarda le terapie dei tumori solidi, vale a dire della stragrande maggioranza dei tumori.

Noi oggi riusciamo a curare con successo alcuni tumori dell'infanzia (per esempio il tumore di Wilms) ed alcune forme particolari di tumori dell'adulto (ad esempio il tumore del testicolo e parzialmente il tumore dell'ovaio e il tumore mammario in pre-menopausa).

Si è tentato via via di intensificare la chemioterapia, utilizzando strategie che prevedevano l'attacco massiccio alla cellula tumorale con il reinnesto di midollo osseo al paziente (autotrapianto); si è tentato di utilizzare la chemioterapia in fase pre-operatoria (terapia neoadiuvante) o massicciamente (terapia adiuvante) in fase post-operatoria; si è tentato di utilizzarla in combinazione con radioterapia e con modalità di somministrazione le più svariate.

La fase di stallo che attualmente l'oncologia vive ha radici profonde.

La prima è dovuta, credo, ad un'erronea strategia terapeutica. Ad un certo punto, visti i brillanti risultati ottenuti in alcuni casi di malattie ematologiche si è pensato di trasferire "tout court" le acquisizioni ottenute nel campo della cura delle emopatie maligne alla cura dei tumori solidi.

Non si è tenuto conto del fatto che i tipi cellulari in causa nelle due diverse classi tumorali sono completamente diversi, con una diversa sensibilità ai chemioterapici; non si è tenuto conto del fatto che per quanto riguarda, ad esempio, le leucemie, le cellule del sangue sono in fase liquida (come ad esempio il sangue periferico) o semi-liquida (come ad esempio le cellule del midollo osseo) con un contatto diretto immediato ed uno scambio efficace con le sostanze terapeutiche che vengono iniettate in vena.

I tumori solidi, al contrario, soprattutto nelle parti più interne del nodulo tumorale, soffrono di una mancanza di scambi con la circolazione sanguigna e quindi di uno scarso, insufficiente contatto con le sostanze che vengono somministrate per via generale. Inoltre le caratteristiche di reattività immunitaria di un paziente in età relativamente giovane, come capita spesso per i malati di malattie ematologiche, è completamente e radicalmente diversa dalla involuzione immunitaria di un paziente più anziano che soffre di malattie tumorali solide.

Considerati tutti questi fattori la ricerca di un'evidenza statistica dell'efficacia di una terapia è stata un errore di metodo. Una valutazione statistica corretta richiede una relativa omogeneità della popolazione che si va ad esaminare: nel campo dei tumori maligni l'eterogeneità delle forme, dei tipi istologici, delle fasi di malattia, delle condizioni di reattività immunitaria del soggetto è la regola. Non meraviglia il fatto che gran parte degli studi condotti su un grosso numero di pazienti, in molti centri, abbia portato a conclusioni se non erronee perlomeno non chiare.

Si dovrebbe essere pessimisti sulla situazione dell'oncologia attuale.

Oggi ci troviamo di fronte ad una situazione che per molte malattie prevederebbe solo la possibilità di utilizzare metodiche aggressive e tossiche come la radioterapia a dosaggi elevati, la chemioterapia con elevato tenore di effetti collaterali, ecc.

In realtà anche a seguito delle sempre più raffinate conoscenze dei meccanismi alla base dell'evoluzione di una malattia tumorale si sono affinate metodiche diverse dalle tradizionali, non in antagonismo con queste, che hanno dato risultati degni di nota e che possono costituire una valida speranza per il futuro.

Ci riferiamo soprattutto alle metodiche di stimolazione immunitaria, all'ipertermia e alle terapie geniche.

Per quanto riguarda la stimolazione immunitaria i risultati all'inizio non sono stati soddisfacenti. Tuttavia si può tranquillamente affermare che in alcuni settori le terapie immunitarie si stanno lentamente imponendo. Ad esempio nel tumore della vescica l'utilizzazione di interferon e di BCG costituisce un'importante punto di partenza; nel tumore del rene l'utilizzazione di interferon e di interleuchina dà in qualche caso dei risultati documentabili; in alcuni casi di tumore del colon l'utilizzazione di uno stimolante immunitario sintetico come il levamisolo integra e potenzia la chemioterapia classica con fluorouracile.

Possiamo cioè affermare che adeguate forme di stimolazione immunitaria possono consentire, già oggi, di ottenere risultati in alcuni casi selezionati di malattie tumorali, costituendo una base di partenza per la conoscenza e l'utilizzazione di metodiche con scarsi effetti collaterali utili per la terapia dei tumori.

Numerosi studi in corso prevedono l'utilizzazione di cellule immunitarie attivate derivate dall'organismo del malato, oppure provenienti da donatori compatibili o ottenute mediante espansione dei linfociti intratumorali.

L'ipertermia, una terapia fisica conosciuta fin dall'antichità e reintrodotta recentemente con metodiche evolute dal punto di vista tecnologico, consente di utilizzare il calore somministrato a una parte del corpo o a tutto il corpo, come terapia di attacco diretto alle cellule tumorali.

Il calore infatti agisce selettivamente sulle cellule tumorali con temperature tra i 42 e i 43°C; inoltre il calore, a temperature solo leggermente inferiori (tra i 41 e i 42°C), costituisce un potente stimolo di attivazione di una delle cellule centrali della risposta immunitaria, vale a dire il macrofago.

Questo meccanismo simula il meccanismo naturale di reazione dell'organismo alle malattie: la febbre.

L'induzione di un'attivazione macrofagica consente la produzione di molecole particolari chiamate citochine che a cascata inducono stimolazione di tutte le altre cellule del sistema immunitario, cioè del sistema preposto a difendere l'organismo dall'attacco di batteri, di virus e di elementi estranei come le cellule tumorali.

Le tecniche utilizzate nell'induzione di ipertermia a scopo terapeutico sono tecniche non molto semplici ma non particolarmente sofisticate, potenzialmente disponibili in qualunque struttura sanitaria ben attrezzata. L'integrazione di metodiche classiche come la chemioterapia e la radioterapia con l'ipertermia consente un buon potenziamento reciproco per due motivi: le reazioni chimiche intracellulari che sono alla base dell'efficacia della chemio e radioterapia vengono accelerate dall'aumento di temperatura, fenomeno che è comunque a tutte le reazioni chimiche. Inoltre il target preferenziale di chemioterapia e radiazioni è costituito dalle cellule periferiche mantellari del nodulo tumorale che conservano una buona disponibilità di ossigeno grazie agli scambi vivaci con i vasi circostanti il tumore. Al contrario radiazioni e chemioterapici falliscono, d'abitudine, nell'attacco alle cellule centrali del tumore scarsamente dotate di ossigeno. L'ipertermia invece agisce soprattutto sulle cellule del nucleo centrale ipossigenato del tumore.

In numerose situazioni cliniche si è già documentata un'integrazione ed un potenziamento tra chemioterapia e ipertermia, oppure tra radioterapia e ipertermia.

Nella nostra esperienza l'utilizzazione combinata di chemioterapia, radioterapia e calore in fase pre-operatoria ha consentito di migliorare in maniera decisiva l'evoluzione delle malattie tumorali trattate.

Concludendo possiamo dire che oggi una moderna strategia oncologica deve tenere conto delle varie possibilità terapeutiche. Accanto alle classiche radio e chemioterapia esistono, utilizzabili già da oggi e capaci di ottenere risultati in alcune categorie tumorali: ormonoterapia, ipertermia, stimolazione immunitaria e utilizzazione di sostanze inibitrici della crescita tumorale.

Terapie sofisticate come la manipolazione genica potranno in futuro essere integrate ed ottenere un miglioramento complessivo della percentuale di risposte terapeutiche.

L'oncologia moderna deve essere consapevole di queste nuove possibilità, deve essere in grado di integrare le varie discipline, deve puntare a schemi terapeutici più articolati, meno aggressivi, con minori effetti collaterali e con una reale possibilità di migliorare i risultati che fino ad oggi sono apparsi insoddisfacenti.

Si sta profilando una svolta negli atteggiamenti in corso di malattie tumorali, ed i primi risultati confortanti sono già tangibili.

Modalità applicative dell'ipertermia

Passiamo ora in rassegna le varie modalità di induzione termica, le basi metaboliche del danno selettivo prodotto dal calore, le possibili combinazioni tra l'ipertermia e le altre metodiche terapeutiche dei tumori, e la sua influenza sulla reattività immunitaria.

Ipertermia sistemica: utile nelle forme disseminate, si pratica mediante l'uso di scambiatori di calore extracorporei, deviando la circolazione corporea analogamente a quanto si pratica nei casi di chirurgia effettuata in circolazione extra-corporea o in dialisi. Altri sistemi usano le radiofrequenze mediante applicatori esterni oppure i raggi infrarossi prodotti da diverse sorgenti (lampade).

Il limite maggiore di questi metodi è rappresentato dalla difficoltà di raggiungere temperature adeguatamente elevate (intorno ai 42°C) senza rilevanti effetti secondari.

Di solito il trattamento deve essere effettuato in anestesia generale ed è limitato unicamente ai casi nei quali la funzionalità cardiocircolatoria e respiratoria rientrano nei limiti della normalità.

Ipertermia perfusionale: è stata in passato la più usata ed è stata principalmente sviluppata per i tumori primari o metastatici degli arti. La perfusione può essere effettuata mediante una derivazione esterna del circolo ematico; al liquido di perfusione, sangue o suoi derivati, vengono solitamente aggiunti farmaci chemioterapici in modo da ottenere elevate concentrazioni di farmaco nel tessuto perfuso. Sono in corso alcuni interessanti esperimenti sull'uso dell'ipertermia in combinazione con chemioterapia selettiva intra-arteriosa nei tumori epatici.

Ipertermia infusione: utilizza soluzioni riscaldate infuse in cavità quali quelle peritoneale, vescicale e pleurica in presenza o meno di versamento. In questi casi l'ipertermia si effettua in combinazione con l'infusione di farmaci antitumorali. Promettenti risultati sono stati ottenuti nei tumori in fase avanzata dello stomaco e dell'ovaio recidivanti dopo chemioterapia.

Ipertermia interstiziale: è ottenuta mediante l'inserimento superficiale di antenne nella cute o nello strato sottocutaneo e la contemporanea erogazione di microonde; con questo metodo possono essere trattati solo tumori superficiali o semi-superficiali (2-4 cm. di profondità), usando sequenzialmente la radioterapia in modo da amplificarne l'effetto terapeutico. Il melanoma recidivante ed il carcinoma mammario rispondono molto bene a questa modalità di trattamento.

Ipertermia localizzata: produce un incremento localizzato di temperatura nelle masse profonde impiegando applicatori esterni emananti radiofrequenze (per tumori posti in profondità), microonde (per i tumori più superficiali) oppure ultrasuoni (nei tessuti di consistenza omogenea). Questo tipo di trattamento si sta velocemente sviluppando ed è sempre più utilizzato nella pratica clinica. Problemi tecnici connessi con l'emissione del calore, la profondità di penetrazione, l'omogeneità dei campi termici, la difficoltà del dosaggio termico (metodi di termometria non invasiva sono ancora allo studio) sono i problemi che dovranno essere risolti in futuro, in modo da ottenere risultati comparabili nelle diverse applicazioni cliniche.

Fattori che influenzano il danno termico

Molte alterazioni delle vie metaboliche sono causate dall'esposizione al calore.

Anomalie aspecifiche sono legate soprattutto al catabolismo del glucosio, alle alterazioni strutturali di membrana (nucleari, lisosomiali e cellulari), al metabolismo delle proteine e dei lipidi.

Le maggiori alterazioni specifiche sono riferite al meccanismo di riparazione enzimatica del DNA. Le cellule normali, entro certi limiti, possono riparare il DNA danneggiato; questa proprietà è consistentemente ridotta nelle cellule neoplastiche (per una indebolita efficienza enzimatica e per la ridotta disponibilità di energia, secondaria alla ridotta capacità di metabolizzare il glucosio).

La diminuzione della capacità di riparazione del DNA può spiegare la documentata attività sinergica tra ipertermia, radioterapia e farmaci citotossici.

Nel corso dell'ipertermia vi è un incremento dell'attività metabolica cellulare; le richieste di energia sono maggiormente soddisfatte dal metabolismo anaerobio del glucosio, il che induce la produzione di acido lattico e conseguentemente una riduzione del pH. Un basso pH risulta essere un efficace potenziatore del calore; in aggiunta a questo l'ipertermia influenza il meccanismo fisiopatologico della microcircolazione, comportando una consistente riduzione dell'irrorazione ematica della massa tumorale (mentre nei tessuti normali, alle elevate temperature, vi è un miglioramento dell'afflusso ematico attraverso la vasodilatazione).

Per questi motivi nei tumori sottoposti ad ipertermia l'acidificazione (conducendo ad una aumentata attività del calore sulle cellule) e la riduzione dell'apporto ematico (con la riduzione di alcuni prodotti metabolici utili per la vita cellulare), provocano un deterioramento degli enzimi di riparazione del DNA. Inoltre dovrebbe essere osservato che la massa tumorale, a causa della ridotta irrorazione ematica, raffredda meno dei tessuti circostanti che sono relativamente protetti dall'incremento del flusso ematico.

Su queste basi possiamo amplificare l'attività antitumorale dell'ipertermia usandola in combinazione con altri agenti terapeutici, oppure utilizzando alcune sostanze che modificano l'attività metabolica a livello cellulare (termosensibilizzanti).

[Figure 1, 2, 3].

Il ruolo centrale della cellula ipossica

È stato riconosciuto dagli oncologi, da più di un quarto di secolo, che le cellule ipossiche presenti nella maggior parte dei tumori solidi, possono rappresentare un elemento critico per il trattamento efficace del tumore. In particolare le cellule ipossiche sono resistenti alle radiazioni ionizzanti, alla terapia fotodinamica ed alla maggior parte dei farmaci chemioterapici. Recentemente, comunque, è stato suggerito che l'ipossia possa rappresentare un'arma che può essere usata contro i tumori stessi.

È stato infatti dimostrato da diversi autori che le cellule ipossiche sono sensibili a specifici farmaci e presentano, inoltre, un'elevata sensibilità al trattamento ipertermico.

L'ipossia è generalmente dovuta all'inadeguatezza del letto vascolare irrorante il tumore.

La cronica o transitoria insufficienza del flusso ematico porta allo sviluppo dell'ipossia cronica o acuta. L'ipossia cronica si sviluppa a causa di una proliferazione delle cellule tumorali talmente rapida da non essere supportata da una adeguata rete vascolare.

Le cellule tumorali vicine ai microcapillari sono abbastanza ben ossigenate e vanno incontro a replicazione finché la quantità di O₂ necessario risulta insufficiente.

Tuttavia la tensione dell'ossigeno decresce con l'aumentare della distanza dal capillare a causa della respirazione cellulare e gradualmente diminuisce fino a livelli insufficienti per consentire la divisione cellulare. La carenza di ossigeno è responsabile delle aree di necrosi che di solito si sviluppano circa 150-200 mm. dai più vicini vasi.

I tumori solidi inoltre possono contenere regioni di ipossia transitoria (da limitata perfusione), causata da una temporanea interruzione del flusso ematico in singoli vasi all'interno del tumore. L'ipossia perfusionale transitoria può essere causata da ipotensione, coagulazione, embolizzazione, chemoembolizzazione.

La legatura arteriosa dell'area tumorale induce una stabile ipossia perfusionale.

Sebbene il meccanismo che porta all'ipossia possa essere diverso, c'è l'evidenza che le risultanti cellule ipossiche, all'interfaccia tra tessuto ben ossigenato ad aree necrotiche, possono rimanere potenzialmente vitali e clonogeniche per un periodo considerevole.

Molte cellule in quest'area soffrono per l'ipossia, la mancanza di nutrimento, la mancanza di energia cellulare e di un pH intra ed intercellulare relativamente basso.

Il loro metabolismo è basato sulla glicolisi anaerobia e la fase proliferativa è bloccata in G1-G0.

La chemiotassi delle cellule ipossiche verso migliori condizioni ambientali è stata indicata da Rockwell, e recentemente confermata. Queste cellule possono riprendere, trasferire in un ambiente ossigenato, un'attiva proliferazione, causando perciò una recidiva tumorale. Una delle peculiari caratteristiche di queste cellule, dimostrata usando una reazione istochimica di un isoenzima LDH ed uno specifico metodo di colorazione, è un accumulo di lipidi di composizione non omogenea.

Si è ipotizzato che l'accumulo di lipidi possa essere causato dall'attivazione di fosfolipasi, seguita da idrolisi della membrana mitocondriale, e accumulo di corpi multilamellari, spesso contenenti organelli danneggiati. Tale processo autofagico potrebbe fornire un meccanismo di sopravvivenza per le cellule ipossiche. La presenza di vasi neoformati, provenienti dal margine di necrosi e diretti verso il circolo vasale, e l'esistenza all'interno dei vasi stessi di cellule ipossiche, può indicare che queste cellule sono le più inclini alle metastasi.

Questo concorda con l'opinione di Nicholson, il quale ipotizza che condizioni ambientali competitive potrebbero risultare selettive per le varianti con proprietà altamente metastatiche.

Le osservazioni cliniche condotte su pazienti portatori di tumore in stadio iniziale, trattati con ipertermia ha dimostrato che dopo 3-6 anni erano ancora liberi da recidive tumorali, pur rimanendo vitale il tumore. Ciò conferma le succitate ipotesi secondo le quali le cellule ipossiche, molto termosensibili, rappresentano un'importante componente della recidiva ematogena del tumore.

Quest'ultima considerazione drammaticamente indica quanto importante sia la presenza delle cellule ipossiche vitali nei tumori. Così come mostrato nella figura 1, l'ipertermia può essere combinata con altri strumenti terapeutici e può potenzialmente essere applicata ai diversi livelli d'ipossia conducendo ad un maggior effetto termico sul tumore rispetto al tessuto normale a causa dell'insufficiente vascolarizzazione tumorale. Per quanto riguarda il meccanismo d'azione, si può evidenziare che l'ipossia di per sé non sensibilizza le cellule al calore ma piuttosto questo avviene quanto l'ipossia è associata a deficit nutritivo e acidosi che sono tipiche delle cellule tumorali distanti dalla rete vascolare. Inoltre i vasi ematici interni al tumore tendono a crollare dopo trattamento ipertermico, così la perfusione rimane insufficiente almeno per 24 ore portando molte cellule tumorali all'ischemia e alla morte.

Nella nostra personale esperienza un tumore mantenuto alla temperatura di 50°C per trenta o più minuti può portare ad una necrosi massiva della massa tumorale senza produrre alcun danno documentato alle cellule sane.

Apparentemente il sistema di riparazione dei tessuti normali (reattività vascolare conservata, vie metaboliche del glucosio intatte, sistema di riparazione del DNA integro) risulta in grado di proteggere, entro certi limiti, il tessuto sano a margine del tumore. Adeguate applicazioni termiche possono incrementare la distruzione delle cellule tumorali riducendo le recidive.

In una serie di pazienti affetti da tumori inoperabili, sono state osservate un certo numero di eradicazioni tumorali complete, usando l'ipertermia in combinazione con chemioterapia o radioterapia.

Perciò è ragionevole affermare che la cura dei tumori può essere applicata anche nei casi solitamente non trattabili con la chemioterapia o la radioterapia.

Uso combinato di ipertermia e radioterapia

L'effetto sinergico di ipertermia e radioterapia è basato sulle diverse attività della radioterapia (più attiva sulle aree ossigenate, periferiche del tumore) e dell'ipertermia (particolarmente attiva sulle cellule anossiche, ipovascolarizzate della porzione centrale, acidotica, della massa tumorale).

In più l'ipertermia è risultata attiva anche sulle cellule in fase S del ciclo, solitamente resistenti alla radioterapia (tabella 1). Questo effetto radiosensibilizzante è conosciuto come TER (Thermal Enhancement Ratio), cioè il rapporto tra la dose necessaria a produrre l'effetto in condizioni basali e la dose sufficiente quando la radioterapia viene invece somministrata in combinazione con l'ipertermia. Un TER vantaggioso è stato ottenuto quando radioterapia e ipertermia sono state somministrate sequenzialmente in un intervallo di 2-4 ore. Questo intervallo consente una parziale riparazione del danno indotto dalle radiazioni sui tessuti normali, mentre il tessuto neoplastico ripara il danno in un tempo più lungo. Ogni seduta di ipertermia dovrebbe essere effettuata con un intervallo di almeno 48 ore poiché le cellule dopo esposizione al calore diventano termoresistenti (questo fenomeno è chiamato termotolleranza ed è parzialmente reversibile dopo appunto 48-72 ore). L'uso combinato della radioterapia e dell'ipertermia comporta un notevole incremento dell'effetto terapeutico (recidive del collo dopo trattamento chirurgico, recidive locali da carcinoma mammario, metastasi da melanoma, ecc.).

Ipertermia in combinazione con agenti citotossici (chemioterapia)

Quando l'ipertermia viene combinata con la chemioterapia vi è un incremento notevole dell'indice terapeutico della chemioterapia.

Infatti farmaci antitumorali come Melphalan, Bleomicina, Adriamicina, Mitomicina C, Nitrosuree, Cisplatino risultano più efficaci quando somministrati durante ipertermia.

Questo fenomeno potrebbe essere correlato ad una incrementata permeabilità della membrana delle cellule tumorali, ad un'accelerata alchilazione e/o ad un'aumentata inibizione del meccanismo di riparazione del DNA. L'importanza di questo meccanismo sinergico è legato all'indice terapeutico dei farmaci antineoplastici: la dose terapeutica, in mancanza di contemporaneo trattamento ipertermico, è molto vicina alla dose tossica, contrariamente a quanto si osserva con gli antibiotici nelle malattie infettive.

Recentemente, l'infusione arteriosa selettiva di chemioterapici indirizzata agli organi, l'embolizzazione arteriosa con citostatici granulari e l'iniezione direttamente nel tumore, sono state analizzate al fine di valutarne l'efficacia quando sono associate all'ipertermia.

Alcuni dati preliminari su questi nuovi approcci terapeutici, combinati chemioterapia selettiva loco-regionale e ipertermia, risultano incoraggianti ed ulteriori studi sono stati autorizzati.

Un altro possibile potenziamento dell'efficacia termica è ottenibile riducendo i valori della pressione arteriosa dei tessuti trattati mediante somministrazione di vasodilatatori. In questo modo l'elevata resistenza al flusso attraverso la neovascolarizzazione tumorale rallenta la perfusione che è unicamente correlata alla pressione nei tessuti sani adiacenti. Sebbene la va-sodilatazione sia un metodo per ridurre la pressione di perfusione, un più efficace e duraturo metodo è quello di occludere la maggiore arteria irrorante la regione, che di solito viene effettuata al momento dell'angiografia con il posizionamento di una spirale di Gianturco.

I vasi afferenti possono essere facilmente occlusi nelle recidive del collo e della testa, nei tumori epatici e polmonari, immediatamente dopo inoculazione dei farmaci. In questo modo si produce nei tessuti tumorali una relativa ischemia, mentre i tessuti normali circostanti sono irrorati da una rete vascolare secondaria (sistema portale, vene polmonari) o da circoli collaterali.

La riduzione della circolazione previene inoltre il rapido riassorbimento dei farmaci citotossici, permettendo ad una gran parte di essi di rimanere depositata nel tessuto per tutto il periodo del trattamento termico. Inoltre, visto il ritardato tempo di riassorbimento farmacologico, la dose di chemioterapici può essere ridotta, evitando così gli effetti collaterali tipicamente associati alla chemioterapia.

Tumori non operabili o chemio e radioresistenti possono essere trattati palliativamente, ed in alcuni casi curati, con l'ipertermia in combinazione con terapia farmacologica (somministrata per via generale o locale).

Ipertermia e immunità

Il cancro fondamentalmente è una malattia dell'ospite e la disseminazione e la crescita delle cellule tumorali sono in larga parte permesse dall'insufficienza del sistema immunitario.

Come delineato da Fidler, le metastasi rappresentano la maggior causa di morte per tumore e di fallimento terapeutico. La resistenza delle cellule tumorali alle modalità terapeutiche convenzionali è l'unica importante ragione dell'insuccesso nel trattamento dei tumori.

Un metodo per evitare l'eterogeneità cellulare e per eradicare la resistenza delle cellule tumorali è quello di stimolare il sistema immunitario dell'ospite.

La crescita tumorale è il risultato di un equilibrio tra il sistema di difesa dell'ospite e la capacità del tumore di eluderlo usando meccanismi bloccanti. La maggior parte delle cellule tumorali sono eterogenee, geneticamente instabili, soggette a cambiamenti fenotipici ed in grado di esprimere solo una debole stimolazione immunitaria. La difesa immunitaria dell'ospite nei confronti del tumore è di tipo cellulo-mediato: i linfociti T svolgono infatti un importante ruolo in questo processo poiché essi possono trasferire l'immunità antitumorale adottiva e provocare la regressione del tumore nella modalità ristretta al complesso maggiore di istocompatibilità (MHC).

I linfociti Natural Killer (NK), i macrofagi e, in alcune circostanze, i linfociti B hanno mostrato un effetto antitumorale.

Un altro potente antitumorale è rappresentato dalle cellule LAK (Lymphokine Activated Killers), in grado di lisare le cellule tumorali NK-resistenti con modalità non ristretta al MHC. L'ampliarsi delle conoscenze di immunologia oncologica ed i processi tecnologici hanno aperto la strada a nuove modalità terapeutiche come la terapia biologica che può essere efficace da sola oppure associata alla chirurgia, alla chemioterapia, alla radioterapia e all'ipertermia.

Quando infatti le cellule tumorali sono preriscaldare il trapianto di tumore negli animali molto difficilmente attecchisce, probabilmente per una aumentata espressione degli antigeni superficiali delle cellule tumorali.

Nei tumori umani sono state documentate diverse regressioni di foci metastatici dopo trattamento del tumore primario. Inoltre, in alcuni casi, è stata documentata una reattività immunologica locale con infiltrato linfoplasmacitoide in tumori riscaldati.

È stata anche riportata una aumentata citotossicità complemento-dipendente contro tumori bersaglio.

Studi clinici sulla termo-immunoterapia (associazione di ipertermia con IFN, IL-2, ormoni timici o derivati batterici) sono stati intrapresi nel carcinoma prostatico avanzato, nel melanoma, nel carcinoma mammario ed in altre neoplasie rivelando un numero di risposte cliniche più elevato nei gruppi trattati con la termo-immunoterapia rispetto a quelli trattati con altre forme terapeutiche.

Sebbene le osservazioni sono per lo più non controllate ed alcuni studi randomizzati sono ancora in corso diversi Autori indicano che la termo-immunoterapia potrebbe offrire una reale alternativa per i tumori in fase avanzata aprendo un nuovo campo per la ricerca sperimentale e clinica.

Recentemente abbiamo descritto una esocitosi lisosomiale macrofagica come possibile modalità di morte delle cellule tumorali indotta dall'ipertermia. Questa attivazione macrofagica è caratterizzata da alterazioni ultrastrutturali a livello sia istologica che citologico, ed è stata riscontrata in diversi casi di metastasi tumorale e di sarcoma di Kaposi in pazienti HIV-positivi prima e dopo trattamento con ipertermia a 42°C per 40 minuti.

La microscopia elettronica ha evidenziato come l'ipertermia induca la scomparsa dei granuli citoplasmatici con una conseguente azione extracellulare decontaminante da parte dei fagociti e la proliferazione di alcuni organelli quali mitocondri, reticolo endoplasmatico ed apparato di Golgi, molto probabilmente dovuta ad un successivo ripristino del pool granulare nei macrofagi degranulati. L'attivazione ripulente macrofagica mediante i processi di degranulazione può rappresentare un meccanismo extracellulare di danno diretto sulle cellule bersaglio da parte dell'ipertermia, che potrebbe inoltre causare alterazioni a livello delle membrane plasmatiche e/o nucleari, con conseguente degenerazione apoptotica. L'attivazione macrofagica e la conseguente esocitosi lisosomiale indotta dal calore può essere considerata un'essenziale reazione del corpo contro i batteri, virus e crescita tumorale.

Questo modello di scavenging extracellulare potrebbe cooperare con farmaci citotossici, antibiotici, antivirali ed antiossidanti nell'ostacolare lo sviluppo tumorale e la proliferazione di organismi potenzialmente aggressivi attraverso una difesa organica aspecifica. Le alterazioni morfologiche a livello sub-cellulare prodotte in alcuni tumori sono identiche anche in casi di carcinoma gastrico a disseminazione peritoneale e metastasi epatiche da colangiocarcinoma, indicando così che il calore induce costanti modificazioni a livello cellulare.

Il calore e le neoplasie ormono-dipendenti

Ormoni ed anti-ormoni rappresentano un efficace trattamento in alcuni tumori maligni e benigni che presentano dei recettori specifici sulla loro superficie cellulare (carcinomi della mammella, adenoma ed adenocarcinoma prostatico, ecc.).

Anche in questo caso dati disponibili in letteratura indicano che vi è un potenziamento terapeutico quando ad essi si aggiunge l'ipertermia.

Il metodo più usato per le recidive toraciche da tumore mammario è, finora, l'inserimento intralesionale di antenne a microonde (ipertermia interstiziale) associato con la convenzionale terapia ormonale o anti-ormonale.

Il carcinoma inoperabile o metastatico della prostata può essere palliativamente trattato in un'elevata percentuale di casi.

Le forme prostatiche benigne (iperplasia, adenoma) sembrano essere molto sensibili al trattamento combinato; infatti nell'80% dei casi il trattamento chirurgico può essere evitato o procrastinato; le recidive sono estremamente rare; in molti casi il blocco urinario è stato permanentemente rimosso.

Il meccanismo d'azione in questi casi potrebbe essere legato ad una facilitazione della captazione cellulare degli ormoni attraverso l'aumentata espressione dei recettori.

Agenti termosensibilizzanti

Esperimenti di laboratorio hanno rivelato che il glucosio viene trasportato più liberamente ed in quantità aumentata attraverso le membrane delle cellule tumorali a causa del fatto che le cellule neoplastiche richiedono glucosio per ricavare l'energia per la loro crescita e per la sintesi proteica, degli acidi nucleici e del glicogeno. L'assenza di glucosio, infatti, indebolisce le loro funzioni vitali.

Gli antimetaboliti del glucosio inibiscono la crescita di tumori sperimentali. Sono allo studio per un uso preclinico e clinico composti relativamente non tossici che bloccano od inibiscono i recettori o la metabolizzazione del glucosio, prevenendo così la formazione di ATP e l'attività di riparazione del DNA.

Questi composti non uccidono le cellule cancerose, ma le rendono suscettibili ai vari agenti terapeutici, potenziando in questo modo la chemio-radioterapia, l'ipertermia e l'anossia indotta da occlusione vascolare. Sebbene dosaggio, tempi e modalità di somministrazione non siano stati completamente definiti, alcuni risultati preliminari appaiono sorprendenti, abbastanza da giustificare ulteriori studi sperimentali e clinici.

L'utilizzazione extraoncologica dell'ipertermia

L'ipertermia è stata utilizzata soprattutto nella terapia dei tumori maligni. Vi sono però altre situazioni nelle quali l'ipertermia può essere vantaggiosamente utilizzata.

Le branche specialistiche che attualmente utilizzano sempre più largamente l'ipertermia sono: l'urologia per i problemi connessi con l'ipertrofia prostatica; si calcola che circa una persona su due, in età superiore ai sessant'anni, abbia problemi legati ad un ingrossamento della prostata. Solitamente questo ingrossamento è dovuto non ad un tumore maligno, ma ad un tumore benigno o adenoma. L'adenoma della prostata, ingrandendosi, aumenta il volume dell'organo e provoca i disturbi urinari frequenti nel maschio anziano.

L'utilizzazione dell'ipertermia in campo urologico per la terapia dell'ipertrofia prostatica ha avuto fasi alterne, dovute al fatto che le varie metodiche proposte non sempre erano sufficienti a provocare un riscaldamento adeguato, omogeneo e uniforme della ghiandola.

Recentemente, con l'utilizzazione di sorgenti di calore a radiofrequenze mediante applicatori transrettali, si è potuto ottenere un'omogeneità di risultati che consente di affermare che l'ipertermia costituisce un valido approccio non farmacologico alla malattia, nel tentativo spesso riuscito di evitare l'intervento chirurgico o di allontanarne la necessità.

Il meccanismo attraverso il quale agisce in questo caso è probabilmente riconducibile allo stesso meccanismo col quale l'ipertermia stimola le funzioni immunitarie di un tessuto, cioè l'attivazione dei macrofagi.

L'attivazione macrofagica di un tessuto consente una migliore depurazione dai detriti cellulari dovuti al turnover fisiologico delle cellule che in alcuni organi, col passare degli anni, può inceppare i meccanismi di autoregolazione della crescita di un tessuto.

Non esiste a tutt'oggi una documentazione sicura di questo tipo di effetto a livello cellulare, ma gli effetti del calore sulla prostata e i risultati ottenuti fanno ritenere che questa possa essere una spiegazione razionale.

L'altro settore nel quale l'ipertermia è andata via via affermandosi, e che attualmente vede una diffusione sempre maggiore, è quello dell'ortopedia-traumatologia.

Soprattutto per i traumi dello sport l'utilizzazione dell'ipertermia loco-regionale, consente di accelerare il riassorbimento degli ematomi e dell'edema perilesionale, consentendo, in definitiva, un rapido recupero funzionale dei tessuti molli, delle masse muscolari e dei tessuti tendinei interessati dalla lesione.

Bibliografia

- 1) – Shigeru Fujimoto, Makoto Takahashi, Takaaki Mutou, Kokuriki Kobayashi, Tadashi Toyosawa, Eiji Isawa, Megumi Sumida, Haruo Ohkubo: *Improved mortality rate of gastric carcinoma patients with peritoneal carcinomatosis treated with intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion combined with surgery*. Cancer 1997; 79: 884-91.
- 2) – Fujimoto S., Shrestha R.D., Kokubun M., Ohta M., Takahashi K., et al.: *Intraperitoneal hyperthermic perfusion combined with surgery effective for gastric cancer patients with peritoneal seeding*. Ann. Surg. 1998; 208: 36-41.
- 3) – Sugarbaker Ph., Graves T., De Bruijn E.A., Cunliffe W.J., Mullins R.E., Hull W.E., et al.: *Early postoperative intraperitoneal chemotherapy as an adjuvant therapy to surgery for peritoneal carcinomatosis from gastrointestinal cancer: pharmacological studies*. Cancer Res. 1990; 50: 5790-4.
- 4) – Fujimoto S., Shrestha R.D., Kokubun M., Kobayashi K., Kiuchi S., Konno C., et al.: *Pharmacokinetic analysis of mytomicin C for intraperitoneal hyperthermic perfusion in patients with far-advanced or recurrent gastric cancer*. Reg. Cancer Treat, 1989; 2: 198-202.
- 5) – Gilly F.N., Sayang A.C., Carry P.Y., Braillon G., James J., Vollocha A., et al.: *Intraperitoneal Chemohyperthermia: a new therapy in the treatment for peritoneal seeding*. Int. Surg. 1991; 76: 164-7.
- 6) – Kober F., Heiss A., Roka R.: *Grundlagen und Technik der intraperitonealen hyperthermen Chemoperfusion (IHCP): Erste Erfahrungen bei diffuser Carcinosis peritonei*. Acta Chir. Austriaca 1995; 27: 87-9.
- 7) – Leveen H.H., Wapncih G., Piccone V.A., Falck G., Ahmed R.: *Tumor eradication by radiofrequency Thermotherapy*. JAMA 1976, 235: 2198-2200.
- 8) – Pontiggia P., McLaren J., Baronzio G., Freitas I.: *The biological response to Heat*. In Consensus on Hyperthermia for the 1990s. Ad. Exp. Med. Biol. 1009; 267: 1-516.
- 9) – Pontiggia P., Introzzi A.: *The therapeutic enhancement caused by hyperthermia*. Med. Biol. Environ. 1988; 16: 499.
- 10) – Dahl O.: *Mechanisms of thermal enhancement of chemotherapeutic cytotoxicity in hyperthermia and oncology*. Urano and Douple, eds. VSP Utrecht 1994.
- 11) – Pontiggia P., Mathè G.: *A new mode of cancer cell death induced by hyperthermia and non specific (macrophagic) cancer immunotherapy: lysosomal exocytosis*. Biomed. Pharmacother. 1994; 48: 331.
- 12) – Pontiggia P., Barni S., Mathè G., Bertone V., Pontiggia E.: *Lysosomal exocytosis induced by hyperthermia: a new mode of cancer death. II. Effect on peritoneal macrophages*. Biomed. Pharmacother. 1995, 49.
- 13) – Rau Beate, Wust Peter, Hohenberger Peter, Löffel, Hunerbein Michael, Below Cathlen, Gellerman Johanna, Speidel Andrea, Vogl Thomas, Riess Hanno, Felix Roland, Schlag Peter M.: *Preoperative hyperthermia combined with radiochemotherapy in locally advanced rectal cancer*. Annals of Surgery 227, 3. 380-389; 1998.
- 14) – Rietbroek Ron, Schilthuis Marten S., Bakker Piet J.M., Van Dijk Jan D.P., Postma Arjan J., Gonzàles Gonzàles Dioniso, Bakker Ad J., Van der Velden Jacobus, Helmerhost Theo J.M., Veenhof Cees H.N.: *Phase II trial of weekly locoregional hyperthermia and cisplatin in patients with a previously irradiated recurrent carcinoma of the uterin cervix*. Cancer 1997; 79: 935-43.
- 15) – Dahl O., Mella O.: *Hyperthermia and chemotherapeutic agents*. In: Field S.B., Hand J.W. editors: An introduction to the practical agents of clinical hypertemia. London PA: Taylor and Francis, 1990: 108-33.
- 16) – Urano M., Kahn J., Majima H., Gerwech L.E.: *The cytotoxic effect of cisdiaminedichloroplatinum (II) on cultured Chinese hamster ovary cells at elevated temperatures: Arrhenius plot analysis*. Int. J. Hyperthermia 1990; 6: 581-90.
- 17) – Los G., Van Vugt M.J.H., Pinedo H.M.: *Response of peritoneal solid tumors after intraperitoneal chemohyperthermia treatment with cisplatin or carboplatin*. Br. J. Cancer 1994; 69: 235-41.
- 18) – Issels R.D., Wadepohl M., Tilling K., Muller M., Sauer H., Willmanns W.: *Regional hyperthermia combined with systemic chemotherapy in advanced abdominal and pelvis tumors; first result of a pilot study employing an annular phased array applicator*. Recent Result Cancer Res. 1988; 107: 236-43.
- 19) – Hahn G.M.: *Hyperthermia and cancer*. New York: Plenum Press., 1982.
- 20) – Zajicek G.: *Adjuvant chemotherapy od breast cancer should be banned*. The Cancer J., 1996; 9, 4.

- 21) – Leeven H.H., Wapnicks G., Piccone V.A., Falck G. and Ahmed N.: *Tumor eradication by Radiofrequency Thermotherapy*. *Jama*, 1976; 235, 2198.
- 22) – Leeven H.H., Ragagopalan P.R., Vujic I., Gobian R., Pontiggia P., D'Ovidio N., Pething R. and Armitage D.: *Radiofrequency Thermotherapy, Local Chemotherapy and Arterial Occlusion in the Treatment of non Resectable Cance*. *Am. Surgeon*, 1984; 50, 61.
- 23) – Moky M.B., Drays S.: *Interplay between the toxic effects of anticancer drugs and host antitumor immunity in cancer therapy*. *Clinical invest.* 1978; 5, 31.
- 24) – Alonso K., Pontiggia P., Sabato, et al.: *Systemic hyperthermia in the treatment of HIV related disseminated Kaposi's Sarcoma. Long-term follow-up of patients treated with low flow extracorporeal perfusional hyperthermia*. *Am. J. Clin. Oncol.*, 1994; 17, 353.
- 25) – Pontiggia P., Santamaria A., Bianchi, Alonso K., Santamaria K.: *Whole body hyperthermia associated with betacarotene supplementation in patients with AIDS*. *Biomed and Pharmacoth.*, 1995; 5, 263.
- 26) – Engalahrtd R.: *Whole-body hyperthermia in "Abstract of the 5th Intern, Symp. on Hyperthermic Oncology"*. Kyoto, Japan, 1988.
- 27) – Di Filippo F., Carini S., Cavaliere F., Giannelli D., Cavallero L., et al.: *The role of Hyperthermic Perfusion I in hte Treatment of Tumors of the Extremities*, In "Consensus on Hyperermia for the 1990's". *Adv. Exp. Med. and Biol.* Vol. 267, Plenum Press., 1990.
- 28) – Hugander A.: *Hyperthermia and the liver*, in "Consensue of hyperthermia for the 1990's", *Adv. Exp. Med. and Biol.* Vol. 267, Plenum Press. 1990.
- 29) – Fujimoto S., Takatasti M., Okui K.: *A prospective study on combined treatment of intraperitoneal hyperthermic chemotherapy and surgey for patients with refractory gastric cancer*. In mytomicin C in cancer chemotherapy today. *Proceedings 15th Int. Congress, Hamburg, Excerpta Medica*, 1990.
- 30) – Bicher H.I., Moore D.W., Wolfstein R.S.: *A method for interstitial thermoradiotherapy*. In Overgaard J. (Ed.); *Hyperthermic Oncology*. 1984, Taylor and Francis, London and Philadelphia, 1984; pp. 595-598.