

Mieczysława Jurczyk

Received: 03.06.2010

Accepted: 08.06.2010

Published: 30.06.2010

## Termoterapia z użyciem magnetycznych nanocząstek

Application of magnetic nanoparticles in thermotherapy. A review

Термотерапия с применением магнитных наночастиц

Katedra Zdrowia Matki i Dziecka Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Kierownik Katedry: prof. dr hab. n. med. Tomasz Opala

Correspondence to: Katedra Zdrowia Matki i Dziecka Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Polna 33, 60-535 Poznań, e-mail: mjur@poczta.onet.pl

Source of financing: Department own sources

### Streszczenie

Nanomateriały magnetyczne mogą znaleźć szerokie zastosowanie zarówno w naukach biologicznych, jak i medycznych. Przykładem takich materiałów są superparamagnetyczne nanocząstki żelaza, które z uwagi na dużą powierzchnię właściwą i możliwość oddziaływania z różnymi tkankami są stosowane między innymi w detekcji i analizie biocząsteczek, docelowym transporcie leków, poprawie kontrastu przy badaniach metodą rezonansu magnetycznego i hipertermii. Do zastosowań medycznych nanocząstki magnetyczne wymagają często pokrycia biokompatybilnym polimerem, który z jednej strony ekranuje cząstkę przed układem immunologicznym, uniemożliwiając otoczenie jej białkami plazmy i usunięcie z organizmu, z drugiej zaś ułatwia wiązanie innych kompleksów organicznych, które mogą być transportowane do określonych obszarów patologicznych. Szerokie zastosowanie medyczne magnetycznych nanocząstek jest związane z efektem generowania ciepła. Jeżeli nanocząstki magnetyczne zostaną umiejscowione w zmienionym nowotworowo obszarze ciała, to w obecności zmiennego zewnętrznego pola magnetycznego można uzyskać efekt cieplny. Uśmiercając komórki nowotworowe i niszcząc białka oraz struktury wewnątrzkomórkowe wygenerowaną w tych miejscach wysoką temperaturą, możemy powodować zmniejszenie się guza. Wysokość uzyskanego przez nas poziomu temperatury w guzie nowotworowym zależy od właściwości użytych magnetycznych nanocząstek oraz od parametrów przyłożonego zmiennego pola magnetycznego (amplituda, częstotliwość). To zjawisko fizyczne wykorzystuje się do bezpośredniego niszczenia komórek nowotworowych. Dodatkowo wzrost temperatury obszaru ciała chorego zwiększa efektywność zastosowanej chemio- lub radioterapii. W pracy zaprezentowano przegląd zastosowania superparamagnetycznych cząsteczek metali w terapii nowotworowej.

**Słowa kluczowe:** nanotechnologia, terapia nowotworowa, nanocząstki, hipertermia, lek

### Summary

Nanoscale magnetic materials may have several potential applications in the biomedical area. An example thereof are superparamagnetic iron oxide nanoparticles, which, due to large own surface and ability to interact with various tissues, are used to detect and analyze biological molecules, in targeted drug delivery, for contrast enhancement in magnetic resonance imaging studies and, last but not least, in therapeutic hyperthermia. When used for medical purposes, magnetic nanoparticles often require coating with a biocompatible polymer, preventing its detection by the immune system, encapsulation by plasma proteins and excretion, while at the same time facilitating binding with organic complexes, which subsequently may accumulate in definite pathological foci. Widespread use of magnetic nanoparticles is associated with heat generation. When placed within neoplastic tissue and exposed to alternating external magnetic field, magnetic nanoparticles generate a local heating effect. Local elevation of tissue temperature has a potent cytostatic effect mediated by

denaturation of proteins and destruction of intracellular structures, leading to reduction of tumor mass. Temperature obtained within the tumor depends on properties of magnetic nanoparticles used and parameters of external magnetic field applied, i.e. amplitude and frequency of field oscillations. This physical phenomenon results in direct destruction of tumor cells. Furthermore, local elevation of body temperature contributes to enhanced effectiveness of chemo- and radiotherapy. The paper is a review of current applications of superparamagnetic metal nanoparticles in oncology.

**Key words:** nanotechnology, oncologic therapy, nanoparticles, hyperthermia, drugs

## Содержание

Магнитные наноматериалы могут найти широкое применение как в биологических, так и медицинских науках. В качестве примера таких материалов могут быть сверхпарамагнитные наночастицы железа, которые в связи с большой собственной поверхностью и воздействия с различными тканями применяются в частности при выявлении и анализе биочастиц, целевом транспорте лекарств, улучшении контраста во время исследований методом магнитного резонанса и гипертермии. Для медицинского применения магнитные наночастицы часто нуждаются в обволакивании биокompatибильным полимером, который с одной стороны экранирует частицу в отношении иммунологической системы, воспрепятствуя ее окружению белками плазмы и удалению из организма, а с другой стороны, облегчает связывание других органических соединений, которые могут транспортироваться в определенные патологические области. Широкое медицинское применение магнитных наночастиц связано с возможностью воспроизведения ими теплоты. Если магнитные наночастицы будут находиться в части тела, которая изменилась под влиянием новообразования, то при наличии изменяющегося внешнего магнитного поля можно получить воспроизведение теплоты. Умерщвления клетки новообразования, уничтожая белки и внутриклеточные структуры, а также произведенную в этих местах высокую температуру, можно вызывать уменьшение опухоли. Высота полученного уровня температуры в опухоли новообразования зависит от свойств применяемых магнитных наночастиц и от параметров приложенного переменного магнитного поля (амплитуда, частота). Это физическое явление используется для непосредственного уничтожения клеток новообразований. Дополнительно увеличение температуры поверхности тела больного увеличивает эффективность применяемой химио- или радиотерапии. В работе представлено обозрение применения сверхпарамагнитных частиц металлов в лечении новообразований.

**Ключевые слова:** нанотехнология, терапия новообразований, наночастицы, гипертермия, лекарство

## WPROWADZENIE

**H**yperthermia oznacza leczenie zmiany nowotworowej polegające na tym, że tkanka poddawana jest działaniu wysokiej temperatury – do 42°C, 111°F, celem zniszczenia obecnych tam komórek nowotworowych. Często leczenie hipertermią przebiega w skojarzeniu z innymi metodami leczenia, takimi jak chirurgia, radioterapia i chemioterapia. Badania kliniczne wykazały, że wysokie temperatury mogą uszkodzić i zniszczyć komórki rakowe, jednocześnie w sposób minimalny uszkadzając tkankę zdrową. Skuteczność leczenia zależy od temperatury osiągniętej podczas leczenia, czasu trwania terapii, a także od cech indywidualnych charakteryzujących komórki i tkankę<sup>(1,2)</sup>. W trakcie prowadzonej terapii hipertermicznej monitoruje się temperaturę zarówno guza, jak i otaczających go tkanek. W tym celu wprowadza się do obszaru poddawanego leczeniu małe igły lub sondy z miniaturowymi termometrami. Można też prowadzić wizualizację za pomocą tomografii komputerowej, zarazem sprawdzając lokalizację założonej sondy. Wielkość tkanek zdrowych nie ulega uszkodzeniu podczas hipertermii, o ile temperatura pozostaje poniżej 43,89°C. Jednak ze względu na miejscowe różnice w charakterystyce tkanki w różnych miejscach mogą wystąpić wyższe temperatury, prowadząc w konsekwencji do wystąpienia oparzeń, pęcherzów, bólu<sup>(1,3-7)</sup>, zakrzepów, krwawień i innych ubocznych skutków. W przypadku podwyższania temperatury do 43-47°C

## INTRODUCTION

**H**yperthermia relies in treatment of neoplastic lesions by application of high temperature, usually up to 42°C (111°F) in order to destroy tumor cells. Hyperthermia is usually combined with other therapeutic modalities, e.g. surgery, radio- and chemotherapy. Clinical studies confirmed that high temperature may damage and destroy cancer cells with only minimal compromise of adjacent healthy tissues. Effectiveness of this therapeutic modality depends on temperature obtained, duration of treatment and individual features of cancer cells and adjacent tissues<sup>(1,2)</sup>. Hyperthermia-based therapy requires close monitoring of temperature, both in the tumor and its environment. To this purpose, small probes fitted with miniature thermometers are introduced into the treated area. Furthermore, computed tomography enables visualization and confirmation of correctness of location of the probes. Most healthy tissues are not harmed by hyperthermia, unless the temperature exceeds 43.89°C. However, due to local differences in tissue characteristics, foci of excessive elevation of temperature may occur, ultimately resulting in burns, blebs and pain<sup>(1,3-7)</sup>, thrombosis, bleeding and other adverse side effects. Temperatures of the 43-47°C range must be limited precisely to the desired tumor volume. Thermotherapy at the 45-55°C range is defined as magnetic ablation. This modality relies on greater vulnerability of neoplastic cells to elevated temperature

dążymy do maksymalnie precyzyjnego jej uzyskania w wybranym miejscu guza. Gdy temperatura zostanie podniesiona do wyższego zakresu (45-55°C), mówimy o ablacji magnetycznej. Metoda ta polega na wykorzystaniu wrażliwości komórek nowotworowych na podwyższoną temperaturę, w wyniku czego wprowadzone do nowotworu cząstki magnetyczne poddane działaniu zmiennego pola magnetycznego nagrzewają się do temperatury 43-47°C, co powoduje zmniejszenie aktywności metabolicznej nowotworu<sup>(8)</sup>. Wzrost temperatury zależy od właściwości magnetycznych cząstek, od amplitudy i częstości pola magnetycznego oraz od osobniczych właściwości guza. Najczęściej pole magnetyczne ma zakres częstości od 100 do 1000 Hz. Jedna frakcja leczenia trwa około 30 minut. Cykl leczenia obejmuje od kilku do kilkunastu frakcji<sup>(9,10)</sup>. Przy stosowaniu nagrzewania nowotworu do temperatury 46°C efekt dodatkowej radioterapii czy chemioterapii wyraźnie wzmacnia pozytywny skutek terapeutyczny. Skuteczność podanej radioterapii zwiększa się w wyniku działania podwyższonej temperatury, blokującej mechanizm naprawczy szkód popromiennych w niciach DNA. Dzięki połączeniu efektu grzania komórek nowotworowych i działania na nie czynnikiem promieniowania jonizującego komórki rakowe umierają nawet przy mniejszych dawkach promieniowania. Stąd wniosek, że odporność komórek na promieniowanie jonizujące możemy też przełamać, podwyższając w nich temperaturę dzięki zastosowaniu hipertermii magnetycznej. Wysoka temperatura wpływa negatywnie również na inne białka. Przy temperaturach powyżej 46°C prawie wszystkie biomolekuły komórki ulegają zmianie, a komórka umiera bezpośrednio przed powstaniem skutków przegrzania.

### CZĄSTKI JEDNODOMENOWE

Przy zmniejszaniu rozmiaru materiału ferromagnetycznego istnieje pewna objętość krytyczna, poniżej której powstanie struktury domenowej (w następstwie minimalizacji całkowitej energii magnetycznej) nie jest korzystne. Dochodzi do tego wtedy, gdy zysk energetyczny wynikający z podziału na domeny jest równy zużyciu energii na wytworzenie ścianek domenowych. Materiał taki staje się wówczas jednorodnie namagnesowany, a jego właściwości magnetyczne można opisywać w układzie jednodomenowym, zamiast w układzie pojedynczych atomów w obrębie jednej domeny magnetycznej. W przypadku sferycznych cząstek krytyczny rozmiar dla zachowania jednodomenowego materiałów ferromagnetycznych jest szacowany na 10-100 nm, na przykład dla Fe wynosi on 15 nm<sup>(11)</sup>.

Jednodomenową cząstkę ferromagnetyczną (o objętości  $V$  oraz magnetyzacji nasycenia  $M_s$ ) można przedstawić modelowo jako charakteryzującą się wypadkowym momentem magnetycznym  $|\mu| = M_s V$ . Moment ten pochodzi od momentów magnetycznych zawartych w niej atomów, sprzężonych ferromagnetycznym oddziaływaniem wymiany.

W nieobecności pola magnetycznego moment ten jest skierowany wzdłuż osi łatwej, wyznaczonej przez całkowitą anizotropię magnetyczną cząstki. Przejściu od stanu wielodomenowego do jednodomenowego towarzyszy znaczny wzrost pola koercji  $H_c$ . Związane jest to ze zmianą mechanizmu przemag-

generated by magnetic particles accumulated within the tumor and exposed to alternating magnetic field. Resulting focal elevation of temperature to 43-47°C leads to reduced metabolic activity of tumor cells<sup>(8)</sup>. Degree of elevation of tissue temperature depends on magnetic properties of particles used, amplitude and frequency of magnetic field applied and on individual features of a particular tumor. Usually magnetic field frequency is set at 100 to 1000 Hz. A single treatment session lasts about 30 minutes. The entire treatment protocol includes a dozen or so sessions<sup>(9,10)</sup>. When a tumor is heated to 46°C, concomitant application of radio- and chemotherapy significantly enhances favorable effects of treatment. Effectiveness of radiotherapy is improved by elevated tissue temperature which inhibits repair of radiation-induced damage to DNA strands. When exposed to combined effects of heat and ionizing radiation, cancer cells die already after lower doses of radiation. Therefore, cellular resistance to ionizing radiation may be overcome by elevation of tissue temperature using magnetic hyperthermia. High temperature has a deleterious effect on other proteins too. At temperatures above 46°C nearly all cellular biomolecules are altered and the cell dies directly prior to the development of effects of overheating.

### SINGLE-DOMAIN PARTICLES

Reduction of dimensions of ferromagnetic materials may result in a certain critical volume, below which the domain structure obtained (due to reduction of total magnetic energy) is not optimal. This occurs when energy gain resulting from subdivision into domains equals energy consumption needed for creation of inter-domain boundaries. Such a material becomes homogeneously magnetized and its magnetic properties correspond to single-domain configuration rather than to configuration of single atoms within a single magnetic domain. In the case of spherical particles, critical size consistent with single-domain characteristics of ferromagnetic materials is estimated at 10-100 nm, being 15 nm for iron<sup>(11)</sup>. Single-domain ferromagnetic particles (whereby the volume is  $V$  and saturation magnetization is  $M_s$ ) may be characterized by the resultant magnetic moment  $|\mu| = M_s V$ . This moment is a sum total of magnetic moments of atoms contained therein, bound by interactions of ferromagnetic exchange.

In the absence of magnetic field, this moment is parallel to the "easy" axis, defined by total magnetic anisotropy of a given particle. Transition from multi-domain to single-domain status is associated with a significant increase of coercion field  $H_c$ . This is associated with a change of remagnetization mechanism, which in multi-domain particles consists mainly in movement of inter-domain boundaries, while in single-domain particles – in rotation processes<sup>(10,12)</sup>.

### THERAPEUTIC USES OF NANOTECHNOLOGY

Nanotechnology is a promising concept, particularly in the detection and treatment of malignancies. However, further studies are necessary in order to find optimal ways of overcoming the body's filtration and immune systems, which must be entirely

nesowania, które dla cząstek wielodomenowych odbywa się głównie przez ruch ścian domenowych, podczas gdy dla cząstek jednodomenowych – poprzez procesy rotacyjne<sup>(10,12)</sup>.

## NANOTECHNOLOGIA W TERAPII

Nanotechnologia jest obiecującą dziedziną, którą można zastosować w terapii i diagnostyce nowotworów. Nadal jednak istnieje potrzeba wykonania większej liczby badań pozwalających znaleźć najlepszą strategię pokonywania naturalnego systemu filtracji, systemu odpornościowego organizmu, który przed podaniem do wnętrza organizmu wybranych nanocząstek musi być dokładnie poznany i opanowany. System odpornościowy organizmu jest gotowy do rozpoznawania stosowanych w terapii nanocząstek. Obecnie głównym wyzwaniem dla nanotechnologii jest opracowanie takich układów nanocząstkowych, które przy podaniu ich do organizmu pozwolą uniknąć reakcji komórek układu odpornościowego lub wykorzystać je w celu naprowadzania do objętości zmiany chorobowej. Drugim ważnym problemem zastosowania nanotechnologii w terapii jest wyeliminowanie podanych wcześniej nanocząstek z organizmu. Parametrem pozwalającym na wyeliminowanie nanocząstki z organizmu jest przede wszystkim jej średnica – mniejsza niż 8 nm. Taka średnica ułatwia przedostanie się nanocząstki z moczem do nerek, ewentualnie możliwe staje się jej wyeliminowanie dzięki przepływowi moczu. Dotychczasowe badania dotyczące eliminowania obecnie stosowanych w terapii nanocząstek wykazują, że nanocząstki po rozpadzie komórki są wchłaniane przez otaczające, nienaruszone komórki guza lub zbierane przez makrofagi. Niepotrzebne już nanocząstki są przechowywane w śledzionie i wątrobie. Tutaj są rozdzielane i włączane w metabolizm łączący żelazo.

Stosowane materiały nanokompozytowe składają się często z nanocząstek maghemitu o średnicy 2-20 nm, naturalnych lub zmodyfikowanych powierzchniowo, zamkniętych w różnorodnych biokompatybilnych sferycznych nanokapsułkach.

Nanocząstki magnetyczne stosowane w terapii muszą posiadać określone właściwości:

- być biokompatybilne, nietoksyczne i dobrze tolerowane przez organizmy żywe;
- wykazywać superparamagnetyczne właściwości w temperaturze pokojowej (wykazywać własności magnetyczne po umieszczeniu w polu magnetycznym, ale nie posiadać pozostałości magnetycznej po usunięciu z pola);
- w zewnętrznym polu magnetycznym ich momenty magnetyczne powinny być jak największe, gdyż wtedy przykładowe pole może być małe, co jest korzystniejsze dla zdrowia pacjenta;
- nie powinny ulegać aglomeracji (czyli silnie ze sobą oddziaływać)<sup>(13,14)</sup>.

Nanocząstki tlenków żelaza są odpowiedniejsze do zastosowań medycznych, chociaż ich podatność magnetyczna jest o rząd wielkości mniejsza niż podatność nanocząstek żelaza. Nanocząstki żelaza łatwo się utleniają i nie są tak biokompatybilne jak nanocząstki tlenków żelaza. Nanocząstki magnetyczne mogą być wprowadzane do organizmu dwoma sposobami:

understood and controlled prior to administration of selected nanoparticles. The immune system is able to detect nanoparticles used for therapeutic purposes. Currently, the main challenge faced by nanotechnology is either to develop nanoparticles which will not elicit any immune response, or to use this response to accumulate the nanoparticles precisely within the lesion treated. Another important issue concerning therapeutic uses of nanotechnology is elimination of previously administered nanoparticles from the body. The main parameter enabling excretion of a given nanoparticle is its diameter, which must not exceed 8 nm. This size of particles facilitates passage from urine to the kidneys, while an alternative way of elimination by urinary flow is also possible. Previous studies concerning elimination of currently used nanoparticles indicate that upon cell disintegration, liberated nanoparticles are absorbed by adjacent intact tumor cells or by migrating macrophages. Superfluous nanoparticles accumulate in the spleen and in the liver. Here, they are distributed and enter the metabolic pathways of iron.

Nanocomposite materials used in medicine are often made up of maghemite nanoparticles, measuring 2-20 nm, either natural or subjected to surface modification, encased in various types of biocompatible spherical nanocapsules.

Magnetic nanoparticles used in the biomedical area must have certain well-defined features:

- they must be biocompatible, non-toxic and well-tolerated by living organisms;
- they must possess superparamagnetic properties at room temperature (featuring magnetic properties when placed in a magnetic field, but devoid of residual magnetism when taken out of it);
- they should feature the greatest possible magnetic momentum when placed in an external magnetic field, enabling application of the weakest possible magnetic field, which is favorable for the patient's health;
- they should not undergo agglomeration, i.e. should not interact excessively with one another<sup>(13,14)</sup>.

Nanoparticles of iron oxide are better suited for biomedical applications, although their magnetic susceptibility is one level of magnitude inferior to that of iron nanoparticles. The latter readily oxidize and are far less biocompatible than the former. Magnetic nanoparticles may be administered by two ways: either by injection into the bloodstream, subsequently directed towards the tumor by external magnetic field, or by direct injection into the lesion or blood vessels supplying it. Upon administration into the bloodstream, nanoparticles are quickly surrounded by plasma proteins present there. This process, known as opsonization, is by far undesirable, resulting in their rapid elimination. A significant proportion of nanoparticles is eliminated from the bloodstream within the next 15 minutes. Under physiological conditions, opsonization concerns particles recognized as noxious, which are normally eliminated by the reticulo-endothelial system, the main component of the immune system. The larger the nanoparticle, the more pronounced is the elicited reaction of immune system, but even small nanoparticles are eliminated in this way, therefore size reduction does not guarantee total success. So, in order to enable practical application

poprzez iniekcję do krwiobiegu, a następnie naprowadzanie do obszaru nowotworu za pomocą pola magnetycznego lub poprzez wstrzyknięcie bezpośrednio do obszaru guza bądź dochodzących do niego naczyń krwionośnych. Po wprowadzeniu do krwiobiegu nanocząstki są natychmiast otaczane przez znajdujące się tam składniki (białka plazmy). Proces ten, nazywany opsonizacją, jest niepożądany dla wstrzykniętych nanocząstek i powoduje natychmiastowe ich usuwanie. Znacząca część nanocząstek jest usuwana z krwiobiegu w ciągu zaledwie 15 minut. Normalnie opsonizacja dotyczy cząstek rozpoznawalnych jako szkodliwe i usuwanych przez układ siateczkowo-śródbłonkowy, główny system immunologiczny organizmu. Im większa nanocząstka, tym silniejsza jest reakcja układu immunologicznego, ale nawet małe nanocząstki są przez ten układ usuwane, więc redukcja rozmiaru nie zapewnia całkowitego powodzenia. Dlatego, aby możliwe było zastosowanie nanocząstek *in vivo* i *in vitro*, wymagana jest modyfikacja powierzchni nanocząstek, tak by były one biokompatybilne i stabilne względem układu odpornościowego. W tym celu nanocząstki magnetyczne pokrywa się biokompatybilnym polimerem, który z jednej strony ekranuje cząstkę przed układem immunologicznym, uniemożliwiając otoczenie jej białkami plazmy i usunięcie z organizmu, a z drugiej ułatwia wiązanie innych kompleksów organicznych (np. leków), które mają być transportowane do określonych obszarów chorobowo zmienionych. W literaturze najczęściej używanymi polimerami są dekstran, glikol polietylenowy (PEG), tlenek polietylenu (PEO), poloksamery (kopolimery tlenku polietylenu i tlenku polipropylenu) i poloksaminy<sup>(5,15,16)</sup>.

### W JAKI SPOSÓB CZĄSTKI SĄ WPROWADZANE DO GUZA?

W zasadzie nanocząstki zostają wprowadzone do obszaru guza nowotworowego poprzez wdrożenie ich w wyznaczone punkty. Ciecz magnetyczną zawierającą opisane wcześniej nanocząstki cechuje lepkość zbliżona do wody. Podaje się ją w iniekcji w objętości 3-10 ml, w punktach w ilości 3-20, zgodnie z systemem planowania prezentującym dystrybucję cieczy magnetycznej w obrazie 3D, co przedstawia rys. 1a. Używane systemy planowania do dystrybucji magnetycznej cieczy w obszar nowotworu pozwalają dokładnie przeliczyć ilość wprowadzonych magnetycznych nanocząstek. We wszystkich aplikacjach pozycjonowanie wprowadzonych do nowotworu nanocząstek, jak również rurek określa się za pomocą tomografii CT, a grzanie obszaru oblicza się na podstawie załączonego programu.

W całym postępowaniu obowiązują cztery zasady:

- prowadzenie nawigacji w trakcie przygotowania pacjenta do leczenia lub kontrola stereotaktyczna przy terapii guzów mózgu; określane są linie-ścieżki podania cieczy magnetycznej do guza;
- kontrola pozycji punktu iniekcji prowadzona jest za pomocą sondy transrektalnej TRUS w guzach prostaty (rys. 1b); używając sondy ultradźwiękowej, pozycje wkraplania cieczy magnetycznej ustala się analogicznie jak przy monitorowaniu implantacji miejsc ziarnami promieniotwórczego I-125 przy brachyterapii ultra LDR;

of nanoparticles both *in vitro* and *in vivo*, they require a modification of surface, so as to ensure biocompatibility and stability when faced with the immune system. To this purpose, magnetic nanoparticles are coated with a biocompatible polymer, which protects the molecule against the immune system, preventing its opsonization by plasma proteins and elimination from the organism, while at the same time facilitating binding with other organic complexes, e.g. drugs, which may be thus transported to definite diseased areas of the body. In the literature, polymers most widely used include: dextran, polyethylene glycol (PEG), polyethylene oxide (PEO), poloxamers (copolymers of polyethylene oxide and polypropylene oxide) and poloxamines<sup>(5,15,16)</sup>.

### HOW ARE NANOPARTICLES INTRODUCED INTO THE TUMOR?

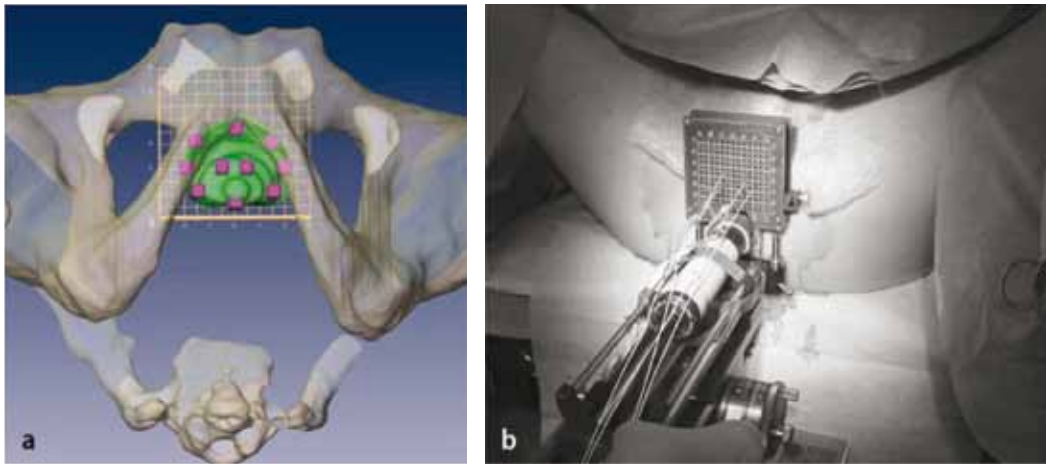
Essentially, nanoparticles are instilled into the tumor volume by placing them into predefined points. Magnetic liquid containing the above-mentioned nanoparticles is characterized by water-like viscosity. It is administered as a 3-10 ml volume, injected into 3-20 points, according to a planning system enabling a 3D representation of distribution of magnetic liquid (fig. 1a). Systems currently used to plan distribution of magnetic liquids within the tumor volume, enable a precise calculation of quantity of magnetic nanoparticles administered. In all applications, positioning of nanoparticles introduced into the tumor and location of catheters, is determined based on computed tomography, while heating effect is calculated based on the software included.

The entire procedure is based in the following principles:

- use of neuronavigation technology and/or stereotactic control when treating patients with brain tumors in order to define optimal pathways of approach for administration of magnetic liquid to the tumor;
- check of position of injection point using transrectal probe (TRUS) in the case of prostate tumors (fig. 1b); when using ultrasonic probes, points of administration of magnetic liquid are determined like when monitoring places of implantation of radioactive seeds J-125 during ultra-LDR (low-dose-release) brachytherapy;
- computed tomographic monitoring of probe introduction, while both entry-point, orientation and depth of penetration are predefined;
- intraoperatively – when during surgery definite tumor areas prove unresectable, then nanoparticles-containing magnetic liquid is instilled directly into the R1 area; the required volume is calculated and applied as evenly as possible.

### VERIFICATION OF LOCATION OF NANOPARTICLES AND LOCAL REGISTRATION OF TISSUE TEMPERATURE AFTER ADMINISTRATION OF SELECTED NANOPARTICLES

Magnetic liquid containing a suspension of nanoparticles of iron oxide measuring 15 nm in diameter, is introduced into the predetermined tissue volume, at a concentration of 112 mg/ml (fig. 2).



Rys. 1. a) Planowanie 3D aplikacji magnetycznej cieczy z nanocząstkami w punktach (róż) dla raka prostaty (zielony); b) aparatura do pomiaru temperatury z igłami i z sondą TRUS<sup>(9)</sup>

Fig. 1. a) 3D planning of application of magnetic liquid with nanoparticles at predefined points (rose) in a case of prostate cancer (green); b) equipment for monitoring tissue temperature with needle-probes and TRUS<sup>(9)</sup>

- komputerowa kontrola CT – moment wprowadzenia sondy monitorowany jest za pomocą CT; zarówno wejście, kierunek wprowadzenia, jak i głębia przebicia określane są z góry;
- śródoperacyjnie – jeżeli w trakcie zabiegu chirurgicznego określone zostały obszary guza, które nie mogą zostać usunięte, wówczas magnetyczny płyn z nanocząstkami zostaje przesączone bezpośrednio do określonego R1 obszaru; wymagana ilość płynu jest właściwie oszacowana, a następnie rozprowadzona przez lekarza, tak równo, jak to możliwe.

#### WERYFIKACJA LOKALIZACJI WPROWADZANYCH NANOCZĄSTEK I LOKALNA REJESTRACJA TEMPERATURY PO PODANIU WYBRANYCH NANOCZĄSTEK

Użyta ciecz magnetyczna z zawieszonymi w niej nanocząstkami tlenku żelaza o średnicy 15 nm wprowadzana jest w zdiagnozowany wcześniej obszar, w koncentracji 112 mg/ml (rys. 2). Użyte nanocząstki żelaza pokryte są warstwą krzemu w kształcie muszli. Specjalna powłoka pozwala przenikać do komórek nowotworowych na drodze łatwej i szybkiej dyfuzji. Możliwe staje się uzyskanie jednorodnego rozkładu użytych nanocząstek w wybranym miejscu guza nowotworowego.

Na podstawie wyznaczonego przestrzennie zakresu guza prostaty określa się punkty, w których podana zostanie magnetyczna ciecz z zawieszonymi w niej nanocząstkami tlenku żelaza. Punkty aplikacji dobiera się w odległości 8-10 mm; nanocząstki podaje się w objętości 0,2-0,4 ml.

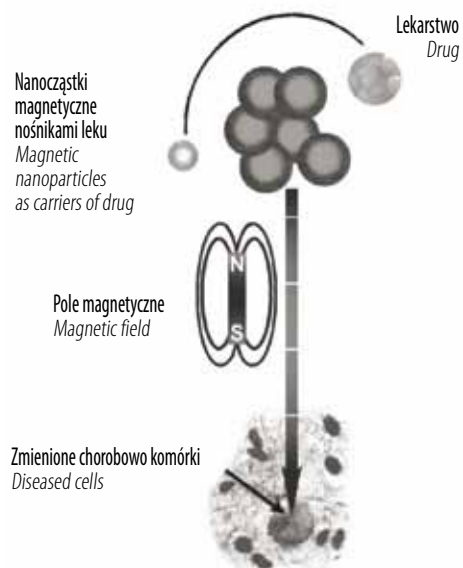
#### KLINICZNE PRZYKŁADY ZASTOSOWANIA MAGNETYCZNEJ TERMOTERAPII

Zastosowanie magnetycznych nanocząstek w terapii znalazło swe potwierdzenie we wprowadzeniu ich do badań klinicznych na pacjentach w paru ośrodkach w Niemczech. Przedmio-

Iron oxide nanoparticles are covered with a shell-shaped layer of silicon. A special coating enables their penetration into the tumor cell by easy and quick diffusion. A homogenous distribution of nanoparticles within predefined tumor volume is possible. Based on spatial extent of prostate cancer, determined are points where magnetic liquid with a suspension of iron oxide particles will be administered. Points of application are 8-10 mm apart, while the volume of nanoparticles was 0.2-0.4 ml.

#### EXAMPLES OF CLINICAL APPLICATIONS OF MAGNETIC THERMOTHERAPY

Therapeutic use of magnetic nanoparticles has been confirmed by several clinical studies performed in Germany. The following neoplasms were the subject of scientific analysis:



Rys. 2. Schemat lokalnej terapii magnetycznej<sup>(8)</sup>  
Fig. 2. Scheme of local magnetic therapy<sup>(8)</sup>

tem analizy podjętych badań klinicznych były takie nowotwory, jak:

- nowotwór złośliwy mózgu (glejak wielopostaciowy);
- rak gruczołu krokowego z pośredniego ryzyka;
- rak przełyku;
- rak piersi;
- pozostałe nowotwory, np. mięsaki, nowotwór odbytnicy, trzustki, oskrzeli, szyjki macicy.

Ogólnie podjęto badania w tych sytuacjach, w których wszystkie opcje dotychczasowego, konwencjonalnego leczenia zostały wyczerpane. Chodzi tutaj o leczenie oparte na chirurgii, chemioterapii i radioterapii. Kryteria włączania pacjentów do badań, a jednocześnie leczenia, określały w zależności od typu nowotworu i jego lokalizacji: wielkość, stopień inwazyjności, dostępność do guza, wiek pacjenta, brak części metalowych (np. endoprotezy stawu biodrowego w przypadku raka prostaty) czy stymulatora serca lub defibrylatora w pobliżu regionu leczenia (około 40 cm). Prowadzone badania obejmowały dwie fazy kliniczne. W I fazie prowadzonych badań celem było znalezienie sposobu podania cieczy magnetycznej z nanocząstkami we właściwej porcji do masy guza. Dobranie właściwe natężenia pola magnetycznego, dzięki któremu wprowadzone nanocząstki do nowotworu ulegają grzaniu, stało się istotnym parametrem. Dalsze badania kliniczne prowadzone w fazie II pozwalają na uzyskanie odpowiedzi terapeutycznej i leczenia w postaci notowanych efektów ubocznych.

## PODSUMOWANIE

Nanoterapia stanowi całkowicie nowy sposób walki z rakiem i jest pierwszym na świecie podejściem do wykorzystania magnetycznych nanocząstek w leczeniu nowotworów. Praktycznie bez żadnych skutków ubocznych polega na wstrzyknięciu w polimerowych osłonach nanocząstek tlenku żelaza precyzyjnie do guza tak, że pozostają one skoncentrowane w miejscu guza bez rozproszenia do otaczających go tkanek zdrowych. Następnie nanocząstki podgrzewane są do temperatury nawet 70°C za pomocą zewnętrznego pola magnetycznego. Ciepło uszkadza komórki guza lub niszczy je całkowicie, bez narażenia komórek zdrowych otaczających zmianę nowotworową. Pacjenci w trakcie leczenia czują tylko umiarkowane uczucie ciepła.

Głównym celem zastosowanego leku na bazie nanocząstek tlenku żelaza było i jest wykazanie przedłużenia średniego czasu przeżycia w badanej grupie pacjentów. Wizją przyszłości jest stworzenie nowej technologii z użyciem nanocząstek, która obok chirurgii, chemioterapii i radioterapii będzie stanowiła dodatkowy filar w terapii raka.

## PIŚMIENNICTWO: BIBLIOGRAPHY:

1. van der Zee J.: Heating the patient: a promising approach? *Ann. Oncol.* 2002; 13: 1173-1184.
2. Hildebrandt B., Wust P., Ahlers O. i wsp.: The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2002; 43: 33-56.

- malignant brain tumor (glioblastoma);
- moderate-risk prostate cancer;
- esophageal cancer;
- breast cancer;
- other malignancies (e.g. sarcoma, rectal cancer, pancreatic cancer, bronchial cancer, cervical cancer).

In general, studies were undertaken only in cases, where all hitherto implemented options of conventional treatment proved ineffective, i.e. treatment based on surgery, chemotherapy and radiotherapy. Inclusion criteria for participation in the studies and novel treatment modality, relied on, depending on type and location of tumor, its size, invasiveness, accessibility, patient's age, lack of implanted metallic devices (e.g. hip joint endoprosthesis in the case of prostate cancer) or pacemaker or defibrillator within less than 40 cm to treated area. Studies' design included two clinical phases. Phase I aimed at finding the way to administer magnetic liquid containing nanoparticles at the best proportion related to tumor mass. An important parameter thereby was to define optimal force of magnetic field, enabling effective heating of nanoparticles introduced into the tumor. Further phase II clinical studies will provide data concerning therapeutic response and possible side effects.

## SUMMATION

Nanotherapy is an entirely novel approach to fight cancer and is the first attempt worldwide at using magnetic nanoparticles in the treatment of tumors. It is practically devoid of side effects and consists in injection of nanoparticles of iron oxide coated by polymers, precisely into the tumor, so as to obtain their high concentration within tumor mass, while preventing their spread to adjacent healthy tissues. Subsequently, these nanoparticles are heated to temperatures exceeding 70°C using external magnetic field. Heat damages tumor cells or destroys them completely, while sparing healthy cells surrounding the neoplasm. During treatment, patients experience only moderate heat within the treated area.

The main rationale for therapeutic use of iron oxide nanoparticles was and is to demonstrate improvement of mean survival rate in the group of patients analyzed. Our vision for the future is the development of a novel, nanoparticles-based technology, which, besides surgery, chemotherapy and radiotherapy, will become a valuable tool in our fight against cancer.

3. Wust P., Hildebrandt B., Sreenivasa G. i wsp.: Hyperthermia in combined treatment of cancer. *Lancet Oncol.* 2002; 3: 487-497.
4. Alexander H.R.: Isolation perfusion. W: DeVita V.T. Jr, Hellman S., Rosenberg S.A. (red.): *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. Vol. 1 i 2. Wyd. 6, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 2001.
5. Falk M.H., Issels R.D.: Hyperthermia in oncology. *Int. J. Hyperthermia* 2001; 17: 1-18.
6. Dewhirst M.W., Gibbs F.A. Jr, Roemer R.B., Samulski T.V.: Hyperthermia. W: Gunderson L.L., Tepper J.E. (red.): *Clinical Radiation Oncology*. Wyd. 1, Churchill Livingstone, New York, NY 2000.

7. Kapp D.S., Hahn G.M., Carlson R.W.: Principles of hyperthermia. W: Bast R.C. Jr, Kufe D.W., Pollock R.E. i wsp. (red.): Cancer Medicine e.5. Wyd. 5, B.C. Decker Inc, Hamilton, Ontario 2000.
8. Soto K.F., Carrasco A., Powell T.G. i wsp.: Biological effects of nanoparticulate materials. *Materials Science and Engineering: C* 2006; 26: 1421-1427.
9. Jordan A., Maier-Hauff K., Wust P. i wsp.: Thermotherapie mit magnetischen Nanopartikeln. *Der Onkologe* 2007; 13: 894-902.
10. Jurczyk M.: Zastosowanie osiągnięć nanotechnologii w terapii nowotworowej. *Ginekol. Prakt.* 2009; 3: 21-26.
11. Battle X., Labarta A.: Finite-size effects in fine particles: magnetic and transport properties. *Journal of Physics D: Applied Physics* 2002; 35: R15.
12. Jurczyk M., Jakubowicz J.: *Bionanomateriały*. Wydawnictwo Politechniki Poznańskiej, 2008.
13. Costa V.C., Costa H.S., Vasconcelos W.L. i wsp.: Preparation of hybrid biomaterials for bone tissue engineering. *Materials Research* 2007; 10: 21-26.
14. Kriz C.B., Rådevik K., Kriz D.: Magnetic permeability measurements in bioanalysis and biosensors. *Anal. Chem.* 1996; 68: 1966-1970.
15. Stylios G.K., Giannoudis P.V., Wan T.: Applications of nanotechnologies in medical practice. *Injury* 2005; 36 supl. 4: S6-S13.
16. Stylios G., Wan T., Giannoudis P.: Present status and future potential of enhancing bone healing using nanotechnology. *Injury* 2007; 38 supl. 1: S63-S74.