

**Diplomarbeit**

**Effekte einer moderaten Infrarot- Ganzkörper- Hyperthermie auf die Akut-  
Phase Reaktion**

eingereicht von :

**Yvonne Fuchs**

0310836

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde  
(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Innere Medizin  
Klinische Abteilung für Rheumatologie und Immunologie**

unter der Anleitung von

**Univ.- Prof. Dr. Graninger Winfried**

**Ass. Dr. Zauner Dorothea**

Ort, Datum .....

(Unterschrift)

***Eidesstattliche Erklärung***

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

Graz, am .....

Yvonne Fuchs

## Danksagung

Für die Unterstützung bei meiner Diplomarbeit und gleichsam natürlich auch bei meinem gesamten Medizinstudium, möchte ich mich an dieser Stelle bei zahlreichen Personen, die diesen Weg für mich erst möglich gemacht haben, herzlich bedanken.

Besonderer Dank gilt meinem Betreuer, Herr **Univ. Prof. Dr. Winfried Graninger**, der mir das Verfassen dieser Arbeit erst möglich gemacht hat und mir während des gesamten Zeitraums immer mit Rat und Tat zur Seite stand.

Darüber hinaus möchte ich mich bei Frau **Dr. Dorothea Zauner** ganz herzlich bedanken, die wesentlich zur Entstehung meiner Diplomarbeit beigetragen hat. Als Ansprechpartnerin und unterstützende Kraft, hatte sie immer ein offenes Ohr für meine Anliegen. Ihre Neugierde und ihr Interesse für die Medizin werden mir immer Lehrer sein.

Für die maßgeblichste Unterstützung möchte ich zuletzt noch meinen **Eltern, Großeltern und Freunden** danken. Sie begleiteten mich durch alle Höhen und Tiefen und standen mir immer mit bestem Wissen und Gewissen zur Seite. Ohne sie wäre die Absolvierung dieses bedeutenden Lebensabschnittes nie möglich gewesen.

Vielen herzlichen Dank für eure sorgsame Unterstützung!

## Zusammenfassung

Die Speläotherapie im Radonstollen ist eine häufig verwendete Form in der Balneotherapie der ankylosierenden Spondylitis und anderer, meist muskuloskelettaler Erkrankungen. Unter den Wirkmechanismen dieser empirischen Heilmethode könnte der Überwärmung im Heilstollen eine wesentliche Rolle zukommen. Eine immunologische Wirkweise der Hyperthermie kann postuliert werden und stellt die Kernhypothese unseres Projektes dar.

Wir untersuchten den Einfluss einer nachweislichen Erhöhung der Körperkerntemperatur (Hyperthermie) auf die Akut- Phase Proteine im Blut gesunder Probanden. Die Erwärmung erfolgte durch Infrarotbestrahlung in dem Hitzzelt HT3000 der Firma Heckel. Die Rektaltemperatur wurde auf 38,7 Grad erhöht und die Konzentration der zirkulierenden Akut- Phasen Proteine CRP, C3/4, Haptoglobin, Transferrin und Alpha 1- Antitrypsin wurde gemessen.

In den Ergebnissen ergab sich keine signifikante Änderung der Werte die im Normbereich blieben, die Analyse der Zellphenotypisierung im Durchflusszytometer ergab eine Erhöhung der Leukozyten im Blut mit einer vermehrten Zahl an neutrophilen Granulozyten, NK- Zellen und Monozyten und einem Abfall von Lymphozyten.

Im Hinblick auf die grobe Bedeutung der Akut- Phase Proteine ergab sich kein signifikanter Effekt einer milden Hyperthermie bei Gesunden.

Weitere Untersuchungen von zusätzlichen, subtileren Parametern der Abwehrfunktion sind von Interesse.

Zusammenfassend stellte sich bei gesunden Probanden bisher keine Erklärung für die Wirkweise von Körpererwärmung bei der Behandlung von rheumatologischen Beschwerden heraus.

**Abstract**

Speleotherapy in a Radon- gallery is a commonly used form of treatment for ankylosing spondylitis or other musculoskeletal disorders.

Thus far, the mechanisms of the beneficial influence on the symptoms of spondylitis ankylosans are still unclear but the warm temperature inside the gallery could play a crucial role.

An immunological effect of hyperthermia can be postulated and is the hypothesis of our project.

The aim of this study was to examine the influence of hyperthermia induced by a single Infrared- Whole- Body- Device on the acute phase response of ten healthy men.

CRP, transferrin, alpha-1- antitrypsin, C3/4 and haptoglobin were analyzed.

We exposed our probands in the heat chamber HT3000 (Heckel Medizintechnik GmbH), until they reached the target rectal temperature of 38,7° C.

There were no statistical changes detectable in the values of circulating acute phase proteins.

The Flow Cytometry- analyses showed a significant increase of neutrophiles, monocytes and NK- cells, while numbers of lymphocytes decreased.

Further studies are necessary to examine more subtle parameters of the immune system.

Taken together, our data did not provide any explanation for a mechanism of hyperthermia in the treatment of rheumatic disorders.

## Inhaltsverzeichnis

Danksagung .....	II
Zusammenfassung .....	III
Abstract .....	IV
Inhaltsverzeichnis .....	V
Glossar .....	VII
Abbildungsverzeichnis .....	VIII
1 Einleitung .....	9
1.1 <i>Hintergründe zur Entstehung des Projektes</i> .....	9
1.1.1 Die Rationale: Heilerfolge im Heilstollen .....	10
1.1.2 Die postulierte Wirkungsweise von Radon .....	12
1.1.3 Hyperthermiebehandlungen .....	14
1.2 <i>Die Welt der Hyperthermie</i> .....	16
1.2.1 Ein Blick zurück in die Geschichte der Hyperthermie .....	16
1.2.2 Techniken der Hyperthermieerzeugung .....	17
1.2.3 Physiologische Aspekte und Mechanismen der Temperaturregulation .....	20
1.2.4 Klinische Erfahrung und Einsatzgebiete .....	22
1.3 <i>Hyperthermie und das Immunsystem</i> .....	25
1.3.1 Einleitung .....	25
1.3.2 Zelluläre und molekulare Aspekte .....	26
1.3.2.1 NK-Zellen .....	26
1.3.2.2 Die Rolle von NK2GD .....	28
1.3.2.3 T- Zellen .....	29
1.3.2.4 Hitzeschockproteine .....	30
1.3.2.5 Hyperthermie und Lymphozytenadhäsion .....	32
1.3.2.6 Literatursuche .....	33
1.4 <i>Die Akut-Phase-Reaktion</i> .....	34
1.4.1 Zytokine .....	35
1.4.2 Akut- Phase Proteine .....	37
1.4.2.1 CRP .....	37
1.4.2.2 Komplement –C3, C4 .....	38
1.4.2.3 Haptoglobin .....	39
1.4.2.4 Alpha 1- Antitrypsin .....	39
1.4.2.5 Transferrin .....	40
1.4.3 Das Ende einer Akut- Phase Reaktion .....	40
1.4.4 Hyperthermie und die Akut- Phase Proteine .....	41

2	Methoden.....	43
2.1	<i>Temperaturmessung</i> .....	43
2.1.1	Messmethoden.....	43
2.2	<i>HT3000</i> .....	45
2.2.1	Wirkungsweise.....	46
2.2.2	Handhabung.....	46
2.3	<i>Ablauf der Studie</i> .....	47
2.3.1	Probanden.....	47
2.3.2	Zeitlicher Ablauf.....	48
2.3.3	Physikalischer Status.....	48
2.3.4	Blutabnahmen.....	49
2.3.5	Zieltemperatur- Das Problem mit den Standards.....	49
2.3.6	Die Wahl der Akut- Phase Proteine.....	51
2.3.7	Finanzierung.....	52
2.4	<i>Statistische Methoden</i> .....	53
3	Ergebnisse.....	54
3.1	<i>Allgemein</i> .....	54
3.2	<i>Akut- Phase Proteine</i> .....	55
3.3	<i>Leukozytentyppisierung</i> .....	57
4	Diskussion.....	59
4.1	<i>Allgemein</i> .....	59
4.1.1	Temperatur.....	60
4.2	<i>Diskussion der Ergebnisse</i> .....	60
4.2.1	Akut- Phase Proteine.....	60
4.2.2	Leukozytentyppisierung.....	62
	Literaturverzeichnis.....	65

## Glossar

Balneologie : „Ist die Bäderkunde, also die Lehre von der therapeutischen Anwendung natürlicher Heilquellen, Heilgase und Pелоide in Form von Bädern, Trinkkuren und Inhalationen.“

Fieber : „Zustand erhöhter Körperkerntemperatur, der meistens als Begleiterscheinung der Abwehr gegen eindringende lebende Mikroorganismen oder andere als fremd erkannte Stoffe auftritt, sowie seltener im Rahmen anders verursachter Entzündungsvorgänge, Traumata oder als Begleiterscheinung bei manchen Tumoren vorkommt.“

Hyperthermie :“ In der Medizin eine Behandlung, bei der die Temperatur des Körpergewebes künstlich erhöht wird.“

Interleukine : „Sind körpereigene Botenstoffe der Zellen des Immunsystems. Das Wort Interleukin kommt dabei aus dem Lateinischen: *inter* = *zwischen* und griechischen *leukos* = *weiß*. Sie vermitteln die Kommunikation *zwischen Leukozyten*, aber auch anderen an der Immunreaktion beteiligten Zellen (z. B. Makrophagen). Nach der Reihenfolge ihrer Entdeckung werden sie in mehrere Untergruppen unterteilt, die durch Zahlen gekennzeichnet werden (IL-1 bis IL-35; Stand November 2009).

Speläotherapie : „Ist die Behandlung in einer so genannten Heil- oder Klimahöhle. Speläotherapie wird auch als Höhlentherapie, Untertage-Klimatherapie bzw. Heilstollentherapie bezeichnet.“

(90)

**Abbildungsverzeichnis**

**Abbildung 1** zeigt den unterschiedlichen Temperaturverlauf beider Messmethoden über die Zeit..... 54

**Abbildung 2** Akut- Phase Proteine ..... 55

**Abbildung 3** Leukozytentypisierung..... 57

# 1 Einleitung

## 1.1 *Hintergründe zur Entstehung des Projektes*

Seit 1952 reisen jährlich zahlreiche Patienten mit vorwiegend rheumatologischen Erkrankungen nach Bad Gastein in Salzburg. Unter anderem Patienten mit Morbus Bechterew erfahren durch einen Kuraufenthalt im Böckstein-Heilstollen eine Linderung ihrer Beschwerden. <sup>(1-6)</sup>

Wie für viele balneologische Verfahren gibt es nur wenig wissenschaftliche Evidenz für die Wirksamkeit und die Wirkmechanismen. Allgemeine Aspekte wie der Ortswechsel, die Ruhe und auch das Klima spielen eine Rolle. Aber auch lokale Einzelstellungsmerkmale (ortsgebundenes Vorkommen von Heilwässern, Gasen oder geographisch- klimatische Faktoren) sind für die positiven Einflüsse auf das Beschwerdebild der Patienten relevant. Gegenstand der Balneologie ist die therapeutische Anwendung natürlicher Heilquellen und Heilgase, in Form von Bade-, Trink- oder Inhalationskuren. Die Speläotherapie, die Höhlentherapie, macht sich das Klima (Luftfeuchtigkeit, Heilgase) v.a. in Höhlen oder stillgelegten Bergwerken für therapeutische Zwecke zu Nutze. In diesen Höhlen kann ein warmes oder auch kaltes Klima vorherrschen. Im Gasteiner Böckstein- Heilstollen ist es warm und darüber hinaus ist die Konzentration des radioaktiven Edelgases Radon erhöht. Die Mechanismen die zu einer Beschwerdebesserung führen, sind unklar. Die hohe Luftfeuchtigkeit, das Radon, das warme Klima aber auch psychosomatische Interaktionen könnten auf die Symptome der Patienten einen positiven Einfluß nehmen.

Wir fokussierten unsere Untersuchungen auf den Faktor Temperatur. Um die Auswirkungen der Wärme auf Funktionsparameter des Immunsystems zu untersuchen, planten wir eine, die Kerntemperatur des Körpers verändernde, Intervention. Wir verwendeten in der vorliegenden Studie ein Infrarot- Ganzkörperhyperthermie- Gerät, welches eine exakt steuerbare Erhöhung der Körperkerntemperatur ermöglicht.

Da bis jetzt kaum wissenschaftliche Untersuchungen zur Wirkungsweise von Hyperthermie auf das Immunsystem angestellt wurden, beschäftigt sich die vorliegende Diplomarbeit mit den Auswirkungen einer einmaligen

Ganzkörperhyperthermieexposition auf die Konzentration von Akut-Phase Proteinen als Ausdruck einer Aktivierung des unspezifischen Immunsystems bei gesunden Probanden.

Dabei sollen Richtwerte für weitere Untersuchungen bei Patienten mit Morbus Bechterew gewonnen werden.

### **1.1.1 Die Rationale: Heilerfolge im Heilstollen**

Zu Beginn des 2. Weltkrieges wurde versucht, den Goldabbau in dieser Region wieder zum Leben zu erwecken und man fand, daß im Stollen sehr hohe Temperaturen von bis zu 44°C und eine Luftfeuchtigkeit von bis zu 100% herrschten. Es fiel auf, dass viele Bergarbeiter von einer Linderung ihrer rheumatischen Beschwerden berichteten. Auch Hauterkrankungen waren nach der Arbeit im Stollen plötzlich verschwunden. Seit den 50iger Jahren des letzten Jahrhunderts reisen nun jährlich große Zahlen von Patienten nach Bad Gastein, um dort eine Linderung ihrer Beschwerden, v.a. ihrer Schmerzen zu erfahren. <sup>(1)</sup>

Mittlerweile werden Patienten mit folgenden Indikationen im Heilstollen therapiert:

#### **Erkrankungen des Stütz- und Bewegungsapparates**

- Morbus Bechterew
- Chronische Polyarthritis
- Arthrosen
- Chronische Gicht
- Arthritis psoriatica
- Fibromyalgie Syndrom
- Osteoporoseschmerzen
- Neuralgien und Polyneuropathien
- Sportverletzungsfolgen

Darüber hinaus werden aber auch Patienten mit Haut- und Atemwegserkrankungen im Bockstein- Heilstollen behandelt. <sup>(1)</sup>

Eine quantitativ sehr wichtige Indikation ist die Behandlung des Morbus Bechterew. Bei dieser Erkrankung spielen neben pharmakologischen Therapieansätzen auch nicht pharmakologische Therapieformen eine große Rolle.

Die wichtigsten Ziele der physikalischen Therapie sind Schmerzreduktion und Erhaltung bzw. Verbesserung der Beweglichkeit. Hier nimmt einerseits die Physiotherapie mit Einzelheilgymnastik und mobilisierenden Methoden einen hohen Stellenwert ein, ergänzend haben sich aber mittlerweile auch die Radon- Höhlentherapie, in Österreich zum Beispiel im Bad Gasteiner Bockstein-Heilstollen, etabliert. Auch in Deutschland, Italien, Frankreich, Polen, Tschechien, Bulgarien, Ungarn und Russland befinden sich Heilstollen- Therapiezentren. <sup>(35)</sup>

Neben den hohen Temperaturen im Heilstollen von bis zu 41.5°C und der hohen Luftfeuchtigkeit 70- 100%, wird dem Radon in der Luft mit einer Konzentration von etwa 44 kBq/m<sup>3</sup> (bis maximal 160 kBq/m<sup>3</sup>) eine maßgebliche Wirkung für die lang anhaltende Schmerzreduktion, verminderte Morgensteifigkeit und besseres allgemeines Wohlbefinden, zugeschrieben.

Zur Evidenzgewinnung wurden bereits Kurverlaufsbeobachtungen an mehreren hundert Patienten und randomisiert kontrollierte Studien durchgeführt:

Eine große randomisierte kontrollierte Studie wurde an 120 holländischen Bechterew-Patienten, durchgeführt. <sup>(5)</sup>

Die Studienteilnehmer wurden zuerst in 3 Gruppen mit jeweils 40 Probanden geteilt, wovon die erste Gruppe ihr übliches Gymnastikprogramm weiterführte und als Kontrollgruppe diente. Eine weitere Gruppe blieb auch in Holland, nahm jedoch an einem umfangreichen, 3-wöchigen Rehabilitationsprogramm mit aufwendiger physikalischer Therapie und 10-maligem Saunabesuch teil. Die dritte Gruppe verbrachte einen 3-wöchigen Rehabilitationsaufenthalt in Bad Gastein, wo neben dem Bewegungsprogramm 10 Einfahrten in den Gasteiner Bockstein-Heilstollen stattfanden. Ausgewertet wurde der Einfluss der einzelnen Behandlungskonzepte mittels der Erhebung der funktionellen Kapazität (Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index- BASFI), des Gesamtwohlfindens der Patienten, der Schmerzintensität und der Dauer der Morgensteifigkeit.

Nach der Behandlung zeigten die Patienten der zweiten und dritten Behandlungsgruppe ein signifikant besseres Ergebnis im Vergleich zur Kontrollgruppe. Nach weiteren 16 und 28 Wochen profitierten die Patienten beider Gruppen nach wie vor von der Behandlung, ein signifikanter Unterschied zeigte sich jedoch nur mehr in der dritten Gruppe.

Nach insgesamt 40 Wochen war bei Patienten der 3. Gruppe nach wie vor ein Unterschied festzustellen, der allerdings nicht mehr signifikant war.

Eine Befragung von 404 Bechterew- Patienten direkt nach der Stollentherapie ergab bei 83.4% eine deutliche Besserung, bei 16.6% eine Verschlechterung der Beschwerdesymptomatik. Interessanterweise zeigte sich auch hier nach 3- 9 Monaten bei 75,4% noch immer eine anhaltende Beschwerdeverbesserung. <sup>(2)</sup>

Der verzögerte, schmerzstillende Effekt dieser Therapieform wurde auch in weiteren Studien aufgezeigt: Eine Metaanalyse aus 5 klinischen Studien mit insgesamt 338 Probanden ergab eine signifikante Schmerzlinderung nach 3 und 6 Monaten im Vergleich zu Kontrollgruppen, die nicht mit Radon behandelt wurden. <sup>(4)</sup>

### **1.1.2 Die postulierte Wirkungsweise von Radon**

Radon ist ein Edelgas und ein Abkömmling von Uran, welches in Radium und schließlich in Radon zerfällt und ubiquitär vorkommt.

Von den 3 natürlich vorkommenden Radonisotopen ist das Radon222 das biologisch Wichtigste. Es hat eine HWZ von 30 Minuten, ist farb- und geruchlos und 7.6mal schwerer als Luft. Hauptsächlich werden alpha- und beta- Strahlen emittiert.

Radon wird in erster Linie über Haut und Lunge aufgenommen, Hitze und CO<sub>2</sub> erleichtern dabei die Aufnahme. Radon wird in den verschiedensten Formen angewendet z.B. auch zu Bädern hinzugefügt, inhaliert oder in Form von Wasser, das mit Radon angereichert ist, getrunken. Die letztere Methode ist jedoch heutzutage nicht mehr üblich.

59% des vom Körper aufgenommenen Radon , wird innerhalb von 15- 30 Minuten auch wieder eliminiert, nach 2-3- Stunden kann kein Radon mehr im Körper nachgewiesen werden. <sup>(35)</sup>

Der genaue Wirkmechanismus von Radon ist nicht bekannt, im Hinblick auf die analgetische Wirkung gibt es mehrere Hypothesen:

- Anregung der Cortisolproduktion durch Zerfallsprodukte von Radon, die sich in der Nebennierenrinde ablagern
- Produktion von enzymatischen Radikalfängern durch eine vermehrte Radikalbildung
- Stimulierung von DNA- Reparaturmechanismen. <sup>(5)</sup>

Bisher gibt es nur sehr wenig Studien, die sich mit dem Einfluss der Radon- oder der Speläotherapie auf das Immunsystem befassen. Ein direkter Effekt der Radontherapie auf immunologische Prozesse wurde gezeigt: Bei insgesamt 83 Bechterew- Patienten zeigte sich nach einer 4-wöchigen Kombinationstherapie aus Hyperthermie, Exposition mit niedrigen Radondosen im Gasteiner Bockstein-Heilstollen und gymnastischen Übungen eine bis zu 17fache Erhöhung von zirkulierendem TGF-beta1- Spiegel.

Die Autoren stellten die Hypothese auf, daß TGF-beta1 als antiinflammatorisches Zytokin durch eine Beschleunigung des Heilungsprozesses auch zu einer Besserung der Schmerzsymptomatik führe. <sup>(39)</sup>

Die genauen biologischen Mechanismen, die zur Erhöhung von TGF- beta1 führten sind aber noch unklar. Die Frage bleibt auch offen, ob die Wirkung des Radons ursächlich daran beteiligt ist oder ob die Hyperthermie allein nicht die selbe Wirkung erzielen könnte.

Als problematisch könnte bei der Anwendung von Radon der vermutete Zusammenhang mit einem erhöhten Lungenkrebsrisiko gesehen werden.

In den 50er Jahren wurde ein vermehrtes Auftreten von Lungenkrebserkrankungen bei Uranarbeitern, die hohen Dosen von Radon ausgesetzt waren, beobachtet. Grundsätzlich besteht kein Zweifel, dass diese hohen Radonkonzentrationen zur Lungenkrebsentstehung beigetragen haben, doch inwieweit beispielsweise Dieseldämpfe, Zigarettenrauchen oder andere Karzinogene ihren Beitrag hatten, bleibt offen. <sup>(35)</sup>

Zigarettenrauchen ist als ursächlicher Einfluss auf die Entstehung von Lungenkrebs unumstritten. Doch in 10-15% der Fälle lässt sich bei Erkrankten keine Raucheranamnese finden. Man geht mittlerweile davon aus, dass auch die Radonexposition hierbei eine wichtige Rolle spielt. <sup>(81)</sup>

Eine aktuelle Untersuchung zeigte einen signifikanten Einfluss des natürlich vorkommenden Radongehaltes in der Umwelt auf das Lungenkrebsrisiko. Gefährlich ist dabei die beim radioaktiven Zerfall von Radon abgegebene Alpha-Strahlung, die nach Inhalation zu DNA-Schäden führen kann. Es kann diskutiert werden, ob dieser Zusammenhang in einem linearen, Dosis-abhängigen Verhältnis steht. <sup>(82)</sup>

### 1.1.3 Hyperthermiebehandlungen

Im Gasteiner- Bockstein Heilstollen herrschen hohe Temperaturen.

Daher drängt sich die Frage auf, inwieweit die Wärme im Stollen ausschlaggebend für die berichteten positiven Effekte ist.

Einige Erklärungsmodelle für den schmerzlindernden Effekt von Hyperthermiebehandlungen umfassen:

- Vermehrte Gewebsdurchblutung durch wärmeinduzierte Vasodilatation
- Relaxierung der Skelettmuskulatur
- Verminderung der Gewebsspannung in den entzündeten Geweben
- Reduktion von erhöhtem reflektorischem Muskeltonus

Dabei müssen jedoch lokale Wärmeanwendungen von Ganzkörperhyperthermie-Behandlungen unterschieden werden. Grundsätzlich ist zu sagen, dass besonders Patienten mit chronischen Entzündungen von einer Hyperthermiebehandlung profitieren. <sup>(41,43)</sup>

Bei akuten Entzündungen ist die Studieneinlage diesbezüglich sehr uneindeutig, eine generelle Indikation kann nicht gestellt werden.

Als Beispiel sei hier eine placebokontrollierte Studie erwähnt, die bereits in den 70er Jahren an Versuchstieren durchgeführt wurde. Dazu wurden durch Injektion verschiedener Substanzen in die Pfoten von Ratten unterschiedliche Formen akuter Entzündungen provoziert und die Tiere anschließend verschiedenen Temperaturen ausgesetzt. Dabei zeigte sich mit Ausnahme der Formalin-induzierten Entzündung bei allen Tieren eine Verringerung der Schwellung durch Anwendung von Hyperthermie.

Die Autoren folgerten daraus, daß es durch die Hyperthermiebehandlung zu einer Inhibierung des Immunsystems gekommen war. <sup>(43)</sup>

Andererseits könnte möglicherweise ein Teil der positiven Auswirkungen von Hyperthermiebehandlungen, auch auf eine Modulation des Immunsystems zurückzuführen sein. In einer Studie konnte bei Bechterew- Patienten, nach einer seriellen Hyperthermiebehandlung eine signifikante Reduktion von TNF- alpha, IL- 1beta und IL-6 im Serum nachgewiesen werden, wobei allerdings nur Messwerte vor und nach der letzten Hyperthermiebehandlung vorliegen. <sup>(42)</sup>

Es existieren bis heute verhältnismäßig wenige Studien zur genauen Evaluierung der Indikationen und immunologischen Wirkungsweise von Hyperthermiebehandlungen bei rheumatologischen Erkrankungen. Es stellt sich nach wie vor die Frage nach den Auswirkungen einer Hyperthermiebehandlung auf zelluläre und humorale Komponenten des Immunsystems.

## 1.2 Die Welt der Hyperthermie

### 1.2.1 Ein Blick zurück in die Geschichte der Hyperthermie

“**Quae medicamenta non sanat, ferrum sanat. Quae ferrum non sanat, ignis sanat. Quae vero ignis non sanat, insanabilia reportari oportet.** (Jene, die durch Medikamente nicht geheilt werden, werden durch das Skalpell geheilt. Jene, die durch das Skalpell nicht geheilt werden, werden durch Hitze geheilt. Jene, die die Hitze nicht heilt, müssen als unheilbar angesehen werden.)“

Bereits Hippokrates war also von der heilenden Wirkung von Wärme überzeugt und dieses Zitat gibt Aufschluss darüber, dass bereits in der griechischen Antike Wärmeanwendungen in Form von Bädern oder Hitzekammern ein integraler Bestandteil der damaligen Kultur waren. Aber auch in vielen anderen Kulturen, wie bei den Ägyptern, in der ayurvedischen Tradition Indiens bis hin zu den kalten Regionen Skandinaviens wurden die verschiedensten Formen der Wärmebehandlung durchgeführt. <sup>(9)</sup> William Coley, ein Chirurg und Onkologe aus New York, war ein Pionier im Bereich der Krebstherapie. Nachdem er viel von der erfolgsversprechenden Wirkung von fieberhaften Zuständen gehört hatte, begann er zu Beginn des 19. Jahrhunderts, primär inoperable Sarkome mit einer Vakzine aus hitzeinaktivierten *Streptococcus pyogenes* und *Serratia marcescens* zu behandeln. Dadurch erreichte er eine Heilungsrate von 10%. <sup>(13)</sup> Aber nicht nur Malignome sondern auch die Syphilis wurden behandelt, indem man die Patienten in Sauna- ähnliche Räume setzte. Auch andere Infektionskrankheiten wie die Gonorrhoe, sowie Asthma und Chorea minor wurden auf diese Weise therapiert. Außerdem entdeckte ein französischer Arzt namens Deidier, dass bei Patienten mit Syphilis weniger Malignome auftraten. Er glaubte, die Fieberzustände bei dieser Erkrankung, würden die Patienten vor Malignomen schützen. <sup>(12)</sup> Der Wiener Psychiater Julius Wagner von Jauregg erhielt in diesem Zusammenhang den Nobelpreis für Medizin. 1917 gelang es ihm, mit Hilfe von Plasmodien der *Malaria tertiana* eine Fiebertherapie zu entwickeln, mit der er die progressive Paralyse bei Neurolyues erfolgreich behandeln konnte. Bis zur Entdeckung und Entwicklung von Antibiotika wurde diese Therapie praktiziert. <sup>(15)</sup> Zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurden immer mehr Apparate zur Erwärmung entwickelt und seit den 70iger Jahren, als man eine synergistische Wirkung von Hyperthermie und Strahlentherapie beobachtete, werden v.a. in der onkologischen Forschung Studien durchgeführt. <sup>(17)</sup>

## 1.2.2 Techniken der Hyperthermieerzeugung

Der Ursprung des Wortes Hyperthermie liegt im Griechischen und bedeutet Überwärmung. (hyper: mehr; thermos: die Wärme)

Es gibt viele Methoden die Körperkerntemperatur zu erhöhen.

In der Vergangenheit wurden meist verschiedene pyrogene Substanzen verabreicht, die im Körper ein Fieber erzeugten. Doch es gab viele Schwierigkeiten, passende Pyrogene zur Zulassung zu bringen. Aufgrund dessen wurde die Entwicklung physikalischer Methoden zur Erzeugung von fieberähnlichen Temperaturen forciert, die, im Gegensatz zu Fieber, der einen aktiv regulierten Prozess darstellt und durch antipyretische Medikamente unterdrückt werden kann, eine passive Erhöhung der Körperkerntemperatur bewirken und auch den thermoregulatorischen Setpoint nicht verändern. <sup>(14)</sup>

### Physikalische Methoden

Grundsätzlich können 2 Hyperthermieformen unterschieden werden:

- Regionale Hyperthermie
- Ganzkörperhyperthermie.

Im Wesentlichen werden 2 physikalische Energieträger für die lokale Gewebserwärmung angewendet:

- Elektromagnetische Wellen
- Ultraschall

In der klinischen Anwendung hat sich v.a. die Methodik mit elektromagnetischen Wellen durchgesetzt, denn Ultraschall lässt sich zwar gut fokussieren, doch muss Ultraschall Knochen oder Luft passieren, so kommt es durch Phänomene wie Kavitation oder Absorption, zu klinischen Einschränkungen.

Bei den **lokalen Verfahren** werden Applikatoren auf die Haut angebracht und mittels Radio-, Mikro- oder Ultraschallwellen, kann das darunter liegende Gewebe erhitzt werden. In der Regel ist die Eindringtiefe 3-4cm, wobei das stark abhängig von Applikatorgrößen und verwendeten Techniken ist.

Im klinischen Setting findet diese Methode ihre Verwendung bei oberflächlich gelegenen Tumoren, wie einzelnen Halslymphknotenmetastasen, Melanomen oder Rezidiven nach Brustkrebs. Zur Behandlung von größeren Körperabschnitten wird die technisch viel anspruchsvollere Methode der nichtinvasiven regionalen Hyperthermie eingesetzt.

Tiefliegende Tumore des Beckens oder des Abdomens, aber auch tiefliegende Extremitäten- und Stammtumoren, wie lokal fortgeschrittene Rektumkarzinome, kapselüberschreitende Prostatakarzinome oder Gebärmutterhalskrebs, werden mit dieser Technik behandelt. Damit die Eindringtiefe erhöht werden kann, verwendet man viel niedrigere Frequenzen, von 70- 150 MHz.

Eine Weiterentwicklung dieser Methode stellt die Teilkörperhyperthermie dar. Dabei wird das Hyperthermiegerät mit einem magnetresonanztomographischen Monitoring gekoppelt, was eine genaue Temperaturverteilung oder die Erfassung anderer therapiebedingter Änderungen (z.B. Koagulationsnekrosen), erlaubt.

Diese neuartigen Systeme werden auch als Hybridtechniken bezeichnet.

Die **Ganzkörperhyperthermie** erwärmt den gesamten Körper meistens durch Infrarotsysteme oder infrarotähnliche Systeme. Dabei werden Patienten in ein Hohlraumsystem gelagert und mittels verschiedener Energieträger, wird der Körper, ausgenommen des Kopfes, erhitzt.

Die dabei entstehende, wasserdampfgesättigte Atmosphäre im Inneren dieses Hohlraumes, verhindert dabei, dass zu viel Hitze über die Haut verloren geht.

Einfachere Möglichkeiten den gesamten Organismus zu erhitzen, sind beispielsweise Wasser- Öl Bäder oder Hitzekammern, im Sinne von Saunen oder Wasserdampfbädern.

Frühere Systeme benutzten dialyseähnliche Verfahren zur Erhitzung des Blutes, waren jedoch mit hohen Komplikationsraten vergesellschaftet.

Neben dieser Ganzkörperexposition kommt die hypertherme Perfusion in gewissen Indikationen noch zur Anwendung. Hierbei wird das patienteneigene, oft mit Zytostatikern angereicherte Blut, extrakorporal erwärmt und mittels einer Pumpe in den gewünschten Körperteil gebracht. Die Voraussetzung für diese Methode, die meist in der Onkologie als therapeutisches Verfahren angewandt wird, ist, dass der zu überwärmende Körperteil über eine eigenständige Blutversorgung verfügt. Zu den invasiven Methoden zählen die interstitielle und die endoluminale Hyperthermie.

Bei diesen Methoden werden Antennen (meist Mikrowellenantennen) in den Tumor eingebracht, im Falle der interstitiellen Hyperthermie. Diese Methode ist besonders in kleineren Tumorarealen indiziert.

Bei der endoluminalen Methode werden natürliche Öffnungen als Wege für endokavitäre Sonden herangezogen.

Je nach klinischer Situation, werden derzeit Temperaturen zwischen 41 und 43°C erreicht.

Bei der Ganzkörperhyperthermie unterscheidet man im Wesentlichen zwei Temperaturniveaus. Von einer moderaten, oder fieberähnlichen (feverlike) Ganzkörperhyperthermie spricht man in einem Temperaturbereich von 39.5-41°C. Die extreme Ganzkörperhyperthermie, erreicht Temperaturen bis zu 42°C und muss unter intensivmedizinischen Bedingungen durchgeführt werden. Da haben lokale und regionale Verfahren sicher einen Vorteil, da sie nicht systemisch wirken und dadurch auch besser vertragen werden.

Bei den thermoablativen Verfahren werden viel höhere Energieeinträge produziert. Mit Laser, Radiofrequenz oder hochfokussiertem Ultraschall können hier in kleinen Volumina von einigen ml irrsinnig hohe Temperaturen von bis zu 90°C erreicht werden, und Tumorgewebe einfach abtöten. Eine recht neu entwickelte Methode verspricht neue Wege in der Behandlung von Tumoren. Bei der sogenannten magnetischen Flüssigkeitshyperthermie, werden magnetische Nanoteilchen in den Tumor mittels flüssiger Lösungen injiziert und danach wird ein oszillierendes Magnetfeld angeschlossen. Dabei werden diese Nanopartikel angeregt und geben Energie in Form von Wärme ab.  
(9,15,45- 50)

## **Nebenwirkungen**

Im Großteil werden Hyperthermieverfahren gut vertragen. Akute Nebenwirkungen hängen von der gewählten Methode ab. Bei der Ganzkörperhyperthermie können während der Therapie Kreislaufprobleme, Kopfschmerzen oder Dysästhesien aufgrund der oftmals eintretenden Hyperventilation auftreten.

Verbrennungen an den Rändern von Applikatoren können eine Nebenwirkung bei lokalen Hyperthermieformen sein. Außerdem können sogenannte „Hot Spots“ entstehen. Sie befinden sich dort, wo Knochen-, Muskel- und Fettgewebe aneinander treffen. Diese werden dann als schmerzhaft empfunden. Grund dafür ist die viel geringere Zahl von Wärmesensoren innerhalb unseres Körpers, wodurch es nicht als Wärme empfunden wird. Persistierende Missempfindungen sind sehr selten.

Als unangenehm werden oft die Temperatursonden empfunden (z.B. Rektalsonden). In der Onkologie verwendete, invasiv gesetzte Messkatheter können sich infizieren oder zu bewegungsabhängigen Beschwerden führen.

Der Effekt der Thermotoleranz sei hier noch erwähnt. Er stellt im engeren Sinn keine Nebenwirkung dar, sollte aber in einer Therapieplanung mit einbezogen werden.

Sie klingt aber innerhalb von ein bis zwei Tagen nach Absetzen der Hyperthermie ab.

(9,15,45-50)

### **1.2.3 Physiologische Aspekte und Mechanismen der Temperaturregulation**

Eine konstante Körpertemperatur ist ein wichtiger Grundstein für unser Überleben.

Enzymatische Stoffwechselfvorgänge sind temperaturabhängig und bedürfen einer konstanten Körpertemperatur, damit die Homöostase des Körpers aufrechterhalten bleibt.

Wir Menschen werden als homiotherm bezeichnet, d.h. unsere Körpertemperatur wird in engen Grenzen gehalten und ist nahezu unabhängig von der jeweiligen Außentemperatur bzw. vermag er sich an Umweltbedingungen anzupassen. Steigt die Körpertemperatur durch beispielsweise Sport oder Infektionen(Fieber) an, so muss die überschüssige Energie aus dem Körper transportiert werden.

Dies geschieht auf vier Wegen: Leitung, Konvektion, Verdunstung und Strahlung.

Die Voraussetzung für den Mechanismus der Leitung ist eine Temperaturdifferenz, in diesem Fall- jene zwischen Haut und Kontaktmaterial. Demnach fließt Wärme immer in die Richtung der kühleren Temperatur.

Findet ein Transport von Teilchen statt, so spricht man von Konvektion. Kühlere Luft, die die Haut umgibt, wärmt sich auf, steigt infolgedessen auf und von unten strömen kältere Luftmassen nach.

Verdunstungskälte wird bei dem Vorgang des Schwitzens und durch die Perspiratio insensibilis erzeugt. Schwitzen ist aber limitiert durch die in der Umgebung vorherrschende Luftfeuchtigkeit (Wasserdampfdruck der Luft). Je höher die Luftfeuchtigkeit, desto geringer die Wärmeabgabe durch Verdunstungskälte. Die Folge davon ist, dass selbst bei Temperaturen um 50°C und geringer Luftfeuchtigkeit, zum Beispiel in einer Wüste, die Abgabe von Wärme besser funktioniert als in tropischen Gebieten mit hoher Luftfeuchtigkeit, wo die Wärmeabgabe gegen null geht.

Auch ein Mensch, der sichtlich nicht schwitzt, verliert täglich bis zu 400ml Flüssigkeit unter Ruhebedingungen. Dies geschieht durch Diffusion von Wasser durch die Haut oder Schleimhäute und die Wasserdampfsättigung der Ausatemluft.

Mit Wärmestrahlung meint man eine elektromagnetische Strahlung, die vom Körper ausgesendet wird. Mehr als 50% der durch den Stoffwechsel produzierten Hitze werden bei Raumtemperatur abgegeben, wobei dieser mit Erhöhung der Körpertemperatur ansteigt.

So entsteht eine Balance aus Wärmeproduktion und Wärmeabgabe. Unser Körper ist aber auch im Stande, bei niedrigen Umgebungstemperaturen, selbst enorme Mengen an Wärme zu produzieren. Wärme ist eigentlich ein Endprodukt von Stoffwechselfvorgängen und somit wird an Orten mit den energiereichsten Stoffwechselfvorgängen am meisten Wärme produziert. Hauptverantwortlich dafür ist unser Körperkern. Im Abdomen, im Thorax und auch im ZNS wird dort in etwa 70% der für Ruhebedingungen benötigten Wärme produziert.

Das Gehirn, genauer der Hypothalamus, ist die zentrale Schaltstelle der Temperaturregulation. Thermorezeptoren geben durch ihre afferenten Signale Information über den Istzustand im Körper.

Die genaue Anatomie der Thermorezeptoren ist noch unbekannt. Man hat jedoch Neurone im Rückenmark und im Hypothalamus gefunden, die ihre Frequenz bei Temperaturschwankungen ändern.

Der erhaltene Istwert wird mit einem Sollwert verglichen, welcher sich immer auf die Körperkerntemperatur bezieht. Bei Abweichungen der Körperkerntemperatur von +/- 1°C werden physiologische Systeme aktiviert, um den Sollwert wieder zu erreichen. Unklar ist noch wie unser Körper einen Sollwert erhält. Auf der Suche nach Referenzneuronen ist man noch nicht fündig geworden. Auch weiß man, dass zirkadiane Schwankungen als nicht thermischer Faktor die Sollwertregelung verändern. So liegt die morgendliche Temperatur ungefähr 0.6°C unter ihrem Maximum am Nachmittag.

Anders ist die Situation in der Körperschale, also der Haut, dem subkutanen Gewebe und den Muskeln. Temperaturschwankungen sind hier an der Tagesordnung. Die Fähigkeit unseres Körpers, temperaturstabil zu sein, wird durch den Hypothalamus und seiner Regelkreise bezogen auf den Körperkern gewährleistet. Sinkt die Außentemperatur und steigt damit die Wärmeabgabe so kann der Körper seine Wärmeproduktion steigern, beispielsweise durch eiweißreiche Ernährung.

Außerdem kommt es zu einer Vasokonstriktion in den Extremitäten, wodurch eine verminderte Wärmeabgabe erreicht wird. Das Kältezittern ist ebenfalls ein Weg, die endogene Wärmeproduktion anzukurbeln. <sup>(7-9,11,90)</sup>

#### **1.2.4 Klinische Erfahrung und Einsatzgebiete**

In der klinischen Praxis, wird v.a. die regionale Hyperthermie oft in der Onkologie angewendet. In keinem anderen klinischen Setting bekommt Hyperthermie so viel Beachtung. Auch die Studienlage ist in diesem Bereich am weitesten fortgeschritten.

Besonders therapierefraktäre und sehr fortgeschrittene Tumore werden mit den hyperthermen Therapieverfahren behandelt, wie beispielsweise lokal fortgeschrittene Mammakarzinome, Kopf- Halstumoren, Zervixkarzinome, Blasenkarzinome, Rektumkarzinome oder Prostatakarzinome. Im üblich angewandten Temperaturbereich von 41- 42.5°C ist Hyperthermie dabei eine wirkungsverstärkende Komponente einer Radio- und/oder Chemotherapie aber als alleinige Therapie bei einem Tumorgeschehen in keinem Fall gerechtfertigt. Doch nicht nur im Hinblick eines kurativen, die Tumorprogression eindämmenden Therapieansatzes hat die Hyperthermie in der Onkologie ihren Stellenwert. Bei meist inoperablen präsakralen Rezidiven von Rektum- oder Sigmakarzinomen ist der sakrale oder tiefe Beckenschmerz meist ein durch medikamentöse Therapien nicht in den Griff zu bekommendes Leitsymptom. In einer Studie wurde festgestellt, dass eine palliativ anberaumte Radio- und/oder Chemotherapie, in Kombination mit einer Tiefenhyperthermie bei 80% der Patienten zu einer deutlichen Rückbildung der Schmerzen über eine Zeitspanne von 2-9 Monaten führt. <sup>(45,50)</sup>

In der Rheumatologie gehören lokale „Wärmetherapien“ im weitesten Sinne zum alltäglichen Brot in der Rehabilitationsmedizin. Die Fülle der „Wärmetherapien“ gehen dabei weit über die klassische Ganzkörperhyperthermie hinaus. Jedoch sind alle diese Anwendungen meist empirisch und basieren nicht auf hohem Evidenzniveau. Geringe oder fehlende Evidenz bedeutet aber keineswegs, dass es klinisch nicht sinnvoll wäre eine therapeutische Maßnahme durchzuführen.

Sie sind meist auch, gegenüber rein medikamentösen Behandlungen, kosteneffektiv und haben ein gutes Outcome. <sup>(51,58)</sup>

Ultraschall wird häufig auch als Wärmetherapie bei arthrosebegleitenden periartikulären Weichteilproblemen angewendet. <sup>(9,54)</sup>

Bei der Behandlung der Fibromyalgie, einem nicht entzündlichen Krankheitsgeschehen, hat man bereits zufriedenstellende Studien, die einen positiven klinischen Effekt der Ganzkörperhyperthermie aufzeigen, veröffentlicht.

Bei Fibromyalgie- Patienten, die 3mal pro Woche über einen Zeitraum von 6 Wochen mit Hyperthermie behandelt wurden, zeigte sich eine deutliche Schmerzlinderung und auch eine Verbesserung der Lebensqualität. Dieses Ergebnis war signifikant gegenüber der Kontrollgruppe, die im gleichen Zeitraum intensive therapeutisch Intervention erfuhren. (von Wassergymnastik über kognitiv- therapeutische Ansätze bis hin zu Gesundheitsschulungen).<sup>(52,53)</sup> Ein überzufällig positiver Effekt der Hyperthermie auf das Beschwerdebild des Morbus Bechterew wurde bereits in Studien beobachtet. Nachdem man in einer Studie keine Änderungen von Cortisolspiegel oder Lymphozytensubpopulationen nach einem Überwärmungsbad gesehen hatte, stellte man die Vermutung einer Veränderung des Zytokinmilieus auf. So untersuchte diese Forschergruppe den Einfluss einer seriellen Hyperthermiebehandlung bei Bechterew-Patienten auf IL-1beta, TNF-alpha und IL-6. Alle drei proinflammatorischen Zytokine wurden um bis zu 40-50% nach dem Behandlungsende reduziert.

Bei vielen Bechterew- Patienten findet man eine Erhöhung genau dieser Zytokine, die mit der Krankheitsprogression in Verbindung gebracht werden.<sup>(42,59)</sup>

HIV- Patienten oder an AIDS Erkrankte, könnten auch von hyperthermen Behandlungen profitieren, v.a. jene, die weniger gut auf die medikamentöse Therapie mit Proteaseinhibitoren ansprechen, so postulieren Ash et al.<sup>(55)</sup>

Chronische Wunden, wie beispielsweise chronisch venöse Unterschenkelulzera, profitieren von Hyperthermie- Behandlungen, in dem Sinn, als die Wundheilung beschleunigt, Schmerzen reduziert und auch die Wundsekretion vermindert wird. In der Behandlung von Dekubitalulzera kann Hyperthermie sowohl therapeutisch als auch schon präventiv eingesetzt werden.

Noch nicht im klinischen Alltag etabliert, sollte die Behandlung chronischer Wunden mit Hyperthermie erwogen werden.<sup>(56)</sup>

Mit Hilfe der Hyperthermie kann man bewirken, dass topisch applizierte Substanzen besser und tiefer in die Haut penetrieren und somit könnte ihre lokale Wirkung verstärkt werden. Einen Erfolg hat man aber nur bei hydrophilen Wasser- in- Öl Emulsionen gesehen.<sup>(57)</sup>

Die Diabetesforschung hat mittlerweile auch ihre Aufmerksamkeit auf Hyperthermie-Behandlungen gerichtet. In Mäusemodellen konnte gezeigt werden, dass wöchentliche Ganzkörperhyperthermie-Behandlungen Auswirkungen auf den Ausbruch von Typ 1-Diabetes haben. <sup>(60)</sup>

## 1.3 *Hyperthermie und das Immunsystem*

### 1.3.1 **Einleitung**

Fieber ist eine über Millionen von Jahren konservierte physiologische Reaktion auf Infektionen oder ähnliche schädliche Einflüsse, die mit einer erhöhten Überlebensrate assoziiert ist. Dies gilt sowohl für ektothermale als auch für endothermale Lebewesen. <sup>(22)</sup>

Studien an Mäusen, Ratten und Hunden zeigen eine bessere Abwehrlage gegen virale und bakterielle Erreger durch Fieber, während Mäuse und Ratten, die antipyretisch behandelt wurden, eine höhere Mortalität aufweisen.

Auch beim Menschen zeigt sich ein schlechteres Outcome von gramnegativ verursachten Infektionen, bakterieller Peritonitis und Rhinovirusinfektionen unter antipyretischer medikamentöser Therapie. <sup>(16)</sup>

Ektothermale Lebewesen sind nicht in der Lage, ihre Körpertemperatur selbst zu regulieren. Sie suchen deshalb, wenn sie an parasitären oder bakteriellen Infektionen leiden, Orte höherer Temperatur auf, um ihr Überleben zu sichern. Dabei gehen sie ein hohes Risiko ein, da sie einerseits für Feinde eine leichte Beute darstellen, und andererseits meist eine erhebliche Kraftanstrengung leisten müssen, um den geschützten Ort zu verlassen. <sup>(16)</sup> Dies lässt den Schluss zu, dass die Erhöhung der Körpertemperatur bei der Bekämpfung von Infektionen offenbar eine essentielle Rolle spielt. Es konnte gezeigt werden, dass durch eine Erhöhung der Körpertemperatur eine größere Anzahl an Effektorzellen im gesamten Körper erreicht werden kann, also auch Zellen, die sich weit entfernt vom Infektionsherd befinden oder aus anderen Gründen nicht mit Antigenen oder humoralen Faktoren in Berührung gekommen sind. <sup>(20)</sup>

Man weiß heutzutage bereits einiges über die biochemischen und neuronalen Mechanismen der Fieberentstehung, wohingegen die verschiedenen Effekte der fieberhaft erhöhten Körpertemperatur noch zu einem gewissen Teil im Verborgenen liegen.

Aufgrund der Komplexität der Mechanismen und der Widersprüchlichkeit gewonnener Daten gestaltet sich die Suche nach geeigneten Erklärungsmodellen schwierig. Trotzdem hat die Wissenschaft auch hier bereits Fortschritte gemacht, und ständig werden neue Erkenntnisse über die Auswirkungen von Fieber auf immunologische Prozesse gewonnen.

### **1.3.2 Zelluläre und molekulare Aspekte**

Da Fieber im Ursächlichen nicht mit von außen zugeführter Infrarot- Hyperthermie verglichen werden kann, da hormonale und auch immunologische Regelkreise umgangen werden, ist es wichtig auch natürlich auftretendes Fieber im Körper zu verstehen.

In der Abwehr eingedrungener Pathogene, beispielsweise Bakterien, sind zunächst v.a. Zellen des Mononukleären- Phagozytose- Systems von Bedeutung, da sie nahezu überall in den verschiedensten Geweben sitzen und daher sehr schnell am Ort der Infektion sind. Sie verfügen über verschiedenste Rezeptoren, beispielsweise den Toll- like Rezeptoren oder LPS (Lipopolysacchariden) - Rezeptoren, die bakterienspezifische Oberflächenmoleküle, wie LPS, PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns) etc. erkennen und dadurch die Zellen zur Phagozytose bzw. Zytokinproduktion anregen. Neben der Rekrutierung anderer Immunzellen, wie Granulozyten, NK- Zellen und in weiterer Folge vielleicht auch T- Zellen oder der Aktivierung des Komplementsystems, spielt das IL- 1 eine wesentliche Rolle in der Entstehung von Fieber. Das von den Makrophagen gebildete IL-1 gelangt über die Blutbahn durch die Blut- Hirsnschranke in den Hypothalamus, der zentralen Temperaturschaltstelle im Körper. Die Anwesenheit von IL-1 bewirkt eine Sollwertverschiebung und es entsteht Fieber. Die Erhöhung der Körperkerntemperatur verbessert letztendlich das Überleben.

#### **1.3.2.1 NK-Zellen**

Diese Zellen gehören dem unspezifischen Immunsystem an, denn im Gegensatz zu B- oder T- Zellen exprimieren sie weder einen T- Zell Rezeptor noch produzieren sie Immunglobuline. Evolutionär betrachtet, entwickelten sich NK- Zellen hunderte Millionen Jahre vor B- und T- Zellen. Sie machen in etwa 5-15% von Lymphozyten im peripheren Blut aus und sind große granuläre Lymphozyten. <sup>(83)</sup> Sie stammen von hämatopetischen Vorläuferzellen im Knochenmark ab, wo und in welcher Weise sie reifen, ist jedoch nach wie vor nicht gänzlich geklärt.

Die genaue Definition einer NK- Zelle erfolgt landläufig anhand eines speziellen Oberflächenmarkerprofils.

Man weiß, dass alle NK- Zellen Gemeinsamkeiten aufweisen, wie zum Beispiel die Expression von CD56 und die Abwesenheit von CD3, doch unterscheiden sich einerseits die NK- Zellen untereinander in ihrem Phänotyp und andererseits gibt es auch T- Zellen, die CD56 exprimieren.

Darüber hinaus weisen NK- Zellen eine Vielzahl weiterer Rezeptoren und Moleküle an ihrer Oberfläche auf, wie zum Beispiel „killer immunoglobulin- like receptor“ (KIRs) und natürliche zytotoxische Rezeptoren, die auf NK-Zellen entweder inhibitorisch oder aktivierend wirken.

Neben ihrer phänotypischen Heterogenität sind NK- Zellen auch funktionell sehr unterschiedlich:

Sie produzieren Zytokine und Chemokine, töten Pathogene durch die Ausschüttung von Perforinen oder Granzymen oder induzieren mittels verschiedener Rezeptoren, wie Fas-Rezeptoren, den Zelltod.

Das prototypische Zytokin, welches von NK- Zellen produziert wird, ist Interferon-gamma. Interferon-gamma kann TH1- Immunantworten auslösen, aktiviert Antigen-präsentierende Zellen und Makrophagen und wirkt antiproliferativ auf virusinfizierte- oder Tumorzellen. <sup>(83)</sup>

Die Mechanismen, wie virusinfizierte Zellen letztlich von NK-Zellen erkannt werden, sind noch unklar, jedoch dürften dabei MHC- Moleküle der Klasse 1 eine Rolle spielen:

Normalerweise wirken diese Moleküle inhibitorisch auf NK-Zellen, weshalb gesunde Körperzellen nicht durch NK-Zellen angegriffen werden.

Sowohl virusinfizierte Zellen, als auch Tumorzellen versuchen jedoch oft durch verminderte Expression von MHC-1 Molekülen, dem Immunsystem zu entgehen. Durch diese Veränderung an ihrer Oberfläche unterlaufen sie aber der NK- Zell medierten Zytotoxizität. Jede NK- Zelle hat ihr eigenes Funktionsprofil. Einige produzieren Unmengen an Zytokinen, während andere über eine ausgeprägte zytolytische Aktivität zur Bekämpfung von Tumor- oder virusinfizierten Zellen besitzen. <sup>(19,83,84)</sup>

Neben Rezeptoren ist das Zytokinmilieu um NK- Zellen entscheidend in der Zellaktivierung, wobei vor allem Zytokine wie IL2, IL7, IL12, IL15 und Typ-I-Interferone für eine rasche NK- Aktivierung verantwortlich sind. <sup>(20)</sup>

In einer in vitro- Studie konnten die Auswirkungen unterschiedlicher Temperaturniveaus auf die Aktivität von sowohl NK- Zellen als auch zytotoxischen T- Lymphozyten gezeigt werden. Bei einer Kultivierung mit Temperaturen unter 40°C nahm die Aktivität beider Zelllinien zu.

Dahingegen bewirkten Temperaturen um 42°C eine herabgesetzte Aktivität von NK-Zellen und zytotoxischen T- Lymphozyten. <sup>(17)</sup> Eine weitere Studie zeigte bei einer Mikrowellen- induzierten Ganzkörperhyperthermie an Mäusen, die 3-6 mal wöchentlich für 30min. auf eine Kerntemperatur von 39.5-40°C gebracht wurden, einen deutlichen Anstieg von NK-Zellen. <sup>(9)</sup>

Unterstützt werden diese Daten durch eine *in vivo*- Studie:

Dabei wurden gesunde Probanden mittels Wärmebäder auf 39°C Kerntemperatur erhitzt.

Auch hier zeigte sich ein Anstieg in Zahl und Aktivität von NK- Zellen. <sup>(17)</sup>

Zusammenfassend findet man einen deutlichen Effekt einer Erhöhung der Körperkerntemperatur auf Zahl und Funktion der NK- Zellen : Temperaturen um 42°C hemmen die zytotoxische Wirkung von NK- Zellen, mildere Temperaturen bis 40°C bewirken jedoch eine verbesserte Zytotoxizität. <sup>(17,20)</sup>

### **1.3.2.2 Die Rolle von NK2GD**

Der Mechanismus der NK- Zell Aktivierung durch Hyperthermie konnte noch nicht genau geklärt werden. <sup>(20)</sup>Es wird jedoch vermutet, dass ein Rezeptor an der Oberfläche von NK-Zellen hierbei eine wichtige Rolle spielt. Wie eingangs bereits erwähnt, entscheidet in der initialen Phase der Immunantwort unter anderem das Zytokinmilieu über Aktivierung und Inhibierung der NK-Zellen. . Einer dieser aktivierenden Rezeptoren an der Oberfläche ist der sogenannte NKG2D- Rezeptor. Er wird auch auf mehreren T- Zell- Subpopulationen gefunden und ist den Lektinen des C- Typs ähnlich.

Die MHC- Klasse I ähnlichen Moleküle MICA (MHC class-I-related chain A) und MICB sowie ULBP (UL-16 binding protein)- Moleküle dienen beim Menschen als Liganden. Deren Expression wird durch Zellstress induziert. Das NKG2D/NKG2D- Liganden System wird unter anderem mit der Immunabwehr bestimmter viraler Infektionen wie z. B. CMV beim Menschen in Verbindung gebracht. <sup>(30)</sup> Die Bindung der Liganden an den Rezeptor führt zur Auslösung von Effektormechanismen in NK- Zellen, wie Zytotoxizität und Zytokinsekretion.

In einer Studie konnte die zytotoxische Aktivität durch Kultivierung von NK- Zellen unter 39.5°C für 6 Stunden potenziert werden, wodurch die Hypothese, dass moderate Temperaturen NK- Zellen aktivieren, bestätigt wird.

Dieser Effekt zeigte sich jedoch nur in Kulturen, die zusätzlich aktivierende Pathogene, in diesem Fall Tumorzellen des Typs Colo205, enthielten, eine Stimulierung der NK- Zell-Aktivität nur durch Temperaturerhöhung allein konnte nicht beobachtet werden. Umgekehrt konnte der aktivierende Effekt von der Hyperthermie auf NK- Zellen durch Blockade der NKG2D-Rezeptoren ebenfalls unterdrückt werden, woraus sich die Hypothese ergibt, dass der thermale Mechanismus der NK- Zell Aktivierung von diesem Rezeptor abhängt. <sup>(20)</sup>

### 1.3.2.3 T- Zellen

T- Zellen werden im Knochenmark produziert und reifen im Thymus aus.

Es gibt verschiedene Subtypen von T- Zellen, die sich anhand ihrer Oberflächenmarker unterscheiden lassen, allen gemeinsam ist aber der sogenannte T- Zell Rezeptor, welcher aus zwei Eiweißketten besteht, die jeweils über Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Es gibt 2 Untergruppen dieses Rezeptors, wobei in der Mehrheit der Fälle (90- 95%) die alpha/beta- Form vorliegt, 5-10% sind gamma/delta T- Zellen. Ihnen allen gemeinsam ist der CD3-Oberflächenmarker.

Die alpha/beta T- Zellen werden wiederum in 2 Untergruppen unterteilt, CD4+ und CD8+ Zellen. Die zahlenmäßig wichtigsten Vertreter der CD4+ T-Zellen oder T- Helfer Zellen sind die TH1- und die TH2- Zellen.

Neben diesen existieren auch TH0- Zellen und TH3- Zellen (T- regs). Seit 2003 sind auch TH17- Zellen bekannt. Während TH1- Zellen mit Phagozyten und anderen Antigen-präsentierenden Zellen interagieren und die Elimination intrazellulärer Pathogene koordinieren, sind TH2- Zellen vornehmlich für die Proliferation, Differenzierung und Antikörperproduktion von B- Zellen zuständig.

Die Zweite Gruppe der alpha/beta T- Zellen sind CD8+ Zellen oder zytotoxische T-Zellen (CTL). Im Gegensatz zu NK- Zellen, erkennen CTLs veränderte Zellen mit Hilfe eines T- Zell Rezeptors und MHC I- Molekülen, die zytolytischen Mechanismen sind einander jedoch sehr ähnlich.

CD4+Zellen benötigen zur Erkennung von Antigenen MHC- Klasse II- Moleküle, die auf der Oberfläche antigenpräsentierender Zellen exprimiert werden. Zu diesen zählen Dendritische Zellen und auch Makrophagen.

Gamma/delta Zellen machen nur 5% der im peripheren Blut zirkulierenden T- Zellen aus.

Sie sind hauptsächlich für den Schutz mukosaler Oberflächen zuständig und können Antigene ohne MHC- Assoziation erkennen.

NKT- Zellen nehmen eine Mittelstellung ein, sie exprimieren sowohl einen alpha/beta T- Zell Rezeptor als auch einige NK- Zell Marker. <sup>(83)</sup>

Folgende Effekte von Hyperthermiebehandlungen auf die Anzahl von T- Lymphozyten im peripheren Blut konnten bisher in Studien gezeigt werden.

Sowohl bei gesunden Probanden als auch bei Tumorpatienten kam es durch eine Erhöhung der Körperkerntemperatur auf 39-40°C zu einem signifikanten Abfall von CD4+ Zellen und einer verminderten CD4/CD8- Ratio, ebenso wie zu einem Abfall der Lymphozyten. <sup>(18,32)</sup>

Ergometertraining in einer 40°C heißen Hitzekammer führten zu einem Anstieg von gamma/delta- als auch NKT- Zellen. <sup>(17)</sup>

Während in den meisten Studien, die Zahl der CD8 + Zellen unverändert blieb, konnte in einer kleinen Studie mit 4 gesunden Probanden nach einer 30 minütigen Hyperthermiebehandlung bei Erreichen einer Rektaltemperatur von 39.4°C eine Erhöhung von CD8+Zellen festgestellt werden, die CD4+- Zellen verhielten sich wie in den oben angeführten Studien. <sup>(34)</sup>

#### **1.3.2.4 Hitzeschockproteine**

Hitzeschockproteine (HSP) kommen in allen prokaryoten und eukaryoten Zellen vor und werden oft auch als Stressproteine bezeichnet. <sup>(83)</sup> Zu den Stressproteinen zählt man neben den HSPs auch „glucose- regulated proteins (GRPs)“ und Ubiquitin. <sup>(21)</sup>

Hitzeschockproteine werden nach ihrem Molekulargewicht in 5 Proteinfamilien unterteilt: Kleine HSPs (< 40kDa), HSP60, HSP70, HSP90 und HSP100.

Unter physiologischen Bedingungen übernehmen HSPs die Funktion von Chaperonen und werden von vielen Zellen konstitutiv exprimiert.

In der Zelle sind sie zuständig für die richtige Faltung und den intrazellulären Transport von Proteinen und beteiligen sich an der Proteinsynthese.

Die Aufgabe von Hitzeschockproteinen ist es, die Zelle zu schützen. <sup>(19)</sup>

Steht die Zelle unter Stress, beispielsweise durch oxidative Belastungen, Schwermetalle, bakterielle Toxine oder auch Hitze, werden vermehrt HSPs exprimiert.

Sie sind in der Lage, hydrophobe Proteinsequenzen auf denaturierten Proteinen zu binden, um somit die Zelle vor dem Zelltod zu schützen. <sup>(17)</sup>

Extrazelluläre HSPs können als Gefahrensignal wirken und das Immunsystem warnen. Außerdem dienen sie antigenpräsentierenden Zellen als Trägermoleküle für immunogene Peptide. Durch Bindung von HSPs an HSP- Rezeptoren auf Antigen präsentierenden Zellen sollen sie auch einen Einfluss auf die Zytokinproduktion haben.

An der Oberfläche von Tumoren oder viral infizierten Zellen wurden HSPs identifiziert, die eine Immunantwort durch NK- und gamma/delta T- Zellen gegen diese Zellen einleitet. <sup>(21)</sup>

Wie HSPs an die Oberfläche gelangen, ist noch unklar, denn sie besitzen keine transmembrane Domäne. Möglicherweise binden sie an noch nicht identifizierte Domänen, oder die Zellmembran verändert sich im Zuge einer Infektion oder einer ähnlichen Stresssituation, sodass HSPs hindurchgelangen können. <sup>(21)</sup>

Um den Einfluss von verschiedenen Temperaturniveaus auf die HSP70 Expression von Leukozyten zu untersuchen, wurde in einer Studie Vollblut von gesunden Probanden einer Wärmebehandlung mit 37°C, 39°C, 41°C und 42°C für jeweils 2 Stunden unterzogen.

Unter 37°C zeigten Leukozyten keine vermehrte Expression von HSP70.

In Monozyten begann die HSP70 Expression bereits bei einer Temperatur von 39°C in Monozyten anzusteigen, während es in den Lymphozyten erst ab einer Temperatur von 41°C zu einem Anstieg kam, das Maximum war bei 42°C erreicht. Es konnte somit gezeigt werden, dass vor allem Monozyten auf eine Temperaturerhöhung relativ rasch mit einer starken HSP70 Induktion reagieren. Um auszuschließen, daß andere Zellen in der Zellkultur bei dieser Induktion eine Rolle spielen, wurden die Monozyten isoliert und nochmals den gleichen Temperaturen ausgesetzt, wodurch es jedoch zu keiner Änderung der Ergebnisse kam. Dies lässt den Schluss zu, dass die gesteigerte HSP70 Expression eine ausschließliche Reaktion auf Hitze ist.

Um diese Ergebnisse in einer in vivo Situation zu untersuchen, wurden gesunde Probanden einer Hyperthermiebehandlung in Wasserbädern mit 36°C und 39.5°C für jeweils 2 Stunden unterzogen.

Man beobachtete keine Veränderungen bei 36°C, jedoch einen bereits starken HSP70 Anstieg in Monozyten bei 39.5°C, während die Lymphozyten nur unwesentlich reagierten. Diese beiden Studien veranschaulichen nicht nur die temperaturabhängige Reaktion der Zellen sondern zeigt auch die Heterogenität der einzelnen Zelllinien in ihrer Reaktion auf Hitzestress. <sup>(31)</sup>

Eine weitere Studie beschäftigte sich mit der durch Hyperthermie induzierten Expression von HSP70, HSP110 und GRP170 in verschiedenen Geweben. Nachdem Mäuse über 6 Stunden in einer 39.5- 40°C heißen Hitzekammer erwärmt wurden, wurden 24 und 72 Stunden nach der Wärmebehandlung verschiedene Gewebe gewonnen und auf die Expression der bereits genannten Hitzeschockproteine untersucht. Sowohl HSP70 und HSP110 zeigten im Gegensatz zu GRP 170 einen deutlichen Anstieg im Vergleich zu den konstitutiv gemessenen Konzentrationen in Kontrollgeweben,

Aus den Ergebnissen ist herauszulesen, dass v.a. immunologisch relevante Gewebe, wie Thymus, Lymphknoten und die Milz sehr sensitiv auf Hitze reagieren. Vor allem HSP70, aber in geringerem Ausmaß auch HSP110 werden durch Hitzestress vermehrt exprimiert.

(85)

### **1.3.2.5 Hyperthermie und Lymphozytenadhäsion**

Eine wichtige Voraussetzung für eine gelungene Immunabwehr ist die Zirkulation von Lymphozyten in sekundäre lymphatische Organe. Diese sind, ausgenommen die Milz, mit spezialisierten Endothelien ausgekleidet, den sogenannten hochendothelialen Venolen. Sie unterscheiden sich histologisch von anderen Endothelien durch kubische Zellen und exprimieren Adhäsionsmoleküle und Chemokine konstitutiv an ihrer Oberfläche, um eine ständige Zirkulation von Lymphozyten zu ermöglichen. Die Endothelien des restlichen Körpers hingegen exprimieren nur einige wenige dieser Adhäsionsproteine und Chemokine. Es ist bereits länger bekannt, dass der Körper versucht, möglichst viele Immunzellen zum Ort der Entzündung bzw. der Infektion zu bringen, die genauen Mechanismen waren jedoch noch nicht klar.

Man vermutete, dass aufgrund der veränderten hämodynamischen Situation in den Gefäßen durch Vasodilatation vermehrt Leukozyten ins betroffene Gewebe geschwemmt werden. Heute geht man davon aus, dass die Erhöhung der Körpertemperatur allein bereits eine wichtige Rolle spielt. Es wurden Versuche unter aseptischen, aber hyperthermen Bedingungen bei Mäusen durchgeführt, die eine vermehrte Lymphozytenabwanderung in sekundär lymphatische Organe zeigten. Dies wäre eine Erklärung für die oft beobachtete Verminderung der Lymphozytenzahl während und nach Hyperthermiebehandlungen.<sup>(33)</sup> In der Milz und anderen Geweben ohne hochendotheliale Venolen fand man keine erhöhte Lymphozytenakkumulation.

Dies lässt den Schluss zu, dass Hyperthermie Adhäsion und Lymphozytenmigration nur in lymphatischen Geweben mit HEV oder in Geweben mit HEV ähnlichen Endothelien, zum Beispiel in durch Infektionen veränderten Geweben beeinflusst, wodurch vermutlich eine ungerichtete, überschießende Extravasation von Immunzellen in gesundes Gewebe verhindert und eine gezielte, effiziente Immunantwort erreicht wird. Interessanterweise fand man keine Veränderung in der Anzahl oder Dichte von Adhäsionsmolekülen an der Oberfläche von HEV. Deswegen nimmt man an, dass fieberähnliche Temperaturen die Interaktion zwischen Adhäsionsmolekülen und dem Zytoskelett und damit die Lymphozytenadhäsion erleichtern. <sup>(16)</sup>

Lymphozyten, die unter fieberähnlichen Temperaturen kultiviert wurden, zeigten eine 2- bis 5fach erhöhte Bindungsaffinität mit HEV in vitro. Zwei Rezeptoren scheinen dabei den Prozess zu vermitteln: L- Selektin und alpha-4-beta-7-Integrin, wobei auch hier keine Veränderung der Rezeptorenanzahl gefunden werden konnte. Auch proinflammatorische Zytokine scheinen die Lymphozytenadhäsion zu regulieren: IL6 und eine Untereinheit des löslichen IL6- R spielen offenbar eine zentrale Rolle bei der Aktivierung von L- Selektin. <sup>(16,24-29)</sup>

#### **1.3.2.6 Literatursuche**

Suchdatum: 17.04.2010

Suchmaschine: Pubmed ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/))

Suchbegriff: „hyperthermia“ - Zieldtreffer: 152768

Suchbegriff: „whole body“ AND hyperthermia - Zieldtreffer: 989

Einschränkung : Reviews- Resultate : 2 Zitate (17, 43)

Weiter auf: „Titles with your search terms“- Zieldtreffer: 20

Einschränkung :Randomisiert kontrollierte Studien, Artikel in Deutsch/ Englisch

Resultat: 4 Zitate (42, 53, 60,89)

## 1.4 Die Akut-Phase-Reaktion

Die Akut-Phase-Reaktion stellt die erste Reaktion des Körpers auf unterschiedliche Formen der Gewebszerstörung durch mechanische (Trauma, Operationen), chemische (toxische Agenzien), thermische oder mikrobielle (Bakterien, Viren, Parasiten) Schäden dar. <sup>(68)</sup>

Die Initiierung der Akut-Phase-Reaktion kann lokal oder systemisch erfolgen, endet aber immer in einer generalisierten Aktivierung unter Zusammenarbeit von neuronalen, endokrinen, metabolischen und immunologischen Signalwegen. <sup>(63)</sup>

Die Akut-Phase-Reaktion ist Teil des unspezifischen, angeborenen Immunsystems und ein evolutionär hoch konserviertes Instrument. Das unspezifische Immunsystem entwickelte sich vor einigen hundert Millionen Jahren, noch vor dem spezifischen Immunsystem, und bot den ersten mehrzelligen Organismen Schutz vor Mikroben. <sup>(63,67)</sup>

Ziel der Akut-Phase-Reaktion ist es, das umliegende Gewebe zu schützen, Pathogene zu eliminieren und die Homöostase wieder herzustellen.

Des Weiteren fördert die Akut-Phase Reaktion die Wundheilung über die Stimulierung von Komplementsystem, Toll- Like Rezeptoren und Interferonen. <sup>(63)</sup>

Die zentrale Bildungsstätte der Akute- Phase Proteine ist die Leber.

Klinische Zeichen einer im gesamten Organismus ablaufenden Akut-Phase-Reaktion, zum Beispiel im Rahmen eines infektiösen Geschehens, können sein:

- Fieber
- Hypotension
- Hypoglykämie
- Gesteigerte Gefäßpermeabilität
- Granulozytose
- Thrombozytose
- Anämie
- Disseminierte Intravasale Gerinnung <sup>(65,67)</sup>

Nach aktueller Studienlage ist die Aktivierung von Zellen des Mononukleären Phagozytose- Systems der erste wichtige Schritt in der komplexen Kaskade der Akut-Phase-Reaktion.

Über die Blutbahn gelangen sie an den Ort der Infektion oder der Gewebszerstörung und durch verschiedenste pathogene Signale aktiviert, sezernieren sie, neben Arachidonsäuremetaboliten, Sauerstoffradikalen etc., auch Zytokine. <sup>(65,67)</sup>

### 1.4.1 Zytokine

Zytokine sind eine mannigfaltige Familie von interzellulären Signalmolekülen, die in sehr geringen Konzentrationen bereits wirksam sind. Sie werden von verschiedenen Zellen, wie Monozyten, Lymphozyten aber auch von Keratinozyten oder Endothelzellen, gebildet und wirken vorwiegend parakrin oder autokrin. Durch die Bindung an Rezeptoren auf Zielzellen kommt es zu weiterer Zytokinfreisetzung oder Zellproliferation.

Die Einteilung nach Entstehungsort:

- Monokine (Tumor Nekrose Faktor- alpha (TNF-alpha), Interleukin-1 (IL- 1)) - hauptsächlich von Monozyten gebildet
- Lymphokine (IL-2, Interferon- gamma (IFN- gamma )) – hauptsächlich von Lymphozyten gebildet
- Wachstumsfaktoren der Myelopoese (Granulozyten- Makrophagen Koloniestimulierender Faktor, GM- CSF) – von beiden Zelllinien produziert.

Einteilung nach Funktion:

- Proinflammatorische Zytokine (TNF- alpha, IL- 1beta)
- Immunmodulatorische Zytokine (IL-2, IL-12, IFN- alpha, IFN- gamma)
- Anti- inflammatorische Zytokine (IL-1 Rezeptorantagonist, IL-4, IL-10)
- Multifunktionale Zytokine (IL-6)
- Koloniestimulierende Faktoren
- Chemokine (IL-8) <sup>(65,68)</sup>

Die wichtigste Rolle in der Akut-Phase-Reaktion spielen IL-1beta, TNF- alpha und IL-6.

Innerhalb der ersten 2 Stunden wird TNF- alpha ausgeschüttet, gefolgt von IL-1beta und dann erst wird IL-6 im Organismus detektiert.

Die zeitliche Abfolge ihrer Ausschüttung beginnt mit TNF- alpha innerhalb der ersten 2 Stunden, gefolgt von IL-1beta und erst nach in etwa 4 Stunden wird IL-6 im Organismus detektiert.

TNF- alpha hat eine sehr kurze Halbwertszeit von nur 14-18 Minuten, und wird über die Nieren ausgeschieden. <sup>(68)</sup> Durch die Aktivierung und vermehrte transendotheliale Wanderung von Neutrophilen, bewirkt TNF – alpha eine vermehrte zelluläre Zytotoxizität am Ort der Schädigung. TNF- alpha ist in weiterer Folge auch verantwortlich für eine katabole Stoffwechsellage im Organismus. Abbau von Skelettmuskelproteinen, anaerobe Glykolyse und Freisetzung von Triglyceriden aus dem Fettgewebe geben TNF- alpha auch den Namen Kachektin. In der Leber wird hingegen eine vermehrte Aufnahme dieser Stoffwechselprodukte bewirkt. Zentral wirkt es im Hypothalamus als endogenes Pyrogen, es kommt zur Entstehung von Fieber, einem Kardinalsymptom der Akut Phase-Reaktion. <sup>(65)</sup> IL- 1beta weist ebenfalls eine sehr kurze Halbwertszeit von 6-10 Minuten mit Konzentrationen im peripheren Blut im Bereich von pg/ml, die Wirkung erfolgt hauptsächlich lokal. <sup>(67,68)</sup>

Neben Monozyten wird IL-1beta auch von Keratinozyten, Endothelzellen, Neutrophilen und B- Zellen produziert. Es wirkt wie TNF- alpha auf die Migration von Neutrophilen und stellt ebenfalls ein endogenes Pyrogen dar. IL- 1beta hat aber zudem noch einen potenten Einfluss auf die Myelopoese, da es die Produktion von Wachstumsfaktoren wie GM- CSF stimuliert.

Es spielt eine Rolle in der Freisetzung von ACTH, Somatostatin, Insulin und Glukagon.

Die Produktion von Akut Phase Proteinen in der Leber wird unter anderem durch IL- 1beta induziert. <sup>(62)</sup>

Auf zellulärer Ebene stimuliert IL-1beta T- Zellen und zytotoxische T- Zellen. <sup>(65)</sup>

IL- 1alpha ähnelt IL- 1beta in Struktur und Funktion, ist aber in erster Linie intrazellulär aktiv und wird kaum ins periphere Blut freigesetzt. <sup>(67)</sup>

IL-6 spielt sowohl im Verlauf, als auch am Ende der entzündlichen Reaktion eine wesentliche Rolle. Viele der Effekte von IL- 6 sind, trotz seiner antiinflammatorischen Wirkung, ähnlich der zuvor beschriebenen und in vielen Fällen ergänzen sie sich gegenseitig.

IL- 6 stimuliert die Differenzierung von Lymphozyten und die Proliferation und Produktion von Antikörpern in B- Zellen. <sup>(65)</sup> Des Weiteren, hat IL-6 einen Einfluss auf eine vermehrte Extravasation von Lymphozyten ins Gewebe und gemeinsam mit IL- 1beta, stimuliert es die Bildung von Akut- Phase Proteinen in der Leber. <sup>(62)</sup>

Das heterogene Wirkprofil von IL-6 zeigt sich, indem es die IL-1beta und TNF- alpha – Ausschüttung, im weiteren Verlauf der Entzündung, hemmt und die Ausschüttung von IL- 1alpha Rezeptorantagonisten, IL-10 als auch von löslichem TNF- Rezeptoren bedingt.

Die drei letzt genannten führen über verschiedenste Wege zu einer Unterdrückung der Immunantwort und damit zu einem Abklingen der Entzündungsreaktion. <sup>(68)</sup>

### **1.4.2 Akut- Phase Proteine**

Akut- Phase Proteine stellen eine heterogene Familie von in etwa 40 Proteinen dar. Neben der Leber werden sie zu einem sehr viel geringeren Teil auch in Milz und Nieren gebildet.

Die Wirkungen im Körper kann man grob in 3 Gruppen einteilen:

- Sie wirken antiinfektiös
- Haben metabolische Eigenschaften (Glukoneogenese, Fettstoffwechsel)
- Wirken als prokoagulatorische Faktoren <sup>(64)</sup>

Sie sind Teil des Komplementsystems, der Gerinnung und Fibrinolyse, Transportproteine und Antiproteasen. <sup>(67)</sup>

Einige Akut-Phase-Proteine steigen bereits zu Beginn der Akut- Phase Reaktion an (CRP), andere werden erst später im peripheren Blut messbar, können aber dann über einen längeren Zeitraum hinweg nachgewiesen werden (Haptoglobin). <sup>(61)</sup>

Akut- Phase Proteine werden auch anhand ihrer Konzentration im peripheren Blut eingeteilt. Einige von ihnen werden während eines entzündlichen Geschehens in Hepatozyten vermehrt exprimiert und ihre Konzentration im Blut nimmt zu. Daher werden diese als positive Akut- Phase Proteine bezeichnet. CRP, Komplement-C3, alpha 1-Antitrypsin oder Haptoglobin sind die wichtigsten Vertreter dieser Gruppe. Demgegenüber stehen jene, die konstitutiv in den Leberzellen exprimiert werden und während einer Akut-Phase Reaktion, zu Gunsten der positiven Akut- Phase Proteine, herabreguliert werden. Ihre Konzentration im Blut fällt ab, sie werden als negativ bezeichnet. Zu diesen zählen Albumin oder Transferrin. <sup>(66,69)</sup>

#### **1.4.2.1 CRP**

Zu den wichtigsten Akut-Phase- Proteinen gehört das CRP, ein großes, aus fünf Untereinheiten bestehendes Protein, dessen Freisetzung aus Hepatozyten durch IL-6 stimuliert wird.

Es konnte eine extrahepatische Produktion in Neuronen, arteriosklerotischen Plaques, Monozyten und Lymphozyten nachgewiesen werden, wobei noch nicht geklärt ist, inwieweit ihre Produktion den Blutspiegel von CRP beeinflusst.

Interessanterweise, kann innerhalb der ersten 24 Stunden, die CRP- Konzentration auf ein Tausendfaches seines Ausgangswertes steigen.

CRP hat unter anderem die Fähigkeit, Oberflächenmoleküle, wie zum Beispiel Phosphocholin, zu erkennen.

Das C- reaktive Protein wurde nach der Entdeckung, dass es mit dem C- Polysaccharid von Pneumokokken reagierte, benannt.

Es bindet an diese Liganden, opsonisiert sie und aktiviert dabei Phagozyten.

CRP, gebunden an einen Liganden, wird auch von Komplementfaktoren erkannt und kann somit den Klassischen Signalweg aktivieren und die Phagozytose beschleunigen.

Auch apoptotische oder nekrotische Zellen werden erkannt und opsonisiert.

Eine direkte Interaktion mit Phagozyten erfolgt über die Bindung von CRP an Fc-Rezeptoren. <sup>(62,70,71)</sup>

#### **1.4.2.2 Komplement –C3, C4**

Das Komplement-System umfasst etwa 16 Plasmaproteine, die gemeinsam und in einer Kaskade gestaffelt, eine Vielzahl von immunologischen Waffen im Repertoire haben. Die Aktivierung einer Komplementreaktion kann auf 3 verschiedenen Wegen erfolgen: dem klassischen, alternativen und Lektin- abhängigen Weg.

Der klassische Aktivierungsweg interagiert mit dem spezifischen oder erworbenen Immunsystem und wird über Antikörper, die Antigen gebunden haben, in Gang gesetzt.

Grundsätzlich ist der Lektin- Signalweg gleich dem klassischen, mit dem Unterschied, dass kein Antikörper für die Aktivierung benötigt wird. Verschiedenste Moleküle an der Oberflächenmembran von Pathogenen, wie

Bakterien, Pilzen oder Viren, aber auch frei liegende, im Normalfall intrazellulär vorkommende Partikel von sterbenden Zellen, geben das Startsignal.

Der alternative Signalweg interagiert ebenfalls mit Oberflächenmolekülen auf Pathogenen.

Der gemeinsame Endpunkt aller 3 Kaskaden ist die Aktivierung von C3, dem wohl wichtigsten Komplementfaktor.

Letztendlich ist das Ergebnis dieser Reaktionen, ein Komplex, der Zellwände zerstört und lysiert. Er wird als „Membrane Attack Complex“(MAC) bezeichnet.

Phagozyten können außerdem durch spezielle Rezeptoren Komplement erkennen und das gebundene Agens phagozytieren.

Zusammenfassend hat das Komplement-System folgende Funktionen:

- Chemotaktische Funktion
- Opsonisierung von fremden Organismen
- Aktivierung von Immunzellen
- Lyse von Zielzellen oder Pathogenen
- Trigger einer spezifischen Immunantwort. <sup>(72,75,76)</sup>

### 1.4.2.3 Haptoglobin

Die Bildung von Haptoglobin wird durch IL- 1, TNF- alpha als auch IL- 6 induziert.

Haptoglobin spielt eine wichtige Rolle als Transportprotein im Falle einer intravaskulären Hämolyse. Haptoglobin bindet dabei das durch die Hämolyse frei werdende Hämoglobin und schützt somit die Nieren als auch das umliegende Gewebe vor oxidativen Schäden.

Als Akut Phase Protein nimmt es, durch seine Fähigkeit Eisen zu binden, Pathogenen einen wichtigen Kofaktor ihrer Replikation. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass bei mit

E. coli infizierten Ratten, die gleichzeitige Injektion von Haptoglobin, die Mortalität senkt. Außerdem gibt es Evidenz über eine Interaktion von Haptoglobin- Hämoglobin Komplexen mit Makrophagen. Diese Komplexe binden an CD163- Moleküle an der Oberfläche von Makrophagen, triggern dadurch eine intrazelluläre Signalkaskade, die letztlich zu einer Ausschüttung von anti- inflammatorischen Zytokinen führt. <sup>(73)</sup>

### 1.4.2.4 Alpha 1- Antitrypsin

A-1-A ist der wichtigste Vertreter der Superfamilie der Serpine ( Serin Protease Inhibitoren).

Es wird neben der Leber auch in Makrophagen gebildet und kontinuierlich ausgeschüttet.

Alpha 1- Antitrypsin schützt das Gewebe vor der Wirkung des Enzyms Elastase, das von von Neutrophilen Granulozyten während eines entzündlichen Prozesses freigesetzt wird.

Eindrucklich wird diese Funktion bei Menschen mit einem Mangel von Alpha 1- Antitrypsin.

Sie entwickeln bereits sehr früh in ihrem Leben ein panlobuläres Lungenemphysem. Bei Punktmutationen dieses Proteins können Krankheitsbilder von neonatalen Hepatitiden über Leberzirrhose bis hin zu Demenz auftreten.

Neben der Hemmung von verschiedensten Proteasen im Körper wie Trypsin, Chymotrypsin oder Thrombin, geht man auch von einer direkten Wirkung von Alpha 1-Antitrypsin auf Leukozyten aus. Es wird vermutet, dass Alpha 1-Antitrypsin chemotaktisch wirkt, und auch einen Einfluss auf die Ausschüttung von Entzündungsmediatoren hat. <sup>(76,77)</sup>

#### **1.4.2.5 Transferrin**

Transferrin ist ein Eisen-bindendes Protein, das über den Darm aufgenommenes Eisen zu den Speichern, beispielsweise in die Leber und ins Knochenmark bringt, wo es der Hämoglobinproduktion dient. Dort wird es über spezielle Transferrin-Rezeptoren in die Zellen aufgenommen und recycelt wieder ausgeschieden.

Es spielt insofern eine wichtige Rolle in der Akut-Phase Reaktion, als es Teil des Eisenstoffwechsels ist, der wesentliche Veränderungen während dessen unterläuft.

Da die Konzentration dieses Proteins während einer Akut-Phase-Reaktion abnimmt, zählt Transferrin zu den negativen Akut-Phase Proteinen.

#### **1.4.3 Das Ende einer Akut-Phase Reaktion**

Die Akut-Phase Reaktion endet mit der Inhibierung von TNF-alpha und IL-1beta durch IL6 und IL 10. IL- 6 bewirkt unter anderem die Ausschüttung von Rezeptorantagonisten für IL-1-beta und TNF- alpha, die dann um die Bindungsstellen auf Zellen konkurrieren ohne dabei selbst intrinsisch aktiv zu sein.

Weiters wird durch IL- 6 die Ausschüttung von IL- 10 stimuliert, wodurch die Akut-Phase Reaktion letztendlich limitiert wird. <sup>(67,68)</sup>

#### 1.4.4 Hyperthermie und die Akut- Phase Proteine

Sowohl Fieber als auch veränderte Konzentrationen von Akut- Phase Proteinen im Blut sind zwei Kardinalerscheinungen einer Akut- Phase Reaktion.

Beides wird durch Zytokine verursacht, allen voran IL-6.

Fieber wurde über lange Zeit in der Wissenschaft als auch in der medizinischen Praxis bloß als ein Symptom oder eine Nebenwirkung, die es zu unterdrücken galt, gesehen. In den letzten Jahrzehnten beschäftigt man sich nun intensiver mit der Rolle des Fiebers als eigenständiges Instrument, das immunologische Vorgänge aktiv beeinflusst.

Der Einfluss von Hyperthermie bzw. Fieber auf die Expression von Akut- Phase Proteinen wurde bislang nur mit geringer Aufmerksamkeit der Wissenschaft untersucht.

Eine Studie an humanen Leberzellen (HepG2) untersuchte einerseits den direkten Einfluss von Wärmebehandlungen mit 37°C und 40°C auf die Expression von Akut- Phase Proteine und andererseits die Interaktion zwischen IL-6, Hyperthermie und den Akut- Phase Proteinen, Albumin, Fibrinogen und Haptoglobin.

Albumin, als ein negatives Akut Phase Protein, zeigte keine Veränderung, bei Kultivierung mit 37°C. Nach Zugabe von IL-6 sank die Albuminkonzentration nach einem Tag. Erhöhte man die Temperatur auf 40°C, mit und ohne IL-6, sank die Albuminkonzentration bereits am ersten Tag signifikant ab. Hitzestimulierung allein führte zu einem Abfall der Konzentration um 55-45% und die Kombination mit IL-6 zeigte einen Abfall auf 20-30% der Konzentration der Kontrollgruppe.

Im Gegensatz dazu verhielt sich die Fibrinogenkonzentration unter 40°C ohne Stimulation mit IL-6 anders als erwartet, denn sie nahm ab.

Haptoglobin reagierte erwartungsgemäß auf IL-6 Stimulation unter 37°C mit einer Zunahme am dritten Tag. Die Wärmebehandlung mit 40°C allein, zeigte ebenfalls eine signifikante Steigung von Haptoglobin. Ein stark synergistischer Effekt auf die Expression von Haptoglobin erwies sich unter 40°C und IL-6 Stimulierung. Haptoglobin stieg um das 23- fache seines Ausgangswertes. <sup>(69)</sup>Diese Studie zeigt einen Einfluss von Temperatur auf die Expression von Akut- Phase Proteine in der Leber und ein synergistisches Zusammenspiel von IL-6 und Hyperthermie, wobei die einzelnen Proteine ein sehr heterogenes Verhalten im Bezug auf den zeitlichen als auch quantitativen Verlauf haben.

Des Weiteren wird in der Studie ein komplexes Zusammenspiel zwischen Temperatur, IL-6 und Akut- Phase Proteinen deutlich.

Der Rückschluss auf eine in vivo- Situation ist vermutlich jedoch nicht zu treffen.

Eine weitere Studie untersuchte die Auswirkungen einer 1- wöchigen Wärmebehandlung in einer finnischen Sauna für 30 Minuten täglich, auf die Konzentration der Akut Phase Proteine A- 1- A und Transferrin. Beide Akut Phase Proteine stiegen unter der einwöchigen Wärmebehandlung an. Ob ein direkter thermischer Effekt auf die Bildung von Akut- Phase Proteinen vorliegt, bleibt offen. <sup>(87)</sup>

Eine Studie an Mäusen konnte keinen direkten Effekt einer Hyperthermiebehandlung bei  $39.8 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$  für 6 Stunden auf die Erhöhung von Haptoglobin nachweisen. <sup>(86)</sup>

Wir vermuten nun, daß eine einmalige Erhöhung der Körperkerntemperatur auf  $38,7^{\circ}\text{C}$  eine Aktivierung des unspezifischen Immunsystems auslöst, in der Weise als eine vermehrte Produktion der positiven Akut- Phase Proteine in der Leber induziert wird und die Konzentration von negativen Akut- Phase Proteinen im Blut abnimmt.

## 2 Methoden

### 2.1 *Temperaturmessung*

Der Begriff „Körperkerntemperatur“ bezieht sich auf die intraabdominelle, intrathorakale und intrakranielle Temperatur. Die sogenannte „Schalentemperatur“ auf die Temperatur in der Körperschale und den Extremitäten. Wichtig ist dabei, dass die gewählte Methode die Körperkerntemperatur misst oder zumindest genaue Rückschlüsse darauf zulässt. Dies spielt vor allem bei Hyperthermiebehandlungen mit einer Zieltemperatur um 41°C eine wesentliche Rolle. Der Körper reagiert auf Temperaturunterschiede nicht mit einem linearen Anstieg der Körperkerntemperatur, weshalb selbst Ungenauigkeiten der Messmethode von 1-2 Zehntel °C innerhalb von Minuten oder sogar wenigen Sekunden fatale Folgen für den Patienten haben können. Auch äußere Faktoren wie Luftfeuchtigkeit, Umgebungstemperatur oder elektromagnetische Felder sollten einer genauen Messung nicht im Wege stehen.

#### 2.1.1 **Messmethoden**

Der absolute Goldstandard wäre die Messung der Temperatur im Hypothalamus, der zentralen Temperaturschaltstelle. Temperatursonden im Hypothalamus stellen jedoch aufgrund ihrer Invasivität und ihrer Unzumutbarkeit Patienten gegenüber keine reelle Option dar. In der Intensiv- und Notfallmedizin hat sich die Messung der Temperatur in der Pulmonalarterie durchgesetzt, welche ein Gemisch aus Blut sowohl aus dem Viszerum als auch aus der Haut enthält und somit nicht die reine Körperkerntemperatur abbildet. Diese Methode ist aber aufgrund ihrer Invasivität weder für experimentelle Zwecke noch für die alltägliche Praxis geeignet.

Im klinischen Alltag wird die Temperatur hauptsächlich sublingual, axillär und im Ohr gemessen. Wie aus Untersuchungen hervorgeht <sup>(8)</sup>, sind keine dieser Methoden wirklich sinnvoll in Bezugnahme auf wissenschaftliche Studien, wo die Körperkerntemperatur ein wichtiger Orientierungspunkt ist. Die Messung sublingual ist zu ungenau, weil jedes einzelne Messergebnis durch die individuelle Handhabung sehr variiert.

Außerdem lässt sie sich durch äußere Faktoren sehr stark beeinflussen. Demnach stellt sich auch die Frage der Vergleichbarkeit der einzelnen Messpunkte.

Die axilläre Temperatur weicht von der tatsächlichen Körperkerntemperatur um bis zu +/- 1.2°C ab und das kann v.a. bei Temperaturen von über 40°C gefährlich für Patienten bzw. Probanden werden. Außerdem gibt es zahlreiche Faktoren die das Ergebnis verfälschen, wie die Umgebungstemperatur, Schweiß, Behaarung. <sup>(8)</sup>

Die Mittelohrmessung wird in sehr vielen Studien als die einzig verwendete Messmethode angegeben. <sup>(31,32)</sup> Die Nähe zur Carotis interna, die den Hypothalamus versorgt, war die Überlegung, die mitunter zur Entwicklung der Mittelohrmessung in den 1960igern geführt hat. Bei richtiger Platzierung direkt am Trommelfell fällt der Einfluss der Umgebungstemperatur weg. Trotz etwaiger Beeinträchtigungen durch Cerumen hat sich die Mittelohrmessung als Goldstandard für die nichtinvasive Temperaturmessung bewährt. Die Temperaturerfassung im Ösophagus und im Rektum werden, aufgrund ihrer Genauigkeit, in erster Linie zu wissenschaftlichen Zwecken eingesetzt.

Bei der rektalen Temperaturmessung werden dünne Temperatursonden oder Fieberthermometer, die mindestens 8cm in das Rektum eingeführt werden sollten, verwendet. Lange Zeit galt diese Methode als Goldstandard, weil sie die Körperkerntemperatur weitgehend unverfälscht abnimmt. Nachteile könnten sich daraus ergeben, dass die Rektaltemperatur auf Änderungen der Körperkerntemperatur zeitverzögert reagiert und damit bei Anwendungen mit kontinuierlichem Temperaturanstieg ein Risiko birgt. Wahrscheinlich ist für diese Zeitverzögerung ein Fehlen von Temperaturrezeptoren im Rektum verantwortlich.

Die Anwendung kann unangenehm sein, wodurch auch Compliance eingeschränkt wird. Durch Einweghüllen für die Sonden können Infektionsübertragungen vermieden werden.

Die ösophageale Messung bietet einen Vorteil gegenüber der rektalen Messung, da die Platzierung der Sonde auf Höhe der Pulmonalarterie eine zeitechte und genaue Temperaturbestimmung(+/- 0.1bis 0.2°C) erlaubt.

Die transnasale oder transorale Einführung der Sonde stellt jedoch eine Herausforderung für Untersucher und Patienten bzw. Probanden dar.

In unserer Studie wurde einerseits die Temperatur mittels eines Rektalthermometers ermittelt, das von den Probanden selbst gesetzt wurde und andererseits wurden zum Vergleich viertelstündlich die Sublingualtemperatur gemessen.

## 2.2 HT3000

Die Erfordernisse, die ein Ganzkörperhyperthermieverfahren für unsere Studie erfüllen musste, waren v.a. leichte Handhabbarkeit, wenig Nebenwirkungen und auch die Möglichkeit die Vitalparameter der Probanden überwachen zu können. Dazu verwendeten wir das wIRA- Ganzkörperhyperthermie- Gerät HT3000, das uns von der Firma Heckel Medizintechnik GmbH zur Verfügung gestellt wurde.

- Es ist einfach zu bedienen
- Die wassergefilterten Infrarottechnik verhindert ein zu starkes Überhitzen der Haut und bewirkt einen relativ raschen Anstieg der Körperkerntemperatur, was das Gerät sehr effektiv macht. V.a. im Hinblick auf die anschließende Studie mit Bechterew-Patienten kann dies einen Vorteil ergeben, da unnötige Liegezeiten vermieden werden können.
- Durch die nach außen abgedichtete Kabine, in der die Probanden liegen, wird auch eine Wärmeabgabe vermieden und somit die Effektivität dieser Methode erhöht.
- Durch die integrierte Software können Vitalparameter nicht nur ständig überprüft, sondern auch gespeichert werden. Außerdem können je nach Belieben verschiedenste Verläufe der aufgezeichneten Parameter in Kurvenform dargestellt und verglichen werden.
- Neben Verbrennungen der Haut sind die meisten anderen Nebenwirkungen, wie Schwindelgefühl, Kopfschmerzen oder sogar Parästhesien, vom Verfahren unabhängig und entstehen vorwiegend durch eine geringe Toleranz des Kreislaufes gegenüber Hitze.

In der onkologischen Praxis wurden bereits eine Reihe von zum Teil sehr komplexen und aufwendigen Hyperthermie- Verfahren entwickelt, die aber in unserem experimentell-nicht klinischen Setting keine Relevanz haben, da sie einerseits zu aufwendig und andererseits auch die Bedürfnisse unserer Studie überschreiten. <sup>(14,15)</sup>

Das Ziel der meisten dieser Studien, wie unsere, ist es, den ganzen Körper zu erwärmen, damit die Körperkerntemperatur steigt. Sehr häufig werden Ganzkörperbäder verwendet. <sup>(31,32,34)</sup> Dabei einschränkend ist wahrscheinlich das Schmerzempfinden der Haut auf steigende Wassertemperaturen. Außerdem kann es für Probanden unangenehm werden, über eine lange Zeit im Wasser zu liegen.

### **2.2.1 Wirkungsweise**

Der HT3000 wirkt über sogenannte Wasser- gefilterte Infrarot A- Strahlung (wIRA). Diese spezielle Art der Strahlung wird erzeugt, indem die gesamte Strahlung eines Halogen-Strahlers durch Küvetten geschickt wird, die mit Wasser gefüllt sind. So werden ungewünschte Strahlenanteile herausgefiltert. Die verbleibende wassergefilterte Infrarot-Strahlung gewährleistet ein gutes Eindringen in tief gelegene Gewebsabschnitte und verhindert das Risiko einer thermischen Schädigung der Haut.

Um zu verhindern, dass die aufgenommene Wärmeenergie vom Körper wieder abgegeben wird, wird über einem beliebigen Bett, eine Isolierkabine aus flexiblen Wärmedämm-Folien eingerichtet. Sie bildet um den Körper eine ruhende Warmluftschicht und schließt Verdunstungskühlung aus.

Nach Beendigung des aktiven Wärmeeintrages kann die erreichte Körpertemperatur durch Thermoisolation über längere Zeit aufrechterhalten werden.

### **2.2.2 Handhabung**

Nachdem das Wärmezelt aufgebaut ist, kann man es einige Minuten vorheizen. Bei Erreichen der gewünschten Temperatur des Zeltes, wird der Proband hinein gelegt und die wIRA können eingeschalten werden.

Der Kopf des Probanden ist von der Erwärmung ausgenommen und nur durch eine aufmachbare Plexiglasplatte von außen getrennt. Dies ermöglicht einerseits im ständigen Kontakt mit den Probanden zu bleiben und seinen Zustand zu überprüfen. Andererseits kann bei Unbehagen des Probanden für Frischluftzufuhr durch Öffnen der Platte gesorgt werden. Auch dem Wunsch zu Trinken kann so Folge geleistet werden.

Während der gesamten Behandlung kann durch die flexible Beschaffenheit des Wärmezeltes aus Kunstleder auch die Position des Probanden an die individuellen Wünsche angepasst werden, ohne dabei die Behandlung zu unterbrechen oder die Überwärmung zu stören.

Die Körperkerntemperatur wird über eine Rektalsonde gemessen und aufgezeichnet.

Spezial-Dokumentations-Software FebroData ermöglicht komplexe Optionen für die Darstellung der gewonnen Daten, wie Kurvenanalysen und Vergleiche, ICD-10 Kodierungen etc. <sup>(78,79)</sup>

## 2.3 *Ablauf der Studie*

### 2.3.1 **Probanden**

Nachdem die für die Medizinische Universität Graz zuständige Ethikkommission die Durchführung der Studie genehmigt hat, begann die Suche nach geeigneten Probanden.

Wir entschieden uns insgesamt 10 männliche Probanden in die Studie einzuschließen.

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte mittels, öffentlich im Universitäts- und Klinikbereich ausgehängten, Informationsblättern.

Alle Probanden wurden angehalten eine Einwilligungserklärung zu unterzeichnen.

Ihre Daten wurden dokumentiert und etwaige Ausschlussgründe erfasst.

Ausschlusskriterien:

- Bestehende Erkrankung des Immunsystems
- Akute oder chronische Infektionserkrankung
- Alkoholkonsum in den letzten 24 Stunden vor Beginn der Behandlung
- Kaffeekonsum in den letzten 24 Stunden vor Beginn der Behandlung
- Einnahme von Schmerzmedikamenten in den letzten 24 Stunden vor Beginn der Behandlung
- Regelmäßige Einnahme von Cortisonpräparaten
- Regelmäßige Einnahme von Opioiden
- Regelmäßige Einnahme von Beruhigungsmitteln
- Raucher

4 Probanden gaben an zu Rauchen. Alle jedoch vereinbarten mit uns das Rauchen 24 Stunden vor Beginn bis zum Ende der Behandlung zu pausieren.

Die Probanden waren zwischen 22 und 31 Jahren alt, im Mittel 24,8 Jahre.

(Ein Proband 22 Jahre, ein Proband 31 Jahre, 5 Probanden 24 Jahre, 3 Probanden 25 Jahre).

### **2.3.2 Zeitlicher Ablauf**

- Jeder Proband war am Morgen der Behandlung ein Klysma zur Enddarmreinigung zu verwenden, die Temperatursonde wurde von den Probanden 15cm in das Rektum appliziert
- Jede Behandlung wurde um 7 Uhr begonnen
- Zuerst wurden die Patienten untersucht und ein physikalischer Status durchgeführt
- Außerdem wurde ihnen ein venöser Zugang für die Blutabnahmen gelegt
- Nachdem die Wärmekammer um die 40- 50° C erreicht hatte, wurden die Probanden in die Kammer gelegt
- Nach Erreichen der Zieltemperatur, wurde der aktive Wärmeeintrag gestoppt- die Körperkerntemperatur wurde jedoch über eine weitere Stunde durch passiven Wärmestau konserviert.
- Anschließend wurden die Probanden ausgewickelt und noch für weitere 2 Stunden überwacht
- 24 Stunden nach Erreichen der Zieltemperatur wurde nochmals ein physikalischer Status erhoben und Blut abgenommen

### **2.3.3 Physikalischer Status**

Dieser beinhaltete:

- Beurteilung des Allgemein- und Ernährungszustandes
- Grobe Inspektion des Probanden auf dermale wie auch skelettale Auffälligkeiten
- Grobe Untersuchung der Gelenke
- Lymphknotenstatus
- Untersuchung des Nasen- Rachenraumes, der Augen sowie des Abdomens
- Auskultation des Cor als auch der Lungen

### **2.3.4 Blutabnahmen**

Die erste Blutabnahme erfolgte zum Zeitpunkt null, also um 7 Uhr morgens.

Bei Erreichen der Zieltemperatur, eine, zwei, drei und 24 Stunden nach Erreichen der Zieltemperatur wurden weitere Blutabnahmen gemacht.

Zu jedem Zeitpunkt wurden 4 endotoxinfreie EDTA Röhrchen und ein Lithium- Heparin Röhrchen abgenommen. Die Proben wurden in einer gekühlten Zentrifuge für 10 Minuten zentrifugiert. Das Plasma wurde bis zur Auswertung der Daten bei  $-70^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

Die Blutabnahme zum Zeitpunkt „null“ ergab sich aus dem Gedanken heraus, Baseline-Werte noch vor begonnener Behandlung zu erhalten und um die darauffolgenden Ergebnisse der Abnahmen damit vergleichen zu können. Bei Erreichen der Zieltemperatur und 1,2,3 Stunden danach, diente uns um einen Verlauf über die Zeit zu bekommen. Die letzte Blutabnahme 24 Stunden nach Erreichen der Zieltemperatur gründete sich einerseits auf den Ergebnissen bereits durchgeführter Studien und andererseits wollten wir wissen, wie lange ein möglicher Effekt einer einmaligen, einstündigen Erwärmung anhält.

### **2.3.5 Zieltemperatur- Das Problem mit den Standards**

Die Wahl der geeigneten Zieltemperatur erfolgte nach einer ausführlichen Literaturrecherche.

In der Onkologie ist es ein Ziel möglichst hohe Temperaturen v.a. im Tumorgewebe zu erreichen und damit ein zum Teil direkt zytotoxisches Milieu zu erzeugen, wodurch das entartete Gewebe in seinem Wachstum gebremst oder gestoppt werden kann.

Dabei potenziert die applizierte Wärme sehr oft auch die Wirkung von Radio- oder Chemotherapien. Sehr hohe Temperaturniveaus von über  $40,5^{\circ}\text{C}$  werden dabei erreicht.

Bei der Behandlung von rheumatologischen Erkrankungen, versucht man sich andere Effekte der Wärme zu Nutze zu machen.

Zahlreiche Studien ergeben, dass Temperaturen weniger als 40°C, also im Bereich der sogenannten milden Hyperthermie oder „fever-range“ Hyperthermie bzw. „lower-febrile-range“ (um die 38°C) <sup>(20)</sup> immunologische Prozesse in Gang gesetzt werden, wie die Induktion von HSPs <sup>(22)</sup>, eine vermehrte NK-Zell-Aktivität, Ausschüttung von Interleukinen durch aktivierte Monozyten etc. <sup>(16,17,34)</sup>

Die Intention der Studie war es, bei gesunden und auch bei Bechterew-Patienten immunologische Prozesse durch eine einmalige Hyperthermiebehandlung nachzuweisen.

Die letztendliche Definition der Zieltemperatur gestaltete sich schwierig. Wie schon zuvor erwähnt, gibt es im Bereich der Onkologie bereits Hyperthermieverfahren, mit definiertem Temperatur- und Indikationsbereich.

In der experimentellen Forschung im Bereich der Rheumatologie oder Immunologie, herrscht noch großes Durcheinander. Es existieren keine standardisierten Temperaturprotokolle, die zur Orientierung hilfreich wären. M.T. Pritchard et al. <sup>(88)</sup> haben eine sehr detaillierte Beschreibung verschiedener Methoden zu Wärmebehandlungen an Mäusen veröffentlicht, die durchaus sehr hilfreich sind und dem Versuch einer Standardisierung gerecht werden. Außerdem wird in diesem Bericht ein Modell zu Erwärmung von Menschen vorgestellt, wo Probanden mit rezidivierenden Tumoren für eine Dauer von 6 Stunden auf eine Körperkerntemperatur von 39,5- 40°C gebracht wurden. Aus der Reaktion des Immunsystems (verminderte Anzahl von Lymphozyten- und CD3+-Zellen im peripheren Blut), kann man durchaus schließen, ein effektives Modell gefunden zu haben. Es wird aber beschrieben, dass die Studienteilnehmer sediert werden mussten, was für unser Studienkonzept keine Option darstellte, denn im Hinblick darauf, dass in der Zukunft Hyperthermiebehandlungen standardisiert bei Bechterew-Patienten zum Einsatz kommen könnten, kann dabei der Aufwand einer solch strapaziösen Prozedur wohl kaum den Nutzen dieser rechtfertigen. Darüber hinaus wäre es für unsere nicht sedierten Studienteilnehmer unzumutbar gewesen über einen so langen Zeitraum, so hohen Temperaturen ausgesetzt zu sein.

Vergleichbare Studiendesigns verwendeten zur Induktion von Wärme Wasserbäder von 39.5°C, wonach die im Mittelohr gemessene Körperkerntemperatur auf 39°C stieg. <sup>(31,89)</sup>

Die Dauer der Wärmebehandlungen war dabei unterschiedlich. In beiden Studien konnten statistisch signifikante immunologische Veränderungen beobachtet werden.

In Anlehnung an die kolportierte Erhöhung der Körperkerntemperatur im Gasteiner Heilstollen von 1°C bei einem Aufenthalt von einer Stunde <sup>(91)</sup>, entschieden wir uns letztendlich für eine Zieltemperatur von 38,7°C. Eine Publikation zu dieser Körperkerntemperaturerhöhung haben wir nicht gefunden. Da der HT3000 es ermöglicht, nach dem aktiven Wärmeeintrag, einen Wärmestau einzuleiten, wurde die Zieltemperatur noch für eine weitere Stunde konserviert. In dieser Zeit stieg die rektale Temperatur unsere Probanden noch im Schnitt auf 39°C.

Neben dem Versuch, eine Situation zu simulieren, die, abgesehen von der radonhaltigen Luft, dem Klima im Heilstollen nahe kommt, sind 38,7°C durchaus verträglich für Studienteilnehmer. Da alle Probanden im Wärmestau letztendlich 39°C erreichten, schafften wir mit unserer Zieltemperatur den Spagat zwischen guter Verträglichkeit und immunologischer Relevanz.

### **2.3.6 Die Wahl der Akut- Phase Proteine**

Die Bestimmung verschiedener Akut- Phase Proteine gründet sich aus dem Interesse, die Auswirkungen einer einmaligen Hyperthermie- Behandlung auf das unspezifische Immunsystem herauszufinden.

Man weiß aus vorangegangenen Studien, dass die Ausschüttung von Interleukinen, die die Produktion von Akut- Phase Proteinen in der Leber bewirken, durch Hyperthermie beeinflusst wird. <sup>(17,18,42,68,86)</sup>

Demnach müsste auch die Produktion von Akut- Phase Proteine durch die veränderte Konzentration von Zytokinen beeinflusst werden. Außerdem stellte sich die Frage eines direkten Effekts der Hyperthermie auf die Expression und Ausschüttung dieser Proteine. Die Auswahl der einzelnen Akut- Phase Proteine, die letztendlich bestimmt wurden, gestaltete sich schwierig, da kaum vorangegangene Studien zu diesem Thema vorhanden sind.

Die Mehrheit der Studien, die Auswirkungen von Hyperthermie auf Mediatoren der Akut- Phase Reaktion untersuchten, wurden *in vitro* und unter sehr hohen Temperaturen von 39-42°C durchgeführt. Die Ergebnisse dieser *in vitro* Studien zeigen aber sehr oft ein gegenteiliges Bild wie *in vivo* Studien. Dies machte es schwer, solche als Referenz heranzuziehen. <sup>(86)</sup>

Die schlussendliche Auswahl der Akut- Phase Proteine begründet sich wie folgt:

- CRP: Zum Einen ist es das am besten untersuchte Akut- Phase Protein und stellt den klinischen Prototypen der Akut- Phase Proteine dar. Zum anderen reagiert es sehr schnell auf veränderte Verhältnisse im Organismus und dabei kann innerhalb von nur 24 Stunden die Konzentration von CRP um das Tausendfache steigen, was unserem Untersuchungszeitraum von 24 Stunden entgegenkam.
- C3/C4: V.a. C3, als wichtigstes Protein im Komplementsystem, wurde herangezogen, um die Rolle von Komplement während einer Hyperthermiebehandlung näher zu untersuchen.
- Transferrin/ A-1-A: Eine finnische Studie an 12 gesunden Probanden konnte einen Effekt einer seriellen Hyperthermiebehandlung über eine Woche auf diese beiden Proteine nachweisen. <sup>(87)</sup> Interessanterweise stiegen beide Akut- Phase Proteine in ihrer Konzentration an, was ein Hinweis auf einen antiinflammatorischen Effekt der Hitzebehandlung ist, da Transferrin als ein negatives Akute- Phase Protein bei Entzündungen abnimmt.
- Haptoglobin: Die Reaktion von Haptoglobin auf Hyperthermie wurde bereits in einigen Studien untersucht <sup>(69,86)</sup>, wobei in beiden Fällen keine Menschen als Probanden herangezogen wurden. Dies ist nun die erste Untersuchung von Haptoglobin an Menschen.

### **2.3.7 Finanzierung**

Es wurden keine finanziellen Förderungen der Medizinischen Universität beantragt. Der Einsatz des Hyperthermiegerätes wurde über die Dr.Braun- Stiftung finanziert.

## 2.4 *Statistische Methoden*

Die gewonnenen Daten wurden mit freundlicher Unterstützung des Instituts für Medizinische Informatik, Statistik und Dokumentation der Medizinischen Universität Graz im Besonderen von Mag.rer.nat.Dr.techn. Franz Quehenberger ausgewertet.

Die Messungen wurden als Box-and-Whisker-Plot dargestellt. Um zu beurteilen, ob beobachtete Unterschiede zwischen den verschiedenen Messzeitpunkten durch Zufall erklärbar sind, wurden statistische Tests durchgeführt. Ein P-Wert unter 0.05 wurde als signifikant angesehen. Zunächst wurde mit einem Globaltest für jeden Messwert die Hypothese getestet, dass Messungen zu allen Zeitpunkten die selbe Verteilung haben. Dazu wurde der non-parametrische Test für longitudinale Daten nach Brunner und Langer angewendet. Wenn dieser Test signifikant war, wurden mittels Wilcoxon-Vorzeichen-Rangtest die paarweisen Unterschiede zwischen dem Ausgangswert und den Messungen zu den Zeitpunkten 0h bis 6h getestet. Zur Berechnung wurde R 2.11.0 ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)) und ein Computerprogramm von Brunner und Langer (<http://www.ams.med.uni-goettingen.de/amsneu/download/longit/ld.fl.r>) verwendet.

Zitat: Brunner, E., Langer, F., Nichtparametrische Analyse longitudinaler Daten, Oldenburg 1999.

### 3 Ergebnisse

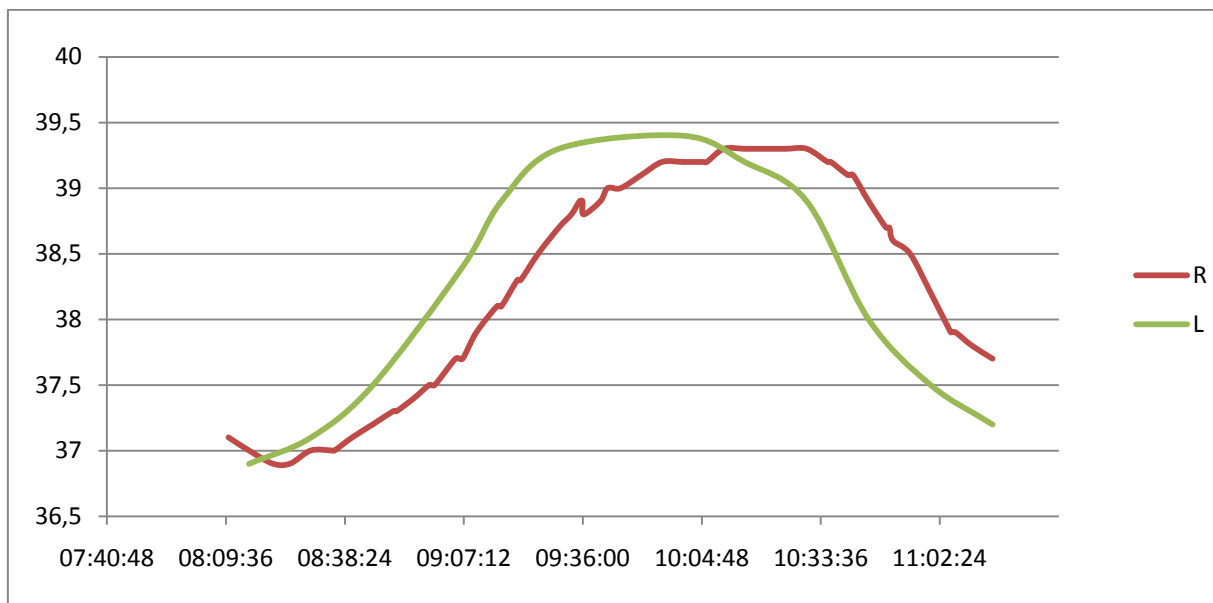
#### *Allgemein*

Bei keinem der 10 Probanden musste die Behandlung abgebrochen werden.

Der klinisch- physikalische Status, sowohl vor als auch nach der Ganzkörperhyperthermie zeigte bei keinem der Probanden Auffälligkeiten.

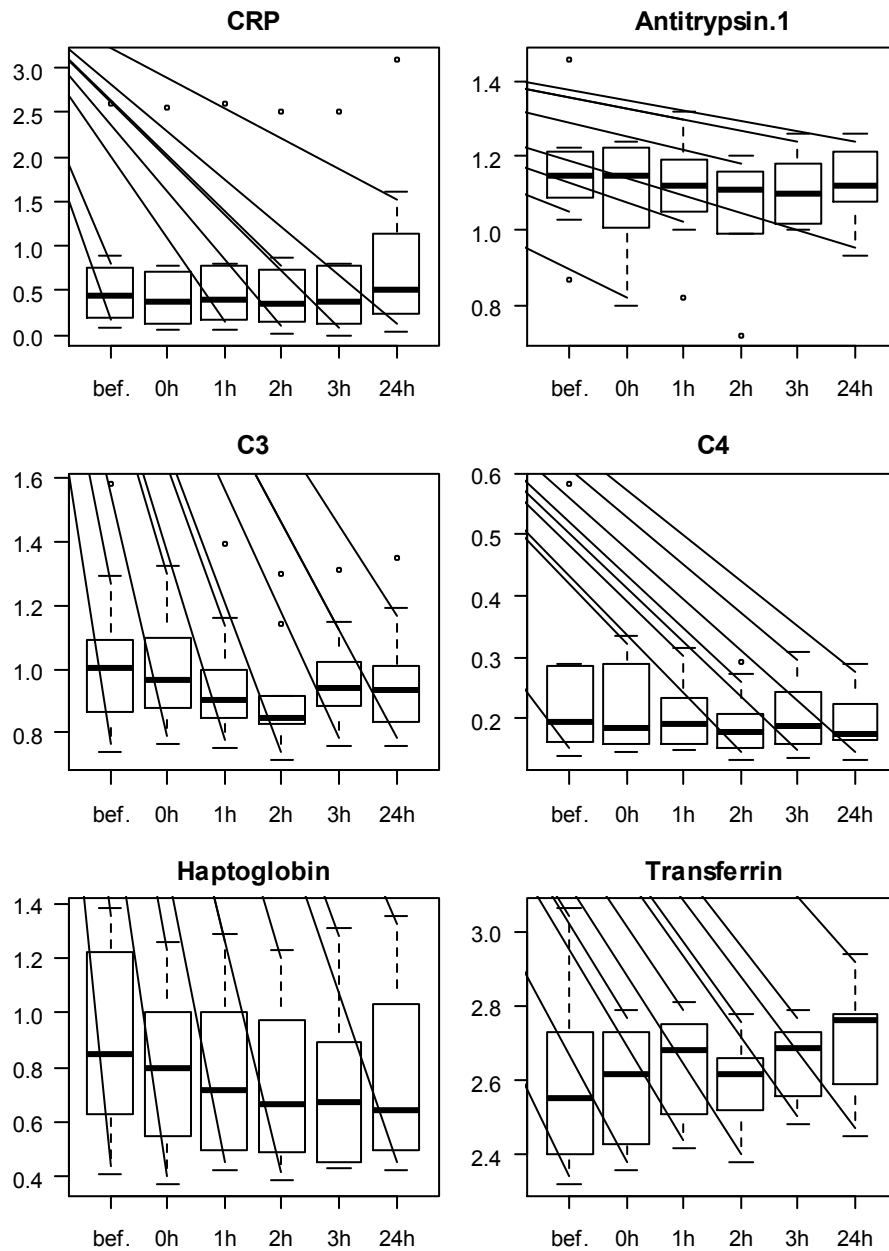
Die Probanden benötigten zum Erreichen der Zieltemperatur von 38.7°C zwischen 43 und 74 Minuten. Im Schnitt waren es 53,1 Minuten.

Bei Vergleichen der beiden Temperaturmessmethoden stellten wir bei allen unseren Probanden fest, dass die Rektaltemperatur zeitlich verzögert zu steigen begann, wie in der folgenden Abbildung zu sehen ist. Diese Abbildung zeigt die Temperaturkurve eines Probanden und macht den abweichenden Temperaturverlauf beider Messmethoden voneinander ersichtlich.



**Abbildung 1** zeigt einen repräsentativen Temperaturverlauf beider Messmethoden über die Zeit. Abszisse: zeigt die einzelnen Temperaturmesszeitpunkte; R zeigt die kontinuierliche rektale Temperaturkurve, L: entspricht dem Temperaturverlauf sublingual. Ordinate: Temperaturskala in Grad Celsius

## Akut- Phase Proteine

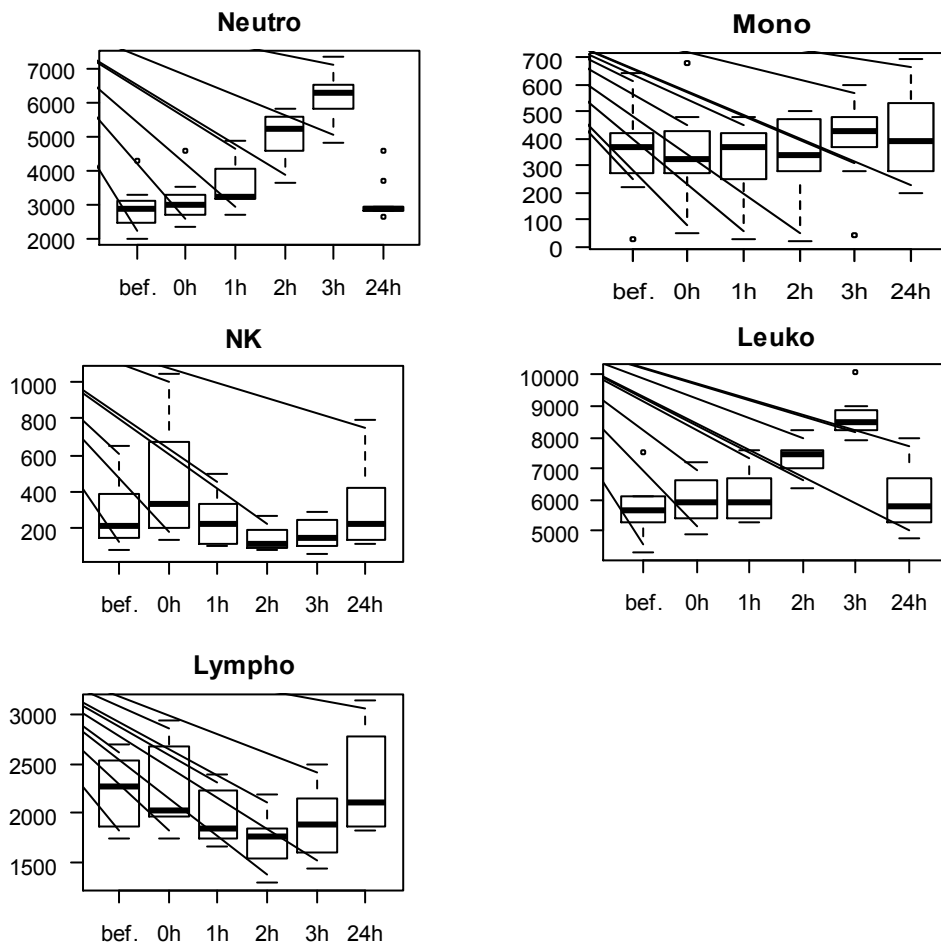


**Abbildung 2** zeigt den Verlauf der einzelnen Akut- Phase Proteine über die Zeit. Abszisse: „bef.“ ist die erste Blutabnahme um 7Uhr. „0h“: ist der Messpunkt beim Erreichen der Zieltemperatur. „1h, 2h, 3h, 24h“: stehen für die weiteren Blutabnahmen jeweils 1,2,3 und 24 Stunden nach Erreichen der Zieltemperatur. Ordinate: zeigt die jeweiligen Konzentrationsbereiche ( g/l bis auf CRP- mg/l).Alle Ausgangswerte befanden sich im Normbereich.

Über den gemessenen Zeitraum konnte keine statistisch signifikante Veränderung der Konzentrationen von den Akut- Phase Proteinen gemessen werden.

Die angeführten Boxplots zeigten eine sehr unterschiedliche Streuung der einzelnen Akut-Phase Proteine. Der Ausreißer im CRP ist ein Proband, der bereits zu Beginn der Behandlung erhöhte CRP- Werte aufwies. Ansonsten zeigen die Probanden einen ähnlichen CRP- Verlauf über die Zeit. Tendenziell ist festzustellen, dass die Konzentration von CRP von der 1. Blutabnahme im Vergleich zur letzten, 24 Stunden nach Erreichen der Zieltemperatur, bei neun Probanden, wenn auch nicht signifikant, stieg. Obwohl wiederum nicht statistisch signifikant, fällt beim Haptoglobin eine große Streubreite auf.

## Leukozytentypisierung



**Abbildung 3** zeigt die Ergebnisse der Leukozytentypisierung Analyse über den zeitlichen Verlauf. Abszisse: „bef.“ ist die erste Blutabnahme um 7Uhr. „0h“: ist der Messpunkt beim Erreichen der Zieltemperatur. „1h, 2h, 3h, 24h“: stehen für die weiteren Blutabnahmen jeweils 1,2,3 und 24 Stunden nach Erreichen der Zieltemperatur.

Die absolute Zahl an Leukozyten steigt im Verlauf der Behandlung an mit einem Peak 3 Stunden nach Erreichen der Zieltemperatur.

Dabei steigen die neutrophilen Granulozyten ebenso im Verlauf, wobei bereits bei Erreichen der Zieltemperatur ihr Anstieg statistisch signifikant wird. Der höchste Anstieg 3 Stunden nach erreichter Zieltemperatur geht konform mit der beschriebenen Leukozytenerhöhung.

Die Veränderungen der Monozytenzahl im Blut sind gering. 3 Stunden nach erreichter Zieltemperatur erhöht sich die Konzentration an Monozyten statistisch signifikant. Die Darstellung des Boxplots zeigt einen inhomogenen, breit gestreuten Verlauf der Monozyten über die Zeit.

Die große Streubreite vor, bei und 24 Stunden nach Erreichen der Zieltemperatur fällt auf, wenn man die Konzentrationsänderungen der NK- Zellen über die Zeit betrachtet. In der Phase des Wärmestaus und auch danach liegen die Werte der 10 Probanden enger zusammen. Statistische Signifikanz wird bei erreichter Zieltemperatur und 2 Stunden danach erreicht.

Im Gegensatz zu den übrigen Leukozyten reagieren die Lymphozyten auf die Wärmebehandlung mit einem Abfall ihrer Konzentration im Blut. Der Effekt der Wärmebehandlung auf Lymphozyten ist dabei im Gegensatz zu den Neutrophilen Granulozyten um einen Zeitpunkt nach hinten verschoben. Die Konzentrationsänderung wird erst eine Stunde nach Erreichen der Zieltemperatur signifikant. Ein starker Abfall ihrer Konzentration ist v.a. 2 Stunden nach Erreichen des Zieltemperaturniveaus zu beobachten.

24 Stunden nach erreichter Zieltemperatur sind bei allen beschriebenen Zelllinien keine statistisch signifikanten Veränderungen mehr zu beobachten.

## 4 Diskussion

### 4.1 Allgemein

Die relativ geringe Zahl von nur 10 Probanden, ist aus unserem Studienkonzept erklärbar: Diese Studie ist als Pilotstudie konzipiert, weil in der Literatur kaum ähnlich angelegte Studien existieren. Um unser Hyperthermieprotokoll zu testen und um Baseline- Werte zu bekommen, erschien die Zahl von 10 Probanden den Erfordernissen adäquat. In der Literatur findet man außerdem kaum Hyperthermie-Studien, die in der Zahl der Studienteilnehmer größer angelegt sind. <sup>(18,31,32,28,42)</sup>

Da Frauen während des Menstruationszyklus Schwankungen ihrer Körpertemperatur haben und da die Körperkerntemperatur ein wesentlicher Orientierungspunkt unserer Studie ist, wählten wir nur männliche Probanden.

Das relativ junge Durchschnittsalter der Probanden von 24,8 Jahren macht sie untereinander besser vergleichbar und ergab sich aus unserer Ausschreibungsmodalität.

Um sicher zu gehen, dass alle Probanden gesund sind, erstellten wir einen Fragebogen und ermittelten Ein- und Ausschlusskriterien.(siehe Kap. 2.3)

Außerdem nahmen wir am Beginn der Untersuchung Routineparameter (Blutbild, Differentialblutbild, CRP, Leber- und Nierenfunktion, Elektrolyte)ab, das im Wesentlichen die erforderlichen Blutparameter einer Gesundenuntersuchung enthält.

Der dritte Teil unserer Voruntersuchungen war eine klinisch- physikalische Krankenuntersuchung.

Dieses Screening erschien uns ausreichend für die Beurteilung des Gesundheitszustandes unserer Probanden.

Außerdem wurde der Konsum von Nikotin, Koffein und Alkohol von den Probanden bereits 24 Stunden vor Beginn der Studie eingestellt, um etwaige Einflüsse, speziell auf die Akute- Phase Proteine, zu vermeiden.

Um den Einfluss von Störfaktoren, beispielsweise zirkadianen Schwankungen möglichst gering zu halten und die Vergleichbarkeit unserer Daten zu gewährleisten, war der Ablauf der Studie an einen strengen zeitlichen Rhythmus gebunden, der für jeden Probanden um 7Uhr morgens begann.

### **4.1.1 Temperatur**

Die richtige Wahl der Temperaturmessmethode, die die Körperkerntemperatur möglichst genau widerspiegelt ist sehr wichtig.

Wir haben uns für zwei Methoden entschieden: Einerseits führten wir eine kontinuierliche rektale Messung durch und andererseits maßen wir alle 15 Minuten die Temperatur sublingual. Die letztere Methode war jedoch keine seriöse Quelle für das Erreichen der Zieltemperatur, sondern diente unserem eigenen Interesse bezüglich der Abweichung der beiden Messmethoden voneinander.

Wie in Abb.1 im Kapitel gut ersichtlich können wir feststellen, dass die Temperatur im Rektum zeitlich verzögert zu steigen beginnt. Damit können wir diesbezüglich bereits angestellte Untersuchungen nur bestätigen.

Genauere Methoden aber, wie ösophageale Messung oder die Messung in der Pulmonalarterie sind meist invasiv und daher abzulehnen. Es wäre wünschenswert für die Zukunft, Messmethoden als Standards zu etablieren, da eine bessere Vergleichbarkeit von Studien erreicht werden könnte. Außerdem wäre es sinnvoll, wenn in Zukunft Temperaturmessmethoden verwendet werden würden, die benutzerabhängige Unterschiede aufheben. Die Messung der Rektaltemperatur ist dabei aber eine gute Methode, denn einerseits ist sie nicht invasiv, nicht beeinflusst von äußeren Faktoren und kann kontinuierlich aufgezeichnet werden. Um eventuelle Einflüsse im Rektum selbst zu minimieren, waren unsere Probanden angehalten, am Morgen der Behandlung eine Entleerung des Enddarms durchzuführen.

## ***4.2 Diskussion der Ergebnisse***

### **4.2.1 Akut- Phase Proteine**

Über den gemessenen Zeitraum kann keine statistisch signifikante Veränderung der Akut-Phase Proteine beobachtet werden.

Zuvor wurde bereits anhand einer in vitro Studie <sup>(20)</sup>, die These aufgestellt, dass Wärmebehandlungen nur dann immunologische Reaktionen bewirken, wenn das Immunsystem, aus welchen Gründen auch immer bereits aktiviert ist. Im Falle der zitierten Studie, wurden Tumorzellen als „Zielzellen“ eingesetzt.

Erst nachdem diese Tumorzellen gemeinsam mit Immunzellen, genauer, NK- Zellen, mit Wärme behandelt wurden, zeigte sich eine Reaktion.

Möglicherweise können wir keine statistisch signifikanten Veränderungen detektieren, weil das Immunsystem unsere gesunden Probanden nicht durch Antigene, die von Bakterien, Viren oder Tumorzellen stammen können oder im Rahmen autoimmunologischer Prozesse entstanden sind, aktiviert ist.

Dies bedeutet aber nicht, dass diese Hyperthermiebehandlung andere Auswirkungen hatte. Einige Wissenschaftler sprechen von einer „increase of the pathogen-eliminating capacity“, die besagt, dass unter einer Hitzebehandlung die Fähigkeit des Immunsystems steigt, pathogene Strukturen zu erkennen und zu eliminieren, d.h. in Alarmbereitschaft versetzt wird.

Um dies zu überprüfen, müsste man hitzebehandelte PBMCs mit Mitogenen oder Antigenen stimulieren. Außerdem könnte man unsere Entzündungsparameter auf mRNA-Ebene untersuchen.

Rückblickend stellt sich auch die Frage, ob eine einmalige Hyperthermiebehandlung ein zu schwacher Stimulus ist um statistisch signifikante Veränderungen in der Akut- Phase Reaktion zu induzieren. Es wäre für weitere Studien interessant zu untersuchen, ob ein Studienkonzept mit seriellen Hyperthermiebehandlungen, beispielsweise mit neun Zyklen im gleichen Temperaturniveau, eine Akut- Phase Reaktion auslösen kann.

Darüber hinaus ist aber eine, wenn auch nicht statistisch signifikante, interindividuelle Abweichung der Kurvenverläufe voneinander bei den Probanden auffällig. Besonders die Kurven der CRP- Verläufe sind hier hervorzuheben. Bei einem Probanden ist bereits zu Beginn der Untersuchung eine höhere CRP- Konzentration auf. Ein anderer Erklärungsansatz wäre, dass man die Akut- Phase Reaktion als Summer vieler einzelner Mechanismen sehen muss, die zwar generell bei allen Individuen auftritt, jedoch letztendlich sehr interindividuell geregelt ist. Dabei sind die Reaktionen der einzelnen Akut- Phase Proteine oft nicht erwartungsgemäß und unterliegen sehr komplexen Mechanismen, die es noch zu untersuchen gilt.

## 4.2.2 Leukozytentypisierung

Neben der Bestimmung der Akut- Phase Proteine, die den Fokus dieser Arbeit darstellen, wollten wir ebenfalls auf zelluläre Effekte der Hyperthermiebehandlung eingehen.

Die Ergebnisse der FACS- Analyse stehen im Einklang mit bereits durchgeführten Untersuchungen und Studien<sup>(89)</sup>:

### Neutrophile Granulozyten

Die Zahl der neutrophilen Granulozyten im Blut nahm durch die Hyperthermiebehandlung zu. Dies kann den Grund haben, dass das Immunsystem, auch wenn es nicht unmittelbar mit Antigenen in Berührung gekommen ist, in eine Art Alarmbereitschaft versetzt wird. Dazu werden vermehrt Neutrophile in der Blutbahn mobilisiert, um dort zu patrouillieren.

### Lymphozyten

Die Theorie, dass das Immunsystem in eine Art Alarmbereitschaft versetzt wird, würde die von uns beobachtete Abnahme von Lymphozyten im Blut erklären: Wie bereits ausgeführt, weiß man, dass ein rein thermischer Effekt existiert, der vermehrt Lymphozyten v.a. in sekundär lymphatische Gewebe transportiert, um auf potentielle Antigene vorbereitet zu werden.<sup>(17,33)</sup>

Der Abfall der Lymphozyten, v.a. der T- Zellen, geht aber etwas langsamer vor sich, als die Reaktion der Neutrophilen.

### Monozyten

3 Stunden nach Erreichen der Zieltemperatur, steigen die Monozyten statistisch signifikant. Darüber hinaus können keine statistisch signifikanten Messzeitpunkte eruiert werden. Man weiß aber aus Studien, dass Monozyten durchaus sehr sensibel und auch sehr schnell auf Hitze reagieren. Untersucht wurde dies bereits anhand der Expression von Hitzeschockproteinen.<sup>(31)</sup> In einer anderen Studie an gesunden Probanden<sup>(89)</sup>, konnte ebenfalls ein Steigen der Monozyten nachgewiesen werden. Interessanterweise stieg die Zahl der Monozyten erst 6 Stunden nach Erwärmung der Probanden in einem Wasserbad.

Möglicherweise ist hier die wassergefilterete- Infrarottechnik effektiver und führte bei uns schneller zu einer Reaktion der Monozyten.

Bei einer weiteren Bestimmung von Oberflächenmolekülen in dieser Studie geht hervor, dass Hitzestimulierung von Monozyten mit einer Veränderung ihrer Oberflächenstruktur bzw. mit einer veränderten Position von membran- assoziierten Oberflächenmolekülen einhergeht, in der Weise, als sie dadurch eine bessere Abwehrlage gegen mögliche Antigene besitzen. So ist ein thermischer Einfluss nicht unmittelbar durch eine Veränderung in ihrer Anzahl im Blut abzulesen. In weiteren Studien wäre es daher interessant, Oberflächenmoleküle und Rezeptoren zu bestimmen.

### **NK- Zellen**

Die NK- Zellen reagierten bei unserer Intervention sehr schnell auf die Wärmebehandlung. Bereits bei Erreichen der Zieltemperatur steigen sie an. Ein Steigen der NK-Zellen unter Hitzebehandlungen wurde schon von anderen Forschergruppen dokumentiert. <sup>(18)</sup>

Nach 24 Stunden sind sämtliche Zellen zu ihrem Ausgangswert zurückgekehrt. Dies mag den Grund haben, dass die Erhöhung der Körpertemperatur, wie aus den Ergebnissen ersichtlich, zwar das Immunsystem in erhöhte Alarmbereitschaft versetzt hat, aber der Stimulus für eine länger andauernde Veränderung nicht ausreicht und unser Probandenkollektiv keinen aktivierenden Antigenen ausgesetzt war.

Hyperthermie kann man letztendlich nicht mit natürlich auftretendem Fieber vergleichen, da es von außen zugeführt, zu keiner Sollwertveränderung kommt und biochemische, neuronale und auch immunologische Vorgänge in ihrem Ablauf umgangen werden. Interessanterweise fanden wir Verschiebungen der Leukozytenzahlen. Andere Aktivierungszeichen der immunologischen Funktionen werden darüber hinaus gehende Untersuchungen in unserem Setting notwendig machen, z.B. mRNA- Analysen, funktionelle in vitro Analysen.

Der Vergleich der Effekte einer milden, externen Überwärmung ist nur bei homogenen Probandengruppen und korrespondierenden Technologien zielführend, die Besonderheiten von Kohorten von Individuen mit bekannten Erkrankungen, müssen in Hinblick auf eine therapeutische Anwendung berücksichtigt werden. Es wäre für die Zukunft wünschenswert, wenn evidenzbasierte Hyperthermiebehandlungen mit genauer Indikation, Dauer und Temperaturniveau im klinischen Alltag überprüfbare Resultate bringen würden.

## Literaturverzeichnis

1. [www.gasteiner-heilstollen.com/geschichte.html](http://www.gasteiner-heilstollen.com/geschichte.html), geöffnet am 22.02.2010
2. Herold M., Lind- Albrecht G. Radon im Behandlungskonzept der Spondylitis ankylosans; Wien Med Wochenschr(2008)158/7- 8: 209- 212
3. Falkenbach A. Radontherapie des Morbus Bechterew: Nutzen und Risiko; Dtsch Med Wochenschr. 2001 Nov 30;126(48):1379-80
4. Falkenbach A., Kovacs J., Franke A., Jörgens K., Ammer K. Radon therapy for the treatment of rheumatic diseases- review and meta- analysis of controlled clinical trials;Rheumatol Int(2005) 25:205-210
5. Marktl W. Können die Effekte der Radontherapie wissenschaftlich untermauert werden?; Wien Klin Wochenschrift(2006) 118/9-10:253- 254
6. Franke A., reiner L., Pratzel H.G., Franke T., Resch K.L. Long- term efficacy of radon spa therapy in rheumatoid arthritis- a randomized, sham- controlled study and follow- up; Rheumatology2000;39:894-902
7. Lim C.L.,Byrne C., Lee KW. J. Human Thermoregulation and Measurement of Body Temperature in Exercise and Clinical Settings; Ann Acad Med Singapore 2008;37:347-53
8. <http://enw.org/Research-Thermometry.htm> zuletzt geöffnet am 18.04.210
9. Rowe- Horwege W.R. Hyperthermia, Systemic;University of Texas Medical School,Houston,Texas;Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation;Second Edition 2006
10. Schmidt K.L. Hyperthermie und Fieber;Hippokrates Verlag Stuttgart,2.Auflage 1987,7:130-35
11. Boulant JA. Role of preoptic- anterior hypothalamus in thermoregulation and fever;Clin.Infect.Dis.2000 Oct;31Suppl 5:S157- 61
12. Barker Beeson B. Antoine Deidier, A Precursor of Schaudinn and Hoffmann; Arch Derm Syphilol. 1929;19(3):449-450
13. Wiemann B.,Starnes CO. Coley's toxins, tumor necrosis factor and cancer research: a historical perspective;Pharamcol Ther.1994;64(3):529- 64
14. Kleef R. Hyperthermie, Fieber und Hitzeschock Proteine- Immunologische Implikationen in der Onkologie;AKODH-INTERN 1999;3:24- 27(SynMed Verlag, Berlin)

15. Gellermann J.H. Habilitationsschrift: Hyperthermie Behandlungsplanung und Hybridhyperthermie; Charite Centrum für Tumormedizin, Klinik für Strahlentherapie 2008
16. Appenheimer M.M., Chen Q., Girard R.A., Wang WC., Evans S.S. Impact of Fever- Range Thermal Stress on Lymphocyte- Endothelial Adhesion and Lymphocyte Trafficking; *Immunological Investigations*, 34:295-323, 2005
17. Dieing A., Ahlers O., Hildebrandt B., Kerner T., Tamm I., Possinger K., Wust P. The effect of induced hyperthermia on the immune system; *Progress in Brain Research*, Vol 162:137-52
18. Ahlers O., Hildebrandt B., Dieing A., Deja M., Böhnke T., Wust P., Riess H., Gerlach H., Kerner T. Stress induced changes in lymphocyte subpopulations and associated cytokines during whole body hyperthermia of 41.8- 42.2°C; *Eur J Appl Physiol* (2005) 95:298- 306
19. Multhoff G. Activation of natural killer cells by heat shock protein 70; *Int J Hyperthermia*, May 2009; 25(3):169-175
20. Ostberg J.R., Dayanc B.E., Yuan M., Oflazoglu E., Repasky E.A. Enhancement of natural killer (NK) cell cytotoxicity by fever range thermal stress is dependent on NKG2D function and is associated with plasma membrane NKG2D clustering and increased expression of MICA on target cells; *J Leukoc Biol*. 2007 Nov; 82(5):1322-31
21. Moseley P. Stress proteins and the immune response; *Immunopharmacology* 48 (2000) 299- 302
22. Repasky E., Issels R. Physiological consequences of hyperthermia: Heat shock proteins and the immune response; *INT.J.HYPERTHERMIA*, 2002 VOL.18, NO.6, 486-489
23. Azocar J., Yunis E.J., Essex M. Sensitivity of human natural killer cells to hyperthermia; *THE LANCET* Volume 319, Issue 8262, 2 January 1982, Pages 16-17
24. Burd R., Dziejczak T.S., Xu Y., Caligiuri M.A., Subjeck J.R., Repasky E.A. Tumor cell apoptosis, lymphocyte recruitment and tumor vascular changes are induced by low temperature, long duration (fever like) whole body hyperthermia; *J Cell Physiol*. 1998 Oct; 177(1):137- 47
25. Butcher E.C., Picker L.J. Lymphocyte homing and homeostasis; *Science*. 1996 Apr 5; 272(5258):60- 6

26. Jalkanen S., Reichert R.A., Gallatin W.M., Baragtzze R.F., Weissman I.L., Butcher E.C. Homing receptors and the control of lymphocyte migration.; *Immunol Rev.* 1986 Jun; 91:39-60
27. Chen Q., Wang W.C., Bruce R., Li H., Schleider D.M., Mulbury M.J., Bain M.D., Wallace P.K., Baumann H., Evans S.S. Central role of IL-6 receptor signal-transducing chain gp130 in activation of L-selectin adhesion by fever-range thermal stress.; *Immunity.* 2004 Jan; 20(1):59- 70
28. Evans S.S., Wang W.C., bain M.D., Burd R., Ostberg J.R., Repasky E.A. fever-range hyperthermia dynamically regulates lymphocyte delivery to high endothelial venules.; *Blood.* 2001 May 1; 97(9):2727- 33
29. Chen Q., Fisher D.T., Kucinska S.A., Wang W.C., Evans S.S. Dynamic control of lymphocyte trafficking by fever –range thermal stress.; *Cancer Immunol Immunother.* 2006 Mar; 55(3):299- 311. Epub 2005 Jul 26
30. Ogasawara K., Lanier L.L. NKG2D in NK and T Cell- Mediated Immunity; *Clin Immunol.* 2005 Nov; 25(6):534-40.
31. Oehler R., Pusch E., Zellner M., Dungal P., Hergovics N., Homoncik M., Munk Eliassen M., Brabec M., Roth E. Cell type- specific variations in the induction of hsp70 in human leukocytes by feverlike whole body hyperthermia; *Cell Stress & Chaperones* (2001) 6(4), 306- 315
32. Blazickova S., Rovensky J., Koska J., Vigas M. Effect of hyperthermic water bath on parameters of cellular immunity.; *Int J Clin Pharmacol Res.* 2000; 20(1-2):41- 6
33. Kraybill W.G., Olenki T., Evans S.S., Ostberg J.R., O’Leary K.A., Gibbs J.F., Repasky E.A. A phase 1 Study of fever- range whole body hyperthermia (FR-WBH) in patients with advanced solid tumours: correlation with mouse models.; *Int J Hyperthermia.* 2002 May- Jun; 18(3):253- 66
34. Tomiyama- Miyaji C., Watanabe M., Ohishi T., Kanda Y., Kainuma E., Bakir H.Y., Shen J., Ren H., Inoue M., Tajma K., Bai X., Abo T. Modulation of the endocrine and immuns systems by well- controlled hyperthermia equipment; *Biomedical Research* 28(3) 119- 125, 2007
35. Zdrojewicz Z., Strzelcyk J. Radon Treatment Controversy; *Dose-response* 4(2):106-118, 2006

36. Pershagen G., Akerblom G., Axelson O., Clavensjö B., Damber L., desai G., Enflo A., Lagarde F., Mellander H., Svartengren M. et al. Residential radon exposure and lung cancer in Sweden; *N Engl J Med.* 1994 Jan 20; 330(3):159-64
37. [www.gasteiner-heilstollen.com/startseite-fibromyalgie.html](http://www.gasteiner-heilstollen.com/startseite-fibromyalgie.html), zuletzt geöffnet am 5.5.2010
38. Reinisch N., Mur E., Herold M., Dunzendorfer S., Kähler C.M., Falkenbach A., Wiedermann C.J. Decrease of respiratory burst in neutrophils of patients with ankylosing spondylitis by combined radon- hyperthermia treatment; *Clin Exp Rheumatol.* 1999 May- Jun; 17(3):335-8
39. Shehata M., Schwarzmeier J.D., Hilgarth M., Demirtas D., Richter D., Hubmann R., Boeck P., Leiner G., Falkenbach A. Effect of combined spa-exercise therapy on circulating TGF- beta1 levels in patients with ankylosing spondylitis; *Wien Klin Wochenschrift*(2006) 118/9-10:266-272
40. Gutenbrunner C. Hat die Balneologie und Medizinische Klimatologie in der Therapie chronischer Erkrankungen mehr als nur historische Bedeutung?; *Wien Klin Wochenschr*(2006) 118/9-10:251-252
41. Kosaka M., Sugahara T., Schmidt K.L., Simon E. Thermotherapy for Neoplasia, Inflammation, and Pain
42. Tarner I.H., Müller-Ladner U., Uhlemann C., Lange U. The effect of mild whole- body hyperthermia on systemic levels of TNF- alpha, IL-1beta, and IL-6 in patients with ankylosing spondylitis; *Clin Rheumatol* 2009 Apr; 28(4):397-402
43. Schmidt K.L., Ott V.R., Röcher G., Schaller H. Heat, Cold and Inflammation; *Z. Rheumatol.* 38,391-404(1979)
44. Lange U., Müller- Ladner U., Schmidt K.L. Balneotherapy in rheumatic diseases- an overview of novel and known aspects; *Rheumatol Int*(2006) 26:497-499
45. Adamietz I.A., Wust P. Hyperthermie in der nicht- konventionellen Therapie; *Der Onkologe* 2004 10:276- 283
46. Schlemmer M., Lindner L.H., Abdel- Rahman S., Issels R.D. Prinzip, Technik und Indikation der Hyperthermie und Teilkörperhyperthermie; *Radiologe* 2004 44:301- 309
47. Latorre M., Rinaldi C. Applications of magnetic nanoparticles in medicine: magnetic fluid hyperthermia; *P R Health Sci J.* 2009 Sep; 28(3):227- 38

48. [www.esho.info](http://www.esho.info), zuletzt geöffnet am 26.5.2010
49. [www.hyperthermie.org](http://www.hyperthermie.org), zuletzt geöffnet am 28.5. 2010
50. Issels R.D., Nössner E., Wust P. Hyperthermie;Onkologe2002 8[Suppl1]:S51-55
51. Lange U., Kürten B., Müller- Ladner U., Uhlemann C. Physikalisch-therapeutische und rehabilitative Maßnahmen bei der ankylosierenden Spondylitis;Z Rheumatol 2007 66:727- 733
52. Fioravanti A., Perpignano G., Tirri G., Cardinale G., Gianniti C., Lanza C.E., Loi A., Tirri E., Sfriso P., Cozzi F. effects of mud- bath treatment on fibromyalgia patients: a randomized clinical trial; Rheumatol Int(2007) 27:1157-1161
53. Brockow T., Wagner A., Franke A., Offenbacher M., Resch K.L. A Randomized Controlled Trial on the Effectiveness of Mild Water-filtered Near Infrared Whole- body Hyperthermia as an Adjunct to a Standard Multimodal Rehabilitation in the Treatment of Fibromyalgia;Clin J Pain2007;23:67-75
54. Kladny B., Beyer W.F. Nichtmedikamentöse konservative Therapie der Arthrose; Orthopädie2001 30:848-855
55. Ash S.R., Steinhart C.R., Curfman M.F., Gingrich C.H., Sapir D.A., Ash E.L., Fausset J.M., Yatvin M.B. Extracorporeal whole body hyperthermia treatments for HIV infection and AIDS.; ASAIO J.1997 Sep-Oct;43(5):M830-8
56. von Felbert V., Schumann H., Mercer J.B., Strasser W., Daeschlein G., Hoffmann G. Therapy of chronic wounds with water- filtered infrared- A (wIRA);GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär2007,Vol.2(2)
57. Otberg N., Grone D., Meyer L., Schanzer S., Hoffmann G., Ackermann H., Sterry W., Lademann J. Water- filtered infrared- A(wIRA) can act as a penetration enhancer for topically applied substances.;Ger Med Sci.2008 Jul21;6:Doc08
58. Van Tubergen A., Boonen A., Landewe' R., Rutten- Van Mólken M., Van Der Heijde D., Hidding A., Van Der Linden S. Cost effectiveness of combined spa- exercise therapy in ankylosing spondylitis: a randomized controlled trial.; Arthritis Rheum.2002 Oct15;47(5):459-67

59. Lange U., Thielen G., Neeck G., Schmidt K.L. Einfluss der mildem Hyperthermie auf die Blutspiegel von Kortisol und Lymphozytensubpopulationen bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis und Gesunden; *Phys Med Rehab Kuror*2005;15:44-47
60. Capitano M.L., Ertel B.R., Repasky E.A., Ostberg J.R. Winner of the 2007 Society for Medicine Young Investigator Award. Fever-range whole body hyperthermia prevents the onset of type 1 diabetes in non-obese diabetic mice.;*Int J Hyperthermia*.2008 Mar;24(2):141-9
61. Watterson C., Lanevski A., Horner J., Loudon C. A Comparative Analysis of Acute- phase Proteins as Inflammatory Biomarkers in Preclinical Toxicology Studies: Implications for Preclinical to Clinical Translation; *Toxicol Pathol*. 2009;37(1):28-33
62. Kramer F., Torzewski J., Kamenz J., Veit K., Hombach V., Dedio J., Ivaschenko Y. Interleukin- 1beta stimulates acute phase response and C-reactive protein synthesis by inducing an NfkappaB- and C/EBPbeta-dependent autocrine interleukin-6 loop;*Molecular Immunology* 45(2008)2678-2689
63. Stavitsky A.B. The innate immune response to infection, toxins and trauma evolved into networks of interface, defensive, reparative, regulatory, injurious and pathogenic pathways; *Molecular Immunology* 44(2007)2787-2799
64. Yoo J-Y., Desiderio S. Innate and aquired immunity intersect in a global view of the acute- phase response; [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0336385100](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0336385100)
65. Molloy R.G., Mannick J.A., Rodrick M.L. Cytokines, sepsis and immunomodulation; *Br.J.Surg*.1993,Vol80,March,289-297
66. Alekseeva IN. Acute phase blood proteins: role in the homeostasis and their synthesis induction in the liver; *Fiziol Zh*.1994 Jan-Feb;40(1):106-17
67. Reinicke A. Akute Phase Reaktion nach kardiopulmonaler Reanimation; <http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/reinicke-albrecht-2004-10-11/HTML/index.html>
68. Suzuki K., Nakaji S., Yamada M., Totsuka M., Sato K., Sugawara K. Systemic inflammatory response to exhaustive exercise.; *Exerc Immunol Rev*. 2002;8:6-48

69. Karlsson J.O.M., Yarmusil M.L., Toner M. Interaction Between Heat Shock and Interleukin 6 Stimulation in the Acute- Phase Response of Human Hepatoma (HepG2) Cells;Hepatology Vol.28,No4,1998
70. Volanakis J.E. Human C-reactive protein: expression, structure, and function; Molecular Immunology38(2001)189- 197
71. Black S., Kushners I., Samols D. C- reactive Protein;The Journal of Biological Chemistry,Vol.279,No.47,Issue of November19,pp.48487-48490,2004
72. Male D.,Brostoff J., Roth D.B., Roitt I., Immunology, MOSBY Elsevier 2006 7<sup>th</sup> Edition,pp:87-104
73. Vlierberghe H. V., Langlois M., Delanghe J. Haptoglobin polymorphisms and iron homeostasis in health and in disease; Clinica Chimica Acta345(2004)35-42
74. Blom A., Hallström T., Riesbeck K. Complement evasion of pathogens- Acquisition of inhibitors and beyond; Molecular Immunology46(2009)2808-2817
75. Botto M., Kirschfink M., Macor P., Pickering M.C., Würzner R., Tedesco F., Complement in human disease: Lessons from complement deficiencies; Molecular Immunology46(2009)2774-2783
76. Gooptu B., Lomas D.A., Polymers and inflammation: disease mechanisms of the serpinopathies;J.Exp.Med.Vol.205No.7 1529-1534
77. Mc Dowall J. Serpins: a1- Antitrypsin; [www.ebi.ac.uk/interpro/potm/2004\\_5/Page1.html](http://www.ebi.ac.uk/interpro/potm/2004_5/Page1.html)
78. Hoffmann G., Principles and working mechanisms of water- filtered infrared-A(wIRA) in relation to wound healing;GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär2007,Vol.2(2)
79. [www.heckel-medizintechnik.de](http://www.heckel-medizintechnik.de), zuletzt geöffnet am 12.02.2010
80. Herold G. et al, Innere Medizin;2006;574-575
81. Samet J.M, Avila-Tang E., Boffetta P., Hannan L.M., Olivo- Marston S., Thun M.J., Rudin C.M., Lung Cancer in Never Smokers: Clinical Epidemiology and Enviromental Risk Factors;Clin Cancer Res2009;15(18)September15,2009
82. Schmid K., Kuwert T., Drexler H., Radon in Indoor Spaces; Dtsch Ärztebl Int.2010;107(11):181-6
83. Male D., Brostoff J., Roth D.B., Roitt I.,IMMUNOLOGY;Seventh Edition;5,27-8,36,203-17,273

84. Cligiuri M.A., Human natural killer cells; Blood, 1August2008,No.3,pp.461-469
85. Ostberg J. R., Kaplan K. C., Repasky E. A., Induction of stress in a panel of mouse tissues by fever- range whole body hyperthermia; INT.J.HYPERTHERMIA, 2002,VOL.18,NO.6,552-62
86. Ostberg J.R., Taylor S.L., Baumann H., Repasky E.A., Regulatory effects of fever- range whole- body hyperthermia on the LPS- induced acute inflammatory response; J Leukoc Biol. 2000 Dec;68(6):815-20.
87. Hietala J., Nurmi T., Uhari M., Pakarinen A., Kouvalainen K., Acute Phase Proteins, humoral and cell mediated immunity in enviromentally- induced hyperthermia in man.; Eur J Appl Physiol Occup Physiol.1982;42(2):271-6
88. Pritchard M.T., Ostberg J.R., Evans S.S., Burd R., Kraybill W., Bull J.M., Repasky E.A., Protocols for stimulating the thermal component of fever: preclinical and clinical experience;Methods32(2004)54-62
89. Zellner M., Hergovics N., Roth E., Jilma B., Spittler A., Oehler R., Human monocyte stimulation by experimental whole body hyperhthermia;Wien Klin Wochenschr. 2002 Feb 15;114(3):102-7
90. <http://de.wikipedia.org/wiki/Wikipedia:Hauptseite>, zuletzt geöffnet am 10.07.2010
91. Falkenbach A., Combined Radon and Heat Exposure for Treatment of Rheumatic Diseases: A Clinical Approach; SPRINGER Tokyo2001,S.550