

(19)



(10) **LT 5434 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patento numeris: **5434** (51) Int. Cl. (2006): **A61N 5/10**

(21) Paraiškos numeris: **2006 070**

(22) Paraiškos padavimo data: **2006 08 11**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2007 04 25**

(45) Patento paskelbimo data: **2007 07 25**

(62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —

(85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —

(30) Prioritetas: —

(72) Išradėjas:

Laima PLĖŠNIENĖ, LT
Albinas PLĖŠNYS, LT

(73) Patento savininkas:

Laima PLĖŠNIENĖ, Girinio g. 8, LT-08401 Vilnius, LT
Albinas PLĖŠNYS, Girinio g. 8, LT-08401 Vilnius, LT

(74) Patentinis patikėtinis:

Aušra PAKĖNIENĖ, AAA Baltic Service Company, Jasinskio g. 16B, Biurų centras Victoria, LT-01112 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Porfirinų sužadinimas skirtingų spektrų elektromagnetinėmis bangomis - naujos piktybinių navikų gydymo galimybės

(57) Referatas:

Parodyta, kad hematoporfirino darinius (HpD) galima sužadinti ne tik matoma bei ultravioletine šviesa, bet ir trumpesnio bangos ilgio elektromagnetiniais virpesiais. Įvairių koncentracijų HpD tirpalus apšvietę 405 nm mėlyna šviesa, akimi matome avietinę fluorescenciją. HpD tirpalus (1 ml, 0,00001-0, 0008 mg/ml) iš pradžių apšvitinus gama spinduliais (2 Gy, šaltinis - ^{60}Co), o po to apšvietus 405 nm mėlyna šviesa, fluorescencija išnyksta. Gama spindulių poveikio metu, uždengus minėtus HpD tirpalus kalcio natrio silikatinio stiklu, fluorescencija išlieka. Žiurkėms, kurioms įskiepyta glioma C6, suleidus HpD ir navikus paveikus mažomis gama spindulių dozėmis, stebėta statistiškai patikima gydytų navikų regresija. Apšvitinimo metu minėtu stiklu uždengtų navikų augimas nebuvo stabdomas - efektas išnykdavo. Šie rezultatai leidžia daryti išvadą, kad HpD aktyvina tie jonizuojančios radiacijos spektro spinduliai, kurie ^{60}Co energetiniame gama spektre atitinka pozitronų anihiliacijos

gama kvantų liniją 0,511 eV srityje. Naudojant šios energijos kvantus, HpD sužaditimui reikėtų vos 0,02 Gy gama spindulių dozės.

Technikos sritis

Išradimas yra susijęs su biomedicina, radiomedicina, radiosensibilizacija, elektromagnetinių bangų medicina.

Technikos lygis

Fotosensibilizuotų navikų terapija, kitaip vadinama fotodinaminė terapija (FDT) yra vienas iš piktybinių navikų gydymo metodų, paremta šviesai jautrių medžiagų – fotosensibilizatorių – selektyviu kaupimusi navikiniuose bei kai kuriuose kituose greitai proliferuojančiuose audiniuose. Dažniausiai naudojami sensibilizatoriai – porfirinai ir jų dariniai. Sugėrę atitinkamo bangos ilgio šviesos kvantą, porfirinai tampa sužadintais, sąveikauja su šalia esančiu deguonimi ir jį suaktyvina (tripletinės būsenos deguonį paverčia singletiniu). Sužadintas deguonis aktyviai reaguoja su ląstelės citoplazmos bei organelių membranose esančiomis medžiagomis. Dėl šių fotocheminių reakcijų navikinės ląstelės žūva, o greta esantis sveikas audinys mažai pakenkiamas.

Porfirinai yra pagrindiniai kvėpavimo pigmentų bei fermentų komponentai, todėl būtini kiekvienai ląstelei. Visi jie yra tetrapirolo porfirino dariniai ir tarpusavyje skiriasi 1-8 padėtyse prisitvirtinančiais radikalais. Porfirinai priklauso amfoterinių junginių grupei. Jie turi tiek rūgščių, tiek šarmų savybes. Rūgščioje aplinkoje prisijungę protoną, jie sudaro teigiamą krūvį turinčius jonus, o ištirpinti stipriuose šarmuose virsta neigiamą krūvį turinčiais junginiais. Porfirino molekulėje esantys konjuntuoti ryšiai apsprendžia tam tikras vienodas, būdingąsias jų savybes: raudonos šviesos fluorescenciją; ultravioletiniais spinduliais apšviestas porfirinų kristalas švyti tamsiai raudonai.

Hematoporfirino dariniai (HpD) – tai dikarboksilinių porfirinų, turinčių skirtingus radikalus, mišiniai. Iš jų aktyviais laikomi dimerai ir polimerai. Navikiniuose audiniuose susikaupia ypač daug tų porfirinų, kurie labiau linkę agreguotis.

FDT era prasidėjo 1960 m. nuo R.L. Lipson darbų JAV (R.L. Lipson, E.J. Baldes. The photodynamic properties of a hematoporphyrin derivative. Arch Dermatol 1960; 82:

508-516). 1976 m. pasirodė J.F. Kelly publikacija apie HpD ir šviesos sąveikos taikymą žmonių šlapimo pūslės navikams diagnozuoti ir gydyti (J.F. Kelly, M.E. Snell. Hematoporphyrin derivative: A possible aid in the diagnosis and therapy of carcinoma of the bladder. J Urol 1976; 115: 150-151). Tačiau didžiausią indėlį į FDT vystymą ir platų taikymą klinikoje įnešė T.J. Dougherty su bendraautoriais (T.J. Dougherty, J.E. Kaufman, A. Goldfarb, K.R. Weishaupt, D.G. Boyle, A.Mittleman. Photoradiation therapy for the treatment of malinant tumors. Cancer Res 1978; 38: 2628-2635).

Deja, matoma šviesa prasiskverbia į audinius vos kelis centimetrus. Tai labai susiaurina FNT taikymo indikacijas. Todėl ieškoma naujų skvarbesnių porfirinų sužadinimo būdų. Vienok dauguma šiuo metu vykdomų darbų yra skirti šviesos šaltinių, skleidžiančių didesnio bangos ilgio (skvarbesnę) šviesą matomoje spektro dalyje paieškai.

1986 m. mes pasiūlėme naują sensibilizuotų navikų terapijos metodiką – radiosensibilizuotų navikų terapiją (RST), kurią pavadinome gamadinaminiu gydymu (GDT). Tai toks gydymo metodas, kai vėžiniuose audiniuose susikaupę endogeniniai bei egzogeniniai porfirinai suaktyvinami tinkamo bangos ilgio (tinkamų energijų) mažo intensyvumo gama spinduliais. (Блознялите Л, Шлякис Г. Применение гематопорфириновых дериватов вместе с лазерным воздействием и телегамма-терапией для лечения прививных злокачественных опухолей. В: Тезисы докладов конференции “Усовершенствование и интеграция современных методов лучевой диагностики” (Ч. 2). Вильнюс 1987: 289-90). Gamadinaminio gydymo metu sensibilizatoriaus – porfirino – sužadinimui naudojamos mažos (2 Gy vienkartinė ir 6 Gy suminė) gama spindulių dozės. Ši sensibilizuotų navikų terapijos metodika ženkiai praplečia piktybinių navikų gydymo galimybes onkologijoje ir nuo 1989 m. ją sėkmingai taikome klinikoje (Л. Блознялите. К вопросу о фотодинамической и гаммадинамической терапии в онкологии (Экспериментальное исследование). Автореферат диссертации. Вильнюс 1990. L. Bloznelyte Photodynamic and gammadynamic therapy – some recent developments. In: Dougherty TJ, editor. Optical Methods for Tumor Treatment and Detection: Mechanisms and Techniques in PDT II, SPIE Proceedings 1993; 1881: 48-51. L. Bloznelytė, A. Stančius. Sensitized tumour therapy. Acta medica Lithuanica 1994; 1: 51-3).

Biomedicininėje literatūroje galima rasti mokslinių darbų, kuriuose buvo tirti porfirinai, panaudojant juos kaip radiosensibilizatorius.

Pirmasis jonizuojančios radiacijos ir porfirinų sąveika susidomėjo F.H.J. Figge šio amžiaus penktajame dešimtmetyje (F.H.J. Figge and R. Wichterman. Effect of hematoporphyrin on X-radiation sensitivity in *Paramecium*. Science 1955; 122: 468-469). Atlikę eksperimentus su Strong A štamo pelėmis, kurioms buvo įskiepyta sarkoma 180, mokslininkai pastebėjo, kad taikant įprastinį spindulinį gydymą pilnai sarkomos regresijai pasiekti reikalinga 8000 r dozė. Suleidus šioms pelėms hematoporfirino (Hp), pilnai sarkomos regresijai pasiekti užtenka 4000 r dozės (H.P. Mack, W.K. Diehl, G.C. Peck, F.H.J. Figge. Evaluation of the combined effects of hematoporphyrin and radiation. Cancer 1957; 10 (3): 529-539). Šis darbas taip pat yra pirmoji hematoporfirino ir radiacijos sąveikai skirta klinikinė studija. 25 ligonėms, sirgusioms gimdos kaklelio vėžiu, taikytas įprastinis spindulinis gydymas, kartu skiriant i/v hematoporfiriną. Šioms ligonėms stebėta greitesnė nei įprastai naviko regresija, jos geriau toleravo spindulinį gydymą.

1966 m. pasirodė L. Cohen ir S. Schwartz straipsnis patvirtinantis Figge gautus rezultatus. Jie pastebėjo porfirinų dvejopas savybes - tiek radioprotekcines, tiek radiosensibilizacines. Jų savybės priklauso nuo porfirino tipo bei porfirinų dozės. Šiame Izraelio ir JAV mokslininkų darbe paskelbta, kad pelių rabdomiosarkomos navikai išnyko, paveikus mažomis hematoporfirino dozėmis (0,05 mg) ir rentgeno spinduliais (2750 r). Didinant Hp dozę iki 0,25 ir 1,25 mg radiosensibilizacinis efektas stipriai mažėjo (L. Cohen, S. Schwartz. Modification of radiosensitivity by porphyrins II. Transplanted rhabdomyosarcoma in mice. Cancer Res 1966; 26: 1769-73).

1986 m. buvo išspausdintas F.Y. Zhao su bendraautorais darbas apie hematoporfirino darinio (HpD) radiosensibilizuojantį poveikį gydant galvos ir kaklo srities navikus. Jie, suleidę HpD, apšvitindavo naviką 40 Gy (naudojo ⁶⁰Co) ir pastebėjo, kad tai daugiau nei 30% pagerina spindulinio gydymo efektyvumą (F.Y. Zhao, K.H. Zhang, H.N. Huang, K.H. Sun, Q.B. Ling, B. Xu. Use of haematoporphyrin derivative as a sensitizer for radiotherapy of oral and maxillofacial tumours: a preliminary report. Lasers in Medical Science 1986; 1: 253-256).

Pastarojo darbo pagrindu mes suformulavom mokslinę hipotezę, kad tam tikrų energijų jonizuojančios radiacijos spinduliai gali patys sužadinti porfirinus. Todėl navike susikaupusiam sensibilizatoriui sužadinti gali užtekti mažo gama spindulių kiekio (o tai įgalintų gydymą kartoti daugybę kartų ir taikyti jį ir esant labai išplitusiam navikiniam procesui). Norėdami patikrinti šią prielaidą 1986 m. atlikome eksperimentą su pelėmis,

kurioms buvo įskiepytas įskrandžio OŽ navikas. Praėjus 24, 48 ir 72 h po HpD suleidimo, pelių navikai apšvitinti vienkartinė 2, 4 arba 8 Gy gama spindulių doze. Savaitės bėgyje visi navikai nekrotizavo. Šiuos eksperimentus tęsėme, tirdami vienkartinę mažų γ spindulių dozių (1-4 Gy) įtaką skirtingos histogenezės navikų radiosensibilizacijai. Suminės γ spindulių dozės buvo 3-9 Gy. Eksperimentus atlikome dar su 8 skirtingų štamų pelių ir žiurkių navikais: Vokerio karcinosarkoma 256 ir sarkoma 45 buvo įskiepijamos į Vistar linijos žiurkės po oda, o glioma C6 ir glioblastoma A.101.8 - į Vistar linijos žiurkių galvos smegenis. Įskrandžio navikas OŽ-5 ir hepatoma 22 buvo įskiepijami į C3HA linijos pelių paodį, plaučių epidermoidinė karcinoma Liuis - į hibridinių pelių CDF 1 paodį, pienliaukės adenokarcinoma Ca755 - į C57B1 linijos peles, o sarkoma S-180 - į BALB/c pelių paodį. Smegenų navikai (glioma C6 ir glioblastoma A.101.) buvo įskiepijami stereotaksiniu metodu: kaukolė tarp ausytės ir akytės, 2 mm į dešinę nuo sagitalinės linijos trepanuota 2 mm diametro stomatologiniu grąžteliu. Po to stereotaksiškai specialia adata buvo suleidžiama navikinių ląstelių suspensija ($5 \times 10^5 / 50 \mu\text{l}$).

Navikų įskiepijimo pelėms po oda atveju, navikui pasiekus apie 1 cm^3 dydį, į akies kampo veninį sinusą arba pilvo ertmę buvo suleidžiama 5 mg/kg sensibilizatoriaus – hematoporfirino darinio (HpD). Žiurkių poodinių navikų atveju HpD buvo suleidžiamas į pilvo ertmę, kai navikas pasiekdavo $0,5\text{-}2 \text{ cm}^3$ dydį. Žiurkėms su įskiepytais smegenų navikais HpD buvo suleidžiamas į uodegos veną: žiurkėms su glioma C6 suleidžiamas 12 parą po įskiepijimo, o glioblastomos A.101.8 atveju - 15 parą po įskiepijimo. Praėjus 24, 48 bei 72 h po HpD suleidimo, navikas buvo apšvitinamas ^{60}Co skleidžiamais γ spinduliais vienkartinė 1-3 Grėjų (Gy) doze. Suminė dozė buvo 3-9 Gy.

Visų ikiklinikinių tyrimų metu eksperimentiniai gyvuliukai buvo suskirstyti į grupes. Pirmąją grupę sudarė tiriamieji eksperimentiniai gyvuliukai, kuriems įskiepijus naviką, buvo taikytas gamadinaminis gydymas: buvo suleistas radiosensibilizatorius HpD ir, praėjus 24, 48 ir 72 h po HpD suleidimo, navikai apšvitinti vienkartinė γ spindulių doze - 2 Gy. Suminė dozė buvo 6 Gy.

Šalia tiriamosios grupės buvo ir trys kontrolinės gyvūnų grupės:

1. Grynos kontrolės - šią grupę sudarė eksperimentiniai gyvuliukai, kuriems, įskiepijus naviką, jokio gydymo netaikėme.

2. Sensibilizatoriaus kontrolės grupė, susidedanti iš eksperimentinių gyvuliukų, kuriems, įskiepijus naviką, buvo tiksliai suleistas radiosensibilizatorius ir joks kitas gydymas netaikytas.

3. Radioterapijos kontrolės grupė, susidedanti iš eksperimentinių gyvuliukų, kuriems, įskiepijus naviką, buvo taikoma tik radioterapija be radiosensibilizatoriaus.

Visų ikiklinikinių tyrimų metu pagrindiniai gydymo efektyvumo kriterijai buvo: gyvuliukų išgyvenamumas ir navikų augimo stabdymas. Kontrolinių gyvūnų grupių, kurioms buvo taikoma tik radioterapija be radiosensibilizatoriaus tiek išgyvenamumas, tiek naviko augimas buvo panašūs į gryną kontrolės gyvūnų (negydytų).

Kai kurių eksperimentinių tyrimų metu papildomai buvo tirta skirtingų vienkartinų ir suminių γ spindulių dozių įtaka GDT efektyvumui. Šių eksperimentų metu buvo tiriamos vienkartinės 1; 1,5; 2 ir 3 Gy bei suminės 3; 4; 5; 6 ir 9 Gy dozės. Visų šių eksperimentų metu, kartu buvo ir papildomos radioterapijos kontrolės grupės susidedančios iš eksperimentinių gyvuliukų, kuriems, įskiepijus naviką, buvo taikoma tik radioterapija be radiosensibilizatoriaus atitinkamai vienkartinės 1; 1,5; 2 ir 3 Gy bei suminės 3; 4; 5; 6 ir 9 Gy dozės.

Atlikę 12 eksperimentinių tyrimų su daugiau nei 800 pelių ir žiurkių, pastebėjome, kad ne visų štamų navikai jautrūs GDT. Geriausi rezultatai gauti su žiurkių karcinosarkoma W-256, sarkoma 45 ir pelių įskrandžio naviku. Svarbu pažymėti, kad apšvitinant hematoporfirino dariniais sensibilizuotą naviką vienkartinė γ spindulių doze, didesne nei 2 Gy, o sumine doze, didesne nei 6 Gy, gamadinamino gydymo efektas nedidėja. Mūsų gauti rezultatai parodė, kad GDT efektyvumas labai priklauso nuo naviko histologinio tipo. Sveikiems audiniams GDT žymesnės įtakos neturėjo. Tą patvirtina ir M.A. Biel ir kt. darbai, skirti fotosensibilizatoriaus ir jonizuojančios radiacijos poveikiui sveikiems audiniams tirti (M.A. Biel, T. Kim, M.J. Trump. Effect of radiation therapy and photofrin on tissue response in a rat. Lasers Surg Med 1993; 13 (6): 672-6). Jų duomenimis įprastinės sensibilizatoriaus dozės nekeičia radioaktyvių spindulių poveikio sveikiems audiniams. Gamadinaminį gydymą mes pradėjome tirti eksperimente 1986 m., o klinikoje 1989 m. (Л. Блознялите. К вопросу о фотодинамической и гаммадинамической терапии в онкологии (Экспериментальное исследование). Автореферат диссертации. Вильнюс 1990).

1989 m. GDT pirmą kartą pritaikyta klinikoje - Lietuvos Onkologijos institute. Nuo 1989 m. GDT gydyti 305 simptominiai onkologiniai ligoniai, kuriems dėl naviko išplitimo įprastinio gydymo (chirurginio, spindulinio bei chemoterapijos) nebebuvo galima taikyti arba šio gydymo galimybės buvo išsemtos. Iš šių 305 ligonių 112 buvo nustatyti pirminiai ar metastatiniai piktybiniai smegenų augliai, likusiems išplitusi kitų lokalizacijų melanoma, sarkoma ar adenokarcinoma.

Po vieno ar kelių GDT kursų 24 ligoniams pilnai išnyko visi navikai. Šie ligoniai buvo kliniškai sveiki 1-8 metai po gydymo. 83 simptominių ligonių būklė po GDT žymiai pagerėjo. Pritaikius GDT klinikoje nustatyta, kad ji ypač efektyvi gydant adenocistinį vėžį dalį melanomų (daugiau šeivinių lastelių tipo), sarkomų (osteogenines sarkomas, leomiosarkomas, limfosarkomas), adenokarcinomų (krūties, prostatos) ir yra menkai efektyvi gydant plokščiakąstelinį bei bazolakąstelinį vėžį (L. Bloznelytė-Plėšnienė. Gamadinaminė terapija. Visuotinė Lietuvių Enciklopedija. 2004)

Tiriant tiek eksperimente, tiek klinikoje nustatyta, kad hematoporfirino darinių (HpD) sužadinimui naudojama optimali suminė gama spindulių dozė priklauso nuo naviko histogenezės ir yra 4-6 Gy. Šią dozę didinant gydymo efektas nesikeičia.

2001 m. publikuotas bendras Miuncheno ir Padovos universiteto mokslininkų eksperimentinis darbas patvirtinantis mūsų gautus rezultatus. Atlikus kelis pakartotinus eksperimentus su pelėmis, kurioms buvo implantuoti žmogaus šlapimo pūslės navikai, stebėtas radiosensibilizuojantis Fotofrino II poveikis navikiniam audiniui (M. Schaffer, P.M. Schaffer, L. Corti, G. Sotti, A. Hofstetter, G. Jori, E. Duhmke. Photofrin II as an efficient radiosensitizing agent in an experimental tumor. *Onkologie* 2001; 24: 482-485). Dauguma šių mokslininkų savo darbus apibendrino JAV patente Nr. 9,843,977. Pirmasis patentas, kuriame patvirtintos porfirinų kaip radiosensibilizatorių savybės, buvo A. Richter, J.G. Levy ir D. Dolphin patentas Nr. WO 94/04147 (JAV patentas Nr. 5,945,439). Pastarąjį dešimtmetį atsiranda vis daugiau publikacijų, skirtų įvairiems radiosensibilizatoriams, padidinantiems spindulinio gydymo efektyvumą, taikant ji skirtingos histogenezės navikams.

Iki šiol nėra išsamaus fizikinio bei biocheminio radiosensibilizatorių veikimo mechanizmų paaiškinimo. Viena iš galimų hipotezių pateikia F. Bistolfi Jo nuomone, radiosensibilizuotų navikų terapijoje pagrindinis vaidmuo tenka biomembranų lipidų peroksidacijai, singletiniam deguoniui ir vandens radiolizės pasekoje susiformavusiems

aktyviems deguonies metabolitams (F. Bistolfi. Red radioluminescence and radiochemiluminescence: premises for a photodynamic tumour therapy with X-rays and haematoporphyrin derivatives. *Panminerva Medica* 2000; 42 (1): 69-75).

Tiek tirdami GDT eksperimente, tiek taikydami šį metodą klinikoje, pastebėjome, kad skirtingos histogenezės navikų gydymui efektyviausi skirtingai paruošti hematoporfirinų darinių tirpalai (skirtingos jų modifikacijos). Taikant fotodinaminį gydymą šis fenomenas nestebėtas. Jo neaprašo kiti fotodinaminę terapiją tyrinėjantys mokslininkai. Jo nestebėjome nei mes, nors ir atlikome darbus tirdami skirtingų fotosensibilizatorių tinkamumą, gydant skirtingų histologinių tipų navikus (Mokslo programos "Lazerinė sensibilizacija navikų terapijoje" ataskaita 1998-2000; <http://www.ff.vu.lt/lsnt/ataskaita.html>).

Kadangi HpD tirpalai yra nestabilūs, todėl turi būti ruošiami kiekvieno eksperimento metu, kas atima daug laiko sąnaudų ir pilnai neužtikrina tirpalų identiškumo (hematoporfirino dariniai – tai dikarboksilinių porfirinų, turinčių skirtingus radikalus, mišiniai).

Pirmieji oligomerinių porfirinų mišinį, pavadintą hematoporfirino dariniu, susintetino S. Schwartz ir R.L. Lipson dvistadijiniu metodu, o T.J. Dougherty pirmasis aprašė HpD paruošimą straipsnyje (C.J. Gomer, T.J. Dougherty. Determination of [^3H]- and [^{14}C]-hematoporphyrin derivative distribution in malignant and normal tissue. *Cancer Res.* 1979; 39: 146-151). 1987 ir 1989 m. pasirodė T.J. Daugherty su bendraautorais JAV patentai Nr. 4,649,151 ir 4,866,168 apie hematoporfirino darinius ir jų paruošimą. Pirmoje stadijoje reaguojant hematoporfirinui sieros ir acto rūgšties mišinyje susidaro hematoporfirino acetatas. Antroje stadijoje negrynintas hematoporfirino acetatas veikiamas 0,1 N natrio hidroksido tirpalu virsta mišiniu, vadinamu hematoporfirino dariniu (HpD arba rečiau naudojamas pavadinimas Fotofrinas I). Prie labiausiai aktyvių komponentų, esančių HpD, kurie selektyviai kaupiasi vėžinėse lastelėse, priskiriami dvižiedžiai hematoporfirininiai izomerai, turintys eterinę jungtį. Sterilizuota, gryninta diafiltracijos metodu, HpD darinio forma yra vadinama - Fotofrinu II. Tai yra kompleksinis oligomerinių porfirinų mišinys iš keliasdešimties individualių junginių, kurių pilna struktūra nėra iširta. Dažniausiai oligomeruose porfirino žiedai būna sujungti eterine jungtimi, mišinyje esantys didžiausi oligomerai turi iki 9 hematoporfirino fragmentų. Ilgai vyko mokslininkų, tiriančių HpD junginius, diskusija apie eterinių ir esterinių jungčių santykį šiuose oligomeriniuose

dariniuose. D. Kessel paruošti HpD dariniai, iš gryninto hematoporfirino diacetato, turi žymiai daugiau esterinių jungčių nei pagaminti iš mišraus negryninto hematoporfirino diacetato - monoacetato mišinio. Laikui bėgant esterinės grupės šiuose mišiniuose virsta labiau stabiliomis eterinėmis jungtimis. Šie procesai vyksta greičiau šviesoje, šilumoje ir tirpaluose (D. Kessel, M.L. Cheng. Biological and biophysical properties of the tumor localizing component of hematoporphyrin derivative. Cancer Res. 1985; 45: 3053-3057).

Išsamiausias palyginamasis masspektrometrinis oligomerinio porfirinų darinio - Fotofrino tyrimas, panaudojant 5 skirtingas ir minkštas jonizacijos metodikas (-FAB, UV-ir IR-MALDI, ESI, LD/jet-PI), atliktas M.M. Siegel ir kolegų darbe (1999 m.). Fotofrino sudėties nustatymas buvo reikalingas medžiagos charakterizavimui vaistus kontroliuojančioms institucijoms. Visi masspektrometriniai metodai rodė, kad Fotofrinas II yra mišinys porfirino oligomerų, kurių vidutinis ilgis siekia $2,7 \pm 0,1$ porfirino vienetų (M.M. Siegel, K. Tabei, R. Tsao, M.J. Pastel, R.K. Pandey, S. Berkenkamp, F. Hillenkamp, M.S. de Vries. Comparative mass spectrometric analyses of Photofrin oligomers by fast atom bombardment mass spectrometry, UV and IR matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, electrospray ionization mass spectrometry and laser desorption/jet-cooling photoionization mass spectrometry. J. Mass Spectrom. 1999; 34 (6): 661-669).

Fotofrinas buvo optimizuojamas kaip vaistas, pirmiausiai skirtas fotodinaminei terapijai, kuriai vaistas be selektyvumo vėžinėms ląstelėms turi turėti ir pakankamas absorbcines savybes, reikalingas naudojamo lazerio šviesai sugerti. Mūsų duomenimis ši oligomerų sudėtis nėra tinkamiausia jonizuotos radiacijos sužadintų įvairių navikų tipų gydymui.

Tinkamesnis gamadinaminiam gydymui yra vaistas Photogemum, pagamintas Rusijos kompanijos OOO Photogem (dabar Photogem Company) Maskvoje.

Mūsų pasiūlytos gamadinaminės terapijos metu naudojamos absorbuotos jonizuojančios radiacijos dozės yra dešimt kartų mažesnės negu taikomos įprastinio spindulinio gydymo metu. Vienok, jas galima būtų dar dešimtis kartų sumažinti vietoj radioaktyvaus kobalto panaudojus kitus šaltinius. Mūsų pasiūlytas kelias sveikų audinių pakenkimui išvengti yra paieškos jonizuojančio spinduliavimo šaltinio, kuris įgalintų sužadinti sensibilizatorių, apšvitinus dar mažesnėmis dozėmis.

Trumpas išradimo aprašymas

Mes siūlome gamadinaminėje terapijoje HpD sužaditimui naudoti radioaktyvaus šaltinio spinduliuojamus 0,511 MeV kvantus. Konkrečiu išradimo įgyvendinimo atveju, mes siūlome gamadinaminėje terapijoje HpD sužaditimui naudoti radioaktyvaus kriptono arba radioaktyvaus natrio arba radioaktyvaus aliuminio šaltinio spinduliuojamus 0,511 MeV kvantus. Dar vienas išradimo įgyvendinimo atvejis yra gamadinaminis navikų gydymo būdas, apimantis fotosensibilizatoriaus įvedimą į auglį ir auglio apšvitinimą, besiskiriantis tuo, kad naudoja radioaktyvaus šaltinio spinduliuojamus 0,511 MeV kvantus, t.y., radioaktyvaus natrio šaltinio arba radioaktyvaus aliuminio šaltinio 0,511 MeV energijos kvantus.

Trumpas figūrų aprašymas

Fig. 1. Įvairios koncentracijos HpD tirpalų (1 ml), apšvietus juos 405 nm mėlyna šviesa, avietinės spalvos fluorescencija

Fig. 2. Santykinis žiurkių C6 gliomos poodinių navikų dydžio kitimas po gamadinaminio gydymo.

Fig. 3. Žiurkių išgyvenamumas po smegenų C6 gliomos gamadinaminio gydymo.

Fig. 4. ^{60}Co energetinis gama spektras, matuojant 1024 sek.

Fig. 5. ^{60}Co spektro matavimo schema, patalpinus tarp ^{60}Co ir detektoriaus stiklą.

Fig. 6. ^{60}Co energetinis gama spektras, tarp šaltinio ir detektoriaus patalpinus 5 mm stiklą (prie detektoriaus).

Fig. 7. ^{60}Co energetinis gama spektras tarp šaltinio ir detektoriaus patalpinus 5 mm stiklas (prie šaltinio).

Smulkus išradimo aprašymas

Pradėję tirti gamadinaminį gydymą (GDT) eksperimente su įskiepytais laboratorinių gyvūnų navikais, o vėliau gavę gerus GDT rezultatus ir klinikoje, neabejojome, kad porfirinus gali sužadinti tam tikro bangos ilgio (tam tikrų energijų) gama spinduliai. Norėdami tai įrodyti 1 ml paruošto infuzijai HpD tirpalo (koncentracija – 1 mg/1,5 ml), patalpinome stiklinėje karpulėje (skirtoje ultrakainui) ir apšvitinome vienkartinę 2 Gy gama spindulių doze. Po to atlikta spektroskopinė tirpalo analizė, tikintis, kad įprastinis HpD spektras bus pasikeitęs. Deja, jokių spektro pokyčių nebuvo stebėta. Šiuos eksperimentus kartojome keisdami HpD koncentraciją - visais atvejais stiklinėje karpulėje patalpintus tirpalus, apspinduliuavus 2 Gy doze ir po to atlikus spektroskopinę tirpalų analizę, HpD spektras išlikdavo nepakitęs.

Tada mes iškėlėme hipotezę, kad gal būt kalcio natrio silikatinis stiklas, iš kurio buvo pagaminta karpulė veikia kaip filtras, apsaugantis nuo HpD aktyvinančių jonizuojančios radiacijos spindulių, juo labiau, kad šis stiklas sulaiko ir ultravioletinius spindulius, kurie itin aktyviai sužadina porfirinus.

Nors ši hipotezė fizikiniu požiūriu atrodė menkai tikėtina, mes sukonstravome eksperimentus tiek su HpD tirpalais, tiek *in vivo*, galinčius ją patvirtinti.

Pirmiausia buvo atlikti hematoporfirino darinių (HpD) tirpalų tyrimai, juos aktyvuojant skirtingų spektrų elektromagnetinėmis bangomis: matoma raudona šviesa ir jonizuojančia spinduliuote. Tirti įvairių koncentracijų HpD tirpalai. Stebėti HpD tirpalų pokyčiai, lyginti šių pokyčių skirtumai ir panašumai (kai kuriuose eksperimentuose naudota pavyzdžių spektroskopinė analizė; kituose - tirtas HpD tirpalų fluorescencijos intensyvumas. Taip pat tirta ir HpD tirpalų sudėties priklausomybė nuo naudotų komponentų koncentracijos, tirpalų temperatūros, pH ir laikymo trukmės.

Įdomiausi rezultatai stebėti, tiriant 0,02-0,175 mg/ml HpD tirpalus. Apšvietus šiuos tirpalus mėlyna šviesa ($\lambda=405$ nm) prietemoje plika akimi buvo stebima avietinės spalvos fluorescencija. Tačiau lašą tokio tirpalo (0,005 ml) apšvitinus 2 Gy vienkartinę gama spindulių doze (šaltinis – radioaktyvus kobaltas – ^{60}Co) ir po to apšvietus mėlyna šviesa ($\lambda=405$ nm) avietinė fluorescencija išnykdavo. Dar daugiau, jeigu prieš apšvitinant minėtų koncentracijų HpD tirpalus gama spinduliais, tirpalo lašas ant objektinio stiklelio buvo

uždengiamas kalcio natrio silikatiniu stikliuku ir tik tada veikiamas 2 Gy vienkartinė doze, jį apšvietus 405 nm mėlyna šviesa, fluorescencija išlikdavo. Reikia pabrėžti, kad kitų tipų stiklas (nei organinis stiklas, nei kvarco stiklas, nei NaCl kristalai) neįtakoja fluorescencijos pokyčių.

Šis fenomenas stebimas tik esant tinkamai HpD tirpalo koncentracijai, temperatūrai, pH ir paruošto tirpalo laikymo trukmei.

Kadangi lašas nevienodai pasiskirsto objekcinio stiklelio paviršiuje, norėdami kiekybiškai įvertinti šį fenomeną atlikome dar vieną eksperimentą su HpD tirpalais, kuriuos patalpinome plastikiniuose indeliuose. Eksperimento metu nustatėme HpD koncentracijas, kurių 1 ml tūrio tirpalą prietemoje apšvietus 405 nm mėlyna šviesa buvo plika akimi stebima avietinė fluorescencija.

Tyrėme HpD tirpalus kurių koncentracija buvo 0,00001-10 mg/ml. Visus HpD tirpalus eksperimentų metu skiedėme izotoniniu NaCl tirpalu (0,9%). Paruošėme 49 skirtingų HpD koncentracijų tirpalus. Jie buvo paruošti sekančiai: 10 mg/ml HpD tirpalas buvo skiedžiamas atitinkamą kartų skaičių nuo 1,5 karto iki 1 000 000 kartų (1,5; 2; 10; 20; 30; 40; ... ; 1 000 000 kartų. Tirpalų avietinę fluorescenciją stebėjome koncentracijose nuo 0,0009 mg/ml iki 5 mg/ml - 46 skirtingų koncentracijų tirpaluose (Fig. 1).

Po 1 ml iš šių 46 tirpalų buvo patalpinta 46 plastikiniuose indeliuose ir jie buvo apšvitinti gama spinduliais 2 Gy vienkartinė doze (šaltinis – radioaktyvus kobaltas – ^{60}Co). Po 2 Gy tirpalai, kurių koncentracija buvo mažesnė nei 0,008 mg/ml, apšvietus 405 nm mėlyna šviesa, nustojo švytėti.

Gavus tokius įdomius rezultatus su HpD tirpalais buvo nuspręsta hipotezės patikrinimui atlikti eksperimentus su laboratoriniais gyvūnais *in vivo*. Iš GDT tyrimų eksperimente, o vėliau ir GDT taikymo klinikoje pastebėjome, kad gamadinaminiam gydymui jautrūs ne visi, o tik kai kurių histologinių tipų piktybiniai navikai: neepiteliniai navikai (melanoma, sarkoma), dalis adenokarcinomų. Ypač geri buvo daugumos smegenų piktybinių navikų: meduloblastomos, piktybinės ependimomos, gliomų GDT gydymo rezultatai. Todėl eksperimentiniam darbui pasirinkta žiurkių glioma.

Eksperimentų metodikos

Eksperimentuose *in vivo* naudotos Vistar klonų žiurkių patelės arba patinai (svoris – 300-400 g). Eksperimentiniai gyvūnai buvo laikomi pagal Lietuvos bioetikos komiteto patvirtintus laboratorinių gyvūnų priežiūros nuostatus ir reikalavimus. Darbams buvo gautas Lietuvos laboratorinių gyvūnų naudojimo etikos komisijos prie Valstybinės veterinarijos tarnybos leidimas. Į kiekvienos žiurkės smegenis arba į dešinę šlaunį poodiniu būdu (priklausomai nuo atliekamo eksperimento) buvo įskiepijamos žiurkių C6 gliomos ląstelės. Žiurkių C6 gliomos modelis yra plačiai naudojamas pasaulyje naujų terapinių poveikių efektui ištirti. C6 gliomos (įskiepijamos į žiurkių smegenis) yra populiarius ir tinkamas gyvūnų modelis, atitinkantis žmogaus CNS navikus. Yra įvairių autorių publikacijų, kad C6 gliomos navikas gali augti ne tik žiurkių smegenyse, bet ir pilvo ertmėje ir paodyje, kas palengvina naviko tūrio kitimo stebėjimą laike po terapinio poveikio.

Įskiepijimui į žiurkės reikiamas C6 gliomos ląstelių kiekis buvo padauginamas ląstelių kultūrų metodu. C6 gliomos ląstelės kultivuojamos DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) terpėje su 10% fetalinio serumo, 2 mM glutamino, 100 IU/ml penicilino ir 100 µg/ml streptomicino, inkubuojant jas 37°C temperatūroje 5% CO₂ inkubatoriuje. Po tripsinizacijos buvo paruošiamos atitinkamos koncentracijos ląstelių suspensijos 0.9% NaCl tirpale.

Visuose eksperimentuose žiurkės buvo nuskausminamos intraperitonealiai anestetikais ir raumenų relaksantais (50 mg/kg Bioketan+1 mg/kg Xylazin 2%). Stereotaksiniu būdu į žiurkių smegenis buvo įskiepijama 50 µl 5x10⁶ C6 ląstelių suspensija. Poodiniam įskiepijimui 500 µl fiziologinio tirpalo, turinčio 1x10⁷ C6 gliomos ląstelių, buvo įskiepijama po oda į Wistar linijos žiurkių dešinę šlaunį.

Visuose eksperimentuose buvo naudojamas radiosensibilizatorius – hematoporfirino darinio (HpD) tirpalas (terapinė dozė - 5 mg/kg), kuris buvo suleidžiamas žiurkėms į uodegos veną. Praėjus 24, 48 ir 72 h po HpD suleidimo, žiurkių navikai 3 kartus buvo apšvitinti vienkartinę γ spindulių doze - 2 Gy. Suminė dozė buvo 6 Gy. Dėl galimo žiurkių nuo porfirino priklausomo jautrumo šviesai jos buvo laikomos užtamsintoje patalpoje. Eksperimentuose su poodiniais navikais kas dvi paras nuo sensibilizatoriaus suleidimo

dienos navikų dydžiai buvo matuojami specialiu slankmačiu. Navikų tūriai buvo apskaičiuojami pagal formulę:

$$V = 1/2 \times (4\pi/3) \times (l/2) \times (w/2) \times h, \text{ kur}$$

V - naviko tūris;

l - naviko ilgis;

w - naviko plotis;

h - naviko aukštis.

Naviko augimo įvertinimui buvo pasirinktas santykinis naviko augimas, apskaičiuojamas pagal formulę: $S = (S_n - S_0)/S_0$, kur S_n - atitinkamos dienos naviko tūris, S_0 - pradinis naviko tūris, S - santykinis naviko augimas.

11-ą parą po C6 gliomos įskiepijimo į smegenis ir 10 parą po įskiepijimo po oda (išsivysčius 100-150 mm³ dydžio navikams), žiurkės buvo suskirstytos į 2 tiriamąsias ir 3 kontrolines grupes.

Pirmąją tiriamąją grupę (A) sudarė žiurkės, kurioms buvo taikytas gamadinaminis gydymas: buvo suleistas radiosensibilizatorius HpD (5 mg/kg, i/v) ir, praėjus 24, 48 ir 72 h po HpD suleidimo, navikai 3 kartus apšvitinti vienkartinę γ spindulių doze - 2 Gy. Suminė dozė buvo 6 Gy.

Antrą tiriamąją grupę (B) sudarė žiurkės, kurioms buvo taikytas analogiškas gamadinaminis gydymas, tačiau švitinant gama spinduliais visus 3 kartus navikai buvo uždengiami 0,5 cm kalcio natrio silikatinio stiklu.

Šalia tiriamųjų grupių buvo ir trys kontrolinės gyvūnų grupės:

1. Grynos kontrolės (C) - šią grupę sudarė žiurkės, kurioms, įskiepijus naviką, jokio gydymo netaikėme.

2. Sensibilizatoriaus kontrolės grupė (D), susidedanti iš žiurkių, kurioms įskiepijus naviką buvo suleistas tikrai radiosensibilizatorius ir joks kitas gydymas netaikytas.

3. Radioterapijos kontrolės grupė (E), susidedanti iš žiurkių, kurioms, įskiepijus navikus sensibilizatorius neleistas, o navikai analogiškai, kaip ir tiriamosiose grupėse, 3 kartus apšvitinti vienkartinę γ spindulių doze - 2 Gy. Suminė dozė buvo 6 Gy.

Visų eksperimentų metu pagrindinis gydymo efektyvumo kriterijus buvo: navikų augimo stabdymas (jei navikas buvo įskiepijamas po oda) ir žiurkių išgyvenamumas (jei navikas buvo įskiepijamas stereotaksiniu būdu).

Buvo atlikta eksperimentų rezultatų statistinė analizė. Eksperimentuose, kai žiurkėms C6 glioma buvo įskiepyta į smegenis, statistinei analizei atlikti buvo naujamas SAS (Statistical Analysis Systems) programa. Eksperimentuose, kai glioma buvo įskiepyta po oda, rezultatų statistinė analizė buvo atlikta kompiuterine programa SigmaStat (Version 3.0), naudojantis dispersinės analizės metodu ($P < 0,05$).

Eksperimentų *in vivo* rezultatai

Atliekant eksperimentus su žiurkėmis, kurioms glioma buvo stereotaksiškai įskiepyta į smegenis, kontrolinėse – (C) ir (D) grupėse jau sekančią parą po HpD suleidimo stebėti žiurkių elgsenos pokyčiai: sumažėjo jų judrumas ir aktyvumas, jos tapo dirglesnės, jų kailiukas apsvilė, vėliau sutriko jų koordinacija ir net eisena, atsirado viduriavimas. Ši neurologinė simptomatika rodė gliomos augimo pasekoje didėjantį intrakranijinį spaudimą. Viso eksperimento metu (C) ir (D) kontrolinėse grupėse buvo stebimas neurologinės simptomatikos progresavimas, kuris tęsėsi iki pat žiurkių žūties. (A) grupės žiurkėms, kurioms buvo taikytas gamadinaminis gydymas, sekančią parą po HpD suleidimo irgi stebėti pirmieji neurologinės simptomatikos požymiai: sumažėjo jų judrumas ir aktyvumas, jos tapo dirglesnės, jų kailiukas apsvilė, tačiau šie požymiai po 3 parų (taikant GDT) išnyko. Kai kurioms (A) grupės žiurkėms 20-22 dienomis po HpD suleidimo neurologinė simptomatika vėl atsirado.

Radioterapijos kontrolės grupės (E) žiurkėms neurologinė simptomatika atsirado tuo pat metu, kaip ir (C) ir (D) kontrolinėse grupėse ir lėtai progresavo (lėčiau nei (C) ir (D) kontrolinėse grupėse) viso eksperimento metu. Analogiška padėtis stebėta ir tiriamojoje (B) grupėje.

Palyginus tiriamųjų ir kontrolinių grupių žiurkių išgyvenamumą (Fig. 2) stebėtas statistiškai patikimas tiriamosios A grupės žiurkių, kurioms buvo taikytas gamadinaminis gydymas, išgyvenamumo prailgėjimas, lyginant su kontrolinių (C) ir (D) grupių žiurkių išgyvenamumu.

Tiriamosios (B) grupės žiurkių, kurioms buvo taikytas gamadinaminis gydymas, tačiau švitinant gama spinduliais navikai buvo uždengiami 0,5 cm kalcio natrio silikatinio stiklu, išgyvenamumas buvo labai panašus į radioterapijos kontrolės grupės (E) žiurkių išgyvenamumą ir gerokai trumpesnis, nei tiriamosios (A) grupės žiurkių išgyvenamumą, tačiau šis skirtumas nebuvo statistiškai patikimas.

Eksperimento, kai C6 glioma buvo įskiepijama po oda metu pagrindinis gydymo efektyvumo kriterijus buvo navikų augimo stabdymas. Navikų augimo stabdymas tiriamojoje grupėje (A) sudarytoje iš žiurkių, kurioms buvo taikytas gamadinaminis gydymas buvo stebimas pirmosiomis dienomis tik pradėjus GDT po to kai navikai buvo apšvitinti 2 Gy doze. Visose kitose grupėse (išskyrus grupę (E), pirmas penkias dienas nuo GDT pradžios buvo stebimas navikų augimas (Fig. 3). Radioterapijos kontrolės grupėje (E) navikų augimas buvo stebimas pirmas tris dienas nuo GDT pradžios. Po kiek laiko navikų augimo stabdymas buvo stebimas ir kitose grupėse, bet jis buvo statistiškai patikimai mažesnis, nei grupėje (A). Skirtumai tarp santykinio navikų augimo tiriamojoje grupėje A ir visose kontrolinėse grupėse bei tiriamojoje grupėje B buvo statistiškai patikimas - $P < 0,05$). Praėjus 16 parų po navikų įskiepijimo prasidėjo savaiminė lėta skiepytų navikų regresija. Toks reiškiny yra aprašomas ir kitų autorių (P. Guevara, J. Sotelo. C6 rat glioma grown into the peritoneal cavity, a large source of tumoral cells for subcutaneous transplant of glioma. J Neuro-Oncol 1999; 44: 91-92.). Svarbu pabrėžti, kad tiriamojoje (A) grupėje, sudarytoje iš žiurkių, kurioms buvo taikytas gamadinaminis gydymas, pirmoji pilna naviko regresija stebėta 10 parą, o visose kitose grupėse tik 15 parą.

Tiriamojoje (B) grupėje (žiurkių, kurioms buvo taikytas gamadinaminis gydymas, tačiau švitinant gama spinduliais navikai buvo uždengiami 0,5 cm kalcio natrio silikatinio stiklu), navikų regresija buvo labai panaši į radioterapijos kontrolės grupės (E) žiurkių navikų regresiją.

Remdamiesi savo rezultatais mes galime žiūrėti į kalcio natrio silikatinį stiklą kaip į filtrą, kuris sulaiko tinkamo bangos ilgio (tinkamų bangos ilgių) arba, kitaip sakant, tinkamų energijų jonizuojančios radiacijos spektro spindulius, galinčius aktyvuoti HpD ir sukelti gamadinaminį efektą. Šių bangos ilgių nustatymas leistų surasti kitus jonizuojančios radiacijos šaltinius, galinčius suaktyvinti porfirinus efektyviau, nei radioaktyvus ^{60}Co .

Kadangi minėtų eksperimentų rezultatai leidžia daryti išvadą, kad HpD aktyvina tie jonizuojančios radiacijos spektro spinduliai, kuriuos išspinduliuoja ^{60}Co ir, kurie nepraeina pro kalcio natrio silikatinį stiklą tyrėme, kaip šis stiklas pakeičia ^{60}Co gama spektrą.

Kalcio natrio silikatinis stiklas, kitaip vadinamas statybiniu stiklu, Lietuvos standarto žymuo LST EN 572-1, Originalo žymuo EN 572-1, yra plačiausiai naudojamo stiklo rūšis.

Šis stiklas gaminamas maišant silicio dioksida, natrio karbonatą, kalcio karbonatą (arba kalcio oksida) ir sulydant juos. Šis stiklas turi tokią struktūrą kad natrio jonai (Na^+) ir kalcio jonai (Ca^{2+}) yra įterpti tarp silicio jonų taip, kad silicio ir deguonies atomai ištįsta į tetraedrinę erdvinę struktūrą.

Tiriant, kaip stiklas pakeičia ^{60}Co gama spektrą, buvo atlikta eilė eksperimentų. Eksperimentai atlikti su švaraus germanio gama detektoriumi, uždengtu 1 mm aliuminio skardele. Matuota švino apsaugoje. Minimali registruojama jonizuojančiosios spinduliuotės dozės galia buvo 0,01 Sv/val.

Pirmiausiai buvo užrašytas paprastas ^{60}Co spektras (Fig. 4). Šio ir visų kitų eksperimentų metu naudotas taškinis 13 kBq aktyvumo ^{60}Co šaltinis (jo aktyvumas lyginant su VU Onkologijos instituto ^{60}Co šaltiniu - 10 000 Ci = $3,7 \times 10^{14}$ Bq, yra apie $3 \cdot 10^{10}$ karto mažesnis).

^{60}Co šaltinis spinduliuoja dviejų energijų - 1,175 ir 1,333 MeV gama kvantus. Gama kvantų sugėrimas proporcingas medžiagos storiui ir priklauso nuo elementinės sugeriančios medžiagos sudėties. Srauto silpnėjimas aprašomas eksponente su sugėrimo koeficientų kiekvienam elementui suma.

Užrašius paprastą ^{60}Co spektrą, atlikti trys gama srauto silpnėjimo eksperimentai su kalcio natrio silikatinio stiklu. Eksperimentas atliktas su švaraus germanio gama detektoriumi, uždengtu 1 mm aliuminio skardele, sugeriančia elektronus, išlekiančius iš stiklo (Fig. 5).

Visų trijų eksperimentų metu šaltinis ir detektorius buvo 20 cm atstume vienas nuo kito. Pirmo eksperimento metu tarp šaltinio ir detektoriaus buvo oras. Antro eksperimento metu 5 mm storio stiklas buvo patalpintas prie detektoriaus (Fig. 6). Trečio eksperimento metu 5 mm storio stiklas buvo patalpintas prie šaltinio (Fig. 7). Atlikus šiuos eksperimentus gauti rezultatai, kurie pateikti 1 lentelėje. Pro stiklą praeinančio ^{60}Co spektro pakitimus vertinti galima, skaičiuojant tris efektus: fotoefektą, komptoninę sklaidą, elektrono-pozitrono porų susidarymą gama kvantui stojant branduolio lauke.

1 lentelė. Gama kvantų skaičius per sekundę, registruotas ^{60}Co spinduliuojamų gama kvantų smailėse.

LT 5434 B

E il. Nr.	γ -kvantų energija, MeV	Tarp šaltinio ir detektoriaus - oras	Stiklas prie detektoriaus	Stiklas prie šaltinio
1	1,175	3,29	2,01	2,14
2	1,333	2,9	2,39	2,387
3	0,223			0.04 61

Atliekant šiuos eksperimentus ir rašant energetinius gama spektrus pastebėjome, kad esant tarp ^{60}Co šaltinio ir detektoriaus 5 mm kalcio natrio silikatiniam stiklui stebėti pokyčiai smailės, atitinkančios pozitronų anihiliacijos gama kvantų liniją 0,511 MeV srityje. Stiklas, ypač būdamas prie detektoriaus, ženkliai sumažindavo šią smailę. Eksperimentus esant tarp ^{60}Co šaltinio ir detektoriaus kalcio natrio silikatiniam stiklui kartojo keisdami gama spektro užrašymo trukmę. Kada gama spektro užrašymo trukmė viršydavo 800 sek. stebėtas įdomus fenomenas: smailė, atitinkanti pozitronų anihiliacijos gama kvantų liniją 0,511 MeV srityje vėl pradėdavo augti. Jeigu eksperimento metu po 800 sek. stiklą pakeisdavome nauju, smailė neaugo. Atlikti palyginamieji darbai su kvarciniu stiklu, NaCl kristalu bei volframu. Šių eksperimentų metu panašių fenomenų nestebėta.

Išvada: sužadinant HpD darinius, svarbūs yra 0,511 MeV energijos kvantai. Kadangi ši smailė sudaro labai menką ^{60}Co energetinio spektro dalį tikėtina, kad, naudojant šios energijos kvantus, HpD sužadinimui užtektų vos 0,02 Gy vienkartinės ir 0,06 Gy suminės gama spindulių dozės. Kadangi 0,511 MeV energijos kvantus spinduliuoja radioaktyvus natriis bei radioaktyvus aliuminis, o artimos energijos kvantus spinduliuoja radioaktyvus kriptonas, tikėtina, kad šių elementų šaltiniai būtų žymiai efektyvesni taikant gamadinaminį gydymą.

Taigi, išradime siūlomas šviesos šaltinis HpD sužadinimui fotodinaminėje terapijoje, besiskiriantis tuo, kad minėtas šaltinis emituoja 0,511 MeV energijos kvantus. Atskiru

išradimo įgyvendinimo atveju, šviesos šaltinis yra radioaktyvus natriis arba radioaktyvus aliuminis. Dar kitu atskiru atveju šviesos šaltinis yra radioaktyvus kriptonas.

Todėl įmanoma sukurti tokias gamadinaminio gydymo metodikas, kurių metu vienkartinė absorbuotojo jonizuojančio spinduliavimo dozė – tebus $\sim 0,02-0,2$ Gy, suminė $\sim 0,06-0,6$ Gy. Tai įgalintų gamadinaminį gydymą ateityje efektyviai taikyti net ir tiems ligoniams, kuriems nustatyti plačiai išplitę piktybiniai navikai bei tiems ligoniams, kuriems realizuotos maksimalios gama spindulių dozės ir todėl bet kokio spindulinio gydymo galimybės yra išsemtos. Be to, gamadinaminį gydymą būtų galima kartoti daugybę (šimtus) kartų, esant bet kokios lokalizacijos piktybinio naviko recidyvui. GDT galima būtų taikyti ir kaip antrinę profilaktiką, įtariant galimą, bet dar neverifikuojamą, naviko recidyvą.

Išradimo apibrėžtis

1. Spinduliuotės šaltinis hematoporfirinų (HpD) sužadinimui gamadinaminėje terapijoje, besiskiriantis tuo, kad minėtas šaltinis emituoja 0,511 MeV energijos kvantus.
2. Spinduliuotės šaltinis pagal 1 punktą, besiskiriantis tuo, kad minėtas šaltinis yra radioaktyvaus kriptono šaltinis.
3. Spinduliuotės šaltinis pagal 1 punktą, besiskiriantis tuo, kad minėtas šaltinis yra radioaktyvaus natrio šaltinis.
4. Spinduliuotės šaltinis pagal 1 punktą, besiskiriantis tuo, kad minėtas šaltinis yra radioaktyvaus aliuminio šaltinis.
5. Gama spindulių 0,511 MeV energijos kvantų panaudojimas HpD sužadinimui.
6. Spinduliuotės šaltinio pagal bet kurį iš 1-4 punktą panaudojimo gamyboje įrenginio, skirto naudoti gamadinaminiame navikų gydymo būde, apimančiame HpD įvedimą į auglį ir auglio apšvitinimą.
7. Panaudojimas pagal 6 punktą, besiskiriantis tuo, kad vienkartinė absorbuotojo jonizuojančio spinduliavimo dozė yra 0,02-0,2 Gy.
8. Spinduliuotės šaltinio pagal bet kurį iš 1-4 punktą panaudojimas gamyboje įrenginio, skirto naudoti navikų gydymui ir profilaktikai.

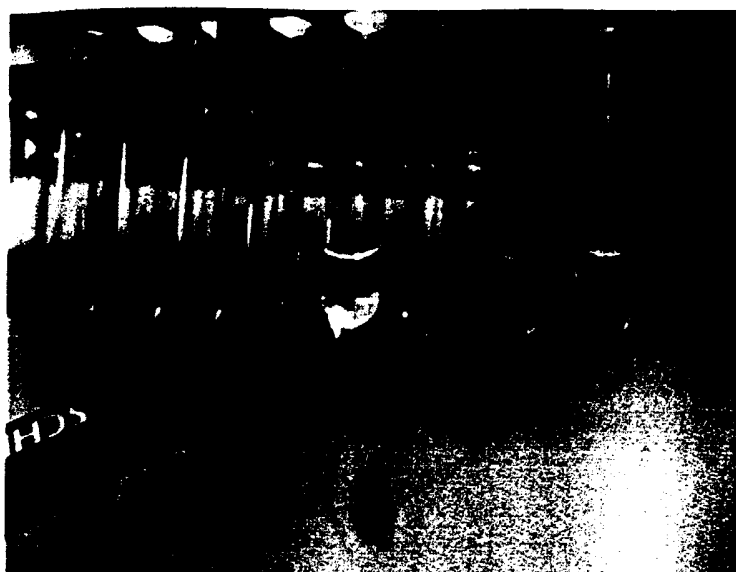


FIG. 1

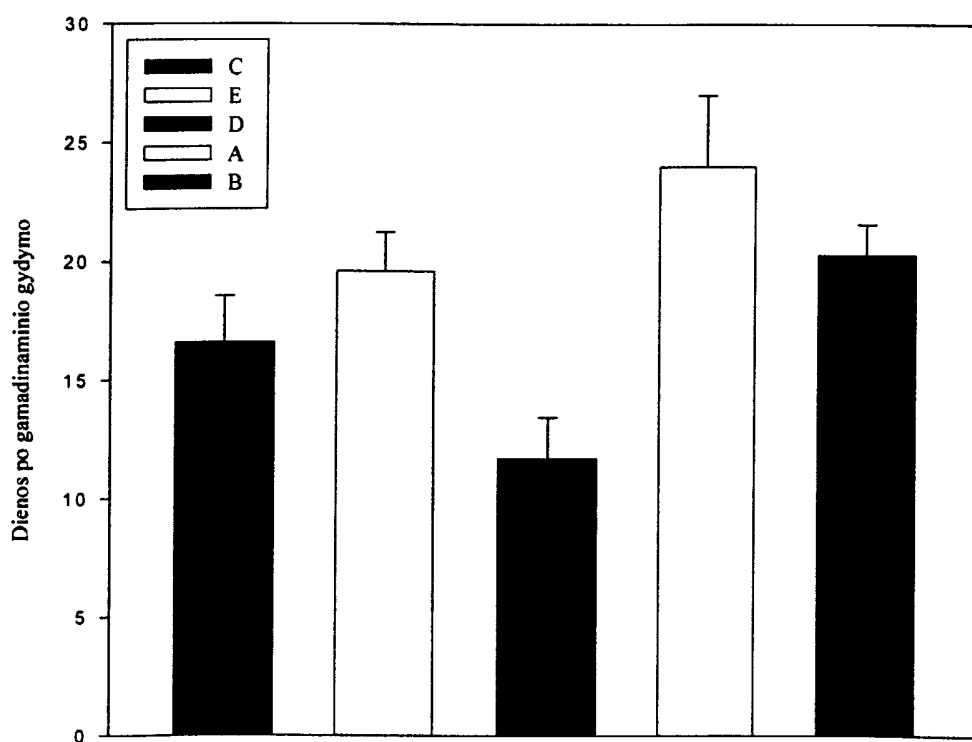


FIG. 2

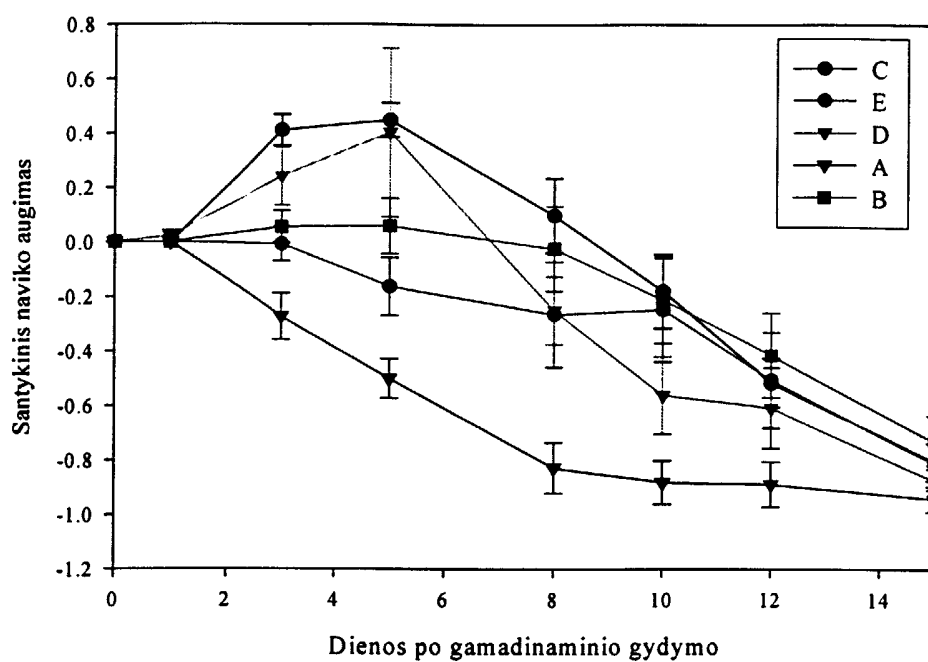


FIG. 3

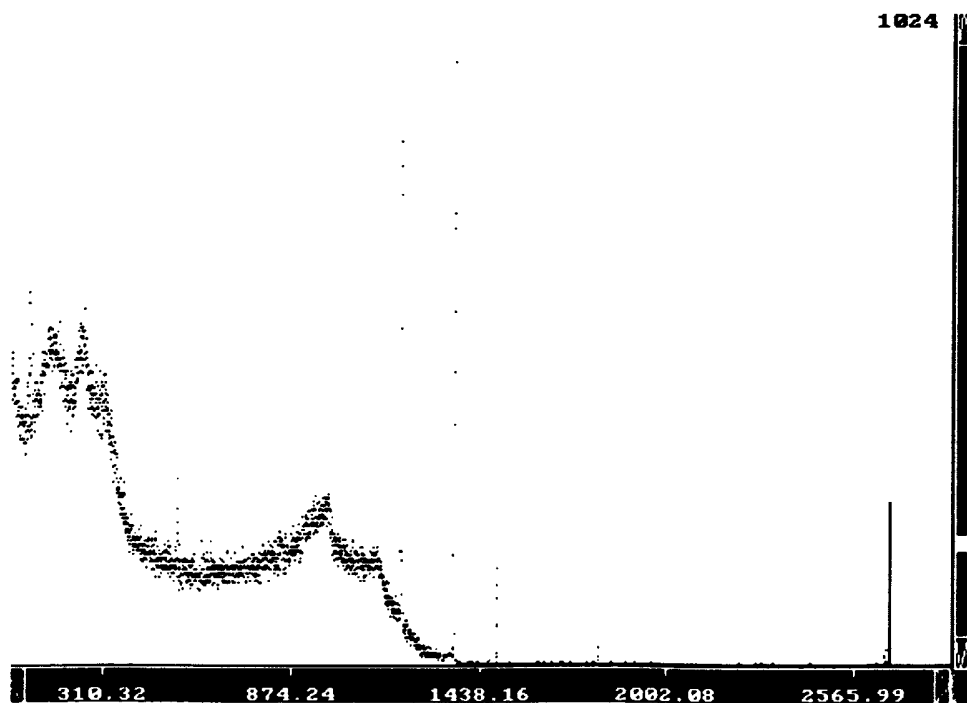


FIG. 4

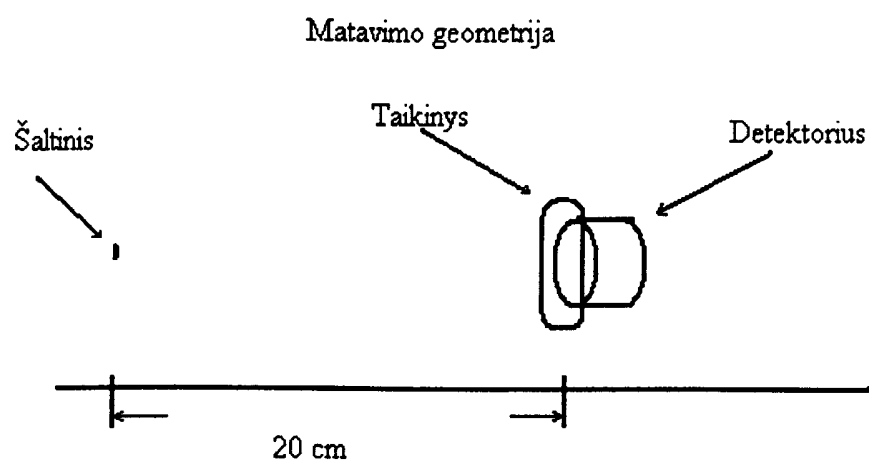


FIG. 5

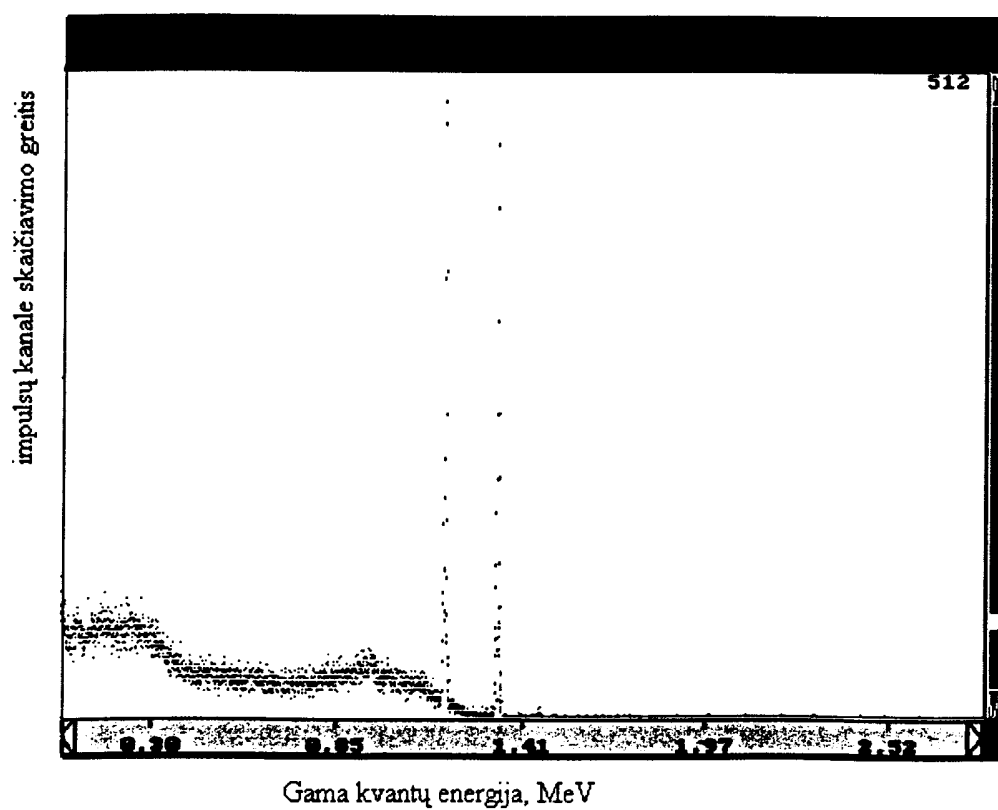


FIG. 6

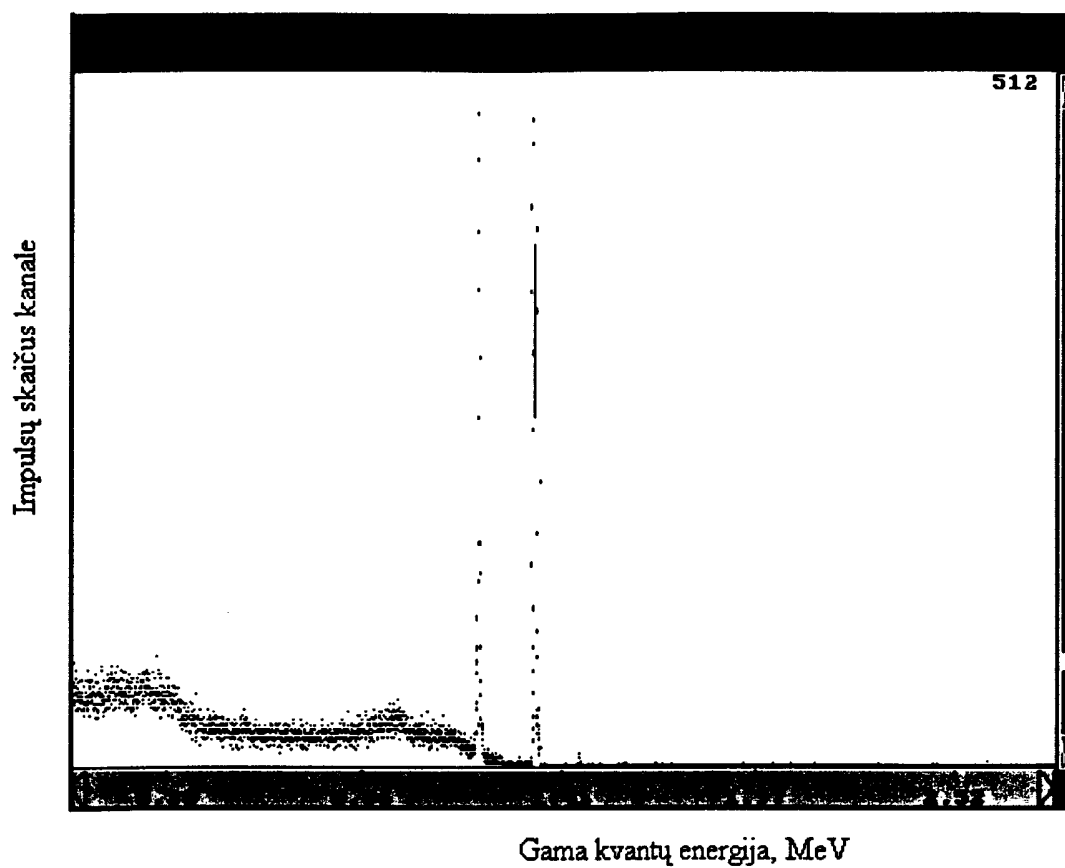


FIG. 7