

616-006-089:621.378.33

VLIV INTERSTICIÁLNÍ LASEROVÉ HYPERTERMIE NA TUMORÓZNÍ TKÁŇ Experiment

¹Pavel HLADÍK, ¹Jan BEDRNA, ¹Dušan ŠIMKOVIČ, ²Ladislav STRNAD, ³František LANGR, ⁴Milan MĚLKA

¹Chirurgická klinika Fakultní nemocnice, Hradec Králové

²Oddělení analýz a zdravotnické statistiky Fakultní nemocnice, Hradec Králové

³Fingerlandův ústav patologie Fakultní nemocnice, Hradec Králové

⁴Katedra lékařské biochemie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové

Souhrn

V experimentu na myších byla provedena studie prokazující destrukci tumorózní tkáně působením intersticiální laserové hypertermie (ILH). Rozsah nekrotického poškození tumorózní tkáně po ozáření laserem byl stejný při použití dvou rozdílných hodnot výstupního výkonu laseru. Používání co nejnižší terapeuticky účinné hodnoty výkonu laseru při ILH má značný význam pro zabránění karbonizaci světlovodného vlákna během výkonu.

Klíčová slova: Intersticiální laserová hypertermie; Experiment na zvířeti.

The Influence of Interstitial Laser Hyperthermia on Tumorous Tissue Experiment

Summary

In this experiment on mice a study proving the destruction of tumorous tissue by the effect of interstitial laser hyperthermia was conducted. The extent of necrotic damage to tumorous tissue after irradiation with a laser was the same using two different values of laser output power. The use of the lowest therapeutically effective value of laser output during interstitial laser hyperthermia is significant for the prevention of carbonization of the light conductive filament during the output.

Key words: Interstitial laser; Hyperthermia; Experiment on an animal.

Úvod

Jednou z paliativních metod používaných k destrukci tumorózní tkáně, zvláště jaterních metastáz, je metoda hypertermie. Hypertermie je definována jako zvýšená teplota tkáně v rozmezí od 42

do 49 °C. Při této metodě nedochází ke změnám tkáně ve smyslu karbonizace nebo koagulace, ale k funkčnímu poškození buněk, které po určitém časovém úseku vede ke vzniku nekrózy léčených tkání. Hypertermie se používá buď jako samostatné léčebné metody, nebo v kombinaci s celotělovou

nebo regionální chemoterapií.

V posledních letech byly v důsledku vývoje nových technologií i v medicíně zavedeny nové metody, kterými je možno zvyšovat teplotu v požadovaném cílovém místě organismu. Jednou z těchto technologií je **laser**, který byl do medicíny uveden v šedesátých letech dvacátého století. Metoda zvyšující teplotu tkáně využitím laseru se nazývá **intersticiální laserová hypertermie** (ILH). Poprvé byla ILH klinicky použita Ascherem v neurochirurgii v roce 1983 (1). V téže roce tuto metodu použil Bown při léčbě tumoru v játrech (2). Berlien léčil tímto způsobem vaskulární anomálii v roce 1984 (3). Později byla metoda použita k léčbě hypertrofie prostaty a gynekologických onemocnění (4).

Při působení zvýšené teploty, hypertermie, dochází k biofyzikálním a biochemickým změnám v živé tkáni. Změny vznikají na podkladě jednak přímého působení teploty na buňku, jednak následkem sekundárních změn, které způsobila zvýšená teplota v okolních tkáních. V případě, že je hypertermie vyvolána laserovým zářením, přichází v úvahu ještě specifický cytotoxický efekt laserového světla. Požadovaným účinkem laserové intersticiální hypertermie v klinice je vyvolání smrti nádorových buněk vedoucí k nekróze ozařovaných tumorálních hmot. Předpokládá se, že po aplikaci hypertermie indukované laserem dochází nejprve pouze k funkčnímu poškození nádorových buněk, teprve za několik desítek hodin, resp. 2-3 dny, vznikají v nádorové tkáni prokazatelné morfologické změny.

Při použití ILH v klinické praxi je nevhodné z hlediska onkologického a etického provádět přímá bioptická vyšetření destruovaných nádorů. Morfologické změny nádorové tkáně je u pacientů možno prokázat pouze nepřímou pomocí zobrazovacích metod. Mezi tyto metody patří počítačová tomografie (CT), ultrasonografie (US), RTG-vyšetření včetně RTG-kontrastního vyšetření. K přímému histologickému průkazu morfologických změn v tumorózní tkáni byl proveden experiment na zvířeti, jehož výsledky jsou uvedeny v předložené práci.

Cíle experimentu:

1. Podat histologický průkaz vzniklých nekrotických změn tkáně po aplikaci ILH.
2. Statistické vyhodnocení rozsahu nekrotických změn v tumorózní tkáni s ohledem na výstupní výkon laseru a časový interval mezi aplikací ILH a odebráním preparátu na histologické vyšetření.

Materiál a metodika

Pokus byl proveden na myších samicích NMRI starých více než 6 týdnů o hmotnosti 27,44-29,47 g. Celkový počet myší použitých k pokusu byl 54, dodavatelem byla farma Konárovice. Zvířata byla umístěna v boxech po 12-14 jedincích. Krmena byla standardní dietou vyrobenou firmou Noe, Ratio s. r. o., Břeclav.

Myším byly inokulovány tumorózní buňky původně spontánního adenokarcinomu mléčné žlázy MC 29 do hřbetu subkutánně mezi lopatky. K inokulaci bylo použito 0,2 ml ascitu ředěného izotonickým roztokem glukózy tak, aby bylo podáno letální inokulum přibližně 8 milionů nádorových buněk na myš. Dvanáctý den po inokulaci tumoru byla během celkové anestezie zvířat ketaminem (Narkamon inj., Léčiva, Česká republika) v dávce 100 mg/kg i. p. tumorózní tkáň ozařena laserovým světlem formou intersticiální hypertermie. Dávkové hladiny záření byly 1,5 W a 3 W výstupního výkonu laseru. Charakter záření byl kontinuální, délka trvání 240 s. Jako zdroj laserového záření o vlnové délce 805 nm sloužil diodový laserový přístroj Diomed 25 (Cambridge, Velká Británie), k přenosu světla bylo použito světlovodné vlákno o průměru 0,6 mm (BFHC 604-D Bare Fiber, Somatex, Berlín, SRN).

Záření bylo aplikováno přímo do tumoru perkutánně zavedeným koncem vlákna speciální technologií upraveným pro rozptyl světla. Teplota dosažená ve tkáni byla měřena termosondou zavedenou paralelně se světlovodným vláknem. Termosonda byla napojena na personální počítač s programem umožňujícím záznam teplotních změn. Při dosažení teploty 49-50 °C byl zdroj energie vypnut a při poklesu teploty pod 42 °C byl zdroj opět zapnut.

Při sledování morfologických změn tumoru způsobených ILH byla zvířata rozdělena do 3 základních skupin po 18 zvířatech, které byly charakterizovány hodnotou výkonu laserového přístroje při aplikaci záření. V první skupině byl použit výkon 1,5 W, ve druhé 3 W a třetí skupina byla kontrolní. V kontrolní skupině byl proveden pouze vpich vláknem bez působení laserového záření. Po aplikaci laserového záření bylo 6 myších jedinců ihned v éterové narkóze utraceno. Dalších 6 myší bylo utraceno třetí den po aplikaci a stejný počet myší byl utracen desátý den po aplikaci. Celá zvířata byla po usmrcení vždy po jednom kuse zvlášť uložena do fixačního roztoku (10% formalín).

Histologické vyšetření preparátů bylo provedeno běžným způsobem: hematoxylin-eozinovým barvením byly zpracovány preparáty tumorózní tkáně a podrobeny histologickému vyšetření. Z každého myšského jedince bylo histologicky vyšetřeno šest preparátů.

Výsledky

V tabulce 1 je schematicky znázorněno rozdělení preparátů do skupin po šesti myšských jedincích. Skupiny jsou charakterizovány jednak použitým výkonem laseru, jednak časem, kdy byly myši utráceny, ve vztahu k datu aplikace laserového záření.

Tabulka 1

Označení jednotlivých skupin
vyšetřovaných zvířat v experimentu

	Den aplikace ILH	3. den po aplikaci ILH	10. den po aplikaci ILH
1,5 W	A ¹	B ¹	C ¹
3,0 W	A ³	B ³	C ³
Kontrola	A	B	C

Histologická charakteristika výsledků vyšetření preparátů jednotlivých skupin

A, B, C: Ve všech 18 preparátech kontrolních skupin jsou nalezeny okrsky spontánní nekrózy ve tkáni tumoru bez zánětlivé reakce v okolní tumorózní tkáni (viz barevná příl. obr. VII).

A¹: Preparáty získané z myšských jedinců utrácených těsně po aplikaci laserového záření o hodnotě výstupního výkonu 1,5 W. Malé okrsky spontánních nekrotických změn v tumoru. Nekrózy jsou nalezeny v celém tumoru. Charakteristické jsou tím, že není patrná zánětlivá reakce okolní tkáně. Rozsah nekrotického poškození tumoru odpovídá kontrolní skupině A a B. Pouze v jednom případě je průkaz popálení tkáně, ve zbylých pěti preparátech nebyly nalezeny příznaky termického poškození tkáně (viz barevná příl. obr. VIII).

A³: Preparáty získané z myšských jedinců utrácených těsně po aplikaci laserového záření o hodnotě výstupního výkonu 3 W. I v těsném okolí místa vpichu laserového vlákna jsou pouze okrsky spontánně nekrotické tkáně tumoru. Ve dvou preparátech

je průkaz popálení tkáně zvýšenou teplotou povrchu světlovodného vlákna.

B¹: Preparáty získané z myšských jedinců utrácených třetí den po aplikaci laserového záření o hodnotě výstupního výkonu 1,5 W. Nekrózy jsou dvojího druhu. Jednak ty, které jsou kompaktní a rozsáhlé, šíří se od okrajů vpichu laserového světlovodného vlákna. Druhý typ nekróz odpovídá nálezu spontánních nekróz, které jsou poměrně rovnoměrně rozptýleny po celém řezu tumorem. V okolí nekrotických ploch způsobených ILH jsou shluky granulocytů. Ve čtyřech preparátech je nekrózou postižena i epidermis - viz barevná příl. obr. IX a X (oprava textu k obr.: ...ze skupiny B... správně ...ze skupiny B¹).

B³: Preparáty získané z myšských jedinců utrácených třetí den po aplikaci laserového záření o hodnotě výstupního výkonu 3 W. Histologický obraz kvalitativně odpovídá nálezu ve skupině B¹. Jsou přítomny okrsky spontánních nekróz a v okolí místa vpichu rozsáhlé nekrózy na podkladě působení ILH charakterizované lemem granulocytů.

C¹: Preparáty získané z myšských jedinců utrácených desátý den po aplikaci laserového záření o hodnotě výstupního výkonu 1,5 W. Vykazují velký rozsah nekrotického poškození tumoru způsobeného aplikovaným zářením. Ve dvou preparátech dosahuje nekróza až k okraji nádoru. Vzniká významná zánětlivá reakce v okolí nekrózy způsobené ILH s průkazem leukocytárního lemu na jejím okraji - viz barevná příl. obr. XI (oprava textu k obr.: ...ze skupiny C... správně ...ze skupiny C¹) a obr. XII (oprava textu k obr.: ...z obr. 5... správně ...z obr. XI).

C³: Preparáty získané z myšských jedinců utrácených desátý den po aplikaci laserového záření o hodnotě výstupního výkonu 3 W. Ve tkáni tumoru v okolí místa vpichu se nalézají rozsáhlé nekrotické změny. Charakteristické pro tuto skupinu je ohraničení nekrózy s přítomností leukocytů v okolí jejích okrajů jako v C¹.

Na preparátech po aplikaci ILH byly prokázány dva typy nekróz. Jednak okrsky difúzně rozptýlených spontánních nekróz, jednak kompaktní rozsáhlé nekrózy lokalizované u okrajů místa vpichu světlovodného vlákna (viz barevná příl. obr. XIII). V několika případech byl ve skupinách po aplikaci ILH při histologickém vyšetření nalezen obraz nekrotického poškození tkáně tumoru a současně i přilehlých anatomických struktur (viz barevná příl. obr. XIV).

Tabulka 2

**Charakteristika výsledků
histologického vyšetření preparátů - shrnutí**

	<i>Den aplikace</i>	<i>3. den po aplikaci</i>	<i>10. den po aplikaci</i>
<i>1,5 W</i>	A¹ <i>spontánní nekrózy v tumoru bez zánětlivé reakce</i>	B¹ <i>nekrozy s „mírnou“ zánětlivou reakcí v okolí</i>	C¹ <i>nekrozy s výraznou leukocytární reakcí okolní tkáň</i>
<i>3,0 W</i>	A³ <i>spontánní nekrozy v tumoru bez zánětlivé reakce</i>	B³ <i>nekrozy s „mírnou“ zánětlivou reakcí v okolí</i>	C³ <i>nekrozy s výraznou leukocytární reakcí okolní tkáň</i>
<i>Kontrola</i>	A <i>spontánní nekrozy v tumoru bez zánětlivé reakce</i>	B <i>spontánní nekrozy v tumoru bez zánětlivé reakce</i>	C <i>spontánní nekrozy v tumoru bez zánětlivé reakce</i>

**Rozsah nekrotického poškození
tumorózní tkáň po aplikaci laserového záření -
statistické vyhodnocení**

Plošný rozsah nekroz při histologickém vyšetření byl vypočítán pro každou skupinu myších jedinců v experimentu zvlášť. Ke statistickému vyhodnocení těchto výsledků bylo použito statistické metody analýzy rozptylu. Počet vzorků v každé skupině byl osm. Výsledky analýzy rozptylu ukazují, že v počátečním stadiu neexistují statisticky významné rozdíly mezi hodnotami a intenzitou použitého laserového záření. Ve druhém stadiu (3. den od aplikace ILH) pozorujeme vysoce signifikantní rozdíly mezi kontrolami a laserem ozářenými tkáněmi. Je zajímavé, že průměry hodnot rozsahu nekrotické tkáň jsou vyšší u nižší intenzity záření (1,5 W) v porovnání s vyšší intenzitou, resp. výstupním výkonem laseru o hodnotě 3 W. Tyto rozdíly však nejsou statisticky signifikantní. Ve třetím stadiu (za 10 dní po aplikaci ILH) byl pozorován opět vysoce signifikantní rozdíl mezi kontrolami a ozářenými případy. Ve třetím stadiu se průměry vzorků ozářených 1,5 W a 3 W sblížily a vykazovaly jen malé rozdíly.

Výpočty byly provedeny pomocí statistických programů Excel a SPSS.6.

Tabulka 3

**Výsledky analýzy rozptylu pro výsledky
získané v den aplikace ILH - první stadium**

<i>Výběr</i>	<i>Počet</i>	<i>Součet</i>	<i>Průměr</i>	<i>Směr. odch.</i>
<i>Sloupec 1 (1,5 W)</i>	8	104	13	5,8
<i>Sloupec 2 (3,0 W)</i>	8	63,9	7,99	3,8
<i>Sloupec 3 (kontrola)</i>	8	87,2	10,9	4,9

V tabulce 3 je vyhodnocení plošného rozsahu nekroz v 8 preparátech ve skupinách 1,5 W, 3 W a kontrola. V tabulce 4 jsou statisticky vyhodnoceny rozdíly v naměřených plochách v závislosti na použitém výstupním výkonu laseru. Hodnota vypočteného **F** nepřesahuje hodnotu **F krit.**, nejedná se tedy o statisticky významné rozdíly naměřených veličin.

Tabulka 4

Výsledky analýzy rozptylu pro výsledky získané v den aplikace ILH - první stadium

<i>Zdroj variability</i>	<i>SS</i>	<i>Stupeň volnosti</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F krit.</i>
<i>Mezi výběry</i>	101,3808	2	50,69042	2,117779	0,145267	3,466795
<i>Všechny výběry</i>	502,6488	21	23,93565			
<i>Celkem</i>	604,0296	23				

Tabulka 5

Výsledky analýzy rozptylu pro výsledky získané 3 dny po aplikaci ILH - druhé stadium

Výběr	Počet	Součet	Průměr	Směr. odch.
Sloupec 1 (1,5 W)	8	410,1	51,26	7,5
Sloupec 2 (3,0 W)	8	330,6	41,33	13,9
Sloupec 3 (kontrola)	8	100,6	12,58	4,2

Tabulka 6

Výsledky analýzy rozptylu pro výsledky získané 3 dny po aplikaci ILH - druhé stadium

Zdroj variability	SS	Stupeň volnosti	MS	F	P	F krit.
Mezi výběry	6458,771	2	3229,385	35,98738	1,64E-07	3,466795
Všechny výběry	1884,469	21	89,73661			
Celkem	8343,24	23				

Tabulka 7

Výsledky analýzy rozptylu pro výsledky získané 10 dní po aplikaci ILH - třetí stadium

Výběr	Počet	Součet	Průměr	Směr. odch.
Sloupec 1 (1,5 W)	8	453,6	56,7	4,3
Sloupec 2 (3,0 W)	8	467,7	58,4625	8,3
Sloupec 3 (kontrola)	8	99,1	12,3875	6,5

Tabulka 8

Výsledky analýzy rozptylu pro výsledky získané 10 dní po aplikaci ILH - třetí stadium

Zdroj variability	SS	Stupeň volnosti	MS	F	P	F krit.
Mezi výběry	10905,63	2	5452,813	125,8525	2,03E-12	3,466795
Všechny výběry	909,8675	21	43,32702			
Celkem	11815,49	23				

Vysvětlivky k tabulkám č. 3-8:

SS - součet čtverců mezi výběry

MS - průměrný čtverec

F - vypočtené testované kritérium F

Hodnota P - úroveň statistické významnosti (pravděpodobnost chyby α)

F krit. - kritická (tabelovaná) hodnota, při jejímž překročení je možno považovat výsledky za statisticky významné

Tabulka 9

Procentuální vyjádření plošného rozsahu nekrotických změn v histologických preparátech v jednotlivých vyšetřovaných skupinách

	Den aplikace ILH	3. den po aplikaci ILH	10. den po aplikaci ILH
1,5 W	A ¹ - 13,0 %	B ¹ - 51,3 %	C ¹ - 56,7 %
3,0 W	A ³ - 8,0 %	B ³ - 41,3 %	C ³ - 58,5 %
Kontrola	A - 10,9 %	B - 12,6 %	C - 12,4 %

V tabulkách 5 a 6 jsou zhodnoceny výsledky z vyhodnocených preparátů získaných 3. den po ozáření laserovým světlem. Je patrné, že rozsah nekróz v preparátech je statisticky významně vyšší v případech ozáření laserovým světlem ve srovnání s kontrolou. Za povšimnutí stojí, že větší rozsah nekróz byl naměřen v preparátech tumorů ozářených při výstupním výkonu laseru 1,5 W.

Výsledky v tabulkách 7 a 8 ukazují, že 10. den po ozáření tumoru laserovým světlem jsou plochy nekróz v těchto preparátech největší a ve srovnání s kontrolou jsou rozdíly statisticky významné.

Tabulka 9 je shrnutím výsledků plošného rozsahu tumorózní tkáně v jednotlivých skupinách. Tyto výsledky jsou podkladem pro graf (viz barevná příl. obr. XV), který znázorňuje procento plošného rozsahu nekróz tumorózní tkáně ve vyšetřovaných histologických preparátech v závislosti na použitém výstupním výkonu laseru a na časovém intervalu mezi aplikací ILH a odběrem vzorku.

Diskuse

Význam experimentu vychází z vytyčených cílů. Je doplněním experimentální práce Horáka (5), který prováděl experimenty s účinkem intersticiální laserové hypertermie na játrech prasat. Nejednalo se o patologicky změněnou tkáň. Optické a termické vlastnosti nádorové tkáně jsou rozdílné ve srovnání s odpovídajícími charakteristikami fyziologické jaterní tkáně (6).

Rozsah nekrózy tumorózní tkáně po aplikaci ILH je závislý na „předaném“ množství světelné laserové energie do tkáně, kde se mění v energii tepelnou. Kromě optických vlastností tkáně a charakteru, resp. vlnové délce záření, zde hraje významnou roli karbonizace vlákna během výkonu (6).

Zabránění karbonizaci vlákna je problém, který se řeší několika způsoby. Jedním může být chlazení konce vlákna vodou, jiným je průběžná kontrola teploty tkáně v okolí vlákna, která nesmí přestoupit hodnotu 57 °C, kdy dochází ke koagulaci bílkovin. Kontrola aktuální teploty povrchu vlákna se provádí nejčastěji termosondami umístěnými v určitých vzdálenostech kolem vlákna v okolní tkáni. Přístrojově složitějším systémem kontroly aktuální teploty je použití ultrasonografického přístroje nebo magnetické rezonance. Všeobecně platí, prokazatelně v experimentu, že ke karbonizaci aktivního konce vlákna dochází nejméně při použití nízkých

hodnot výstupního výkonu laseru (7, 8). I v našem experimentu jsme docílili stejného poznatku. Při použití výstupního výkonu laseru o hodnotách 1,5 W a 3 W byl rozsah nekróz v ozářené části tumoru dokonce i větší při použití nižší hodnoty výkonu (1,5 W). Při těchto nižších hodnotách výkonu laseru jsou teplotní změny méně výrazné a lze snadněji zabránit vzniku karbonizace tkáně.

Hodnoty výstupního výkonu laseru použitého v experimentu (1,5 W a 3 W) byly zvoleny na podkladě studií zabývajících se experimentem na zvířeti, konkrétně na myši. Hodnota tohoto výkonu laseru je odvozena od optických a termických charakteristik tumoru vykultivovaného na těle myši. Tyto charakteristiky jsou závislé na prokrvení tumoru, na jeho struktuře a barvě. V klinické praxi se pro laserovou hypertermii používají výkonové hodnoty laseru od 4 do 8 W. Délka aplikace pak kolísá podle autorů od 5 do 15 minut (6, 9, 10, 11).

Časová posloupnost změn ve struktuře nádorové tkáně po aplikaci ILH je charakteristická. Bezprostředně po aplikaci jsou v některých preparátech nalezeny známky termické nekrózy způsobené překročením teploty 57 °C. Další změny následují až za několik desítek hodin a dní. Rozsah nekrotických změn je přímo úměrný množství laserového záření předaného tkáním (6, 12, 13).

Závěr

Experiment na zvířeti, při kterém se prokazoval vznik morfologických změn v tumorózní tkáni působením laserové intersticiální hypertermie, přinesl následující výsledky:

1. Histologickým vyšetřením preparátů tumorózní tkáně, na kterou bylo působeno ILH, byl potvrzen vznik nekróz v okolí světlovodného vlákna. Jednalo se jednak o nekrotické změny vzniklé nežádoucím vzestupem teploty nad 57 °C (v den aplikace ILH - výstupním výkonem laseru 3 W), jednak o nekrotické změny tkáně následující 3. a 10. den po aplikaci ILH.
2. Bylo provedeno změření plošného rozsahu nekróz na jednotlivých preparátech. Statistickými metodami bylo prokázáno, že rozsah nekrotického postižení tumorózní tkáně je statisticky významný již 3. den po aplikaci ILH a tento rozsah vzrůstá 10. den po výkonu. Statisticky významné nejsou rozdíly rozsahu nekróz ve vztahu k použitému výstupnímu výkonu laseru (1,5 W a 3 W).

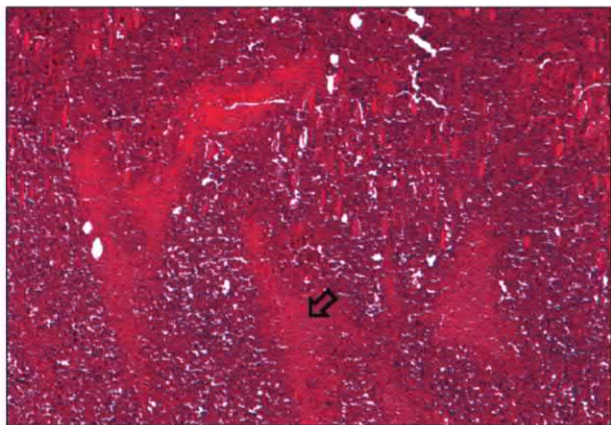
3. Pro aplikaci ILH má velký význam požadavek zamezení karbonizaci vlákna. Jednou z cest ke splnění tohoto požadavku je použití co nejvyššího výstupního výkonu laseru. Experiment prokázal, že pro vznik nekrotizace tumorózní tkáně lze použít výstupního výkonu laseru 1,5 W se stejným výsledným efektem jako při použití výstupního výkonu 3 W.

Literatura

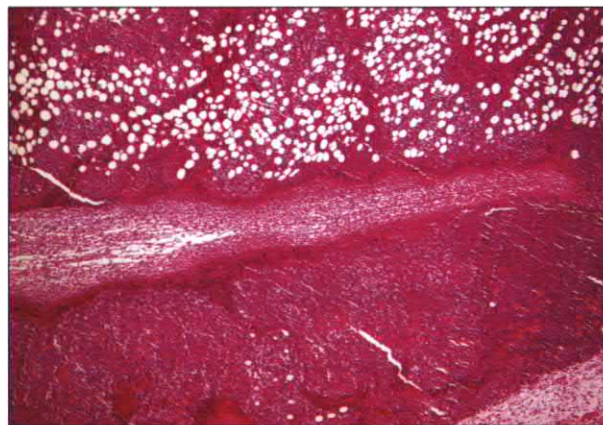
1. ASCHER, PW.: Interstitial thermotherapy of brain tumors with Nd: YAG laser under real time MRI control. *Laser Surgery: Advanced Characterization, Therapeutics and Systems II*. SPIE Proc., 1990, p. 242-245.
2. BOWN, SG.: Phototherapy of tumours. *World J. Surg.*, 1983, vol. 7, p. 700-709.
3. BERLIEN, HP. - WALDSCHMIDT, J. - MÜLLER, G.: Laser treatment of cutaneous and deep vessel anomalies. In WAIDELICH, W. *Laser: optronics in medicin*. S. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1988, p. 526-528.
4. MÜLLER, G. - ROGGAN, A. - FUCHS, B.: Laser-induced interstitial thermotherapy (LITT). In MÜLLER, GJ. - ROGGAN, A. *Laser-induced interstitial thermotherapy*. Bellingham, Washington: SPIE - The International Society for Optical Engineering, 1995, p. 3-5. ISBN 0-8194-1859-5.
5. HORÁK, L.: Laserová technika v paliativní léčbě rakoviny konečníku. [Doktorská dizertační práce]. Praha, Univerzita Karlova, 1993.
6. ROHDE, E. - PHILIPP, CM. - BERLIEN, HP.: Monitoring of interstitial laser-induced thermotherapy with color-coded duplex sonography. In MÜLLER, GJ. - ROGGAN, A. *Laser-induced interstitial thermotherapy*. Bellingham, Washington: SPIE - The International Society for Optical Engineering, 1995, p. 267-278. ISBN 0-8194-1859-5.
7. HILLEGEBSBERG, R.: Cylindrical diffusing fiber-tip for interstitial laser coagulation. In MÜLLER, GJ. - ROGGAN, A. *Laser-induced interstitial thermotherapy*. Bellingham, Washington: SPIE - The International Society for Optical Engineering, 1995, p. 195-211. ISBN 0-8194-1859-5.
8. MASTERS, A. - BOWN, SG.: Interstitial laser hyperthermia in the treatment of tumours. *Lasers Med. Sci.*, 1990, vol. 5, p. 129-136.
9. TRANBERG, KG. - IVARSSON, K. - MÖLLER, PH.: Interstitial laser thermotherapy using feedback control and monitoring with electrical impedance tomography: review of studies in vitro and in vivo. *Laser - Induced Interstitial Thermotherapy*. In MÜLLER, GJ. - ROGGAN, A. *Laser-induced interstitial thermotherapy*. Bellingham, Washington: SPIE - The International Society for Optical Engineering, 1995, p. 354-365. ISBN 0-8194-1859-5.
10. MASTERS, A., et al.: Interstitial laser hyperthermia: a new approach for treating liver metastases. *Br. J. Cancer*, 1992, vol. 66, p. 518-522.
11. MASTERS, A. - BOWN, SG.: Interstitial laser hyperthermia in tumour therapy. *Ann. Gyn. Chir.*, 1990, vol. 79, p. 244-251.
12. GERMER, CT., et al.: Laser-induced thermotherapy (LITT) in the treatment of colorectal liver metastases - A clinical pilot study. In MÜLLER, GJ. - ROGGAN, A. *Laser-induced interstitial thermotherapy*. Bellingham, Washington: SPIE - The International Society for Optical Engineering, 1995, p. 393-402. ISBN 0-8194-1859-5.
13. MUSCHTER, R., et al.: Evaluation of different laserwavelengths and application systems for LITT. *Laser - Induced Interstitial Thermotherapy*. In MÜLLER, GJ. - ROGGAN, A. *Laser-induced interstitial thermotherapy*. Bellingham, Washington: SPIE - The International Society for Optical Engineering, 1995, p. 212-223. ISBN 0-8194-1859-5.

Korespondence: MUDr. Pavel Hladík
Školská 36
500 11 Hradec Králové
e-mail: hladikp@lfhk.cuni.cz

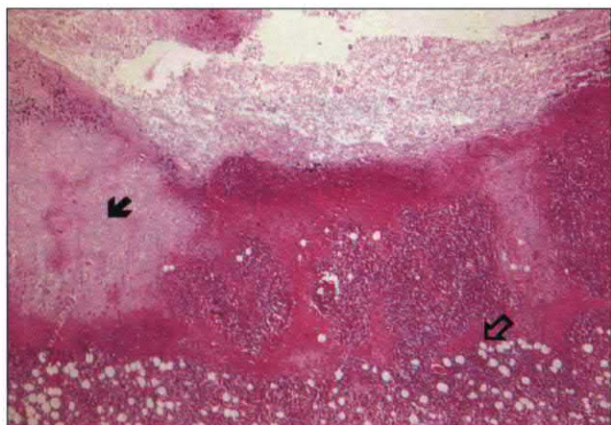
Do redakce došlo 23. 3. 2000



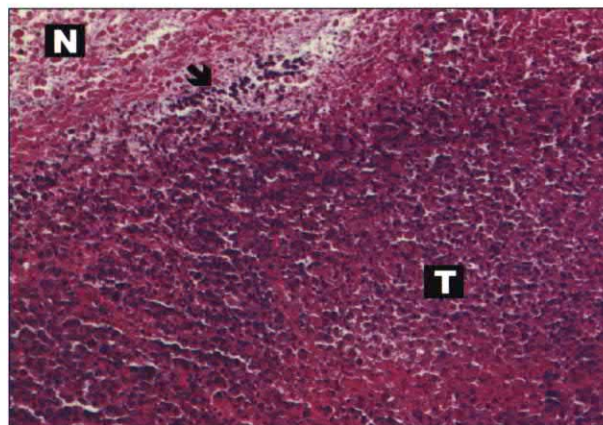
Obr. VII: Preparát ze skupiny „kontrola“. Šipkou je označena plocha spontánní nekrózy v tumorózní tkáni.



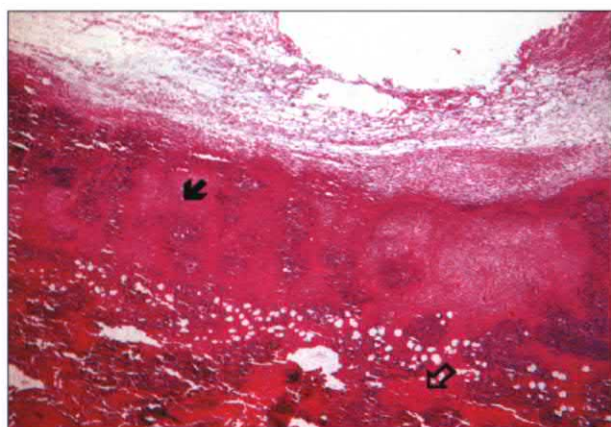
Obr. VIII: Místo vpichu ve středu obrazu - není patrná nekróza tumoru způsobená laserovým zářením. V dolní polovině snímku je několik obarvených spontánních nekróz.



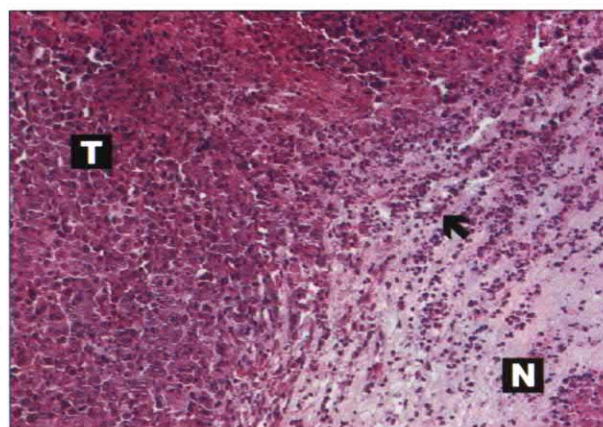
Obr. IX: Histologické vyšetření preparátu ze skupiny B po aplikaci laserového záření. Plnou šipkou je označen okrsek nekrózy lokalizované při okraji místa vpichu světlovodného vlákna. Prázdnou šipkou je označena plocha obarvené spontánní nekrózy.



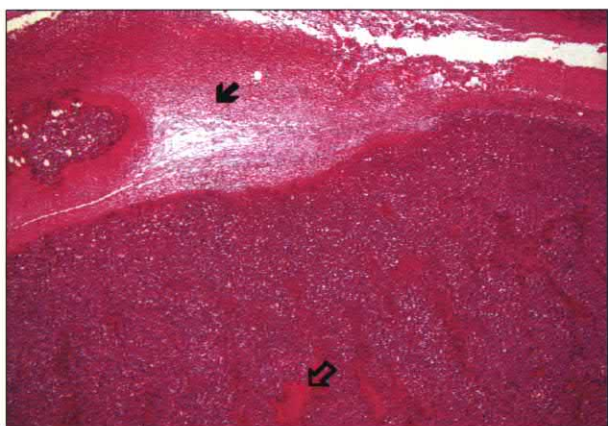
Obr. X: Větší zvětšení histologického preparátu ze skupiny B po aplikaci laserového záření. Nekrotická tkáň N, tumorózní tkáň T. Nekrotická tkáň je částečně ohraničena, šipkou je označen tvořící se lem granulocytů.



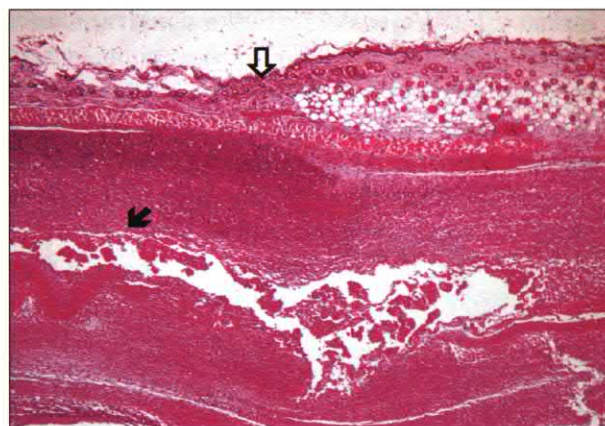
Obr. XI: Histologické vyšetření preparátu ze skupiny C získaného deset dní po aplikaci ILH. Výrazné ohraničení nekróz v okolí místa vpichu - označeny plnou šipkou. Ve větší vzdálenosti od místa vpichu je prázdnou šipkou označen okrsek spontánní nekrózy.



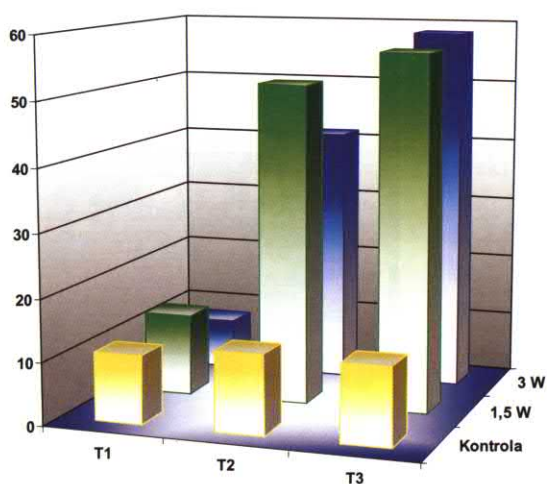
Obr. XII: Větší zvětšení preparátu z obr. 5. T - tumorózní tkáň, N - nekrotická tkáň vzniklá na podkladě působení ILH. Šipkou je označen již významně vytvořený leukocytární lem okolo nekrotické tkáně.



Obr. XIII: Po aplikaci ILH jsou na histologických preparátech prokázány dva typy nekróz. Plnou šipkou je označena kompaktní nekrotická tkáň vzniklá na podkladě ILH. Je uložena při okraji místa vpichu světlovodného vlákna. Prázdnou šipkou je označen jeden z okrsků spontánní nekrózy charakteristické pro tento druh tumoru.



Obr. XIV: V okolí místa vpichu je patrná nekróza tumoru (plná šipka). Působením ILH však byly postiženy i okolní struktury. Prázdnou šipkou je označen úsek nekrotického poškození epidermis.



Vysvětlivky:
T1 - den aplikace ILH
T2 - tři dny po aplikaci ILH
T3 - deset dní po aplikaci ILH

Obr. XV: Plošné procento nekróz tumorózní tkáně ve vyšetřovaných histologických preparátech. Byla sledována závislost plochy nekróz na použitém výstupním výkonu laseru a termínu odběru histologického preparátu ve vztahu ke kontrolní skupině laboratorních zvířat.