



# Sistema de hipertermia hídrica controlada con mapeo para oncología ósea

Josefina Gutiérrez Martínez,\*  
Genaro Rico Martínez\*\*

- \* Subdirección Investigación Tecnológica.  
\*\* Departamento de Tumores Óseos, Instituto Nacional de Rehabilitación.

Correspondencia:  
Josefina Gutiérrez Martínez  
Avenida México - Xochimilco Núm. 289  
México, D.F. 14389  
Teléfono 59991000 Ext. 19007  
Fax 59991000 Ext. 16160  
E-mail: jgutierrez@inr.gob.mx

Artículo recibido: 30/noviembre/2007  
Artículo aceptado: 16/junio/2008

## RESUMEN

La alta sensibilidad térmica de las células cancerígenas ha conducido al uso de hipertermia para sensibilizarlas, y que en conjunto con otras terapias clínicas y quirúrgicas puedan erradicarse con mayor eficiencia y efectividad. Los tratamientos de los sarcomas óseos, en la mayoría de los procedimientos quirúrgicos, se refieren a amputación del miembro, afectando principalmente la calidad de vida de niños y adolescentes. En el Departamento de Tumores Óseos del Instituto Nacional de Rehabilitación, se está realizando un estudio para evaluar el uso de hipertermia hídrica con el objeto de mejorar los pronósticos en la extirpación y erradicación de los tumores óseos malignos y benignos agresivos. En este trabajo, se presenta el diseño, fabricación y los resultados clínicos preliminares de un sistema para generar, controlar y aplicar directamente energía calorífica: "Hipertermia hídrica controlada" con distribución de temperatura. El sistema es de bajo costo, accesible y seguro, sin ningún riesgo para el paciente ni infecciones cruzadas. Hasta el momento se ha tratado con el sistema de hipertermia hídrica controlada a 19 pacientes con tumores óseos y lesiones pseudotumorales en las extremidades, lográndose control oncológico en el 85.7% de los casos y sin complicaciones por el uso del sistema de hipertermia hídrica.

**Palabras clave:** Cirugía ortopédica, procesamiento, termometría.

## ABSTRACT

The high thermal sensitivity of the cancerigenic cells has lead to use hyperthermia to sensitive and eradicate them with efficiency and effectiveness. The traditional procedure for malignant bone tumors is mainly amputation, affecting the life quality of children and adolescents. Hydro hyperthermia has been chosen to improve the prognoses in the extirpation and eradication of the malignant tumors in the Departamento de Tumores Óseos at Instituto Nacional de Rehabilitación. In this paper, it is showed the design, manufacture and operation of a system to generate, control and deliver heat energy into tumor: "Controlled Hydro Hyperthermia". As well as, Bone Temperature Distribution. The system is cheap, easy, affordable and secure system that represents a chance to preserve the extremity without to use any surgical appliance. The system has three parts: The first is the electromechanical device that provides temperature above 80 °C, last 30 min minimum. Second, the direct steam applicator. And finally the thermal mapping. At the moment, 19 patients, with bone tumor

and pseudotumor in extremities, have been submitted to hydro hyperthermia procedure. 85.7% patients with osteosarcoma have had good prognostic and the hydro hyperthermia system has not any problem.

**Key Words:** Surgery orthopedic procedure, Processing, Thermometry.

## INTRODUCCIÓN

El cáncer es un crecimiento celular maligno, el cual amenaza la vida si llega a alcanzar una etapa avanzada. A pesar de la extensa investigación que existe, aún no es posible establecer diagnóstico, tratamiento, medidas preventivas oportunas.

La sensibilidad térmica de tumores malignos *in vivo* e *in vitro*, fue estudiada en 1903 por Loeb y Jensen<sup>1</sup>. Loeb encontró que las células del sarcoma de rata se inactivaban y morían cuando se aplicaba calor a 47 °C. Anthelme y Haaland en 1908, concluyeron de éste y otros experimentos que las células de los tumores malignos eran muy susceptibles al calor y que las células normales eran más resistentes a la hipertermia<sup>2</sup>.

Hipertermia, es una forma artificial de inducción de calor; se define como el uso terapéutico de calor en el rango de 41 °C a 43 °C.

Atanackovic de la Universidad de Hamburgo<sup>3</sup>, Koga del National Cancer Institute<sup>4</sup> y Noessner del Institute of Molecular Immunology<sup>5</sup>, entre otros, han evidenciado que el mecanismo de acción de la hipertermia es multifactorial, estimula el sistema inmune contra la existencia de células tumorales, por efecto térmico indirecto en el rango de 39 a 40.5 °C, mínimo crecimiento del tumor y cambios estructurales celulares en el rango de 41 a 43 °C, citotoxicidad, efectos directos sobre el DNA y destrucción de las células tumorales por efecto térmico directo a temperaturas arriba de 43 °C. Estos efectos dependen de la duración del tratamiento y de la temperatura aplicada<sup>6,7</sup>.

Hoy en día, la hipertermia se utiliza en oncología como un agente sensibilizador en radiación ionizante, quimioterapia o tratamiento quirúrgico de tumores profundos<sup>8</sup>. El uso de hipertermia en el tratamiento quirúrgico de tumores malignos no es un concepto nuevo, pero sólo recientemente se tienen métodos y dispositivos efectivos y seguros para elevar la temperatura. En especial, los sarcomas localizados en el hueso, tejido blando y músculos son susceptibles a ser tratados con este método<sup>9</sup>.

Los dispositivos más comunes para aplicar hipertermia no-hídrica están basados principalmente en

radiación electromagnética<sup>10</sup>, ultrasonido<sup>11,12</sup>, corrientes de radiofrecuencia<sup>13,14</sup>, onda corta<sup>15</sup>, y microondas<sup>16</sup>. En general, estos dispositivos se basan en fuentes de energía, sensores y sistemas de aplicación que requieren tecnologías complejas, manejo cuidadoso y componentes costosos.

Entre las complicaciones que se presentan con estos tratamientos están la disminución de la biomecánica del hueso, tiempos quirúrgicos prolongados, osteoporosis, radiodermatitis, osteonecrosis radioinducida, riesgo de sarcoma secundario.

A pesar de que el agua es uno de los medios más accesibles para producir y transmitir energía calórica, tiene excelentes propiedades térmicas, no presenta problemas de toxicidad, es de fácil manejo, y económica. No se utiliza significativamente como medio para provocar hipertermia en los procedimientos para el tratamiento quirúrgico de los osteosarcomas.

En este trabajo se presenta el diseño, construcción e implementación de un sistema para aplicar hipertermia hídrica controlada con mapeo de la distribución de temperatura (SHHC) durante los procedimientos quirúrgicos, de forma efectiva, uniforme y segura.

El sistema HHC es eje en la investigación que se realiza en el Departamento de Tumores Óseos, para el tratamiento de osteosarcomas de bajo y alto grado, así como los benignos agresivos, que afectan en un 80% a niños y adolescentes, provocándoles discapacidad y alterándoles su calidad de vida.

## MÉTODO

La hipertermia hídrica controlada (HHC), es una nueva tendencia en los procedimientos quirúrgicos para lograr inducir la muerte de células neoplásicas óseas de manera fácil, rápida y eficiente. Se define como la aplicación de calor a las lesiones tumorales óseas por medio de agua a 70 °C, o vapor de agua.

El diseño y construcción del SHHC incluye los requerimientos médicos y técnicos indispensables para inyectar calor directo en el endolumen de la

extremidad a tratar, con funcionalidad, confiabilidad y seguridad de operación en las salas quirúrgicas del Instituto Nacional de Rehabilitación, como se muestra en la Figura 1.

En el diseño de cada una de las partes de este dispositivo se cuidó el cumplimiento de tres requisitos principales: 1) *Efectividad* – aplicación de vapor de agua directamente sobre la zona a tratar durante 30 min mínimo manteniendo una temperatura de 80 °C, 2) *Seguridad* – sin riesgo de reacción química, inocuo, antibacteriano, con indicadores de temperatura y presión, con protección eléctrica, 3) *Funcionalidad* – útil, sencillo, fácil uso, bajo peso, mínimo volumen, móvil y de bajo costo.

El sistema consta de tres partes. La primera es el dispositivo electromecánico para generar el vapor saturado. La segunda parte la constituye la pistola de aplicación. Y por último, el sistema de mapeo el cual incluye un circuito electrónico para registrar la temperatura inducida, la conversión analógica-digital y un algoritmo para generar el mapeo de la distribución de temperatura a lo largo del hueso, con el fin de controlar la intensidad y el tiempo de aplicación.

A continuación se muestran los componentes del sistema HHC, diseñado y construido para el tratamiento de los tumores óseos cancerosos.

*Dispositivo electromecánico.* Para la fuente de calor, se diseñó un generador de vapor eléctrico, el cual realiza la transmisión de calor por el fenómeno de convección<sup>17</sup> por movimiento forzado del fluido hacia el endolumen del hueso. En las Figuras 2 y 3 se muestran los diagramas eléctrico e hidráulico del mismo.

El generador está construido por una cámara hermética de acero inoxidable, con capacidad de 40 l, requiere sólo el suministro de agua bidestilada; cuando el agua alcanza la temperatura de ebullición se opera con vapor saturado hasta 100 °C. La potencia eléctrica es de 6.6 KW, proporcionada por una configuración de seis resistencias de 53Ω de 5,4 KW/220 V divididas en tres fases.

Los tres elementos de calentamiento tienen interruptores individuales, pero la unidad funciona satisfactoriamente con un solo elemento. El panel de control integrado contiene un interruptor principal de encendido/apagado, y con los indicadores luminosos de encendido, calentamiento, el manómetro de presión y el indicador de nivel de agua del depósito, muestran el estado operativo del equipo.

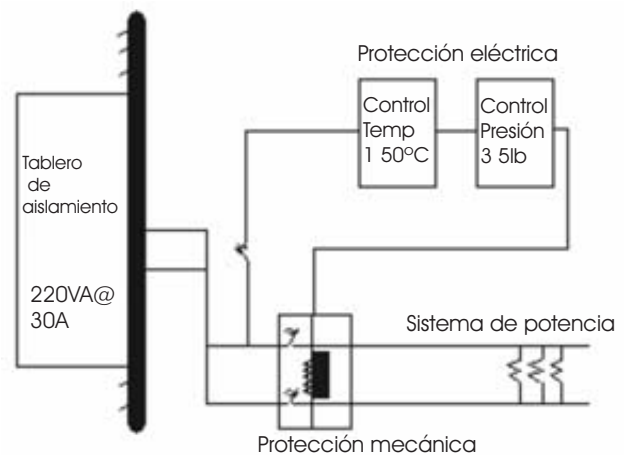


Figura 2. Diagrama eléctrico del generador de vapor.

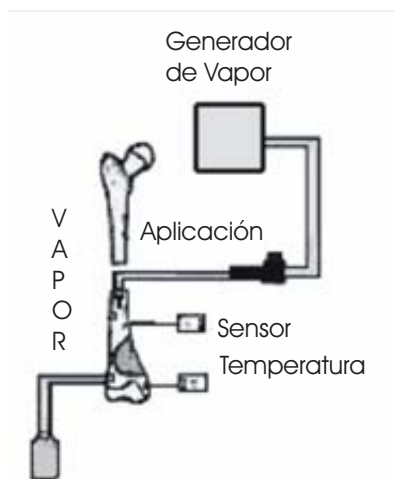


Figura 1. Esquema de aplicación de hipertermia hídrica controlada directa.

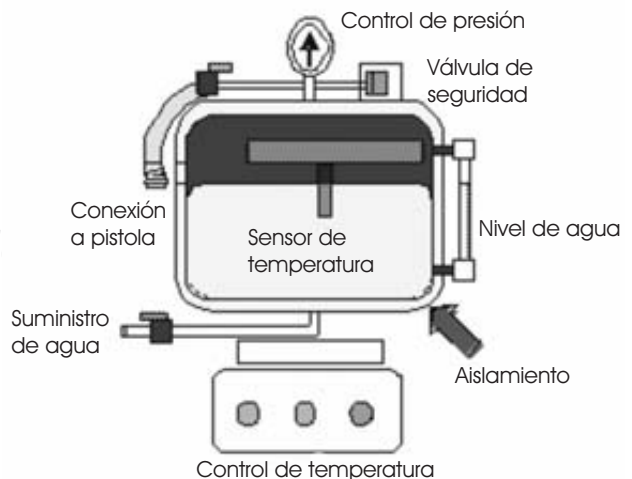


Figura 3. Diagrama hidráulico del generador de vapor.

La etapa de seguridad eléctrica está compuesta por un transductor de presión, un sensor de temperatura, la protección termomagnética para evitar sobrecalentamiento, los contactores para el sistema de potencia y aislamiento eléctrico. Requiere suministro eléctrico de 220 VAC/60 Hz bifásico @ 30 A y tierra flotada para evitar interferencia con el equipamiento propio de quirófano (Figura 2). La presión del generador está regulada por un interruptor electromecánico, válvulas de regulación de flujo y válvulas de alivio de presión (Figura 3).

El sistema eléctrico está totalmente controlado y protegido, lo cual garantiza la seguridad de la operación con salida pico de vapor que supera la demanda. El diseño mecánico del sistema cumple con los requisitos de seguridad, fácil de usar, compacto, móvil y de bajo costo. Requiere mínimo mantenimiento. Todos los componentes están montados dentro de un armario de acero inoxidable que le confiere resistencia a la corrosión y una vida larga.

El generador está formado por una caldera que proporciona un suministro de vapor constante, para mejor uniformidad de la temperatura. La unidad es compacta tipo gabinete (Figura 4), requiere solamente de suministros de agua bidestilada y energía eléctrica para operar. La unidad está diseñada para manejar cargas de vapor de salida de alta demanda durante periodos cortos, de 30 a 40 minutos.

Antes de la utilización del generador, se lleva a cabo un proceso de esterilización, con agua bidestilada para eliminar cualquier impureza del vapor, manteniendo una presión de 30 lb alcanzando una temperatura de 135 °C durante 10 min. Con ello se

asegura la eliminación de sales y minerales que contaminen el vapor, la tubería y además se protege al equipo de partículas que obstruyan el conducto de inyección.

*Mecanismo de aplicación de vapor.* Consta de una pistola fabricada en acero inoxidable, nylamid<sup>TM</sup> y teflón<sup>TM</sup> resina de fluoropolímero; estos materiales son anticorrosivos, antibacterianos inocuos y soportan temperaturas mínimas de 150 °C, lo que permite que la pistola sea autoclavable para evitar contaminación y riesgos al paciente. El gatillo, que es de acción manual, y el mango de sujeción se construyen en nylamid<sup>TM</sup> para evitar quemaduras. Esta pistola se conecta por un extremo, a través de una manguera de teflón<sup>TM</sup>, a la fuente de vapor y la salida de vapor hacia el paciente consta de una cánula de acero inoxidable. La pistola y su utilización durante el procedimiento quirúrgico se muestran en la Figura 5.

Las células cancerosas desarrollan resistencia – termotolerancia–, si el calor es administrado durante periodos demasiado largos<sup>18</sup>. Para evitar este fenómeno se diseñó el mapeo térmico. Se utilizan cuatro sensores de temperatura insertados en la cavidad ósea para realizar la termometría endoluminal o intratumoral. Con el mapeo se lleva a cabo el control del tratamiento a través de las variables de temperatura y tiempo.

*Termometría y sistema de adquisición de datos.* El monitoreo térmico se realiza a través de cuatro sensores de temperatura de precisión calibrados en grados centígrados LM35 National Semiconductor<sup>TM</sup> 19. Cada sensor está calibrado linealmente a un factor de 10mV/°C y es capaz de medir temperaturas en el rango de -55° a 150 °C.



Figura 4. Generador de vapor.



Figura 5. Pistola de aplicación de vapor.

Cada uno de estos sensores está contenido en una cápsula individual de resina autoclavable en óxido de etileno al 100%. Se insertan en el interior del hueso tal que se monitorea en tiempo real la temperatura de la cavidad, del tumor y del tejido normal durante el procedimiento quirúrgico.

El fabricante del LM35 propone determinar el voltaje de salida para cada sensor térmico, de acuerdo al arreglo que se muestra en la Figura 6, con el fin de ajustar el voltaje de desbalance, así como utilizar la siguiente ecuación y relaciones para calcular el valor de la resistencia R:

$$R = -V_{si} / 50 \mu A$$

y considerando la escala máxima:

$$V_{out} = +1,500mV \text{ a } +150 \text{ }^\circ C$$

$$V_{out} = +250mV \text{ a } +25 \text{ }^\circ C$$

$$V_{out} = -550mV \text{ a } -55 \text{ }^\circ C$$

Bajo estas consideraciones se calcula el valor de la resistencia  $R = 100K\Omega$  para entregar un voltaje de salida en el rango de 0 a 1V.

Cada lectura de temperatura se adquiere a una frecuencia de 10 Hz por canal, muestreando cada 15 segundos. El procesamiento de las muestras se desarrolló con la aplicación Matlab 6.5<sup>TM</sup><sup>20</sup> a través del método de interpolación lineal, remuestreando los datos a una razón de frecuencia, mayor a 32 Hz. Y las funciones reshape, meshgrid y surf de MatLab 6.5 se utilizaron para obtener el mapeo térmico.

En la Figura 7 se muestra el mapeo térmico de la región de cadera izquierda de un paciente femenino con fibroma desmoplásico sometido a hipertermia hídrica en febrero de 2003. Se observa que la

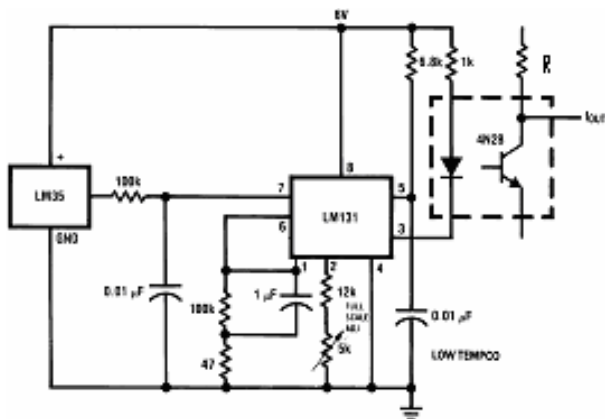


Figura 6. Diagrama eléctrico típico para el sensor de temperatura LM35 en grados centígrados<sup>19</sup>.

temperatura interna y la superficial alcanzan valores hasta 98 °C y 65 °C respectivamente.

Con el sistema de hipertermia hídrica controlada con mapeo térmico es posible controlar la duración y temperatura de aplicación; ésta es muy fácil de realizar durante los procedimientos quirúrgicos y cuando las características anatómicas y funcionales de la zona a tratar lo permiten; se realiza mínima incisión, como se observa en la Figura 8 la aplicación de hipertermia hídrica intracorpórea *in situ* a un paciente con tumor de células gigantes tratado en marzo de 2004.

## RESULTADOS

Entre el 2002 y el 2006, en el Instituto Nacional de Rehabilitación, se ha realizado un estudio prospectivo longitudinal de 19 pacientes portadores de lesiones neoplásicas y pseudotumorales benignas de hueso que comprometían muy importantemente la funcionalidad a corto y mediano plazo de las extremidades. Los pacientes fueron evaluados desde el punto de vista ortopédico y oncológico. Los pacientes, 10 femeninos y 9 masculinos con edades entre 3 y 37 años, promedio de 17.5 años, previamente bajo consentimiento informado, aceptaron participar en el tratamiento quirúrgico tratados con hipertermia hídrica controlada. Cada intervención quirúrgica se realizó en tres etapas. Primero, el

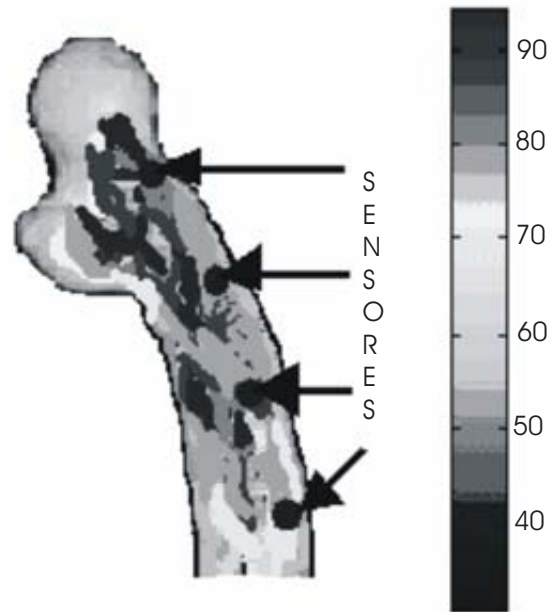


Figura 7. Esquema del mapeo térmico óseo de un paciente con fibroma desmoplásico.

segmento del tumor óseo fue separado del tejido normal adyacente manteniendo la unión intacta. Segundo, se aplicó calor directo intratumoral y endoluminal mediante HHC, protegiendo al tejido sano de sobrecalentamiento, monitoreando la temperatura a través del mapeo térmico. Se llevó a cabo una amplia resección en la mayoría de los casos, sin embargo esto se determinó por las características anatómicas y funcionales de cada caso. Finalmente, el hueso debilitado se fortaleció.

En las Figuras 9A y 9B, se observa mediante imágenes radiológicas la evolución de septiembre de 2003 a agosto de 2004 de un paciente con osteoblastoma de cabeza humeral derecha hasta las evidencias clínicas de la revascularización ósea, así como la rehabilitación del hueso de la extremidad superior.

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Razones fundamentales para usar el tratamiento de hipertermia hídrica controlada:

1. Estimula el sistema inmune contra células tumorales (39 °C a 40.5 °C -efectos térmicos indirectos).
2. Retarda el crecimiento tumoral.
3. Desnaturaliza las proteínas.
4. Uno de los efectos más importantes es directamente sobre el DNA.
5. Los tratamientos actuales son soluciones transitorias, dejan secuelas físicas y psicológicas.
6. Algunos procedimientos son altamente técnicos, por lo que están limitados a ciertos centros quirúrgicos y son muy costosos.

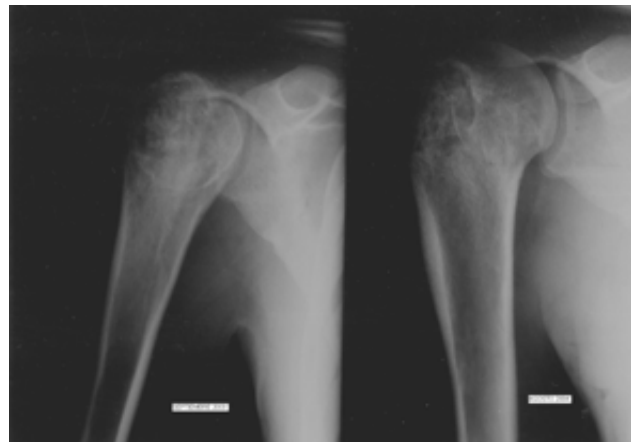


**Figura 8.** Aplicación de hipertermia hídrica intracorpórea *in situ* a paciente con tumor de células gigantes-marzo 2004.

Dentro de las propiedades fisicoquímicas que hacen del agua atractiva para su uso en la HHC destacan:

- 1) Representa el 65% al 95% del peso total del organismo.
- 2) Es un líquido no agresivo e inerte.
- 3) Es una sustancia que no reacciona químicamente con muchos sólidos que son solubles a ella.

En igualdad de condiciones, el vapor es más barato, no presenta problemas de toxicidad, es inodoro e incoloro, de fácil manejo y tiene excelentes propiedades térmicas. Sus moléculas ejercen una atracción muy pequeña entre sí, por lo que se distribuyen homogéneamente a lo largo del sistema que la contiene. El movimiento desordenado y la velocidad alta de las moléculas dan como resultado un bombardeo uniforme y constante de las paredes de la estructura ósea.



**Figura 9 A.** Imagen radiológica de la evolución 2003-2004 de un paciente con osteoblastoma de cabeza humeral derecha.



**Figura 9 B.** Evidencia clínica de paciente recuperado de osteoblastoma en húmero derecho.

La duración y la temperatura de la aplicación de hipertermia son variables muy importantes a considerar para el éxito de la erradicación de las células cancerosas; de hecho la termometría directa es indispensable para evitar sobretratamiento del hueso y tejidos adyacentes. Para evitar el fenómeno de la termotolerancia se implementó el tratamiento en una sola sesión durante 20 minutos y temperatura en el endolumen mayor a 80 °C.

La hipertermia puede usarse para llevar a cabo controles locales aceptables de la enfermedad y manteniendo la integridad estructural del esqueleto en muchos pacientes. Esta técnica elimina la necesidad de reconstrucciones complejas, además de preservar la función estructural en la mayoría de los pacientes. Hipertermia inducida por vapor saturado es administrada sobre el tumor, causando necrosis al tumor y mínimo daño al tejido adyacente, seguido por una resección de masa limitada con preservación del hueso.

El sistema de hipertermia hídrica controlada, diseñado y desarrollado en el Instituto Nacional de Rehabilitación, cumple con todos los requisitos clínicos de tiempo y temperatura, así como los técnicos de seguridad, eficiencia y capacidad que se plantearon. El sistema es capaz de aplicar localmente vapor saturado a temperaturas mayores de 80 °C durante un tiempo aproximado de 40 minutos, con termometría mediante el mapeo térmico. Este sistema es un dispositivo que durante todos los procedimientos quirúrgicos en que se ha empleado, se ha verificado su confiabilidad, seguridad y capacidad.

La hipertermia hídrica controlada es una alternativa en el tratamiento de los tumores óseos. La efectividad está en relación directa con la aplicación adecuada y segura del calor. El calor por vapor de agua no está contraindicado en ninguna de las formas de cáncer, sino por el contrario puede ser un adyuvante; por otro lado permite una esterilización ósea que induce un daño menor en relación al autoclaveado. Y por último, la ventaja de reconstruir con el propio hueso afectado es incomparable en relación a los métodos de resección ósea que provocan disminuir la calidad de vida de los pacientes, en especial de los niños y adolescentes.

El estudio clínico donde se ha evaluado el procedimiento terapéutico con hidroterapia hídrica ha revelado que los pacientes con tumores óseos en las extremidades presentan mejores resultados hasta en un 85.6% y el resultado ortopédico fue bueno en el 66% de los casos. En ningún caso hubo daño

o complicación a causa del empleo del sistema HHC con mapeo térmico.

## AGRADECIMIENTO

Los autores desean dar las gracias al Ing. Fernando Sotelo Torres por su incondicionable asesoría y apoyo en la construcción del generador de vapor.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Seegenschmiedt MH, Vernon CC. A Historical perspective on hyperthermia in oncology. In: Seegenschmiedt MH, Fessenden P, Vernon CC, editors, *Thermoradiotherapy and Thermochemotherapy*, Springer (New York), 1995: 1-43.
2. Wust P, Hildebrandt B, Sreenivasa G, Rau B, Gellermann J, Riess H et al. Hyperthermia in combined treatment of cancer. *The Lancet Oncology* 2002; 3: 487-497.
3. Atanackovic D, Pollok K, Faltz C, Boeters I, Jung R, Nierhaus A et al. Patients with solid tumors treated with high-temperature whole body hyperthermia show a redistribution of naive/memory T-cell subtypes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2006; (3): R585-R594.
4. Koga T, Harada H, Shi TS, Okada S, Suico MA, Shuto T et al. Hyperthermia suppresses the cytotoxicity of NK cells via down-regulation of perforin/granzyme B expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; (4): 1319-1323.
5. Noessner E. Thermal stress-related modulation of tumor cell physiology and immune responses. *Cancer Immunol Immunother* 2006; 55(3): 289-91.
6. Chang W, Song HP, Griffin R. Theoretical and experimental basis of hyperthermia. *Thermotherapy for neoplasia, inflammation, and pain*. Springer Verlag, 2001: 394-407.
7. Wust P, Hildebrandt B, Sreenivasa G, Rau B, Gellermann J, Riess H et al. Hyperthermia in combined treatment of cancer. *The Lancet Oncology* 2002; 3: 487-497.
8. Dal O, Dalene R, Schemen BC, Mella O. Status of clinical hyperthermia. *Acta Oncologica* 1999; 38(7): 863-973.
9. Veth R, Van Hoesel R, Pruszczynski M, Hoogenhout J, Wobbes T. Limb salvage in musculoskeletal oncology. *The Lancet Oncology* 2003; 4: 343-350.
10. Nielsen OS, Horsman M, Overgaard J. A future of hyperthermia in cancer treatment. *European Journal of Cancer*, 2001; 37: 1587-1589.
11. Lu BY, Kuo TS. Theoretical study of convergent ultrasound hyperthermia for treating bone tumors. *Med Eng Phys* 2000; 22(4): 253-263.
12. Lin WL, Liauh CT, Chen YY, Liu HC, Shieh MJ. Theoretical study of temperature elevation at muscle/bone interface during ultrasound hyperthermia. *Med Eng Phys* 2000; 27(5): 1131-1140.
13. Vera A, Chong JE, Leija L, Hernández Y, Marchal C. Hipertermia electromagnética, una alternativa para el tratamiento del cáncer, antecedentes, aspectos físicos y biológicos. *Rev Mex Ing Biom* 2001; XXII(2): 78-88.
14. Barei DP, Moreau G, Scarborough MT, Neel MD. Percutaneous radiofrequency ablation of osteoid osteoma. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 2000; 373: 115-124.

15. Lu S, Wang J. Limb salvage in primary malignant bone tumors by intraoperative microwave heat treatment. *Chinese Medical Journal* 1996; 109(6): 432-436.
16. Qing-Yu Fan, Bao-An Ma, Yung Zhou, Xin-Bao Hao. Bone tumors of the extremities or pelvis treated by microwave-induced hyperterm. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 2003; 406: 165-175.
17. Paula J, Atkins P. *Physical chemistry*. W.H. Freeman seventh edition 2001.
18. Li GC, Mivechi NF, Weitzel G. Heat shock proteins, thermotolerance, and their relevance to clinical hyperthermia. *Int J Hypertherm* 1995; 11: 459-488.
19. LM35 Precision Centigrade Temperature Sensors. National Semiconductor Corporation, 2005. [www.national.com/pf/LM/LM35.html](http://www.national.com/pf/LM/LM35.html)
20. MATLAB Documentation. MatLab The language of technical computing 6.5.0.18091 Release 13. The Math Works Inc 1984-2004.