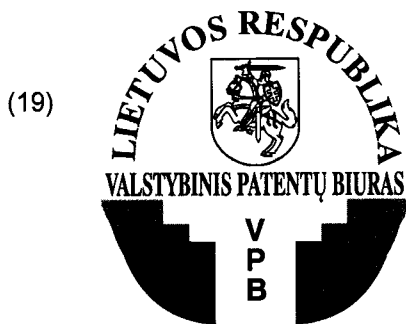




(10) **LT 6038 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patent numeris: **6038** (51) Int. Cl. (2014.01): **A61B 6/00**

(21) Paraiškos numeris: **2012 098**

(22) Paraiškos padavimo data: **2012 10 22**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2014 04 25**

(45) Patent paskelbimo data: **2014 06 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
Rimantas VAIŠNORAS, LT

(73) Patent savininkas:

I. J. LAZERIŲ IR BANGŲ MEDICINOS MOKSLINĖ KLINIKA, Girinio g. 8, LT-08401 Vilnius, LT
LIETUVOS EDUKOLOGIJOS UNIVERSITETAS, Studentų g. 39, LT-08106 Vilnius, LT

(74) Patentinis patikėtinis/atstovas:

Aušra PAKĖNIENĖ, AAA Law, J.Jasinskio g. 16A, LT-03163 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių fotodinaminė diagnostika

(57) Referatas:

Išradimas yra susijęs su biomedicina ir yra skirtas onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčio diagnostikai.

Navikinis procesas dažnai sąlygoja audinių skysčio išsiskyrimą ir kaupimąsi įvairiose kūno ertmėse, dažniau pleuros bei pilvaplėvės ertmėse. Pacientų, kuriems kaupiasi navikinio proceso sukelti audinių skysčiai, gydymas iš esmės skiriasi nuo kitų susirgimų sąlygotų audinių skysčių kaupimosi atvejų. Todėl kliniciams labai svarbi maligninių pleurito ascito bei kitų navikinės patologijos sąlygotų audinių skysčių teisinga ir savalaikė diagnostika.

Šis išradimas pateikia diagnostikos sistemą, apimančią audiniuose susikaupusio skysčio atitinkamo tūrio

punktavimą, kai tiriamam pacientui prieš minėtą audinių skysčio punktavimą gydymo ir (arba) diagnozės nustatymo tikslu yra įvesta fotosensibilizatoriaus arba jo pirmtako, taip pat tuo, kad surinktas punktas apšviečiamas tam tikro bangos ilgio (violetinė) šviesa, o tiriamo skysčio švytėjimo spalva ir intensyvumas vertinami vizualiai arba spektrofotometriniais metodais. Išradime naudojami hematoporfirino dariniai, tokie, kaip fotofrinas, fotohemas, fotosanas, kurie apšviečiami 400–405 nm bangos ilgio šviesa; tiriamo skysčio avietinis švytėjimas vertinamas vizualiai arba spektrofotometro pagalba.

Technikos sritis:

Išradimas yra susijęs su biomedicina ir yra skirtas onkologinės patologijos sukkelto audinių skysčio diagnostikai.

Technikos lygis:

Piktybinių navikų sąlygoto audinių skysčio sankaupos pleuroje bei pilvaplėvėje yra vienos iš dažnesnių problemų, kylančių kliniciams jų kasdieninėje praktikoje.

Navikinis procesas gali sąlygoti audinių skysčio išsiskyrimą ir kaupimąsi įvairiose kūno ertmėse - dažniausiai pleuros bei pilvaplėvės ertmėse (rečiau kitose: įvairiose navikinėse cistose, sąnarių ertmėse ir kt.).

Pilvaplėvės ertmėje susikaupęs patologinis skystis vadinamas ascitu. Ascito priežastys gali būti šios [1]. Lombardi G, Zustovich F, Nicoletto MO, Donach M, Artioli G, Pastorelli D. Diagnosis and treatment of malignant pleural effusion: a systematic literature review and new approaches. Am J Clin Oncol 2010; 33 (4): 420-3.: įvairi kepenų patologija, dažniausiai kepenų cirozė (81%), navikas (10%), širdies ligos (3%), tuberkuliozė (2%), dializė (1%), kasos ligos (1%), pilvaplėvės uždegiminė patologija ir kitos priežastys (2%).

Navikinė patologija sąlygoja 7-10% ascito ir 16,5-30% pleuritų.

Skysčio kaupimąsi pleuroje dažniausiai sukelia:

Infekcija (pleuritas atsiranda sergant plaučių uždegimu, tuberkulioze).

Sutrikusios plaučių kraujotaka ir limfotaka (įvairios būklės, kurios sukelia stazę plaučiuose, plaučių arterijos trombinė embolija).

Inkstų ligos.

Kepenų cirozė.

Navikinis pleuros lapelių pažeidimas (plaučių vėžys, kitų organų vėžio metastazės, pleuros mezotelioma).

Pleuros lapelių vientisumo pažeidimas dėl traumos.

Imuninis pleuros lapelių uždegimas (sisteminės jungiamojo audinio ligos,

vaskulitai).

Ūmus pankreatitas.

Paprastai navikinis procesas sukelia eksudato ir tik retais atvejais transudato kaupimąsi.

Pleuros transudatą ir eksudatą sukelia skirtingos priežastys. Priklausomai nuo pleuros skysčio pobūdžio skysčio kaupimosi pleuroje priežastys skirstomos sekančiai [2]. Zablockis R, Nargėla R. Pleuros skysčio citologinio tyrimo diagnostinė reikšmė. Medicina 2002; 38 (12): 1171-8.:

Dažniausios transudato (kuris sudaro 24-25% visų pleuros skysčių kaupimosi atvejų) priežastys:

Širdies nepakankamumas - 14,5%

Nefrozinis sindromas - 5,5%

Kepenų cirozė - 2,5%

Kita patologija - 1,5%

Dažniausios eksudato (kuris sudaro 75-76% visų pleuros skysčių kaupimosi atvejų) priežastys :

Neoplazija - 16,5%

Plaučių uždegimas - 13%

Empiema - 9%

Tuberkuliozė - 6%

Plaučių arterijos tromboembolija - 5,5%

Trauma - 3%

Hemotoraksas - 2%

Blužnies abscesas - 1,5%

Uremija - 1%

Chilotoraksas - 1%

Pseudochilotoraksas - 0,5%

Piopneumotoraksas - 0,5%

Neaiškos kilmės - 16%

Skirtingų autorių duomenimis navikinė patologija sąlygoja 16,5-30% visų pleuritų, 42 -77% visų eksudacinių pleuritų [3]. Marel M, Zrustova M, Stasny B, Light RW. The incidence of pleural effusion in a well-defined region: epidemiologic study in central Bohemia. *Chest* 1993; 104 (5): 1486-9; [4]. Valdes L, Alvarez D, Valle JM, Pose A, San Jose E. The etiology of pleural effusions in an area with high incidence of tuberculosis. *Chest* 1996; 109 (1): 158-62; ir 40% visų chroninių pleuritų, kurie dažniausiai yra recidyvuojantys [5]. Valdes L, Alvarez D, Valle JM, Pose A, San Jose E. The etiology of pleural effusions in an area with high incidence of tuberculosis. *Chest* 1996; 109 (1): 158-62. 75% visų navikinių pleuritų sukelia plaučių vėžys, krūties bei ovarų vėžio metastazės, mezotelioma ir limfoma [6]. Johnston WW. The malignant pleural effusion. A review of cytopathological diagnoses of 584 specimens from 472 consecutive patients. *Cancer* 1985; 56 (4): 905-9.

Plaučių vėžys sukelia trečdalį navikinių pleuritų. [7]. Rodriguez-Panadero F, Romero-Romero B. Management of malignant pleural effusions. *Curr Opin Pulm Med* 2011; 17: 269-73; Onkologinės patologijos sąlygoto audinių skysčio sankaupos kūno ertmėse skrodimo metu randamos 15% ligonių, mirusių nuo vėžio [8]. Rodriguez-Panadero F, Borderas Naranjo F, Lopez-Mejias J. Pleural metastatic tumours and effusions. Frequency and pathogenic mechanisms in a post-mortem series. *Eur Respir J* 1989; 2 (4): 366-9. Vien JAV onkologinės patologijos sąlygoto audinių skysčio sankaupos kasmet aptinkamos daugiau nei 150 000 pacientų [9]. Chernow B, Sahn SA. Carcinomatous involvement of the pleura: an analysis of 96 patients. *Am J Med* 1977; 63: 695-702; [10]. Bille A, Borasio P, Gisabella M, Errico L, Gatherer R, Ardisson F. Suitable device for thoracoscopic talc poudrage in malignant pleural effusion. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 59 (7): 522-4; [11]. Cheong JC, Choi WH, Kim DJ, Park JH, Cho SJ, Choi CS, Kim JS. Prognostic significance of computed tomography defined ascites in advanced gastric cancer. *J Korean Surg Soc* 2012; 82: 219-26; [12]. Eskander RN, Tewari KS. Emerging treatment options for management of malignant ascites in patients with ovarian cancer. *Int J Womens Health* 2012; 4: 395-404. Nors pleuritas bei ascitas dažniausiai pasireiškia terminalinėse vėžio stadijose, pleuros skystis, kaip pirmasis vėžio simptomas nustatomas net 41% visų onkologinių ligonių, kuriems nustatytas maligninis piktybinis pleuritas [13]. Grannis Jr. FW, Lai L, Kim JY. Fluid complications. *Cancer*

Management: 14th edition 2011.

Nežiūrint to, net 50% visų pleuritų, kurie nustatomi onkologiniams ligoniams yra gėrybiniai.

Atliekant pleuros punktato citologinius tyrimus onkologinė patologija nustatoma 60% visų sergančiųjų piktybiniais pleuritais, likusiems reikalinga pleuros biopsija, kuri, net ir atliekant ją kompiuterinės tomografijos metu, padeda tiksliai nustatyti ligą tik 87% visų sergančiųjų, įprastinės Abrams metodika atliekamos adatinės pleuros biopsijos jautrumas tesiekia 47%.

Citologinių ascito tyrimų metu vėžinės lastelės randamos tik 40-60% visų onkologinės patologijos sukeltų ascitų atvejais. Kitų tyrimų rodikliai, būdingi maligniniam ascitui, tokie kaip aukštas ascito baltymų lygis, yra nustatomi ir 25% visų pacientų, sergančių chroninėmis kepenų ligomis. Kiti ascito parametrai, tokie kaip: ascito pH, karcinoembrioninis antigenas, laktatdehidrogenazės, laktato ir gliukozės koncentracija, nėra pakankamai patikimi atskiriant maligninį nuo gėrybinių ligų sukulto ascito [14]. Prieto M, Gomez-Lechon MJ, Hoyos M, Castell JV, Carrasco D, Berenguer J. Diagnosis of malignant ascites comparison of ascitic fibronectin, cholesterol, serum-ascites albumin difference. Dig Dis Sci 1988; 33 (7): 833-8.

Pacientų, kuriems kaupiasi navikinio proceso sukelti audinių skysčiai, gydymas iš esmės skiriasi nuo kitų susirgimų sąlygoto audinių skysčių kaupimosi atvejų. Todėl kliniciams labai svarbi maligninių pleurito bei ascito teisinga ir savalaikė diagnostika. Todėl nauji maligninio audinių skysčio diagnostikos metodai, įgalinantys tiksliau nustatyti audinių skysčio piktybiškumą, yra labai aktualūs.

Mes radome patentų skirtų ascito, pleuros bei perikardo ertmėse besikaupiančių skysčių tyrimams, bet šių tyrimų rezultatai ženkliai nepagerino diferencinės audinių skysčių, kurių kaupimąsį sukėlė onkologinė patologija diferencinės diagnostikos [53]. Godie O. Device for detecting pericardial effusion. Patent (No.: US 6,351,667 B1), 2002-02-26; 54]. Degen TW, Thommen DT, Johnson NL. Apparatus and methods for treating intracorporeal fluid accumulation. Patent (No.: US 2012/0209085 A1), 2012-08-16.

Visų šių patentų darbuose nepanaudotas fotodinaminės diagnostikos metodas.

Mes radome patentų, skirtų fotodinaminės diagnostikos plėtotei, bet jų metu

fotodinaminė diagnostika atliekama gyvame žmoguje [51]. Bloznelytė-Plėšnienė L, Mordas A, Liutkevičiūtė-Navickienė J, Čepulis V, Valuckas KP, Ostapenko V, Rutkovskienė L, Venius J. Intraarterinė fotodinaminė diagnostika. Patentas (Nr. LT 5823 B), 2012-04-25; [52]. Irion KM, Hahn R. Use of 5-aminolevulinic acid or a derivate thereof for photodynamic diagnosis and/or photodynamic therapy. Patent US 6,860,879 B2, 2005-03-01; o mes savo fotodinaminės diagnostikos tyrimus atliekame su iš žmogaus pašalintu ascitu, kuriame plaukioja pavienės vėžinės ląstelės. Be to šie patentai skirti solidinių navikų diagnostikai, o mūsų patentas skirtas onkologinės ir neonkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių diferencinei diagnostikai.

Mes taip pat radome daugybę straipsnių skirtų įvairių fotosensibilizatorių taikymui skirtingos morfologinės formos ir įvairių lokalizacijų navikų gydyme ir diagnostikoje. Vieni pirmųjų eksperimentų, skirtų fotosensibilizatorių galimybių piktybinių navikų gydyme ir diagnostikoje tyrimams buvo atlikti su ascitiniais eksperimentinių gyvuliukų navikais, tokiais, kaip Ericho ascitas [15]. Musajo L, Visentini P, Bacchinetti F, Razzi MA. Photoinactivation of Ehrlich ascites tumor cells in vitro obtained with skin-photosensitizing furocoumarins. *Experientia* 1967; 23 (5): 335-6., tačiau nei šis straipsnis, nei kuris nors kitas iš mums prieinamų, nėra skirtas nei audinių skysčio piktybiškumui nustatyti, nei diferencinei diagnostikai: išsiaiškinant ar audinių skysčio kaupimąsi sąlygojo onkologinė liga, ar gėrybinė patologija. [16]. Sibani SA, McCarron PA, Woolfson AD, Donnelly RF. Photosensitiser delivery for photodynamic therapy. Part 2: systemic carrier platforms. *Expert Opin Drug Deliv* 2008; 5 (11): 1241-54. [17]. El-Far M, Elshal M, Bondock S, Refaat M. Preclinical biochemical studies using a novel 5-aminolevulinic acid ester derivative with superior properties for photodynamic therapy of tumors. *Int J Med Medic Sci* 2009; 1 (7): 278-87. [18]. Smolka J, Mateasik A, Cunderlikova B, Sanislo L, Mlkvy P. In vivo fluorescence diagnostics and photodynamic therapy of gastrointestinal superficial polyps with aminolevulinic acid. A clinical and spectroscopic study. *Neoplasma* 2006; 53 (5): 418-23. [19]. Borisova E, Vladimirov B, Avramov L. 5-ALA/PpIX fluorescence detection of esophageal and stomach neoplasia – effects of autofluorescence background from normal and inflammatory areas. *Proc SPIE* 2008; 7027: 70271A-1-9. [20]. Stummer W, Stocker S, Wagner S, Stepp H, Fritsch C, Goetz C, et al. Intraoperative detection of malignant gliomas by 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence. *Neurosurgery* 1998; 42 (3): 518-526. [21]. Rydell R, Eker C,

Andersson-Engels S, Krogdahl A, Wahlberg P, Svanberg K. Fluorescence investigations to classify malignant laryngeal lesions in vivo. *Head Neck* 2008; 30: 419-26. [22]. Chatterton K, Ray E, O'Brien TS. Fluorescence diagnosis of bladder cancer. *Br J Nurs* 2006; 15: 595-7. [23]. Pham W. Detection and treatment of diseases using light. *IFMBE Proc* 2010; 27: 19-22. [24]. Scott MA, Hopper C, Sahota A, Springett R, McIlroy BW, Bown SG, et al. Fluorescence photodiagnostics and photobleaching studies of cancer lesions using ratio imaging and spectroscopic techniques. *Lasers Med Sci* 2000; 15: 63-72. [25]. Andersson-Engels S, Klinteberg C, Svanberg K, Svanberg S. In vivo fluorescence imaging for tissue diagnostics. *Phys Med Biol* 1997; 42: 815-24. [26]. Wang I, Clemente LP, Pratas RMG, Cardoso E, Clemente MP, Montan S, et al. Fluorescence diagnostics and kinetic studies in the head and neck region utilizing low-dose δ -aminolevulinic acid sensitization. *Cancer Lett* 1999; 135: 11-9. [27]. Ackroyd R, Kelty C, Brown N, Reed M. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem Photobiol* 2001; 74 (5): 656-69. [28]. Burger M, Zaak D, Stief CG, Filbeck T, Wieland WF, Roessler W, et al. Photodynamic diagnostics and noninvasive bladder cancer: is it cost-effective in long-term application? A Germany-based cost analysis. *Eur Urol* 2007; 52: 142-7. [29]. Hillemanns P, Reiff J, Stepp H, Soergel P. Lymph node metastasis detection of ovarian cancer by porphyrin fluorescence photodetection: case report. *Lasers Med Sci* 2007; 22: 131-5. [30]. Bloznelytė-Plėšnienė L, Rutkovskienė L. Photodynamic therapy of malignant and benign tumours in Lithuania. *Acta medica Lituanica* 2007; 14 (3): 193-200. [31]. Liutkevičiute-Navickiene J, Mordas A, Rutkovskiene L, Bloznelyte-Plesniene L. Skin and mucosal fluorescence diagnosis with different light sources. *Eur J Dermatol* 2009; 19 (2): 135-40. [32]. Rigual NR, Thankappan K, Cooper M, Sullivan MA, Dougherty T, Popat SR, et al. Photodynamic therapy for head and neck dysplasia and cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2009; 135 (8): 784-8. [33]. Schweitzer VG, Somers ML. Photofrin-mediated photodynamic therapy for treatment of early stage (Tis-T2N0N0)SqCCa of oral cavity and oropharynx. *Lasers Surg Med* 2010; 42: 1-8. [34]. Canavesi C, Fournier F, Cassarly WJ, Foster TH, Rolland JP. Illumination devices for photodynamic therapy of the oral cavity. *Biomed Opt Express* 2010; 1 (5): 1480-90. [35]. Karakullukcu B, Oudenaarde K, Copper MP, Klop WMC, Veen R, Wildeman M, et al. Photodynamic therapy of early stage oral cavity and oropharynx neoplasms: an outcome analysis of 170 patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2011; 268: 281-8. [36]. Meissner O, Ostermeier

M, Hoheisel M, inventors. Combined OCT catheter device and method for combined optical coherence tomography (OCT) diagnosis and photodynamic therapy (PDT). United States patent US 20090240154. 2009 Sep 24. [37]. Zenk W, Dietel W, Schleier P, Gunzel S. [Visualizing carcinomas of the mouth cavity by stimulating synthesis of fluorescent protoporphyrin IX]. *Mund Kiefer Gesichtschir* 1999; 3 (4): 205-9. [38]. Lane PM, Gilhuly T, Whitehead P, Zeng H, et al. Simple device for the direct visualization of oral-cavity tissue fluorescence. *J Biomed Opt* 2006; 11: 024006 1-7. [39]. Toursounidis T, Upile Ch, Betz S, Shah P, et al. Fluorescence spectroscopy in the detection of oral dysplasia. *Head Neck Oncol* 2009; 1 (Suppl 1): P3. [40]. Heintzelman DL, Utzinger U, Fuchs H, et al. Optimal excitation wavelengths for in vivo detection of oral neoplasia using fluorescence spectroscopy. *Photochem Photobiol* 2000; 72 (1): 103-13. [41]. Smith PW. Fluorescence emission-based detection and diagnosis of malignancy. *J Cellul Biochem Suppl* 2002; 39: 54-9. [42]. Pathak N, Davis L, Hsiang YN, et al. Detection of squamous neoplasia by fluorescence imaging comparing porfimer sodium fluorescence to tissue autofluorescence in the hamster cheek-pouch model. *Am J Surg* 1995; 170: 423-6. [43]. Westra WH, Sidransky D. Fluorescence visualization in oral neoplasia: shedding light on an old problem. *Clin Cancer Res* 2006; 12 (22): 6594-7. [44]. Friesen SA, Hjortland GO, Madsen SJ, Hirschberg H, Engebraten O, Nesland JM, Peng Q. 5-aminolevulinic acid-based photodynamic detection and therapy of brain tumors. *Int J Oncol* 2002; 21: 577-82. [45]. Tope WD, Ross EV, Kollias N, Martin A, et al. Protoporphyrin IX fluorescence induced in basal cell carcinoma by oral delta-aminolevulinic acid. *Photochem Photobiol* 1998; 67: 249-55. [46]. Johansson J, Berg R, Svanberg K, Svanberg S. Laser-induced fluorescence studies of normal and malignant tumour tissue of rat following intravenous injection of delta-amino levulinic acid. *Lasers Surg Med* 1997; 20: 272-9. [47]. Rick K, Sroka R, Stepp H, Kriegmair M, et al. Pharmacokinetics of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX in skin and blood. *J Photochem Photobiol B* 1997; 40: 313-9. [48]. Leunig A, Rick K, Stepp H, Gutmann R, et al. Fluorescence imaging and spectroscopy of 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX for the detection of neoplastic lesions in the oral cavity. *Am J Surg* 1996; 172: 674-7. [49]. Campbell DL, Gudgin-Dickson EF, Forkert PG, et al. Detection of early stages of carcinogenesis in adenomas of murine lung by 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence. *Photochem Photobiol* 1996; 64: 676-82. [50]. Gronlund-Pakkanen S, Makinen K, Talja M, Kuusisto A,

Alhava E. The importance of fluorescence distribution and kinetics of ALA-induced PpIX in the bladder in photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B* 1997; 438: 269-73.

Išradimo esmė:

Mes siūlome palyginus paprastą, neinvazinį onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių diagnostikos metodą – fotodinaminę maligninių audinių skysčių diagnostiką.

Jos metu pacientui, kuriam kaupiasi audinių skysčiai, sistemiškai įvedamas fotosensibilizatorius (hematoporfirino darinys ar kitas sensibilizatorius) ar fotosensibilizatoriaus pirmtakas, toks kaip aminolevulininė rūgštis (ALA).

Praėjus laikui, per kurį fotosensibilizatorius selektyviai susikaupia navikiniame audinyje, audinių skystis punktuojamas. Punkcijos metu gautas audinių skystis apšviečiamas violetine neintensyvia 400-405 nm šviesa. Jeigu audinių skysčių kaupimasis sąlygojo onkologinę patologiją, tai šiame skystyje bus pavienių plaukiojančių navikinių ląstelių. Esant audinių skystyje net nedideliu kiekiui piktybinio audinio ląstelių, stebėsime audinių skysčio ryškų avietinį švytėjimą. Kitos kilmės audinių skysčiai, apšvietus juos 400-405 nm bangos ilgio šviesa, avietiskai nešvyti. Mūsų duomenimis šio tyrimo jautrumas 96% ir specifiškumas 100 %. Tyrimas jautrus ir tais atvejais, kai citologinių tyrimų metu navikinės ląstelės nerandamos. Tyrimui užtenka vieno lašo audinių skysčio. Išradimas paremtas gana selektyviu fotosensibilizatorių kaupimusi visuose piktybiniuose audiniuose bei visose piktybinių navikų ląstelėse [23]. Pham W. Detection and treatment of diseases using light. *IFMBE Proc* 2010; 27: 19-22. [30]. Bloznelytė-Plėšnienė L, Rutkovskienė L. Photodynamic therapy of malignant and benign tumours in Lithuania. *Acta medica Lituanica* 2007; 14 (3): 193-200. [31]. Liutkevičiute-Navickiene J, Mordas A, Rutkovskiene L, Bloznelyte-Plesniene L. Skin and mucosal fluorescence diagnosis with different light sources. *Eur J Dermatol* 2009; 19 (2): 135-40. [41]. Smith PW. Fluorescence emission-based detection and diagnosis of malignancy. *J Cellul Biochem Suppl* 2002; 39: 54-9. [44]. Friesen SA, Hjortland GO, Madsen SJ, Hirschberg H, Engebraten O, Nesland JM, Peng Q. 5-aminolevulinic acid-based photodynamic detection and therapy of brain tumors. *Int J Oncol* 2002; 21: 577-82.

[46]. Johansson J, Berg R, Svanberg K, Svanberg S. Laser-induced fluorescence studies of normal and malignant tumour tissue of rat following intravenous injection of delta-amino levulinic acid. *Lasers Surg Med* 1997; 20: 272-9. Piktybinių navikų sąlygoto audinių skysčio sankaupose esančios pavienės plaukiojančios navikinės ląstelės, prieš atskildamos nuo navikinių židinių irgi būna sukaupę fotosensibilizatorių. Todėl pacientui, sergančiam onkologine liga, kuri sukelia audinių skysčio kaupimąsi, įvedus fotosensibilizatorių ar jo pirmtaką sistemiškai: suleidus į veną ar arteriją, ar sugirdžius (gali būti ir kiti sisteminio įvedimo būdai), po tam tikro laiko, kuris priklauso nuo sensibilizatoriaus sudėties, įvedimo būdo bei dozės, sensibilizatorius gana selektyviai susikaups navikinėse ląstelėse. Fotosensibilizatorius selektyviai kaupsis ir tose navikinėse ląstelėse, kurios patenka į audinių skysčius. Apšvietus navikines ląsteles, sukaupusias pakankamą sensibilizatoriaus kiekį, fotosensibilizuotų navikų diagnostikoje naudojama tinkama fotosensibilizatorių sužadinančia šviesa stebėsime būdingą švytėjimą. Porfirininių fotosensibilizatorių atveju naudosime 400-405 nm bangos ilgio šviesą. Galimas ir didesnis aktyvinančios šviesos diapazonas - nuo 380 nm iki 410 nm. Jį pasirenkant būtina atsižvelgti į naudojamą sensibilizatorių. Porfirininius fotosensibilizatorius sukaupę piktybinių navikų audiniai, apšvietus juos 400-405 nm šviesa, skleidžia intensyvią, plika akimi matomą avietinės spalvos švytėjimą, kurį galima nufotografuoti. Spektrofotometro pagalba galima įvertinti švytėjimo intensyvumą, atlikti spektroskopinę jo analizę. Audinių skystyje esančios piktybinių navikų ląstelės, apšvietus jas 400-405 nm šviesa, skleidžia intensyvią, plika akimi matomą avietinės spalvos švytėjimą. Todėl praėjus tinkamam laikui po sisteminio sensibilizatoriaus įvedimo: praėjus 24 val. po intraveninio hematoporfirino darinių: fotofrino (2 mg/kg), fotohemo (2,5 mg/kg), fotosano (2 mg/kg), įvedimo ar praėjus 4-8 val. po peroralinio ALA darinių įvedimo (10-25 mg/kg), nupunktavus piktybinių navikų sukeltą audinių skysčio (tiek pleurito, tiek ascito, tiek kt.) patalpinus jį šviesai pralaidžiame inde – tai gali būti švirkštas, mėgintuvėlis ar maišelis, skirtas audinių skysčiui surinkti ir, apšvietus šį išpuntuotą skystį 400-405 nm šviesa, stebėsime avietinį švytėjimą. Jei audinių skysčio kaupimasis bus sukeltas gėrybinės patologijos, jame nebus navikinių ląstelių ir šis audinių skystis nešvytės net ir tada, kai turės kraujo priemaišų (hemoraginis ascitas ar pleuritas). Tyrimui užtenka vieno lašo audinių skysčio.

Trumpas paveikslų aprašymas

Aprašant išradimą, pateikiamos nuorodos į šiuos paveikslus:

Pav. 1: jame vaizduojamas pleuros skystis surinkimo maišelyje. Pleuros skystis sąlygotas plaučių plokščialąstelinio vėžio.

Pav. 2: jame vaizduojamas naudojamas šviesos diodas.

Pav. 3: jame vaizduojamas apšviestas violetine šviesa pataloginis pleuros skystis surinkimo maišelyje. Pleuros skystis sąlygotas plaučių plokščialąstelinio vėžio. Stebimas avietinis švytėjimas.

Pav. 4: jame vaizduojamas ascitas skysčio surinkimo maišelyje. Ascitą sukėlė išplitęs storžarnės vėžys.

Pav. 5: jame vaizduojamas ascitas apšviestas violetine šviesa skysčio surinkimo maišelyje. Ascitą sukėlė išplitęs storžarnės vėžys. Stebimas avietinis švytėjimas.

Pav. 6: jame vaizduojamas ascito punktatas (vidurinis mėgintuvėlis – 2 ml mėgintuvėlyje apšviestas violetine šviesa, stebimas avietinis švytėjimas). Ascito priežastis storžarnės liaukinis vėžys. Šoniniai mėgintuvėliai – tai gerybinės patologijos sąlygoti audinių skysčiai. Švytėjimo nestebime.

Pav. 7: jame vaizduojami apšviesti violetine šviesa gerybiniai patologijos sąlygoti audinių skysčiai. Švytėjimo nestebime.

Detalus išradimo aprašymas:

Medžiagos ir metodikos

Mūsų siūlomam fotodinaminės diagnostikos metodui tinka įvairūs fotosensibilizatoriai. Mes savo darbe naudojome šiuos:

1. Fotofrinas (Photofrin®75, Axcan Pharma SAS, Prancūzija. Tai yra hematoporfirino darinys, Fotofrinas išleidžiamas steriliai stikliniuose buteliukuose po 75 mg tamsiai raudonų rusvų miltelių pavidale.

2. Fotohemas (Photogemum, 0,2 g (OOO Fotogem, Maskva, Rusija), analogas.

3. Aminolevulininės rūgšties (ALA) dariniai: mes naudojome 5-aminolevulinic acid (5-ALA); (Medac Research; Theaterstrasse 6, D-22880 Wedel, Germany), išleidžiamą sterilių baltų miltelių pavidale.

Fluorescencijos sužadinimui naudota 405 +/- 5 nm bangos ilgio šviesa. Fluorescencija stebėta plika akimi, bei Fluorescencijos spektras registruojamas šviesolaidiniu spektrometru QE65000 (Ocean Optics).

Ligoniams, kuriems kaupiasi audinių skysčiai: pvz.: ascitas ar skystis pleuros ertmėje, dažnai atliekamos audinių skysčio punkcijos, tiek diagnostiniu tikslu, siekiant nustatyti ligą, sukėlusią audinių skysčio kaupimąsi pleuros ar pilvaplovės ertmėse, tiek gydymo tikslu, siekiant palengvinti paciento būklę ištraukiant iš ertmės patologinį turinį. Atliekant audinių skysčio punkciją, kūno ertmės siena praduriama švirkštu su specialia adata ar troakaru.

Šiems ligoniams kartais atliekamas ir audinių skysčių drenavimas.

Tipinė pleuros ertmės aspiracine punkcija

Indikacijos: pleuros ertmėje esančio skysčio sudėties (eksudato ar transudato) nustatymas; jo citologiniai, biocheminiai, bakteriologiniai ir kt. tyrimai atliekami diferencinės diagnostikos tikslais.

Atlikimo metodika. Punkcija atliekama VI-VII tarpšonkauliniame tarpe, vidurinės ar užpakalinės pažastinės linijos projekcijoje, pagal viršutinį apatinio šonkaulio kraštą. Procedūros metu oda nuvaloma antiseptikais, krūtinės sienos minkštieji audiniai gausiai, kad pakaktų, jeigu reikės ir pleuros ertmės drenažui, infiltruojami vietinio anestetiko tirpalu. Naudojama vienkartinė sistema, sujungta su punkcine adata ir švirkštu panaudojant trišakį. Prisieninė pleura praduriama prie pat viršutinio šonkaulio krašto. Skystis ar oras traukiamas lėtai, kad krūtinės ląstos organai spėtų adaptuotis prie mažėjančio spaudimo. Nereikia stengtis vienos procedūros metu iš pleuros ertmės ištraukti viso skysčio, nes tai padidina komplikacijų pavojų. Rekomenduojama per kartą evakuoti ne daugiau kaip 1 l skysčio.

Esant indikacijoms atliekamas ir pleuros ertmės drenavimas.

Atlikimo metodikos:

1. Naudojant troakarą: oda nuvaloma antiseptiku, pasirinkta vieta infiltruojama vietiniu anestetiku, per odą/poodį persiuvama U formos siūlė, jos viduryje įpjauama 1-1,5 cm pjūvis, krūtinės siena praduriama troakaru, ištraukiamas štiletas. Į pleuros ertmę įkišamas drenas, ištraukiamas troakaro vamzdis, drenas ligatūromis pritvirtinamas prie odos/poodžio. Kitas dreno galas būna sujungtas su surenkamuoju indu.

2. Be troakaro: oda nuvaloma antiseptiku, pasirinkta vieta infiltruojama vietiniu anestetiku, pasirinktoje vietoje įpjauamas 3-4 cm ilgio pjūvelis, neaštriu instrumentu praskiriami raumenys, prisienine pleura atsargiai praduriama, įkišamas drenas, pritvirtinamas prie odos. Kitas dreno galas būna sujungtas su surenkamuoju indu.

Tipinė pilvaplovės ertmės ascito punkcija (paracentezė)**Indikacijos:**

1. Esant neaiškios kilmės ascitui diagnozės nustatymas.
2. Galimo peritonito įvertinimas.
3. Siekiant palengvinti pilvo skausmus esant įtemptam ascitui.
4. Siekiant palengvinti kvėpavimą esant dėl ascito pakeltai diafragmai. Norint įvertinti kraujavimą po bukos pilvo traumos.
5. Norint įvertinti kraujavimą po bukos pilvo traumos.
6. Peritoninė dializė.

Ligonio paruošimas procedūrai: Pacientas privalo nusišlapinti. Kateterizacija Folio kateteriu nerekomenduojama, nors kartais būtina. Nustatoma paracentezės vieta: randamas tiesusis pilvo raumuo. Geriausia vieta punkcijai – 2-3 cm į šoną nuo *m. rectus abdominis* krašto, žemutiniuose pilvo kvadrantuose. Alternatyvi punkcijos vieta: *Linea alba*, 3-4 cm žemiau bambos.

Renkantis punkcijos vietą vengti: 1. Tiesiųjų pilvo raumenų (padidėjusi kraujavimo iš epigastriumo kraujagyslių rizika). 2. Chirginių randų (padidėjusi žarnų

perforacijos rizika, kuri gali kilti dėl žarnų sąaugų su pilvo siena). 3. Uždegiminių odos plotų (padidėjusi infekcijos rizika).

Atlikimo metodika: Punkcijos plotas nuvalomas antiseptiku, uždedama paklodė. Punkcijos vieta anestetizuojama 1% arba 2% lidokaino tirpalu. Vertikaliai pilvo sienai įvedama punkcinė adata. Pradūrus raumenų fascijas jaučiamas nedidelis pokštelėjimas, adatai patekus į pilvo ertmę jaučiamas staigus traukimas (būtina vengti staigių adatos judesių į priekį). Skysčio sunkimosi profilaktikai galima naudoti Z punkcijos techniką – adata praduria odą, po to patraukiama į šoną, kad būtų išvengta tiesioginio dūrio į pilvo ertmę. Ištraukiamas būtinas skysčio kiekis (įprastai ne daugiau kaip 1 litras). Jeigu punkcija yra diagnostinė, galima naudoti angiokateterį, kuris uždengia adatą procedūros metu. Tokį kateterį galima šiek tiek pajudinti, kai nutrūksta skysčio tekėjimas. Norint išvengti baltymų netekimo, nutraukus >4-5 l skysčio būtina atlikti transfuziją albuminais. Jeigu paracentezė yra diagnostinio pobūdžio, iš išpunktuoto ascito paimama medžiaga tyrimams: 1. LDH, gliukozės, albuminų kiekio nustatymui. 2. Baltymų bei specifinio ascito tankio nustatymui. Citologiniams, bakteriologiniams, karcinoembrioninių antikūnių nustatymo bei kitiems tyrimams.

Tiek audinių skysčio punkcijas, tiek audinių skysčio drenavimą patogiu atlikti ultragarso kontrolėje.

Taikant onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių fotodinaminę diagnostiką pacientui, prieš atliekant audinių skysčio punkciją, įvedamas fotosensibilizatorius ar jo pirmtakas. Laikas nuo sensibilizatoriaus įvedimo iki punkcijos ar drenavimo priklauso nuo paties sensibilizatoriaus savybių, jo įvedimo būdų: intraveninio, peroralinio ar kt. bei nuo sensibilizatoriaus dozės.

Fotodinaminei diagnostikai naudojant hematoporfirino darinius ir sulašinant juos į veną optimali vaisto dozė yra: fotofrinui - 2 mg/kg svorio, fotosanui - 2 mg/kg, fotohemui - 2,5 mg /kg svorio. Audinių skysčio punktato tyrimai informatyvūs, praėjus 24 val po intraveninio preparato suleidimo, ir išlieka informatyvūs 6 paras. Vėliau, priklausomai nuo individualių paciento savybių, fotodinaminės diagnostikos informatyvumas mažėja.

Fotodinaminei diagnostikai naudojant fotosensibilizatoriaus pirmtakus, tokius, kaip 5-aminolevulininės rūgšties darinius, iš kurių naviko ląstelėse pasigamina

protoporfirinas IX (PpIX). Vaistas 10-25 mg/kg svorio paprastai ištirpinamas stiklinėje apelsinų sulčių ir sugirdomas 3-5 val. prieš punkciją.

Audinių skysčių punktatas patalpinamas mėgintuvėlyje ar kitoje šviesai pralaidžioje talpoje (gali būti ir švirkštas, kuriuo punktuojama) ir apšviečiamas violetine 405 nm šviesa (galimas aktyvinančios šviesos diapazonas nuo 380 nm iki 410 nm. Jį pasirenkant būtina atsižvelgti į naudojamą sensibilizatorių. Tyrimui užtenka vieno lašo audinių skysčio, kuris užlašinamas ant objektinio stikliuko ir apšviečiamas violetine šviesa.

Mes apšvietimui naudojome violetinę šviesą skleidžiančius šviesos diodus.

Jeigu audinių skystyje yra piktybinių navikų ląstelės, tai apšvietus jas 400-405 nm šviesa, jos skleidžia intensyvų, plika akimi matomą avietinės spalvos švytėjimą, kurio intensyvumas koreliuoja su HpD doze ir audinių histologine sandara bei ląstelių struktūra.

Nuo 1989 m. taikydami sisteminę sensibilizuotų navikų terapiją daugiau nei 1500 onkologinių ligonių, į veną jiems leisdavome hematoporfirino darinius arba duodavome išgerti (6 ligoniams) ALA darinių tirpalo. Tarp šių ligonių buvo 32, kuriems punktavome audinių skysčius iš įvairių ertmių ir tyrėme juos, taikydami fotodinaminę diagnostiką:

pleuros punkcijos ir drenažas atliktas 12 ligonių, ascito punkcijos ir drenažas atliktas 12 ligonių, perikardas punktuotas 1 ligoniui, gėrybinės kaklo cistos punktuotos 2 ligoniams, dėl griūvančių galvos ir kaklo navikų metastazių susikaupęs audinių skystis kaklo zonoje punktuotas 5 ligoniams (žr. lentelę):

Ligonis		Naviko histologija	Punktatas		FD diagnostika, švytėjo: taip/ne
Nr.	Diagnozė		Lokalizacija	Kilmė (onkopatologija, taip, ne)	
1.	Plaučių vėžys	Plokščialąstelinė ca	pleura	onkopatologija	Švytėjo
2.	Plaučių vėžys	Plokščialąstelinė ca	pleura	onkopatologija	Švytėjo

		linė ca			
3.	Plaučių vėžys	Plokščialąste- linė ca	pleura	onkopatologija	Švytėjo
3.	Plaučių vėžys	Plokščialąste- linė ca	Kaklo cista	ne	Nešvytėjo
4.	Plaučių vėžys	Liaukinis vėžys	pleura	onkopatologija	Švytėjo
5.	Plaučių vėžys	Liaukinis vėžys	pleura	onkopatologija	Švytėjo
6.	Plaučių vėžys	Smulkialąste- linė ca	pleura	onkopatologija	Švytėjo
7.	Plaučių vėžys	Smulkialąsteli nė ca	Pleura	onkopatologija	Švytėjo
7.	Plaučių vėžys	Smulkialąsteli nė ca	Perikardas	onkopatologija	Švytėjo
8.	Krūties vėžys	Liaukinis vėžys	Pleura	onkopatologija	Švytėjo
8.	Krūties vėžys	Liaukinis vėžys	Seroma pažasty	ne	Nešvytėjo
9.	Krūties vėžys	Liaukinis vėžys	Pleura	onkopatologija	Švytėjo
10.	Kepenų Cholangio- karcinoma	Cholangio- karcinoma	Pleura	onkopatologija	Švytėjo
10.	Kepenų Cholangio- karcinoma	Cholangio- karcinoma	Pilvaplėvės ertmė	onkopatologija	Švytėjo

11.	Skrandžio vėžys	Liaukinis vėžys	Pleura	onkopatologija	Švytėjo
12.	Storžarnės vėžys	Liaukinis vėžys	Pleura	onkopatologija	Švytėjo
12.	Storžarnės vėžys	Liaukinis vėžys	Pilvaplėvės ertmė	onkopatologija	Švytėjo
13.	Žarnyno vėžys	Liaukinis vėžys	Pilvaplėvės ertmė	onkopatologija	Švytėjo
14.	Skydliaukės vėžys	Liaukinis vėžys	Skydliaukės cista	ne	Nešvytėjo
15.	Skrandžio vėžys	Liaukinis vėžys	Pilvaplėvės ertmė	onkopatologija	Švytėjo
16.	Skrandžio vėžys	Liaukinis vėžys	Pilvaplėvės ertmė	onkopatologija	Švytėjo
17.	Žarnyno vėžys	Liaukinis vėžys	Pilvaplėvės ertmė	onkopatologija	Švytėjo
18.	Žarnyno vėžys	Liaukinis vėžys	Pilvaplėvės ertmė	onkopatologija	Švytėjo
19.	Žarnyno vėžys	Liaukinis vėžys	Pilvaplėvės ertmė	onkopatologija	Švytėjo
20.	Prostatos vėžys	Prostatos karcinoma	Pilvaplėvės ertmė	onkopatologija	Švytėjo
21.	Odos Melano- ma, mts kepenyse	melanoma	Pilvaplėvės ertmė	onkopatologija	Nešvytėjo
22.	Inkstų vėžys	Inkstų šviesialąsteli-	Pilvaplėvės ertmė	onkopatologija	Švytėjo

		nė karcinoma			
23.	Osteogeninė sarkoma	sarkoma	Alkūnės sąnarys	onkopatologija	Švytėjo
24.	Leomiosarkoma	sarkoma	Pilvaplėvės ertmė	onkopatologija	Švytėjo
25.	Gerklų vėžys	Plokščialąstelinė ca	Gigantinė griūvanti Mts kakle	onkopatologija	Švytėjo
26.	Burnaryklės vėžys	Plokščialąstelinė ca	Gigantinė griūvanti Mts kakle	onkopatologija	Švytėjo
27.	Burnaryklės vėžys	Plokščialąstelinė ca	Kaklo cista	ne	Nešvytėjo
28.	Juvingo sarkoma	Sarkoma	Kelio sąnarys	ne	Nešvytėjo
29.	Burnaryklės vėžys	Plokščialąstelinė ca	Pooperacinė Seroma	ne	Nešvytėjo
30.	Gimdos kaklelio vėžys	Plokščialąstelinė ca	Kirkšnio pooperacinė seroma	ne	Nešvytėjo
31.	Krūties vėžys	Liaukinis vėžys	Seroma pažasty	ne	Nešvytėjo
32.	Inkstų vėžys	Šviesialąstelinė karcinoma	Cista min-kštuosiuose audiniuose	ne	Nešvytėjo

Dėl sarkomos kelio sąnaryje susikaupęs skystis punktuotas 1 ligoniui, dėl sarkomos alkūnės sąnaryje susikaupęs skystis punktuotas 1 ligoniui. 7 ligoniams

punktuotas stazinis audinių skystis (4 iš pažasties), sąlygotas pooperacinių stazinių reiškinių. Iš 32 ligonių, kuriems punktavome audinių skysčius ir tyrėme juos, 7 punktuoti gėrybinės patologijos sąlygoti audinių skysčiai, 23 - onkologinės patologijos sąlygoti audinių skysčiai, o dviems ir gėrybinės ir onkopatologijos sąlygoti audinių skysčiai.

24 ligoniams onkopatologijos sąlygoti audinių skysčiai, taikant fotodinaminę diagnostiką (FDD) švytėjo. Vienam ligoniui melanomos sukeltas ascitas, taikant fotodinaminę diagnostiką nešvytėjo. (Taikydami fotodinaminę diagnostiką skirtingų morfologinių formų piktybiniams navikams nustatėme, kad melanomai fotodinaminė diagnostika neefektyvi [30]. Bloznelytė-Plėšnienė L, Rutkovskienė L. Photodynamic therapy of malignant and benign tumours in Lithuania. *Acta medica Lituanica* 2007; 14 (3): 193-200. [31]. Liutkevičiute-Navickiene J, Mordas A, Rutkovskiene L, Bloznelyte-Plesniene L. Skin and mucosal fluorescence diagnosis with different light sources. *Eur J Dermatol* 2009; 19 (2): 135-40.). Visų pacientų tirti visi gėrybinės patologijos sukelti audinių skysčiai, taikant fotodinaminę diagnostiką nešvytėjo. 2 pacientų gėrybinės patologijos sukelti audinių skysčiai, taikant FDD, nešvytėjo, o onkopatologijos sukelti audinių skysčiai švytėjo. Švytėjimui nustatyti užtekdavo 1 lašo audinių skysčio patalpinto ant objektinio stikliuko.

Apibendrinami mūsų duomenis matome, kad onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių fotodinaminės diagnostikos jautrumas 96%, o specifiškumas 100%. Kadangi nešvytėjo tik melanomos sąlygotas ascitas, tai taikant nemelanominės onkopatologijos sukeltų audinių skysčių FDD, jos tiek jautrumas, tiek specifiškumas būtų 100%. Didinant tiriamųjų apimtį šie duomenys gali kiek keistis.

Toliau pateikiami pavyzdžiai iliustruoja išradimą, neribodami jo apimties

Pavyzdys Nr. 1: Pacientui išplitusio plaučių plokščialąstelinio vėžio gydymui taikyta intraveninė fotodinaminė terapija naudojant hematoporfirino darinį fotohemo. Į veną suleista 2,5 mg/kg svorio fotohemo, atskiedus jį 100 ml fiziologinio NaCl tirpalu. Po paros dešiniajame bronche esantis navikas per endoskopą šviestas raudona lazerio šviesa. Šviesos bangos ilgis – 630 nm, galia 100 mW. Dėl pleuroje besikaupiančio skysčio 3 paros po fotohemo suleidimo buvo punktuota pleuros ertmė ir evakuota 1 litras skysčio (Pav. 1. pleuros skystis skysčio surinkimo maišelyje).

Skystis nusiųstas citologiniam tyrimui, kurio metu rasta vėžio ląstelių. Apšvietus skysčio surinkimo maišelį, pripildytą pleuros skysčiu violetine šviesa iš šviesos diodo (Pav. 2.) stebėtas avietinis švytėjimas (Pav. 3.). Apšvietus 10 ml šio skysčio, patalpinto mėgintuvėlyje, 405 nm 2 mW galios violetine šviesa, naudojant šviesos diodus, stebėtas intensyvus avietinis švytėjimas (Pav. 6. centrinis mėgintuvėlis).

Tam pačiam ligoniui diagnozuota ir kaklo cista. 3 paros po fotohemo suleidimo, išpunktavus iš jos 10 ml skysčio ir patalpinus mėgintuvėlyje, apšvietus šį skystį 405 nm 2 mW galios violetine šviesa, naudojant šviesos diodus, jokio švytėjimo nestebėta (Pav. 6. šoniniai mėgintuvėliai).

Pavyzdys Nr. 2: Pacientui išplitusio storžarnės liaukinio vėžio gydymui taikyta intraveninė sensibilizuotų navikų terapija naudojant hematoporfirino darinį fotohemą. Į veną suleista 2,5 mg/kg svorio fotohemo, atskiedus jį 100 ml fiziologinio NaCl tirpalu. Pacientui dėl pilvaplėvėje besikaupiančio ascito buvo įvestas drenas, prie kurio buvo pritvirtintas specialus maišelis - skysčio surinkėjas (Pav. 4. ascitas, susikaupęs skysčio surinkimo maišelyje). Praėjus parai nuo fotohemo suleidimo maišelis buvo apšviestas 405 nm violetine šviesa, naudojant šviesos diodus, stebėtas ascito ryškus avietinis švytėjimas (Pav. 5.). Pacientui 6 parų bėgyje besikaupiantis ascitas buvo pastoviai išpilamas, kaupėsi naujas ascitas, kuris visas 6 paras apšvietus jį 405 nm 2 mW galios violetine šviesa, naudojant šviesos diodus, intensyviai švytėjo, skleisdamas avietinę šviesą. Po 6 parų avietinio švytėjimo intensyvumas ėmė ženkliai mažėti. 6 parų laikotarpyje švytėjimui nustatyti užtekdamo 1 lašo audinių skysčio patalpinto ant objektinio stikliuko.

Išvados:

Šiuo metu esamų diagnostinių metodų galimybės, diagnozuojant onkologinės patologijos sukeltą audinių skysčio kaupimąsi, yra labai ribotos. Nors morfologinių tyrimų specifiškumas, tiriant onkologinių ligų sukeltus audinių skysčius, yra artimas 100%, tačiau šių tyrimų jautrumas menkas. Citologinio tyrimo jautrumas, nustatant onkologinės patologijos sukeltą ascitą, skirtingų autorių duomenimis siekia tik 40-60%. Citologinio tyrimo jautrumas, nustatant onkologinės patologijos sukeltą skysčių kaupimąsi pleuroje, siekia tik 60%. Pleuros biopsija padidina morfologinių tyrimų

jautrumą. Bet, net ir atliekant ją kompiuterinės tomografijos metu, ji padeda tiksliai nustatyti ligą tik 87% visų sergančiųjų, taigi padidina jautrumą iki 87%. Kitų tyrimų rodikliai, būdingi maligniniam ascitui, tokie kaip aukštas ascito baltymų lygis, yra nustatomi ir 25% visų pacientų, sergančių chroninėmis kepenų ligomis. Kiti parametrai, tokie kaip: ascito pH, karcinoembrioninis antigenas, laktatdehidrogenazės, laktato ir gliukozės koncentracija, nėra pakankamai patikimi atskiriant maligninį nuo gėrybinių ligų sukkelto ascito. Taigi šių tyrimų specifiškumas neviršija 75%. Analogiškai kitų pleuros skysčių tyrimų specifiškumas irgi neviršija 75%. Mūsų pasiūlyto diagnostinio metodo: onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių fotodinaminės diagnostikos jautrumas - 96%, o specifiškumas - 100%. Šis metodas mūsų duomenimis yra jautrus ir specifiškas, kai maligninį audinių skystį sukelia įvairių skirtingų morfologinių tipų piktybiniai navikai, išskyrus melanomą. Tyrimui užtenka vieno lašo audinių skysčio.

Literatūros sąrašas

1. Lombardi G, Zustovich F, Nicoletto MO, Donach M, Artioli G, Pastorelli D. Diagnosis and treatment of malignant pleural effusion: a systematic literature review and new approaches. *Am J Clin Oncol* 2010; 33 (4): 420-3.
2. Zablockis R, Nargėla R. Pleuros skysčio citologinio tyrimo diagnostinė reikšmė. *Medicina* 2002; 38 (12): 1171-8.
3. Marel M, Zrustova M, Stasny B, Light RW. The incidence of pleural effusion in a well-defined region: epidemiologic study in central Bohemia. *Chest* 1993; 104 (5): 1486-9.
4. Valdes L, Alvarez D, Valle JM, Pose A, San Jose E. The etiology of pleural effusions in an area with high incidence of tuberculosis. *Chest* 1996; 109 (1): 158-62.
5. Inan I, De Sousa S, Myers PO, Bouclier B, Dietrich PY, Hagen ME, Morel P. Management of malignant pleural effusion and ascites by a triple access multi perforated large diameter catheter port system. *World J Surg Oncol* 2008; 6: 85. doi: 10.1186/1477-7819-6-85
6. Johnston WW. The malignant pleural effusion. A review of cytopathological diagnoses of 584 specimens from 472 consecutive patients. *Cancer* 1985; 56 (4): 905-9.
7. Rodriguez-Panadero F, Romero-Romero B. Management of malignant pleural effusions. *Curr Opin Pulm Med* 2011; 17: 269-73.
8. Rodriguez-Panadero F, Borderas Naranjo F, Lopez-Mejias J. Pleural metastatic tumours and effusions. Frequency and pathogenic mechanisms in a post-mortem series. *Eur Respir J* 1989; 2 (4): 366-9.
9. Chernow B, Sahn SA. Carcinomatous involvement of the pleura: an analysis of 96 patients. *Am J Med* 1977; 63: 695-702.
10. Bille A, Borasio P, Gisabella M, Errico L, Gatherer R, Ardisson F. Suitable device for thoracoscopic talc poudrage in malignant pleural

- effusion. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 59 (7): 522-4.
11. Cheong JC, Choi WH, Kim DJ, Park JH, Cho SJ, Choi CS, Kim JS. Prognostic significance of computed tomography defined ascites in advanced gastric cancer. *J Korean Surg Soc* 2012; 82: 219-26.
 12. Eskander RN, Tewari KS. Emerging treatment options for management of malignant ascites in patients with ovarian cancer. *Int J Womens Health* 2012; 4: 395-404.
 13. Grannis Jr. FW, Lai L, Kim JY. Fluid complications. *Cancer Management: 14th edition* 2011.
 14. Prieto M, Gomez-Lechon MJ, Hoyos M, Castell JV, Carrasco D, Berenguer J. Diagnosis of malignant ascites comparison of ascitic fibronectin, cholesterol, serum-ascites albumin difference. *Dig Dis Sci* 1988; 33 (7): 833-8.
 15. Musajo L, Visentini P, Bacchinetti F, Razzi MA. Photoinactivation of Ehrlich ascites tumor cells in vitro obtained with skin-photosensitizing furocoumarins. *Experientia* 1967; 23 (5): 335-6.
 16. Sibani SA, McCarron PA, Woolfson AD, Donnelly RF. Photosensitizer delivery for photodynamic therapy. Part 2: systemic carrier platforms. *Expert Opin Drug Deliv* 2008; 5 (11): 1241-54.
 17. El-Far M, Elshal M, Bondock S, Refaat M. Preclinical biochemical studies using a novel 5-aminolevulinic acid ester derivative with superior properties for photodynamic therapy of tumors. *Int J Med Medic Sci* 2009; 1 (7): 278-87.
 18. Smolka J, Mateasik A, Cunderlikova B, Sanislo L, Mlkvy P. In vivo fluorescence diagnostics and photodynamic therapy of gastrointestinal superficial polyps with aminolevulinic acid. A clinical and spectroscopic study. *Neoplasma* 2006; 53 (5): 418-23.
 19. Borisova E, Vladimirov B, Avramov L. 5-ALA/PpIX fluorescence detection of esophageal and stomach neoplasia – effects of autofluorescence background from normal and inflammatory areas. *Proc SPIE* 2008; 7027: 70271A-1-9.

20. Stummer W, Stocker S, Wagner S, Stepp H, Fritsch C, Goetz C, et al. Intraoperative detection of malignant gliomas by 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence. *Neurosurgery* 1998; 42 (3): 518-526.
21. Rydell R, Eker C, Andersson-Engels S, Krogdahl A, Wahlberg P, Svanberg K. Fluorescence investigations to classify malignant laryngeal lesions in vivo. *Head Neck* 2008; 30: 419-26.
22. Chatterton K, Ray E, O'Brien TS. Fluorescence diagnosis of bladder cancer. *Br J Nurs* 2006; 15: 595-7.
23. Pham W. Detection and treatment of diseases using light. *IFMBE Proc* 2010; 27: 19-22.
24. Scott MA, Hopper C, Sahota A, Springett R, McIlroy BW, Bown SG, et al. Fluorescence photodiagnostics and photobleaching studies of cancer lesions using ratio imaging and spectroscopic techniques. *Lasers Med Sci* 2000; 15: 63-72.
25. Andersson-Engels S, Klinteberg C, Svanberg K, Svanberg S. In vivo fluorescence imaging for tissue diagnostics. *Phys Med Biol* 1997; 42: 815-24.
26. Wang I, Clemente LP, Pratas RMG, Cardoso E, Clemente MP, Montan S, et al. Fluorescence diagnostics and kinetic studies in the head and neck region utilizing low-dose δ -aminolevulinic acid sensitization. *Cancer Lett* 1999; 135: 11-9.
27. Ackroyd R, Kelty C, Brown N, Reed M. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem Photobiol* 2001; 74 (5): 656-69.
28. Burger M, Zaak D, Stief CG, Filbeck T, Wieland WF, Roessler W, et al. Photodynamic diagnostics and noninvasive bladder cancer: is it cost-effective in long-term application? A Germany-based cost analysis. *Eur Urol* 2007; 52: 142-7.
29. Hillemanns P, Reiff J, Stepp H, Soergel P. Lymph node metastasis detection of ovarian cancer by porphyrin fluorescence photodetection: case report. *Lasers Med Sci* 2007; 22: 131-5.

30. Bloznelytė-Plėšnienė L, Rutkovskienė L. Photodynamic therapy of malignant and benign tumours in Lithuania. *Acta medica Lituanica* 2007; 14 (3): 193-200.
31. Liutkevičiute-Navickiene J, Mordas A, Rutkovskiene L, Bloznelyte-Plesniene L. Skin and mucosal fluorescence diagnosis with different light sources. *Eur J Dermatol* 2009; 19 (2): 135-40.
32. Rigual NR, Thankappan K, Cooper M, Sullivan MA, Dougherty T, Popat SR, et al. Photodynamic therapy for head and neck dysplasia and cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2009; 135 (8): 784-8.
33. Schweitzer VG, Somers ML. Photofrin-mediated photodynamic therapy for treatment of early stage (Tis-T2N0N0) SqCCa of oral cavity and oropharynx. *Lasers Surg Med* 2010; 42: 1-8.
34. Canavesi C, Fournier F, Cassarly WJ, Foster TH, Rolland JP. Illumination devices for photodynamic therapy of the oral cavity. *Biomed Opt Express* 2010; 1 (5): 1480-90.
35. Karakullukcu B, Oudenaarde K, Copper MP, Klop WMC, Veen R, Wildeman M, et al. Photodynamic therapy of early stage oral cavity and oropharynx neoplasms: an outcome analysis of 170 patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2011; 268: 281-8.
36. Meissner O, Ostermeier M, Hoheisel M, inventors. Combined OCT catheter device and method for combined optical coherence tomography (OCT) diagnosis and photodynamic therapy (PDT). United States patent US 20090240154. 2009 Sep 24.
37. Zenk W, Dietel W, Schleier P, Gunzel S. [Visualizing carcinomas of the mouth cavity by stimulating synthesis of fluorescent protoporphyrin IX]. *Mund Kiefer Gesichtschir* 1999; 3 (4): 205-9.
38. Lane PM, Gilhuly T, Whitehead P, Zeng H, et al. Simple device for the direct visualization of oral-cavity tissue fluorescence. *J Biomed Opt* 2006; 11: 024006 1-7.
39. Toursounidis T, Upile Ch, Betz S, Shah P, et al. Fluorescence spectroscopy in the detection of oral dysplasia. *Head Neck Oncol*

2009; 1 (Suppl 1): P3.

40. Heintzelman DL, Utzinger U, Fuchs H, et al. Optimal excitation wavelengths for in vivo detection of oral neoplasia using fluorescence spectroscopy. *Photochem Photobiol* 2000; 72 (1): 103-13.
41. Smith PW. Fluorescence emission-based detection and diagnosis of malignancy. *J Cellul Biochem Suppl* 2002; 39: 54-9.
42. Pathak N, Davis L, Hsiang YN, et al. Detection of squamous neoplasia by fluorescence imaging comparing porfimer sodium fluorescence to tissue autofluorescence in the hamster cheek-pouch model. *Am J Surg* 1995; 170: 423-6.
43. Westra WH, Sidransky D. Fluorescence visualization in oral neoplasia: shedding light on an old problem. *Clin Cancer Res* 2006; 12 (22): 6594-7.
44. Friesen SA, Hjortland GO, Madsen SJ, Hirschberg H, Engebraten O, Nesland JM, Peng Q. 5-aminolevulinic acid-based photodynamic detection and therapy of brain tumors. *Int J Oncol* 2002; 21: 577-82.
45. Tope WD, Ross EV, Kollias N, Martin A, et al. Protoporphyrin IX fluorescence induced in basal cell carcinoma by oral delta-aminolevulinic acid. *Photochem Photobiol* 1998; 67: 249-55.
46. Johansson J, Berg R, Svanberg K, Svanberg S. Laser-induced fluorescence studies of normal and malignant tumour tissue of rat following intravenous injection of delta-amino levulinic acid. *Lasers Surg Med* 1997; 20: 272-9.
47. Rick K, Sroka R, Stepp H, Kriegmair M, et al. Pharmacokinetics of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX in skin and blood. *J Photochem Photobiol B* 1997; 40: 313-9.
48. Leunig A, Rick K, Stepp H, Gutmann R, et al. Fluorescence imaging and spectroscopy of 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX for the detection of neoplastic lesions in the oral cavity. *Am J Surg* 1996; 172: 674-7.
49. Campbell DL, Gudgin-Dickson EF, Forkert PG, et al. Detection of early

stages of carcinogenesis in adenomas of murine lung by 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence. Photochem Photobiol 1996; 64: 676-82.

50. Gronlund-Pakkanen S, Makinen K, Talja M, Kuusisto A, Alhava E. The importance of fluorescence distribution and kinetics of ALA-induced PpIX in the bladder in photodynamic therapy. J Photochem Photobiol B 1997; 438: 269-73.
51. Bloznelytė-Plėšnienė L, Mordas A, Liutkevičiūtė-Navickienė J, Čepulis V, Valuckas KP, Ostapenko V, Rutkovskienė L, Venius J. Intraarterinė fotodinaminė diagnostika. Patentas (Nr. LT 5823 B), 2012-04-25.
52. Irion KM, Hahn R. Use of 5-aminolevulinic acid or a derivate there of for photodynamic diagnosis and/or photodynamic therapy. Patent (No.: US 6,860,879 B2), 2005-03-01.
53. Godie O. Device for detecting pericardial effusion. Patent (No.: US 6,351,667 B1), 2002-02-26.
54. Degen TW, Thommen DT, Johnson NL. Apparatus and methods for treating intracorporeal fluid accumulation. Patent (No.: US 2012/0209085 A1), 2012-08-16.

Išradimo apibrėžtis

1. Onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių fotodinaminės diagnostikos sistema, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad apima minėtų organizmo skysčių atitinkamo tūrio punktavimą, kai tiriamam pacientui prieš minėtą audinių skysčio punktavimą gydymo ir (arba) diagnozės nustymo tikslu yra įvesta atitinkamo fotosensibilizatoriaus arba jo pirmtako, taip pat tuo, kad surinktas audinių skystis apšviečiamas tinkamo bangos ilgio šviesa, o tiriamo skysčio švytėjimo spalva ir intensyvumas vertinami vizualiai arba spektrofotometriniais metodais, ir pagal tai nustatomas onkologinės patologijos buvimas.

2. Onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių fotodinaminės diagnostikos sistema pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad fotosensibilizatorius arba jo pirmtakas pacientui įvedamas sistemškai: į veną, peroraliai, į arteriją arba kitu sisteminiu būdu.

3. Onkologinės patologijos fotodinaminės diagnostikos audinių skysčiuose sistema pagal 1 arba 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad fotosensibilizatorius yra hematoporfirino darinys, toks, kaip fotofrinas, fotohemas, fotosanas.

4. Onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių fotodinaminės diagnostikos sistema pagal 1-3 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad fotosensibilizatoriaus įvedama dozė pacientui yra 2-2,5 mg/kg kūno masės.

5. Onkologinės patologijos fotodinaminės diagnostikos audinių skysčiuose sistema pagal 1-4 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad fotosensibilizatoriaus pirmtakas yra aminolevulininės rūgšties darinys.

6. Onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių fotodinaminės diagnostikos sistema pagal 1-5 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad

fotosensibilizatoriaus pirmtako įvedama dozė pacientui peroraliai 10-25 mg /kg kūno masės doze.

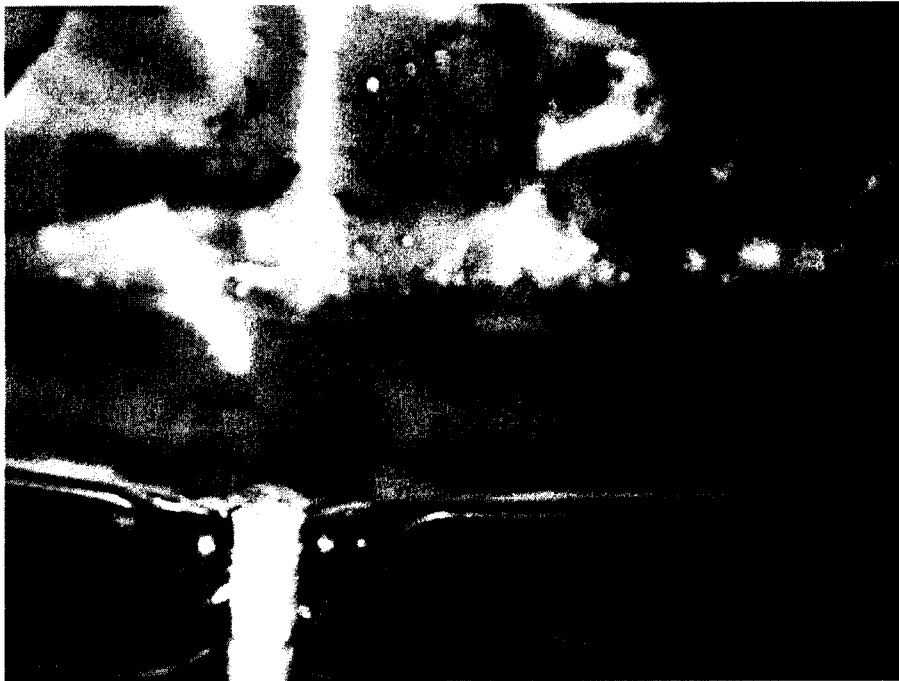
7. Onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių fotodinaminės diagnostikos sistema pagal 1-6 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad tyrimui užtenka vieno lašo audinių skysčio.

8. Onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių fotodinaminės diagnostikos sistema pagal bet kurį 1-7 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad yra skirta visiems organizmo audinių skysčiams, tokiems kaip besikaupiantiems pleuros ertmėje, perikardo ertmėje, ascitui, įvairių organų cistoms, skysčiui, kuris kaupiasi sąnarių ertmėse, tirti

9. Onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių fotodinaminės diagnostikos sistema pagal bet kurį 1-8 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad onkologinės patologijos sąlygotų audinių skysčių fotodinaminės diagnostikos jautrumas yra 96%, o specifiškumas 100%.

10. Fotodinaminės diagnostikos panaudojimas onkologinės patologijos nustatymui audinių skysčiuose.

LT 6038 B



Pav. 1.



Pav. 2.

LT 6038 B

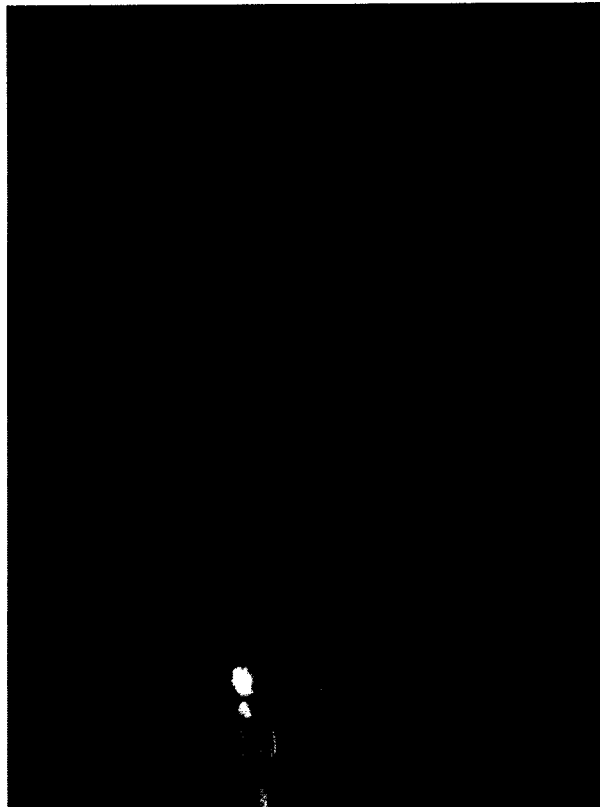


Pav. 3.



Pav. 4.

LT 6038 B



Pav. 5.



Pav. 6.

LT 6038 B



Pav. 7.