



JOANNA GUSTALIK-NOWICKA

**PRZYDATNOŚĆ DIAGNOSTYCZNA CZASÓW
RELAKSACJI METODĄ REZONANSU
MAGNETYCZNEGO ORAZ SKUTECZNOŚĆ
TERAPII FOTODYNAMICZNEJ W RAKU PIERSI**

**DIAGNOSTIC SUITABILITY
OF RELAXATION TIMES
BY MAGNETIC RESONANCE
AND THE EFFECTIVENESS
OF PHOTODYNAMIC THERAPY
IN BREAST CANCER**

PRACA DOKTORSKA

Promotor pracy:

dr hab. n. med. inż. Dorota Bartusik-Aebisher, Profesor UR

Promotor pomocniczy:

dr hab. n. med. Ewa Kaznowska, Profesor UR

Rzeszów, 2021

Składam serdeczne podziękowania

Pani Profesor UR, dr hab. n. med. inż. Dorocie Bartusik - Aebisher za poświęcony czas, cierpliwość, motywację, cenne rady i wskazówki, dzięki którym niniejsza praca mogła nabrać właściwego kształtu.

Pani Profesor UR, dr hab. n. med. Ewie Kaznowskiej za wsparcie i pomoc w trakcie prowadzonych badań klinicznych.

Spis treści

WYKAZ SKRÓTÓW	5
1. WSTĘP	7
2. APLIKACJA MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO W DIAGNOSTYCE RAKA PIERSI.....	10
2.1. Magnetyczny Rezonans Jądrowy w nowotworach złośliwych	11
3. TERAPIA FOTODYNAMICZNA W LECZENIU RAKA PIERSI.....	15
3.1. Zarys historyczny terapii fotodynamicznej	15
3.2. Zasada działania terapii fotodynamicznej	15
4. CEL PRACY	25
5. METODOLOGIA.....	27
5.1. Histopatologia tkanek zdrowych, chorych oraz po terapii fotodynamicznej	29
5.2. Pomiar Magnetycznym Rezonansem Jądrowym tkanek raka piersi przed i po leczeniu.....	31
5.3. Metoda Terapii Fotodynamicznej	33
6. WYNIKI	36
6.1. Histopatologia tkanek zdrowych i nowotworowych	37
6.2. Pomiar Magnetycznym Rezonansem Jądrowym tkanek zdrowych i nowotworowych	48
6.3. Aplikacja terapii fotodynamicznej na tkanki kontrolne i tkanki badawcze.....	74
6.4. Histopatologia tkanek po terapii fotodynamicznej	75
6.5. Pomiar Magnetycznym Rezonansem Jądrowym tkanek po terapii fotodynamicznej	80
7. DYSKUSJA	111
7.1. Histopatologia tkanek zdrowych, chorych oraz po terapii fotodynamicznej	111
7.2. Innowacyjne narzędzie informatyczne do diagnostyki i leczenia raka piersi analizujące dane Magnetycznego Rezonansu Jądrowego	111
7.3. Terapia fotodynamiczna w raku piersi	117

7.4. Magnetyczny Rezonans Jądrowy oraz Terapia Fotodynamiczna w raku piersi.....	120
8. WNIOSKI.....	124
9. BIBLIOGRAFIA	126
10. STRESZCZENIE.....	144
10.1. W języku polskim.....	144
10.2. W języku angielskim	145
11. SPIS TABEL I RYCIN.....	147
11.1. Spis tabel	147
11.2. Spis rycin.....	147
ZAŁĄCZNIKI.....	151

WYKAZ SKRÓTÓW

2D- grafika dwuwymiarowa;
3D- grafika trójwymiarowa;
ALA- kwas aminolewulinowy;
BCT- ang. *Breast Cancer Therapy*, Terapia raka piersi;
BRCA1- ludzki gen supresorowy;
BRCA2- ludzki gen supresorowy;
dPDT- Terapia fotodynamiczna w świetle dziennym;
EPI- ang. *Echo-planar Imaging*, obrazowanie echa planarnego;
FDA- ang. *Food and Drug Administration*, Agencja Żywności i Leków;
FSE- ang. *Fast Spin Echo*, sekwencja szybkiego echa spinowego;
GSH- ang. *glutathione*;
HA- kwas hialuronowy;
HpD- hematoporfiryna;
MR- Magnetyczny Rezonans Jądrowy;
NEX- ang. *Number of Excitation*, liczba powtórzeń pomiaru;
NIR- ang. *Near InfraRed*;
NMR- ang. *Nuclear Magnetic Resonance*, Magnetyczny Rezonans Jądrowy;
PACT- Chemioterapia fotoaktywowana;
PD- fotodetekcja;
PDD- diagnostyka fotodynamiczna;
PDT- ang. *Photodynamic therapy*, Terapia fotodynamiczna;
PET- Pozytonowa Tomografia Emisyjna;
PMP- Poli(4-metylo-2-pentyn);
PS- ang. *Photosensitizer*, fotouczulacz;
PTT-ang. *photothermal therapy*, terapia fototermiczna;
RF- ang. *Radiofrequency*, częstotliwość radiowa;
ROI- ang. *Region of Interest*, obszar zainteresowania;
ROS- ang. *Reactive Oxygen Species*, reaktywne formy tlenu;
SNR- ang. *Signal-to-Noise Ratio*, stosunek sygnału do szumu;
SPDT- Terapia sonofotodynamiczna;
T- Tesla;
 T_1 - relaksacja spin-sieć;

T_2 - relaksacja spin-spin;

TE- ang. *Echo Time*, czas echa;

TK- Tomografia Komputerowa;

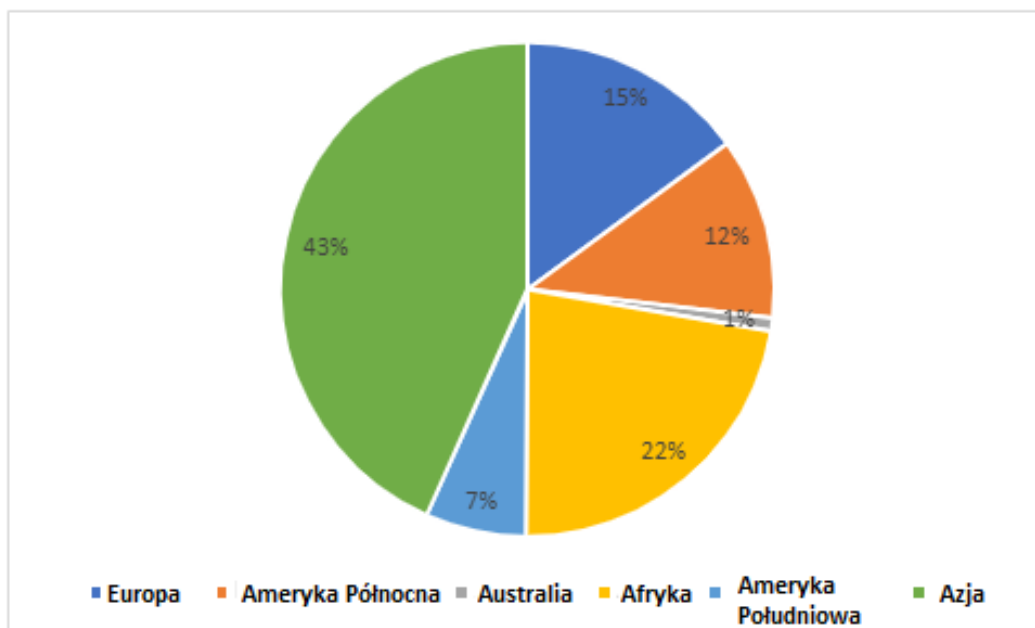
TR- ang. *Repetition Time*, czas repetycji;

USG- Ultrasonografia;

WHO- ang. *World Health Organization*, Światowa Organizacja Zdrowia.

1. WSTĘP

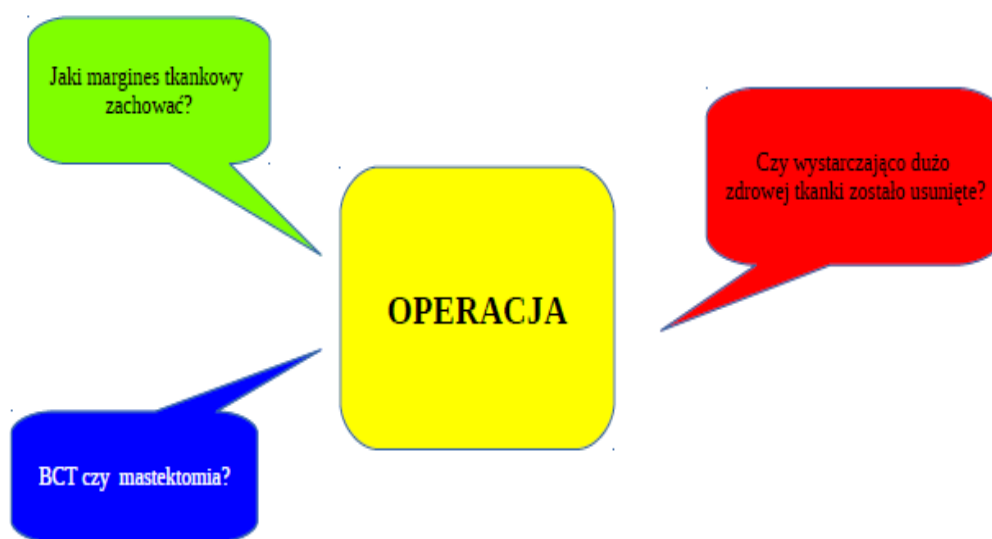
Rak piersi jest najczęstszym nowotworem występującym u kobiet. Dlatego na co dzień naukowcy i klinicyści na całym świecie starają się udoskonalać metody wczesnego wykrywania tego szczególnego nowotworu [1]. Według Krajowego Rejestru Nowotworów rak piersi jest również drugą najczęstszą przyczyną zgonów spośród pozostałych nowotworów. Dostępne dane sugerują, że zachorowalność i śmiertelność w krajach wysoko rozwiniętych - spada, podczas gdy zachorowalność i śmiertelność w krajach o słabym poziomie ekonomicznym - rośnie [1]. Jest tak prawdopodobnie dlatego, że czynniki ryzyka i dostęp do metod wczesnego wykrywania i leczenia różnią się zasadniczo w tych dwóch regionach [1]. Czynniki ryzyka raka piersi obejmują wiek, rasę, uwarunkowania genetyczne, cechy i fizjologię piersi, stosowanie preparatów hormonalnych, nadmierne spożywanie alkoholu, nikotynizm, inne uzależnienia, dietę oraz aktywność fizyczną [1]. Mutacje w genach supresorowych guza BRCA1 i BRCA2 są istotnie związane z rozwojem raka piersi i jajnika do 70 roku życia. Przeżycie zależy zarówno od stadium zaawansowania, jak i podtypu molekularnego. Ponieważ na wczesnym etapie występuje niewiele oznak i objawów, wczesne wykrycie jest ważną strategią poprawy wyników. Nie jest tajemnicą, że wykrycie raka piersi we wczesnym stadium, a nawet zmian prekursorowych, daje pacjentom większą szansę na przeżycie. Dlatego tak ważna jest ciągła ocena dostępnych metod wczesnego wykrywania i poszukiwanie nowych. Osiemdziesiąt jeden procent nowotworów piersi rozpoznaje się u kobiet w wieku 50 lat i starszych, a 89% zgonów z powodu raka piersi występuje w tej grupie wiekowej. Mediana wieku w chwili rozpoznania u kobiet z rakiem piersi wynosi 62 lata [2]. Dla przykładu w 2020r. w Europie odnotowano 355 000 nowych przypadków raka piersi. W Azji liczba nowych przypadków przekroczyła 1 200 000. W oparciu o dane z WHO oraz Global Cancer Statistics przedstawiono procentowy odsetek liczby nowych przypadków raka piersi w 2020r. na sześciu kontynentach (rycina 1.1.).



Rycina 1.1. Procentowy odsetek liczby nowych przypadków raka piersi w 2020r. na sześciu kontynentach

Przez wiele lat samobadanie piersi było promowane jako najprostsza metoda wykrywania raka piersi [3]. Jednak ostatnie badania pokazują, że nie zmniejsza ono śmiertelności z powodu raka piersi i nie jest skuteczne w diagnozowaniu raka na wcześniejszym etapie [3]. Wykazano również, że zwiększa liczbę niepotrzebnych interwencji u kobiet z powodu fałszywie dodatnich wyników tej metody badania [3]. Konwencjonalne badanie ultrasonograficzne (USG) zaliczane do badań przesiewowych piersi jest skuteczne i stosunkowo łatwe do wykonania; brakuje mu jednak systematycznej rejestracji i lokalizacji [4]. Do badań przesiewowych w kierunku raka piersi u młodych kobiet zaleca się badanie USG, natomiast u starszych kobiet zaleca się wykonanie mammografii. Wynika to z dużej gęstości tkanki włóknisto-gruczołowej, która jest lepiej widoczna w USG [4]. Jest to jedyna metoda obrazowania, której udowodniono, że zmniejsza śmiertelność u bezobjawowych kobiet w danym wieku [5]. Jednak czułość tej metody badania może być ograniczona w gęstej tkance piersi, zwłaszcza u młodszych pacjentów, ponieważ tkanka włóknisto-gruczołowa zmniejsza widoczność nieprawidłowości [5]. Kolejnym aspektem, o którym warto wspomnieć, jest wzorzec wzrostu – jeśli guz nie wytwarza masy, bardzo trudno jest go wykryć w mammografii [5,6]. Cyfrowa tomosynteza piersi jest stosunkowo nową metodą obrazowania piersi [7,8]. W tym badaniu radiolodzy rekonstruuja obraz 3D z wielu niskodawkowych

obrazów projekcyjnych 2D źródła promieniowania rentgenowskiego. Uzyskane dane pozwalają na ocenę tkanki piersi w bardzo cienkich plastrach (np. 1mm) [5]. Jednym z niezastąpionych metod obrazowania jest MR piersi. MR to bardzo pomocne narzędzie nie tylko do wykrywania i charakteryzowania raka piersi, ale także do opisu rozległości guza i oceny odpowiedzi na leczenie przed lub po zabiegu operacyjnym [5,6]. Na rycinie 1.2. przedstawiono elementy zakresu zabiegu operacyjnego.



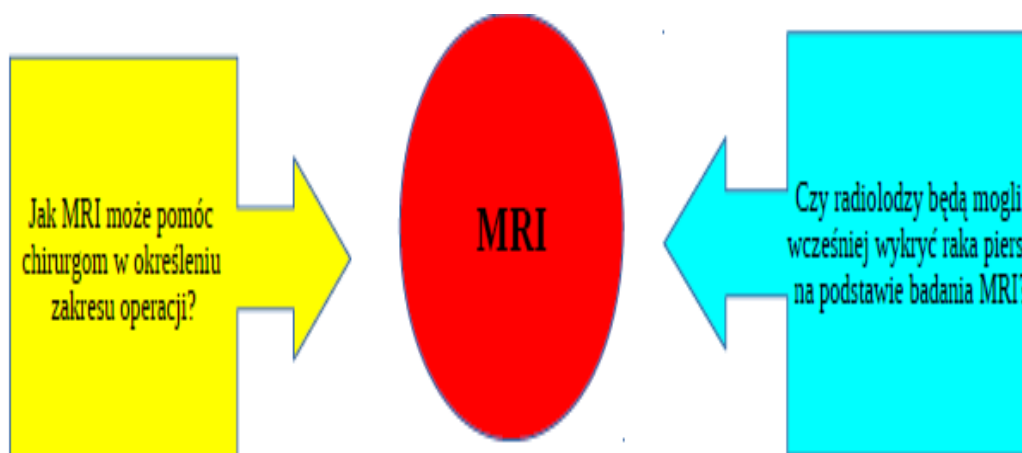
Rycina 1.2. Poprawa oceny zakresu zabiegu operacyjnego.

BCT- ang. Breast Cancer Therapy (terapia raka piersi).

2. APLIKACJA MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO W DIAGNOSTYCE RAKA PIERSI

Istnieje wiele badań porównujących przydatność różnych metod wczesnego wykrywania raka piersi. Na te wyniki składa się wiele czynników. Uważa się, że samobadanie piersi jest najmniej użyteczną metodą ze wszystkich [3]. Zgłoszona w literaturze czułość MR w detekcji raka piersi w kilku seriach zbliżyła się do 100% [5,6]. Te dane są jednym z powodów, dla których MR piersi jest ważny w przedoperacyjnej ocenie zaawansowania nowotworu [3]. Ograniczeniem MR piersi jest niska lub umiarkowana swoistość, mieszcząca się w zakresie 37-97% [5,6]. Jest to również powód niepotrzebnych interwencji medycznych u pacjentek. Wyłącznie zastosowanie wysokiej jakości MR piersi pozwala na wczesne wykrycie raka z wysoką czułością i swoistością [9]. Ponadto MR piersi jest niezawodną metodą rozwiązywania problemów w wykluczaniu nowotworu złośliwego, którego nie można potwierdzić konwencjonalnym obrazowaniem. W takich przypadkach dodatkowe dane z MR mogą pomóc w identyfikacji nowych nowotworów (będących następstwem przerzutów), których nie można wykryć konwencjonalnymi metodami. Narzędzie to ma jednak umiarkowanie niską swoistość, co może powodować niepotrzebne biopsje, kontrole i niepokój pacjentów. Istnieje wiele badań skupiających się na częstości diagnozowania kobiet z podejrzeniem raka piersi. To niestety prowadzi do niepotrzebnych procedur medycznych, których można by uniknąć. Najbardziej wiarygodne szacunki dotyczące nadmiernej diagnozy wahają się od 1% do 10%. Znacznie wyższe szacunki dotyczące nadmiernej diagnozy zgłaszane w literaturze wynikają z braku dostosowania do ryzyka raka piersi i/lub czasu realizacji [9]. Na całym świecie stosuje się wiele różnych metod obrazowania wczesnego wykrywania i badań przesiewowych w kierunku raka piersi. Wskazania do zastosowania każdej metody są różne. Rolą lekarza jest wybranie najbardziej odpowiedniego dla każdego pacjenta w celu uzyskania najlepszego wyniku. Niezależnie jednak od metody, w latach 2005-2011, względne przeżycie (5-letnie) wyniosło 89%. Uważa się, że jest to spowodowane zarówno wzrostem wykorzystania badań przesiewowych w całej populacji, jak i postępami w leczeniu [10].

Na rycinie 2.1. przedstawiono aspekty kliniczne stosowania MR w diagnostyce raka piersi.



Rycina 2.1. Poprawa efektywności oceny morfologii tkanki zdrowej i tkanki nowotworowej

2.1. Magnetyczny Rezonans Jądrowy w nowotworach złośliwych

Diagnostyka obrazowa nowotworów złośliwych piersi jest niezbędna celem ustalenia stopnia zaawansowania choroby i wdrożenia najbardziej odpowiedniego leczenia. W przypadku raka piersi obrazowanie techniką MR zmian nowotworowych jest stosowane rutynowo, ale czułość badania nie jest zbyt wysoka. Dlatego też, w ramach doktoratu podjęto zadanie zweryfikowania, czy korelacja obrazu MR z obrazem histopatologicznym pozwoli zwiększyć czułość i swoistość badania. Obrazowanie medyczne rozwinęło się w niezwykle sposób od czasu odkrycia promieni rentgenowskich 120 lat temu. Obecni radiolodzy potrafią obrazować ludzkie ciało z najdrobniejszymi szczegółami za pomocą tomografii komputerowej (TK), MR, pozytonowej tomografii emisyjnej (PET), ultradźwięków i różnych innych metod [11]. Badania przesiewowe w kierunku raka piersi za pomocą mammografii, pokazują wyzwania, którym należy sprostać, starając się wykorzystać moc dzisiejszych technologii obrazowania [12]. W ciągu ostatnich 40 lat nastąpił znaczny postęp w sprzęcie do MR, z których jednym z głównych jest trend do wyższych pól magnetycznych. Takie postępy, choć przynoszą znaczną poprawę jakości danych i wartości diagnostycznej, oznaczają, że konwencjonalne systemy 1.5T i 3T pozostają stosunkowo drogimi elementami sprzętu do

obrazowania medycznego i są poza zasięgiem finansowym większości krajów świata. W przeglądzie [13] opisano obecny stan techniki systemów o małym polu widzenia (określanych jako 0.25–1 Tesla), zarówno pod względem ich niskiego kosztu, niewielkich rozmiarów, jak i dostępności przedmiotu. Ponadto omówiono, w jaki sposób niskie pole można potencjalnie wykorzystać w zmianach, które miały miejsce w przypadku MR o wyższym polu. W pierwszej części z perspektywy teoretycznej omówiono zależność współczynnika SNR (sygnału do szumu) od statycznego pola magnetycznego i jego wpływu na osiągalny kontrast, rozdzielczość i czasy akwizycji. W drugiej części omówiono rozwój sprzętu (np. magnesy, cewki gradientowe i RF) stosowanego zarówno w eksperymentalnych skanerach niskiego pola, jak i tych, które są obecnie dostępne na rynku. W ostatniej części przedstawiono potencjalne role nowych odczytów akwizycji, śledzenia ruchu i strategii rekonstrukcji obrazu, które są obecnie opracowywane głównie na wyższych polach [13,14]. Historyczne postępy w badaniach i zastosowaniach klinicznych obrazowania MR w dużym stopniu pokrywają się z niezwykle postęпами w technologii obrazowania MR. Te postępy można z grubsza podzielić na sprzęt (np. magnesy, gradienty, cewki o częstotliwości radiowej (RF), nadajnik i odbiornik RF, urządzenia do biopsji zgodne z obrazowaniem MR) i techniki [15,16]. Postępy w zakresie sprzętu i oprogramowania do MR skróciły czas akwizycji, a badania trwają od 40 do 50 minut. Rosnąca świadomość narażenia na promieniowanie rentgenowskie w badaniach TK w połączeniu z zaletami MR zaowocowała zwiększonym wykorzystaniem MR w onkologii, pediatrii, reumatologii i narządach ruchu, a ostatnio w populacyjnych badaniach przesiewowych [17]. Obrazowanie MR jest obecnie stosowane klinicznie od ponad 40 lat. Obecnie służy jako podstawowa metoda diagnostyczna wielu problemów klinicznych. Historyczne osiągnięcia w dziedzinie MR, ze szczególnym uwzględnieniem innowacji technologicznych są częstym tematem przeglądów literaturowych. Podejmowane tematy obejmują wstępne odkrycia w magnetycznym rezonansie jądrowym, a także rozwój otwartych systemów MR. Dedykowane cewki obrazujące, podstawowe sekwencje impulsów wzmocnione kontrastem i funkcjonalne techniki obrazowania również są omawiane w kontekście historycznym. Ważne innowacje technologiczne w dziedzinie MR, wraz z ich dzisiejszymi zastosowaniami klinicznymi, zapewniają krytyczny wgląd w przyszłe osiągnięcia [18]. Około 40 lat temu rozpoczął się proces innowacji

technologicznych, który ostatecznie doprowadził do uznania środków kontrastowych do obrazowania MR, które są obecnie stosowane w około 25% wszystkich procedur MR, jako medyczne narzędzia diagnostyczne. Proces rozpoczął się od zbadania różnych możliwości technicznych i koncepcji w latach 1981-1982 dwóch rodzajów środków (rozpuszczalnych paramagnetycznych chelatów i ochronnych roztworów koloidalnych cząstek magnezytu stabilizowanych koloidami), które ostatecznie znalazły zastosowanie w produktach dostępnych na rynku. Pionierskimi produktami, które w końcu trafiły na rynek, były dimegluminy gadopentetynianu (Magnevist, Schering AG) i tlenki ferumowe (Endorem, Guerbet SA; lub Ferridex, Berlex Laboratories Inc.). W okresie 1981 do 1982, wielu niezależnych wynalazców z przemysłu i środowiska akademickiego wymyśliło rozpuszczalne w wodzie paramagnetyczne chelaty i stabilizowane koloidami ochronnymi roztwory koloidalne małych cząstek magnezytu, oba o dopuszczalnej tolerancji, jako środki kontrastowe do MR. Priorytety patentów warunkowały dalszy bieg wydarzeń. Przeanalizowana historia pomaga w zrozumieniu typowych ról różnych instytucji w innowacjach technologicznych. Podstawy technologii środka kontrastowego MR w naukach podstawowych zostały po części wykluczone w środowisku akademickim. Podczas koncepcji produktów praktycznych dominującą rolę odegrał przemysł. Począwszy od oceny radiologicznej produktów, współpraca między przemysłem a środowiskiem akademickim stała się niezbędna [19]. Po wczesnych próbach zastosowania spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) do badania procesów biologicznych w nienaruszonych układach, a zwłaszcza od czasu wprowadzenia klinicznych skanerów 4T około 1990 roku, nastąpił szybki postęp w badaniach obrazowych i spektroskopowych ludzi przy 4T i modelach zwierzęcych przy 9.4T, co doprowadziło do wprowadzenia pól magnetycznych o wartości 7T i wyższych do badań na ludziach mniej więcej na przełomie wieków. Prace prowadzone na tych platformach zapewniły liczne rozwiązania technologiczne dla wyzwań stawianych na tych ultrawysokich polach i wykazały znaczące zalety w zakresie współczynnika SNR i zawartości informacji biologicznej. Podstawowa różnica w porównaniu z niższymi polami to odchylenie od pola bliskiego przy częstotliwościach radiowych (RF) charakteryzuje się tłumionymi falami biegnącymi w ludzkim ciele, co prowadzi do niejednorodności obrazu dla danej konfiguracji cewka-próbka z powodu niszczących i konstruktywnych zakłóceń. Te niejednorodności

początkowo uznano za szkodliwe dla postępu obrazowania przy dużych natężeniach pola. Są one jednak korzystne dla obrazowania równoległego w odbiorze i transmisji sygnału, dwóch krytycznych technologii, które w dużej mierze przyczyniają się do sukcesu ultrawysokich pól. Zasady obrazowania metodą rezonansu magnetycznego ewoluowały pod koniec lat 70. i na początku następnej dekady. Udoskonalenia technologii nieinwazyjnej akwizycji i wizualizacji obrazów w MR przyniosły ogromne postępy w medycynie, zwłaszcza w diagnostyce i ocenie prognostycznej anomalii płodu [20]. Pierwsze wzmianki dotyczące rozróżnienia tkanki prawidłowej od tkanki nowotworowej za pomocą rezonansu przedstawili dwaj badacze: chemik Paul Lauterbur oraz fizyk Peter Mansfield w 1971 i 1973r. Zdaniem profesora Svena Pleina, przełomowe odkrycie obu naukowców odegrało kluczową rolę w opracowaniu znanych obecnie na całym świecie skanerów MR. Fundamentalny wkład obu profesorów (Lauterbura i Mansfielda) przyczynił się do rozwoju klinicznego oraz badawczego narzędzia diagnostycznego jakim był i jest rezonans magnetyczny. Ich odkrycie nagrodzone Nagrodą Nobla zostało jednak poprzedzone serią przełomowych wkładów naukowców z dziedziny matematyki, fizyki i chemii, sięgających XIX wieku, po których nastąpiły gwałtowne postępy w klinicznym rezonansie magnetycznym [21]. Obecnie znane są również inne metody obrazowania MR z wykorzystaniem różnych sekwencji. Jest to np. obrazowanie echa-planarnego (EPI) do wykrywania całej płaszczyzny w pojedynczym wzbudzeniu oraz wzmocnienia kontrastu T_1 i T_2 . Dostępne są również metody, takie jak: spektroskopia MR, pomiar przepływu (angiografia MR), obrazowanie płuc z użyciem hiperpolaryzowanych ^{129}Xe i ^3He oraz obrazowanie funkcjonalne (f-MR) [22].

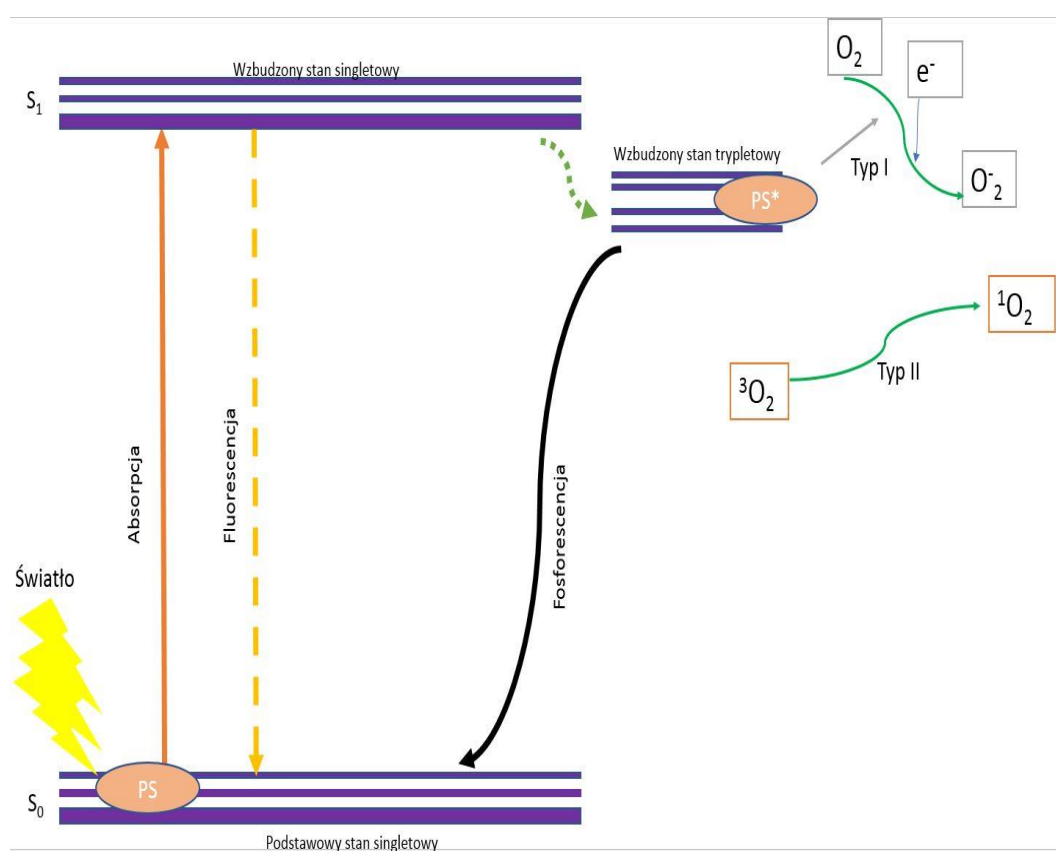
3. TERAPIA FOTODYNAMICZNA W LECZENIU RAKA PIERSI

3.1. Zarys historyczny terapii fotodynamicznej

Światło było stosowane w leczeniu chorób od starożytności [23]. Terapeutyczne właściwości światła znali już starożytni Egipcjanie. Pierwsze doniesienia wskazujące na ten fakt pochodzą z V i IV wieku p.n.e. Przez wieki światło słoneczne było wykorzystywane w leczeniu takich chorób jak: bielactwo, łuszczyca, czy krzywica. Wiele starożytnych cywilizacji stosowało fototerapię, ale dopiero na początku ubiegłego wieku ta forma terapii pojawiła się ponownie. W następstwie odkryć naukowych dokonanych przez wczesnych pionierów, takich jak Finsen, Raab i Von Tappeiner, połączenie podawania światła i leków doprowadziło do pojawienia się fotochemioterapii jako narzędzia terapeutycznego. Terapię fotodynamiczną uzyskuje się poprzez reakcję fotodynamiczną, która jest indukowana przez wzbudzenie fotouczulacza (PS) wystawionego na działanie światła. Zjawisko to po raz pierwszy opisał Raab i wsp. w 1990r. W 1960r. Lipson i wsp. opisali pochodną hematoporfiryny (HpD) przez traktowanie chlorku hematoporfiryny kwasem solnym i kwasem siarkowym. Rozwój HpD ustanowił podstawę dzisiejszej terapii fotodynamicznej (PDT). Dougherty doniósł o leczeniu guzów skóry metodą PDT po raz pierwszy przy użyciu argonowego lasera barwnikowego w 1978r. Autor i jego współpracownicy rozpoczęli podstawowe badania tego typu leczenia przy użyciu HpD dostarczonego przez Dougherty'ego i argonowego lasera barwnikowego w raku płuc psów w 1978r. Badania te potwierdziły skuteczność i bezpieczeństwo metody. Po raz pierwszy na świecie autorzy przeprowadzili bronchofiberskopową PDT we wczesnym stadium raka płaskonabłonkowego typu centralnego i uzyskali całkowite wyleczenie. Od tego czasu PDT cieszy się dużym zainteresowaniem. PS i laser o określonej długości fali są kluczowymi elementami terapii.

3.2. Zasada działania terapii fotodynamicznej

Terapia fotodynamiczna (PDT) jest zatwierdzoną metodą leczenia różnych nowotworów złośliwych, w tym raka. Metoda wymaga jednoczesnego podania dwóch czynników: światła i substancji zwanej fotouczulaczem (PS) na docelową komórkę lub tkankę. Działanie fototerapeutyczne opiera się albo na transferze energii ze stanu wzbudzonego PS bezpośrednio do tlenu cząsteczkowego obecnego w docelowych komórkach, albo jest kierowane poprzez formy rodników pośrednich do reaktywnych form tlenu (ROS). W obu przypadkach powstałe produkty prowadzą do śmierci komórki. Na rycinie 3.1. przedstawiono (w formie uproszczonej) fizyczno-chemiczną zasadę działania PDT.

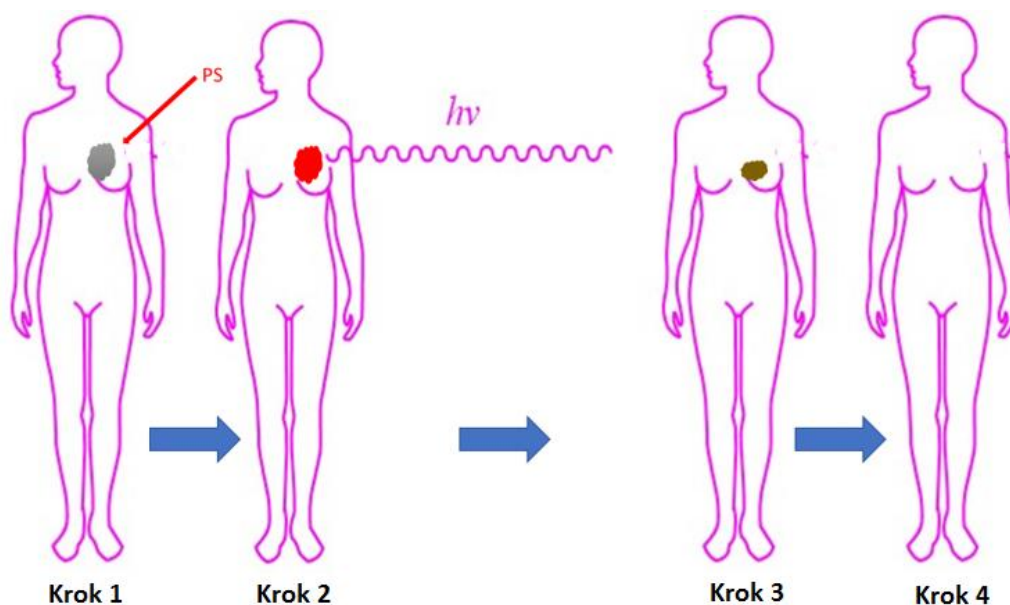


Rycina 3.1. Fizyczno-chemiczna zasada działania PDT

PDT polega na selektywnym uwrażliwianiu tkanek na światło. Duży postęp w tej dziedzinie nastąpił, gdy Thomas Dougherty z Roswell Park Cancer Institute zainicjował serię badań klinicznych, które ostatecznie doprowadziły do zatwierdzenia procedury przez Agencję Żywności i Leków (FDA). Raport ten zawiera podsumowanie wkładu Dougherty'ego i ocenę tego, do czego to doprowadziło, wraz z podsumowaniem implikacji dla przyszłego rozwoju leków

[24]. Kwas aminolewulinowy z terapią fotodynamiczną (ALA-PDT) jest leczeniem często stosowanym klinicznie [25]. Celem artykułu przeglądowego autorstwa Wiedmann i Caca było opisanie historii PDT, jej aktualnych zastosowań medycznych, mechanizmu działania, przeciwwskazań metody oraz różnych rodzajów stosowanych fotouczulaczy. Omówiono leczenie niedrożnego raka przełyku, raka przełyku we wczesnym stadium, przełyku Barretta, raka dróg żółciowych wnęki, raka żołądka, okrężnicy i trzustki. Ostatnia część skupia się na przyszłych kierunkach PDT, takich jak niektóre innowacyjne pomysły, które są obecnie badane [26]. Istnieje kilka opublikowanych badań klinicznych dotyczących PDT w dziedzinie onkologii przewodu pokarmowego. PDT oceniano również w innych nowotworach przewodu pokarmowego, w tym raku żołądka, raka dróg żółciowych i raka trzustki [27]. Do tej pory za pomocą PDT w 32 krajach leczono łącznie ponad 3000 guzów w różnych narządach. Najczęściej leczonym narządem są płuca (808 przypadków). Badanie kliniczne fazy II PDT we wczesnym stadium raka płuc, przełyku, żołądka, szyjki macicy i pęcherza moczowego zostało przeprowadzone w 15 instytucjach od 1989 do początku 1992 roku [28]. Wyizolowanie porfiryń, a następnie odkrycie ich właściwości lokalizujących guzy i fototoksyczny wpływ na tkankę nowotworową doprowadziło do opracowania nowoczesnej fotodetekcji (PD) i terapii fotodynamicznej (PDT).

Związek między budową fizykochemiczną a aktywnością fotodynamiczną fotouczulaczy drugiej generacji został omówiony przez van den Bergh [29]. Wiele ważnych szczegółów dotyczących mechanizmów PDT zostało wyjaśnionych przez badaczy w Norwegii. Podstawowe mechanizmy, takie jak wytwarzanie tlenu singletowego, szacowanie czasu jego życia, efekt tlenowy, subkomórkowa lokalizacja fotouczulaczy o różnych właściwościach, ich fotodegradacja podczas PDT oraz ich selektywność na nowotwory definiują efektywność PDT [30]. Na rycinie 3.2. przedstawiono poszczególne elementy procedury PDT.



Rycina 3.2. Poszczególne elementy procedury PDT

PS- fotouczulacz, $h\nu$ - kwant światła

Artykuł Sieroń A, Kwiatek jest przeglądem badań laboratoryjnych i klinicznych podejmowanych w Polsce w zakresie PDD i PDT na przestrzeni ostatnich 20 lat. Są one podzielone na dwa równoległe obszary badawcze. Pierwsza opiera się na badaniach klinicznych, w których badane są nowe modalności syntezy fotouczulacza, molekularne mechanizmy PDT i inne aspekty. Drugi dotyczy klinicznych aspektów PDD i PDT zarówno w chorobie przednowotworowej, jak i nowotworowej. W Polsce odbyły się 2 Krajowe Kongresy w 2006 i 2008 roku z odpowiednio 100 i 400 uczestnikami. W Bytomiu znajduje się jeden z najstarszych ośrodków Diagnostyki i Terapii Fotodynamicznej. Od około 10 lat prowadzi w Polsce badania kliniczne z PDD i PDT w takich dyscyplinach medycznych jak dermatologia, gastroenterologia, laryngologia, pulmonologia, ginekologia, ortopedia [31].

Na podstawie badań nad PDT w 1993r. powstała norweska firma PhotoCure ASA, której celem jest komercjalizacja technologii fotodynamicznych opracowanych w Norweskim Szpitalu Radowym, który jest największym kompleksowym ośrodkiem onkologicznym w Europie Północnej. Firma posiada na rynku dwa produkty: Metvix do leczenia raków podstawnokomórkowych i rogowacenia słonecznego oraz Hexvix do fluorescencyjnej diagnostyki raka pęcherza moczowego. Nowe pochodne ALA do fluorescencyjnej diagnostyki i leczenia nowotworów we

wczesnym stadium narządów wewnętrznych, m.in. raka okrężnicy, są obecnie badane [32,33]. PDT z pochodnymi porfiryny jako lekami fotouczulającymi opracowano około 1960r. Od tego czasu wyjaśniono podstawowe mechanizmy lokalizacji nowotworowej fotouczulaczy oraz procesy wyjaśniające wpływ PDT na nowotwory [34]. Wprowadzony po raz pierwszy około 100 lat temu mechanizm PDT nadal ewoluuje w dermatologii, stając się bezpieczną i skuteczną opcją leczenia kilku schorzeń dermatologicznych [35]. Od czasu początkowego wprowadzenia kompleksu polipirydylowego rutenu (Ru), przeprowadzono szereg prób ewolucji strukturalnej w celu poprawy skuteczności. Z chemioterapią badano również kompleksy Ru jako terapię fotodynamiczną (PDT) i chemioterapię fotoaktywowaną (PACT), które mogą selektywnie aktywować ugrupowania proleku w określonym regionie [36].

W Chinach opracowano różne lasery i niekoherentne źródła światła, aby usprawnić kliniczne stosowanie PDT. W ciągu ostatnich 25 lat chińscy lekarze wyleczyli kilka tysięcy pacjentów, zdobyli duże doświadczenie zarówno w naukach podstawowych, jak i zastosowaniach klinicznych oraz wygenerowali ogromną liczbę raportów klinicznych. Badania i działania kliniczne związane z PDT najprawdopodobniej nadal będą się rozwijać w Chinach [37]. W ciągu ostatnich trzech dekad terapia fotodynamiczna (PDT) stała się użytecznym narzędziem klinicznym, realną alternatywą w leczeniu raka i innych chorób. Kilka dyscyplin przyczyniło się do tego rozwoju: chemia w opracowywaniu nowych środków fotouczulających, biologia w wyjaśnianiu procesów komórkowych zaangażowanych w PDT, farmakologia i fizjologia w identyfikowaniu mechanizmów dystrybucji fotouczulaczy w organizmie oraz, co nie mniej ważne, fizyka w rozwoju lepszych źródeł światła, koncepcji dozymetrycznych i konstrukcji urządzeń obrazujących, czujników optycznych i metod spektroskopowych do określania stężeń PS w różnych tkankach. Fizyka i biofizyka pomogły również skoncentrować się na roli pH w akumulacji PS, efektach dawki, ubytku tlenu, temperaturze i optycznej penetracji światła o różnych długościach fal do różnych typów tkanek. To wszystko to ważne parametry dla optymalnie efektywnego PDT [38]. Pomimo ponad 100-letniej historii w zastosowaniach eksperymentalnych i klinicznych, terapia fotodynamiczna (PDT) dopiero zaczyna być doceniana ze względu na jej pełny potencjał. PDT łączy PS i światło w obecności tlenu w leczeniu raka i innych zaburzeń [39]. Chociaż koncepcja terapii fotodynamicznej

jest rozpoznawana od ponad wieku, dopiero od 25 lat jest stosowana w Wielkiej Brytanii. Pierwsze wnioski w Wielkiej Brytanii złożył w 1981r. John Carruth, który leczył pacjentów z zaawansowanymi stanami laryngologicznymi i nowotworami skóry [40]. Działania niepożądane są ogólnie opisywane jako łagodne oraz umiarkowane, bez blizn, wraz z szybkim czasem powrotu do zdrowia. Najlepszymi kandydatami do tej techniki są pacjenci z jasnymi fototypami i historią ekspozycji na słońce i uszkodzeniami posłonecznymi o różnym nasileniu [41].

Pomimo opisów terapii za pośrednictwem światła w starożytnych tekstach i odkryciach terapii fotodynamicznej (PDT) na początku XX wieku, przełomowy artykuł z 1978r. w Cancer Research autorstwa Dougherty'ego i jego współpracowników z Roswell Park Cancer Institute pozostaje słusznie postrzegany jako punkt wyjścia do klinicznego PDT we współczesnej medycynie. Jako duża seria kliniczna, która badała wiele czynników obecnie uważanych za krytyczne wyznaczniki dawki, skuteczności i toksyczności PDT, badanie to wykazało niezwykle dalekowzroczność, ale również posłużyło do postawienia tylu pytań, na ile udzieliło odpowiedzi. Od czasu publikacji, PDT jest coraz częściej wykorzystywana w praktyce klinicznej w leczeniu zarówno łagodnych, jak i złośliwych stanów, a wiele z ich pytań zaowocowało nowymi technologiami i obszarami badań, dzięki czemu pozostaje bardzo istotne prawie 40 lat po ich pierwszym zapytaniu [42].

Chociaż leczenie nowotworów we wczesnym stadium nie jest kwestionowane, możliwość niewykrytej choroby węzłów chłonnych oznacza, że jest mało prawdopodobne, aby PDT zastąpiła resekcję chirurgiczną u pacjentów nadających się do torakotomii. PDT zapewnia również skuteczną metodę leczenia paliatywnego pacjentów z zaawansowanymi obturacyjnymi guzami wewnątrzoskrzelowymi [43]. Opcje leczenia pacjentów z nawracającym nienaciekającym rakiem pęcherza moczowego są ograniczone. PDT chociaż wykazywała zachęcające wyniki terapeutyczne, została w dużej mierze porzucona ze względu na toksyczność lub wpływ na normalne komórki [44]. Dzięki starannemu manipulowaniu energią lasera i dawką PS można było osiągnąć prawdziwe selektywne zniszczenie tkanki nowotworowej w eksperymentalnych nowotworach okrężnicy z całkowitym oszczędzeniem zdrowej okrężnicy, chociaż w tych warunkach zakres martwicy guza wynosi tylko 2-3 mm od źródła światła [45]. Ostatnie dziesięciolecia przyniosły rosnące uznanie dla znaczenia

generowania adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej dla długoterminowej kontroli guza i indukcji pamięci immunologicznej w celu zwalczania nawracających chorób [46-49].

Znaczący wzrost postępu naukowego i technologicznego w dziedzinie stomatologii zaowocował szeroką gamą nowych metod leczenia, z których mogą korzystać dentyści [50]. Terapia fotodynamiczna w świetle dziennym (dPDT) wykorzystuje światło słoneczne jako źródło światła w leczeniu powierzchownego raka skóry. Wykorzystanie światła słonecznego jako urządzenia terapeutycznego było obecne od wieków, stanowiąc podstawę terapii fotodynamicznej w XX wieku. W porównaniu z konwencjonalną PDT, dPDT może być mniej bolesną, wygodniejszą i skuteczniejszą alternatywą. Pierwsze kliniczne zastosowania dPDT w nowotworach skóry rozpoczęto w Kopenhadze w 2008r. Obecnie dPDT, w której pośredniczy kwas aminolewulinowy, została zatwierdzona do leczenia pacjentów z rogowaceniem słonecznym w Europie. Oczekuje się, że przyszłe zastosowania dPDT w innych chorobach skóry będą się rozszerzać wraz z ewolucją konwencjonalnej metody PDT [51].

Terapia fotodynamiczna (PDT) tak jak MR to minimalnie inwazyjne i skuteczne podejście do leczenia raka. Obie metody są potencjalnie użyteczne w leczeniu guzów, które nie są dostępne dla operacji, napromieniania lub destrukcyjnej ablacji i są odporne na chemioterapię. Oprócz wydajnych PS, dla precyzyjnego i bezpiecznego dostarczania światła do miejsca docelowego niezbędne jest naprowadzanie obrazowe, poprawiające w ten sposób skuteczność terapeutyczną. Skutecznie domieszkowane lantanowcami nanocząsteczki przyciągnęły znaczną uwagę ze względu na ich zastosowanie w biomedycynie. W tym celu wytworzono i zastosowano w PDT pokryte krzemionką nanocząstki z podstawionym PS wbudowanym kowalencyjnie w powłoki krzemionkowe. Badania *in vitro* wykazały, że te nanocząstki mogą skutecznie zabijać komórki rakowe po napromieniowaniu NIR. Ponadto nanocząstki wykazały również dobry kontrast MR, zarówno w roztworze wodnym, jak i wewnątrz komórek [52]. W innym badaniu efekt działania fotofrin, pochodnych porfiry, zostały udowodnione w MR. Oprócz leczenia raka porfiry są również badane pod kątem zastosowania w leczeniu wielu innych chorób [52]. Inne prace wykazały że aktywność kompleksu CoFe₂O₄-HPs-FA, jego biokompatybilność i fotodynamiczną aktywność przeciwnowotworową na liniach komórek rakowych dodatnich i ujemnych pod

względem receptorów do zastosowań klinicznych można oszacować metodą MR *in vitro* [53]. Obecność PS drugiej generacji, potwierdzono przez wykonanie dyfuzyjnych obrazów MR przed i po PDT [54]. Aby skutecznie leczyć nowotwory śródmiąższowe za pomocą PDT wymaga się wydajnego dostarczania PS i dokładnej lokalizacji tkanek nowotworowych w celu skutecznego napromieniowania światłem przeprowadzono PDT ze wzmocnieniem kontrastowym pod kontrolą MR z dwufunkcyjnym koniugatem polimerowym zawierającym zarówno środek kontrastowy do obrazowania MR, jak i PS [55]. Nanocząsteczki porfiryny zastosowano do terapii raka metodą MR pod kontrolą PDT, w której wewnętrzna porfiryra wolna od metali działa jako PS dla PDT, podczas gdy zewnętrzna porfiryra służy jako środek kontrastowy w MR. Kowalencyjne przyłączenie porfiryn do nanocząsteczek zapobiega przedwczesnemu uwalnianiu podczas krążenia ogólnoustrojowego [56]. Pegylacja dwufunkcyjnych koniugatów polimerowych zmniejszyła nieswoisty wychwyt wątrobowy i zwiększyła wychwyt przez komórki nowotworowe, co skutkuje znacznym wzmocnieniem kontrastu guza i wysoką skutecznością terapeutyczną. Pegylowany dwufunkcyjny koniugat jest obiecujący w terapii fotodynamicznej wspomaganą kontrastem MR w leczeniu raka [57,58]. Zarówno zwiększona wydajność PS, jak i podwyższony poziom tlenu przyczyniają się do końcowego efektu terapeutycznego [59]. Obrazowanie MR o wysokiej rozdzielczości może zapewnić zmiany anatomiczne i morfologiczne. Dla tej aplikacji opracowano dwie metody rejestracji. Do rejestracji całego ciała myszy wykorzystano automatyczny trójwymiarowy, znormalizowany algorytm wzajemnej informacji. Do rejestracji guza opracowano schemat rejestracji odkształcalnej oparty na modelu elementów skończonych [60,62]. Porfiryny i metaloporfiryny posiadają szczególne właściwości fotochemiczne oraz fotofizyczne, które można regulować poprzez modyfikacje strukturalne [63,64].

Pomimo postępu w optycznych metodach obrazowania tlenu singletowego, pozostaje on wyzwaniem dla zastosowań *in vivo* ze względu na ograniczoną głębokość penetracji tkanki przez światło [65]. Uważa się, że amorficzne, biodegradowalne nanomateriały fosforanu metalu mają ogromny potencjał w teranoterapii raka ze względu na ich zapewnienie jednocześnie ultraczułych korzyści terapeutycznych, reagujących na pH i funkcji diagnostycznych. Biorąc pod uwagę silną reakcję na pH, wzmocnienie sygnału MR i profil uwalniania leku,

nanocząstki PMP oferują nowe perspektywy zastosowania teranostycznego aktywowanego kwasowością nowotworu poprzez wzmocnienie PDT, przy jednoczesnym wzmocnieniu efektu MR [66]. Wykorzystując silne właściwości magnetyczne nanoszablonów Fe i efektywne generowanie tlenu ($^1\text{O}_2$) nanopowłoki Fe_3Ge_2 , mogą znaleźć zastosowanie w wydajnym celowanym NIR-PDT pod kontrolą rezonansu magnetycznego. Prace te stanowią ważny krok naprzód w opracowywaniu nowatorskiego nanocząsteczkowego środka teranostycznego do dokładnej klinicznej teranostyki raka w przyszłości [67]. Jednak światło ma ograniczone zastosowanie ze względu na jego wysoką fototoksyczność, niską penetrację i szybką atenuację w tkance biologicznej [68].

Napromieniowanie komórek HeLa przy użyciu wzbudzenia jednofotonowego (740 nm) lub dwufotonowego (910 nm) doprowadziło w obu przypadkach do śmierci komórki [69-72].

Co ważniejsze, sterowana obrazowaniem PDT w komórkach niedotlenionych wykazywała 51,6% apoptozy komórek przy optymalizacji czasu aplikacji lasera, co można również potwierdzić przez powrót fluorescencji indukowany przez aktywowaną kaspazę-3 w komórkach apoptotycznych [73]. PDT może być stosowana jako terapia ogniskowa raka prostaty [74]. W ostatnich latach nastąpił znaczący rozwój PS, źródeł światła i systemów dostarczania światła, które pozwoliły skrócić czas leczenia i nie wpływały niekorzystnie na skórę, co spowodowało częstsze stosowanie terapii fotodynamicznej (PDT) w warunkach klinicznych. W porównaniu ze standardowymi metodami leczenia, takimi jak chemioradioterapia i chirurgia, PDT posiada znikome skutki uboczne przez co staje się alternatywną opcją leczenia [75].

PDT pod kontrolą MR i PTT synergistycznie hamowały wzrost komórek nowotworowych *in vitro* oraz ablację guzów *in vivo*. Skutki uboczne były nieistotne ze względu na celowanie w specyficzne komórki nowotworowe poprzez modyfikację powierzchni oraz zwiększoną przepuszczalność i retencję [76]. Niedotlenienie sprzyja nie tylko przerzutom guzów, ale także odporności na leczenie. Spożycie tlenu za pośrednictwem fotouczulacza podczas terapii fotodynamicznej (PDT) wzmacnia niedotlenienie guza [77]. Po degradacji warstwy zewnętrznej promowano uwalnianie PS. Pod wpływem napromieniowania zostały uwolnione cytotoksyczne reaktywne formy tlenu (ROS), które uszkadzały komórki nowotworowe, gdy tlen był generowany w niedotlenionym miejscu nowotworu.

Ponadto obniżony poziom GSH dodatkowo hamował zużycie wytworzonych ROS, co znacznie zwiększyło skuteczność PDT. W związku z tym badanie to sugeruje, że ten wielofunkcyjny system ma potencjał do ulepszonej terapii fotodynamicznej i obrazowania metodą rezonansu magnetycznego [78]. Połączenie wielu metod obrazowania i równoczesnych funkcji terapeutycznych w jeden nanopreparat ma ogromne znaczenie dla opracowania wysokowydajnych środków teranostycznych, które można przełożyć klinicznie [79]. Wieloaspektowe właściwości kwasu hialuronowego (HA) zostały wykorzystane do celowanej terapii nowotworów metodą PDT kierowanej obrazowaniem molekularnym [80]. Kopolimer blokowy może samoorganizować się w strukturę podobną do stomatocytów jako nośnik dostarczania leku. Ze względu na, iż PDT to nowa metoda leczenia raka może wiązać się z różnymi problemami, takimi jak: słaba zdolność fotouczulaczy do akumulacji guza, krótki czas życia tlenu singletowego, czy mikrośrodowiskowe niedotlenienia guza, które ograniczają (w mniejszym lub większym stopniu) jej skuteczność terapeutyczną [81].

4. CEL PRACY

Praca dotyczyła opracowania metodologii do wspomagania diagnozowania i personalizowania leczenia raka piersi. Rozwiązanie dostarczyło i umożliwiło analizę obrazu tkanki raka piersi zarejestrowanego *in vitro* oraz rozszerzyło mechanizm przetwarzania, analizowania oraz wnioskowania na podstawie danych medycznych pozyskanych z kliniki. Prace badawcze objęły eksperyment naukowy dotyczący analizy czasu relaksacji jąder protonu spin-sieć (T_1) i spin-spin (T_2) mierzonych przy pomocy rezonansu magnetycznego dla tkanek raka piersi oraz eksperyment naukowy dotyczący zastosowania terapii fotodynamicznej w tych samych tkankach.

Celem badania było wykazanie zdolności skanera klinicznego 1.5T do wykonywania obrazowania ilościowego w tkankach. Badanie przeprowadzono przy użyciu komercyjnych cewek. Do badania czasów relaksacji w tkankach nie zastosowano manipulacji sekwencjami ani dodatkowego sprzętu MR. Jednak pomiar czasów relaksacji stanowi nowość na urządzeniu o indukcji pola 1.5T co wykonano po raz pierwszy na Uniwersytecie Rzeszowskim w ramach prac eksperymentalnych doktoratu. W realizacji celu głównego posłużyło zdefiniowanie i zrealizowanie celów szczegółowych, takich jak:

1. zastosowanie metody obrazowania rezonansem magnetycznym MR do oceny wycinków tkankowych *in vitro*, na podstawie zmiany stężenia wody w tkance zdrowej i nowotworowej;
2. zastosowanie metody fotodynamicznej do oszacowania różnic stężenia tlenu w tkance zdrowej i nowotworowej.

Na rycinie 4.1. przedstawiono w formie graficznej zagadnienia poruszane w ramach projektu.



Rycina 4.1. Pytania naukowe projektu

W pracy zaprojektowano zobrazowanie ognisk komórek rakowych w wycinku tkankowym z raka piersi metodą MR. Badanie to mogło i nadal może przyczynić się do poprawy wykrywalności nowotworów złośliwych piersi co ułatwi prawidłową ocenę stopnia zaawansowania choroby i pozwoli podjąć właściwą decyzję co do planowanej metody terapeutycznej. Drugim problemem badawczym była histopatologiczna ocena reakcji komórek raka piersi na terapię fotodynamiczną. Reakcja na leczenie oceniona w preparacie mikroskopowym pozwoliła na dobranie optymalnej dawki fotouczulacza do otrzymania pożądanego efektu terapeutycznego.

Na podstawie zmierzonych czasów relaksacji T_1 i T_2 określono różnicę w budowie tkanki zdrowej i zmienionej nowotworowo.

Zbadano związek między czasami relaksacji MR *in vivo* i *in vitro* tej samej tkanki. Zanalizowano zmiany, które powstawały na skutek stosowanej terapii fotodynamicznej w tkance nowotworowej *in vitro*.

5. METODOLOGIA

Na wszystkie zaplanowane pomiary niezbędna była zgoda Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Rzeszowskiego (zgoda w rozdziale „Załączniki”). Grupę badawczą stanowiła grupa 30 pacjentów, od których pobrano materiał histopatologiczny. Badania realizowano w Zakładzie Biochemii i Chemii Ogólnej, w Zakładzie Fotomedycyny i Chemii Fizycznej Przyrodniczo-Medycznego Centrum Badań Innowacyjnych Uniwersytetu Rzeszowskiego oraz w Klinicznym Zakładzie Patomorfologii Klinicznego Szpitala nr 1 w Rzeszowie. Na rycinach 5.1.-5.4. przedstawiono zdjęcia pracowni laboratoryjnych gdzie realizowano projekt.



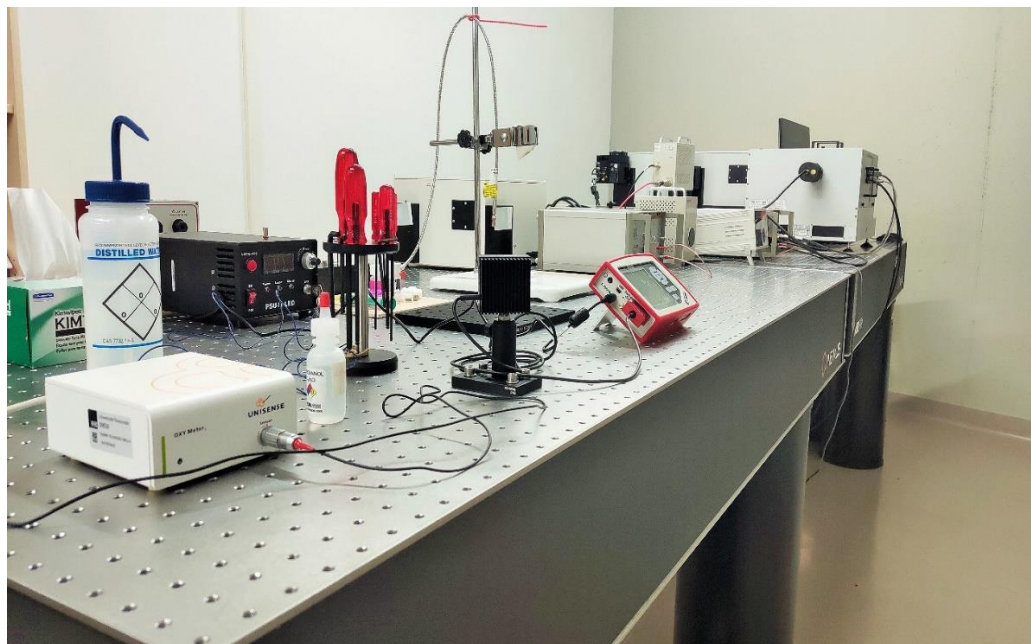
Rycina 5.1. Pracownia w Zakładzie Biochemii i Chemii Ogólnej

Źródło: [strona internetowa UR]



Rycina 5.2. Pracownia w Zakładzie Biochemii i Chemii Ogólnej

Źródło: [strona internetowa UR]



Rycina 5.3. Pracownia w Zakładzie Fotomedycyny i Chemii Fizycznej Uniwersytetu Rzeszowskiego

Źródło: [strona internetowa UR]



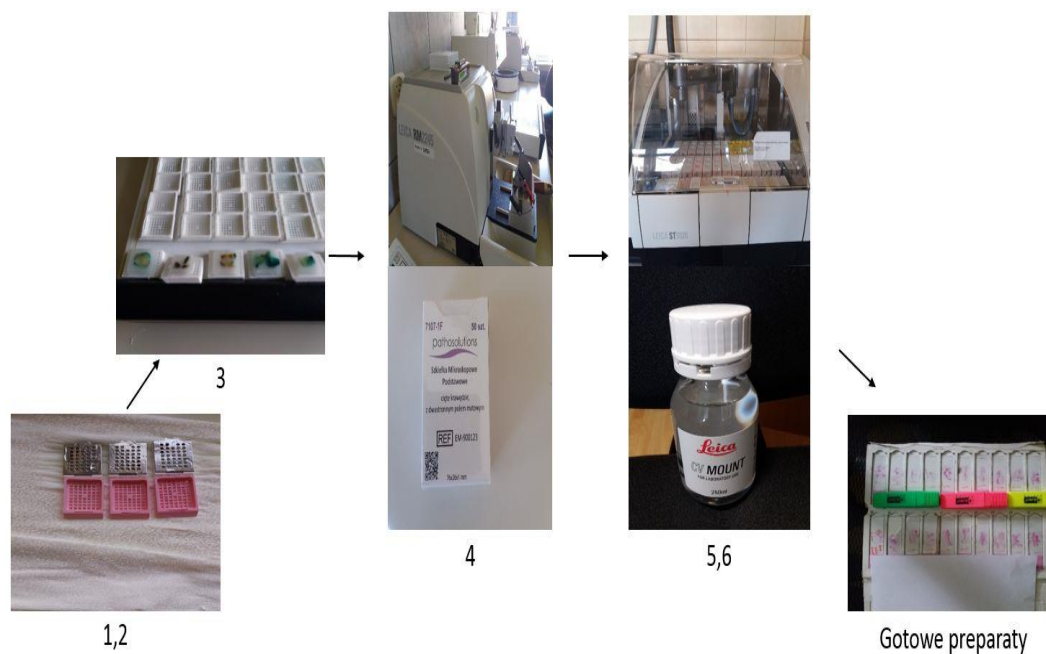
Rycina 5.4. Pracownia w Klinicznym Zakładzie Patomorfologii w KSW nr 1

Źródło: [strona internetowa KSW1]

5.1. Histopatologia tkanek zdrowych, chorych oraz po terapii fotodynamicznej

Materiał operacyjny do badań histopatologicznych został utrwalony przez 24 godziny w 10% roztworze formaliny zbuforowanej (4% roztwór formaldehydu). Po utrwaleniu fragmentów z piersi pobrano skrawki tkanki do kasetek (krok 1-2). Materiał tkankowy z kasetek poddany został płukaniu, odwodnieniu, przeprowadzony przez płyny pośrednie i zatopiony w parafinie z uzyskaniem bloczków (krok 3). Bloczki parafinowe wykrojono na mikrotomie (Microtom LEICA RM2245) na mniejsze elementy, które nałożono na szkiełka podstawowe (krok 4). Skrawki zabarwiono rutynowo hematoksyliną i eozyną. W tym celu wykorzystano uniwersalne urządzenie do barwienia preparatów histopatologicznych – (Multistainer LEICA ST 5020). Kończącym etapem było przykrycie skrawków szkiełkiem nakrywkowym (automat LEICA CV 5030), przed tym przestrzeń pomiędzy szkiełkiem podstawowym i nakrywkowym wypełniono histofluidem (krok 5-6).

Na rycinie 5.5. przedstawiono poszczególne kroki tworzenia preparatów histopatologicznych.



Rycina 5.5. Poszczególne kroki tworzenia preparatów histopatologicznych

Gotowe preparaty histopatologiczne analizowano pod mikroskopem (LEICA DM 1000 LED) (rycina 5.6.)



Rycina 5.6. Mikroskop LEICA DM 1000 LED

5.2. Pomiar Magnetycznym Rezonansem Jądrowym tkanek raka piersi przed i po leczeniu

W badaniach wykorzystano rezonans magnetyczny o polu 1.5T model Optima MR360 firmy General Electric Healthcare, który przedstawiono na rycinie 5.7.



Rycina 5.7. Rezonans Magnetyczny w Laboratorium Badań Ośrodkowego Układu Nerwowego i Kręgosłupa w Przyrodniczo-Medycznym Centrum Badań Innowacyjnych

Dodatkowo do wykonywania pomiarów z wykorzystaniem silnego pola magnetycznego wykorzystano dedykowane cewki gradientowe. Analiza otrzymanych danych była wykonana za pomocą licencjonowanego pakietu MATLAB.

Badania przeprowadzono na nieutralizowanych przez formalinę fragmentach tkankowych. W pierwszym etapie wyznaczono relaksację podłużną i poprzeczną, co pozwoliło na charakterystykę badanej próbki. Podczas skanów wykorzystano cewki gradientowe, które bezpośrednio wchodzi w skład stosowanego w praktyce układu pomiarowego. Na podstawie otrzymanego sygnału cyfrowego i

rekonstrukcji obrazu, która powstaje dzięki zastosowaniu transformaty Fouriera otrzymano materiał do analizy. Kolejnym etapem była analiza danych, w której dokonano dokładnej oceny otrzymanych wyników, w celu wyznaczenia czasów relaksacji T_1 i T_2 w badanych próbkach. W kolejnym etapie, pod mikroskopem, oceniony został preparat histopatologiczny wykonany z przebadanego wycinka raka piersi. Wycinek zawierał komórki raka piersi oraz tkankę niezmienną nowotworowo. W ostatniej fazie eksperymentu zmiany widoczne w badaniu MR skorelowano z obrazem histopatologicznym w celu odnalezienia ewentualnych zmian.

Po wykonaniu obrazowania MR i zabezpieczeniu fragmentu do wykonania bloczka parafinowego tkanka została poddana fototerapii a następnie utrwalona. W Klinicznym Zakładzie Patomorfologii Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego nr 1 w Rzeszowie został wykonany i oceniony preparat histopatologiczny, a otrzymany wynik został skorelowany z podaną dawką PS. Proces ten pozwolił ustalić minimalną efektywną dawkę PS, przez co w przyszłości może zostać wykorzystany do badań *in vivo*.

Podczas planowanych badań bazowano na zdobytej wiedzy i doświadczeniu w badaniach metodą rezonansu magnetycznego, jak również wyznaczaniu czasów relaksacji T_1 i T_2 w fragmentach tkankowych. Zwrócono uwagę na dostosowaniu parametrów czasu echa (TE) i czasu repetycji (TR) oraz na starannym dobraniu metodologii w celu uzyskania najdokładniejszych wyników w możliwie jak najkrótszym czasie. Kolejnym etapem była obróbka danych w której wykonano analizę statystyczną, oraz wyznaczono czasy relaksacji T_1 , T_2 , oraz mapy tych czasów w badanych wycinkach z raka piersi.

Po PDT tylko próbki potraktowane różem bengalskim (0,05 mM/l), solą disodową protoporfiryny IX (3 mM/l), dichlorkiem ftalocyjaniny krzemu (0,0012 mM/l w CH_2Cl_2) i chlorowodorkiem kwasu 5-aminolewulinowego (0,003 mM/l) zostały zbadane przy użyciu pomiarów relaksacji T_1 i T_2 . Próbkę mierzono za pomocą aparatu o indukcji pola 1.5T. Kamera była obsługiwana w wersji oprogramowania SV23. Przygotowane próbki zostały zeskanowane przy użyciu sekwencji Fast Spin-Echo (FSE) z rzutem osiowym przy użyciu małej giętkiej cewki. Na podstawie uzyskanych obrazów DICOM przeprowadzono analizę, wykonano pomiary ROI dla serii obrazów dla każdej z próbek, na podstawie których wyznaczono czasy relaksacji T_1 i T_2 . W sumie w dwóch różnych etapach

badania przebadano 84 próby pomiaru. Parametry techniczne zastosowane w badaniach MR były takie same dla wszystkich etapów badania. Matryca skanowania miała wymiary 320 x 224, grubość skrawków 2mm, rozstaw 0.5mm i NEX = 2. Dla czasu T_1 pomiary wykonano w 12 krokach z czasem repetycji (TR) w zakresie 50-15 000 ms (50, 100, 200, 500, 700, 1000, 1500, 2000, 3000, 5000, 10000, 15000 ms) ze stałym czasem echa (TE) 3ms. Na podstawie uzyskanych obrazów DICOM przeprowadzono analizę, wykonano pomiary ROI dla 12 obrazów dla każdej z próbek, na podstawie których wyznaczono czas relaksacji T_1 .

Analiza statystyczna

Do wszystkich analiz statystycznych wykorzystano GraphPad Prism V6.0. Dane przedstawiono jako wartość średnią $\pm$ odchylenie standardowe z istotnością statystyczną określoną t testem lub dwuczynnikową ANOVA, w zależności od przypadku.

5.3. Metoda Terapii Fotodynamicznej

Po wykonaniu obrazowania MR i zabezpieczeniu fragmentu do wykonania bloczka parafinowego tkanka została poddana fototerapii a następnie utrwalona. W Klinicznym Zakładzie Patomorfologii Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego nr 1 w Rzeszowie został wykonany i oceniony preparat histopatologiczny, a otrzymany wynik został skorelowany z podaną dawką PS.

Po przeprowadzonej analizie histopatologicznej, wykazano, iż stężenia stosowanych fotouczulaczy w niskiej dawce nie dawały znacznych i satysfakcjonujących wyników. Dlatego też, w terapii PDT wykorzystano fotouczulacze o najwyższym (możliwym na laboratorium) stężeniu, które zaaplikowano do tkanek nowotworowych i zbadano za pomocą MR.

Badania związane z terapią fotodynamiczną zostały wykonane na specjalistycznym aparacie FluoTime 300 „EasyTau”, a wyniki opracowane za pomocą oprogramowania EasyTau.

W terapii PDT wykorzystano cztery różne fotouczulacze, które aplikowano do przygotowanych i zbadanych w MR preparatów.

Na rycinie 5.8. przedstawiono sposób naświetlania próbek w pracowni.



Rycina 5.8. Sposób naświetlania próbki laserem

Natomiast w tabeli 5.1. przedstawiono stężenia przygotowanych fotouczulaczy oraz długości fali światła laserowego stosowanego w PDT dla poszczególnych roztworów. PS został wstrzyknięty do preparatów i poddany terapii fotodynamicznej. Tkanki naświetlano laserem o długości fali $\lambda = 532\text{nm}$ i 665nm , z mocą 350 mW, z odległości 10 cm, aby zapobiec nagrzewaniu się próbek. Każdą próbkę z roztworem PS przepuszczano przez 2 minuty czystym tlenem, a następnie stosowano próbki o objętości 1ml. Następnie próbki leczone PDT przygotowano i poddano ocenie histopatologiczno-patomorfologicznej.

Tabela 5.1. Stężenia przygotowanych fotouczulaczy i długości fali światła laserowego stosowanego w PDT dla poszczególnych roztworów

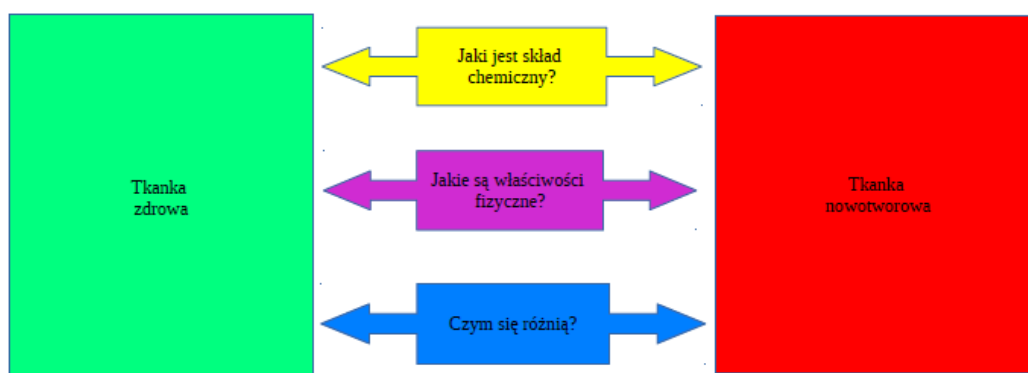
Nazwa fotouczulacza	Stężenie [mM/L]	Długość fali światła laserowego λ [nm]
Róż Bengalski	0.01	532
	0.02	
	0.03	
	0.04	
	0.05	
Sól disodowa protoporfiryny IX	1	665
	2	
	3	
Dichlorek ftalocyjaniny krzemu	0.0003 w CH ₂ Cl ₂	532
	0.0006 w CH ₂ Cl ₂	
	0.0012 w CH ₂ Cl ₂	
Chlorowodorek kwasu 5-aminolewulinowego	0.001	532
	0.002	
	0.003	

6. WYNIKI

W eksperymencie zastosowano MR oraz PDT do tych samych próbek w celu:

- rozróżnienia komórek zdrowych i nowotworowych;
- rozróżnienia komórek zdrowych, nowotworowych oraz nowotworowych po terapii PDT;
- rozróżnienia komórek żywych i martwych.

Dodatkowo zastosowano naprzemienne procedury MR-PDT i PDT-MR w celu skrócenia czasu pomiaru efektów leczenia przy użyciu PS. Na rycinie 6.1. przedstawiono identyfikowane parametry fizyko-chemiczne w tkankach o różnej fizjologii.



Rycina 6.1. Charakterystyka parametrów fizyko-chemicznych tkanki zdrowej i tkanki nowotworowej

Podczas gdy obrazowanie jakościowe daje jedynie informacje oparte na kontraście przekrojowym, podejście ilościowe idzie dalej i opisuje przebieg sygnałów procesów w ustandaryzowany sposób liczbowy. Relaksacja T_1 , T_2 , parametry dyfuzyjno-perfuzyjne, prędkość krwi, stężenia metabolitów, transfer magnetyzacji i wiele innych parametrów można określić ilościowo za pomocą MR. Dokładne określenie pożądanych efektów umożliwia bardziej szczegółowy wgląd i ustandaryzowaną podstawę porównania, charakterystyki tkanek i obserwacji. Do kwantyfikacji potrzebne jest bardziej szczegółowe podejście. Generalnie odbywa się to w sposób analizowania serii obrazów jakościowych, gdzie przebieg czasowy zmiany sygnału jest kontrolowany przez zmianę parametru obrazowania. Dopasowanie zmiany sygnału do zmiany parametru jest zwykłym sposobem uzyskiwania parametru ilościowego. Obrazowanie metodą MR w tkankach ma tę

istotną zaletę, że ewolucję modelowanej patologii można śledzić *in vitro*. Skomplikowane zmiany sygnału wykryte w patologiach człowieka (np. dyfuzja wielowykładnicza) można modelować, a tło tych zmian sygnału można wyjaśnić za pomocą morfologii.

Cały eksperyment był nowatorskim podejściem, którego celem było opracowanie narzędzia informatycznego do uniwersalnego użytku w diagnostyce i leczenia raka piersi do zastosowania w wersji webowej lub mobilnej. Wytworzony system ekspertowy umożliwia łatwą analizę skomplikowanych parametrów rezonansu magnetycznego przez lekarza lub pacjenta. Wypracowane narzędzie informatyczne było i jest uniwersalne na zasadzie dostępności. System może monitorować stan pacjenta poprzez zapamiętywanie oraz rozpoznanie. Innowacja polega na przetworzeniu informacji ilościowej rezonansu magnetycznego i wygenerowaniu rozpoznania.

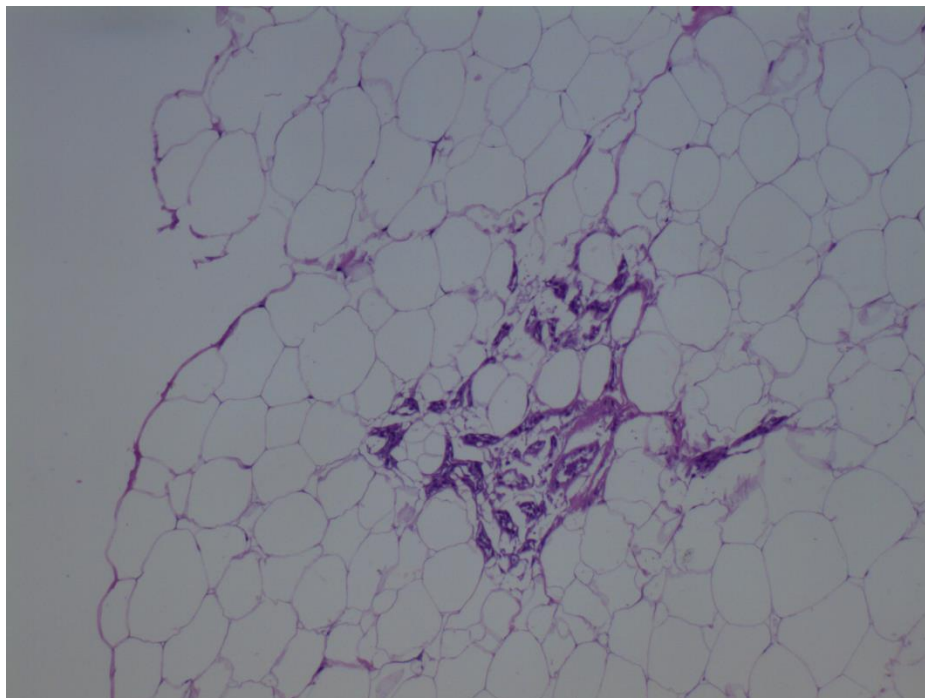
Przedmiotem prac badawczych, świadczącym o innowacyjności produktu, było opracowanie nowego zestawu narzędzi informatycznych mających stanowić kompleksowe wsparcie zespołów naukowych w zakresie zaawansowanej analityki danych magnetycznego rezonansu jądrowego dla wspierania diagnozowania i personalizowania leczenia raka piersi. Opracowanie zestawu narzędzi pozwoliło na wdrożenie nowego produktu, jakim był ekspertowy system do analizy danych pozyskanych z tkanek raka piersi metodą obrazowania przy użyciu MR.

6.1. Histopatologia tkanek zdrowych i nowotworowych

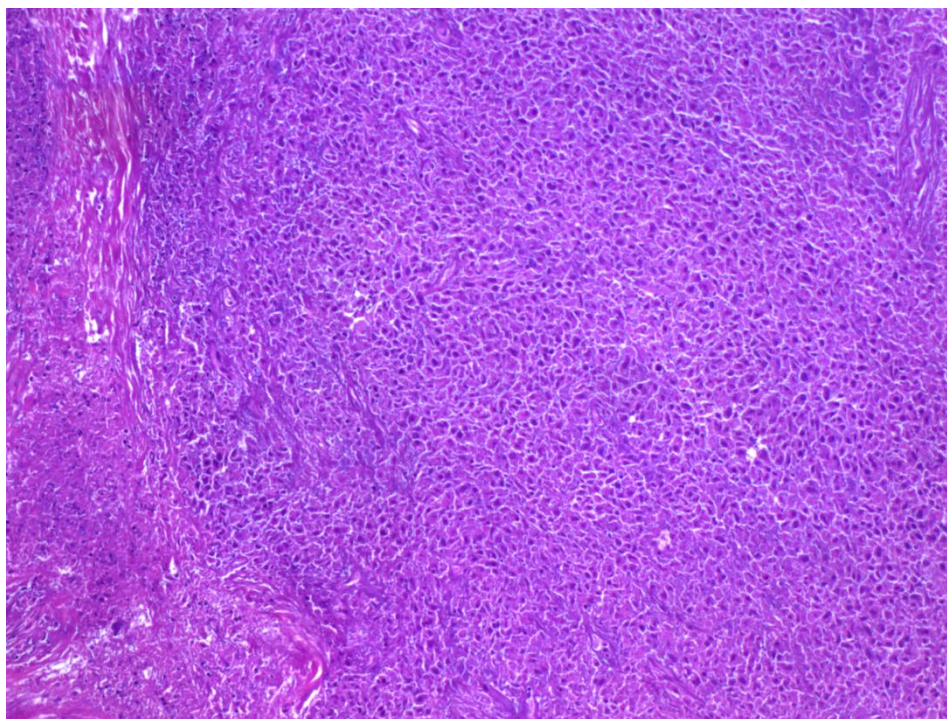
Pobrane preparaty w wyniku zabiegu biopsyjnego odpowiednio przygotowane zostały poddane analizie histopatologicznej. Na rycinach przedstawiono obrazy histopatologiczne tkanek zdrowych oraz tkanek nowotworowych, które zostały pobrane od pacjentek z rakiem piersi. Z grupy pacjentek z rozpoznanym rakiem piersi, które wykazały chęć wzięcia udziału w badaniu wytypowano 30 z guzami wielkości powyżej 1.5cm.

Z materiału pooperacyjnego pobrano wycinki wielkości ok. 1 cm zawierające utkanie nowotworu. Wycinki te pobrano z obwodowej części guza, aby zminimalizować ryzyko pobrania martwiczo zmienionych fragmentów, które najczęściej występują w jego części centralnej. Fragmenty tkankowe niezwłocznie

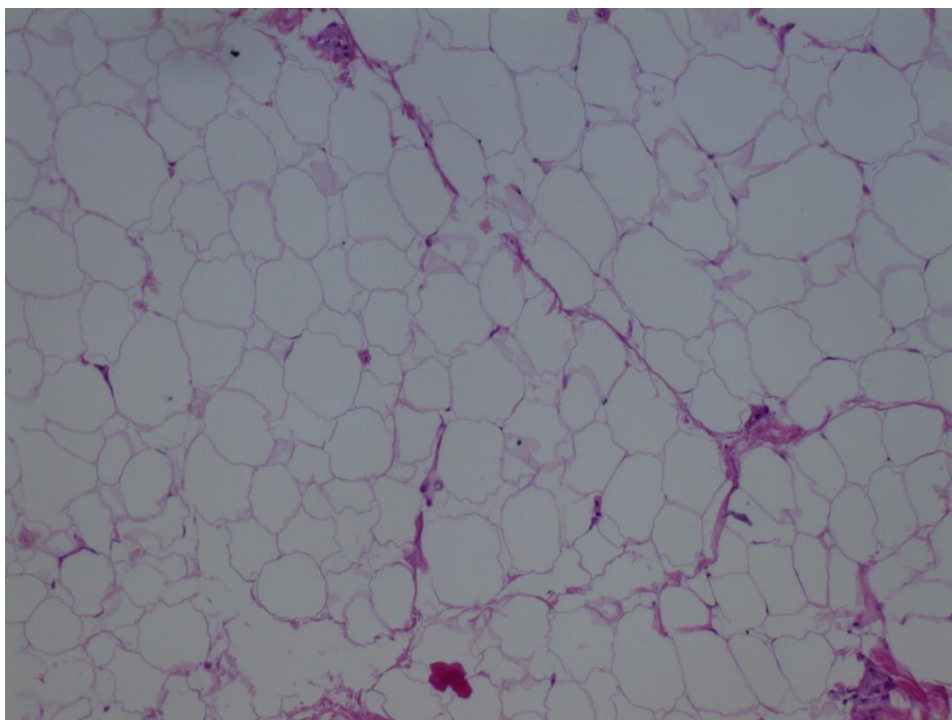
po pobraniu zamrożono w kriostacie, aby uniknąć autolizy, a następnie przechowywano w temperaturze poniżej -72°C . Na rycinach 6.2.-6.21. przedstawiono obrazy tkanek zdrowych oraz tkanek nowotworowych pacjentek.



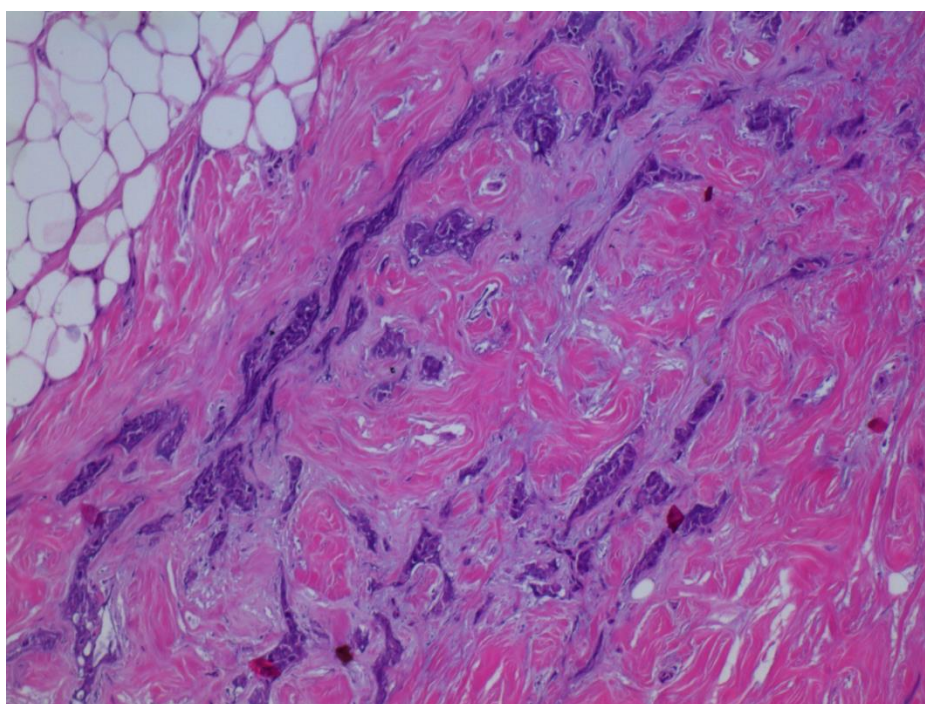
Rycina 6.2. Tkanka zdrowa pacjentki



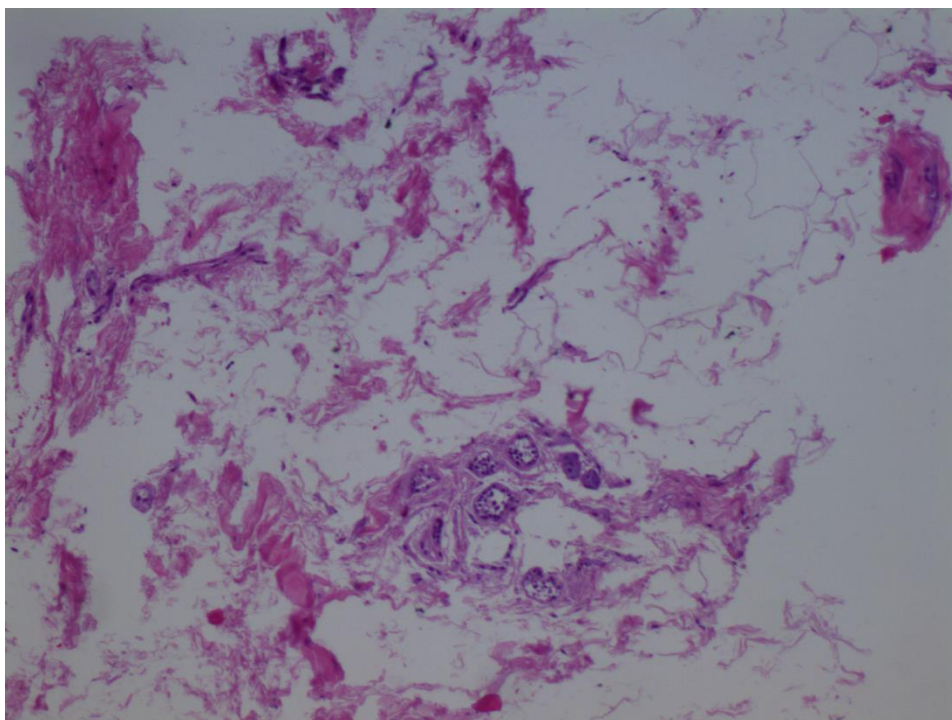
Rycina 6.3. Tkanka nowotworowa pacjentki



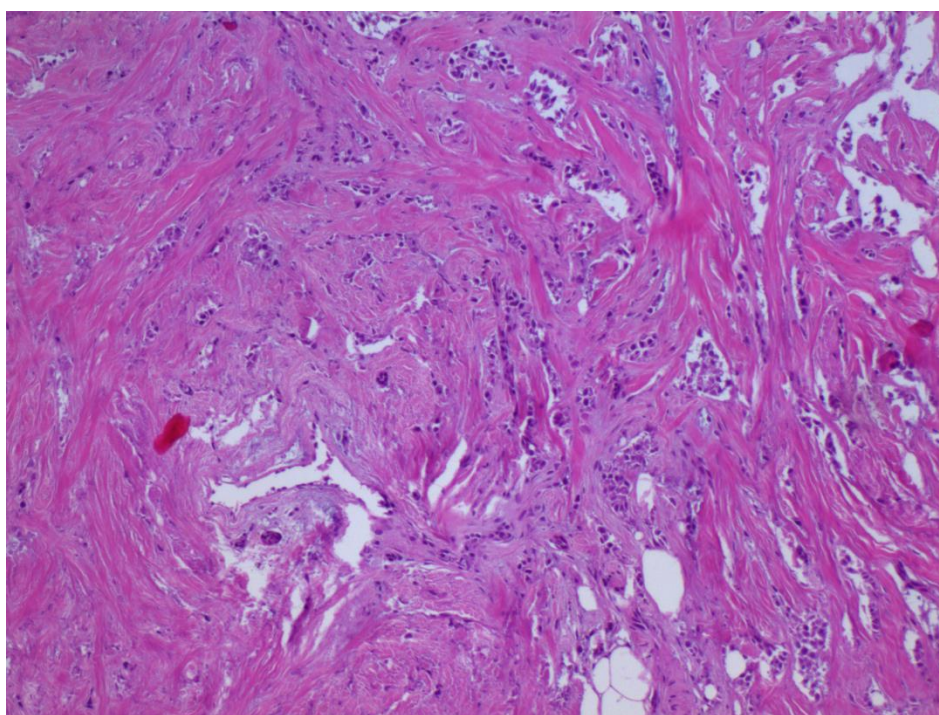
Rycina 6.4. Tkanka zdrowa pacjentki



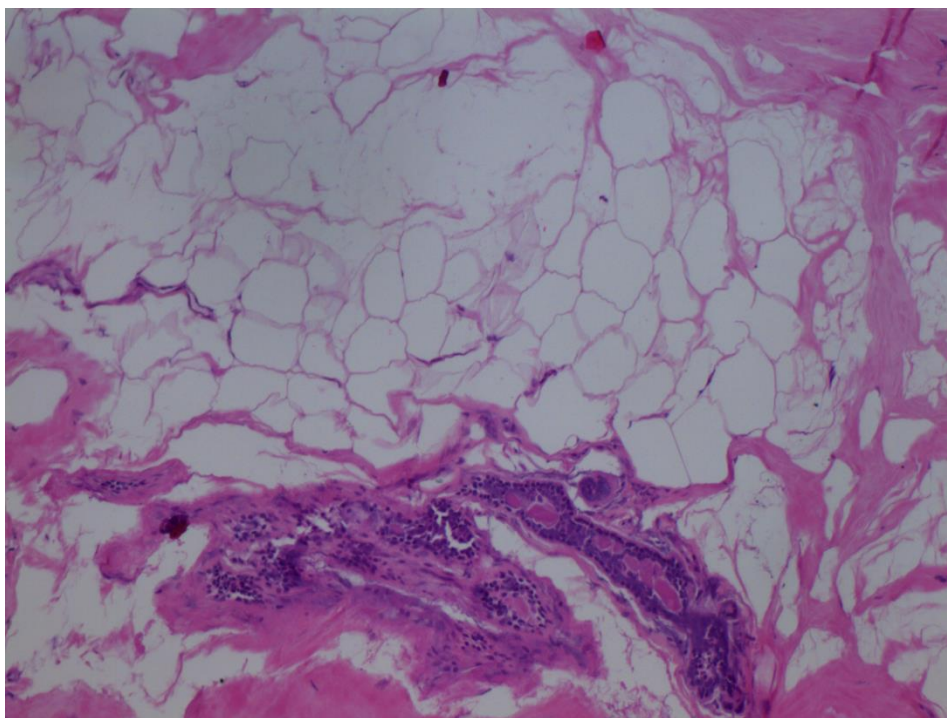
Rycina 6.5. Tkanka nowotworowa pacjentki



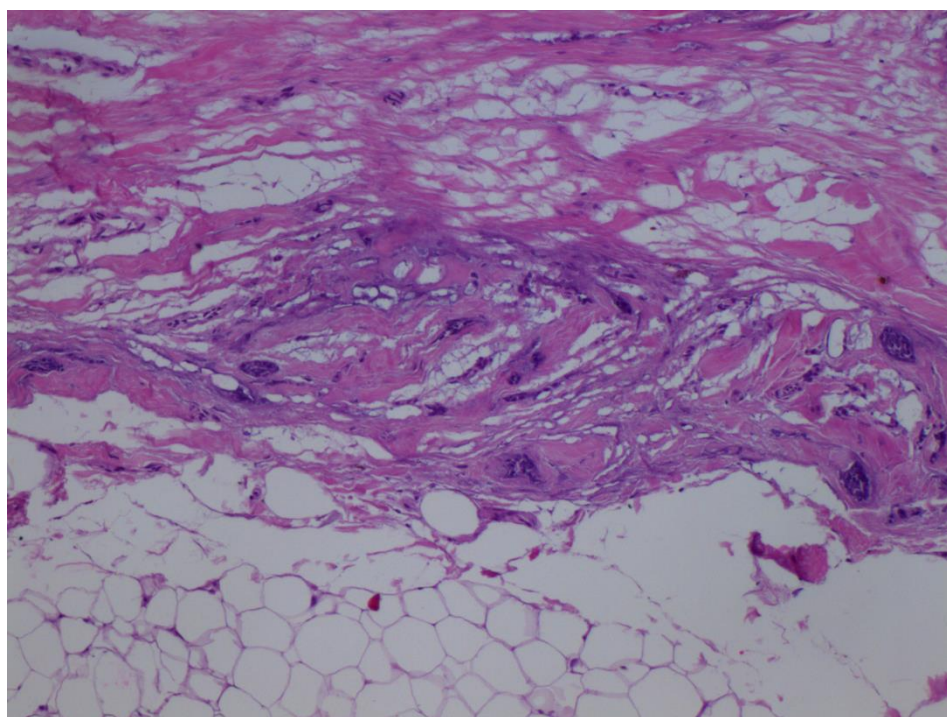
Rycina 6.6. Tkanka zdrowa pacjentki



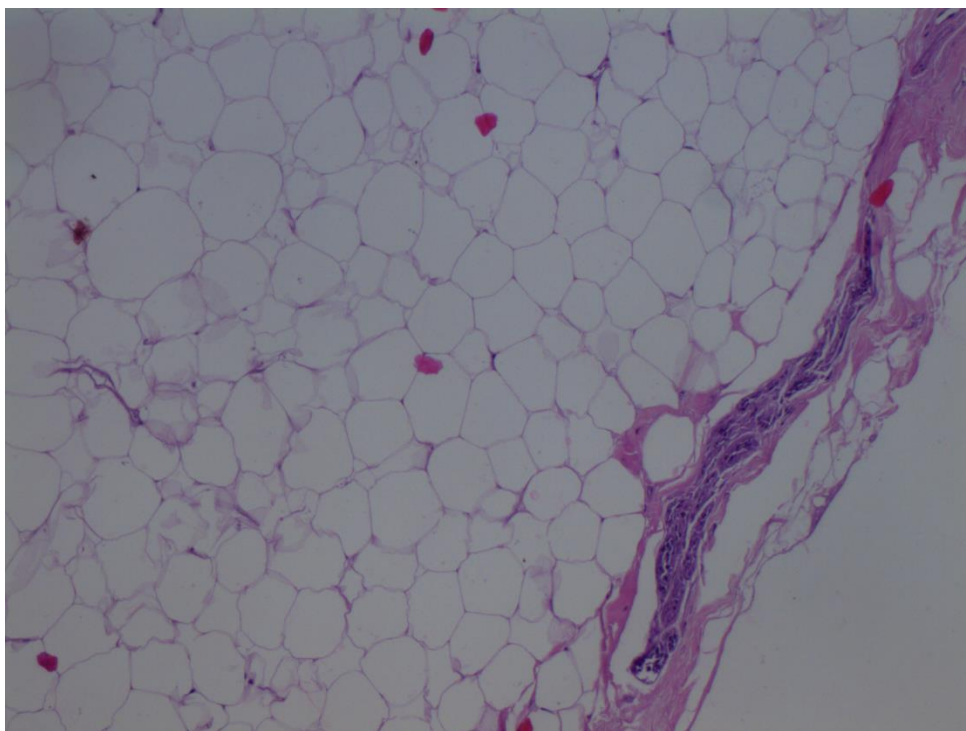
Rycina 6.7. Tkanka nowotworowa pacjentki



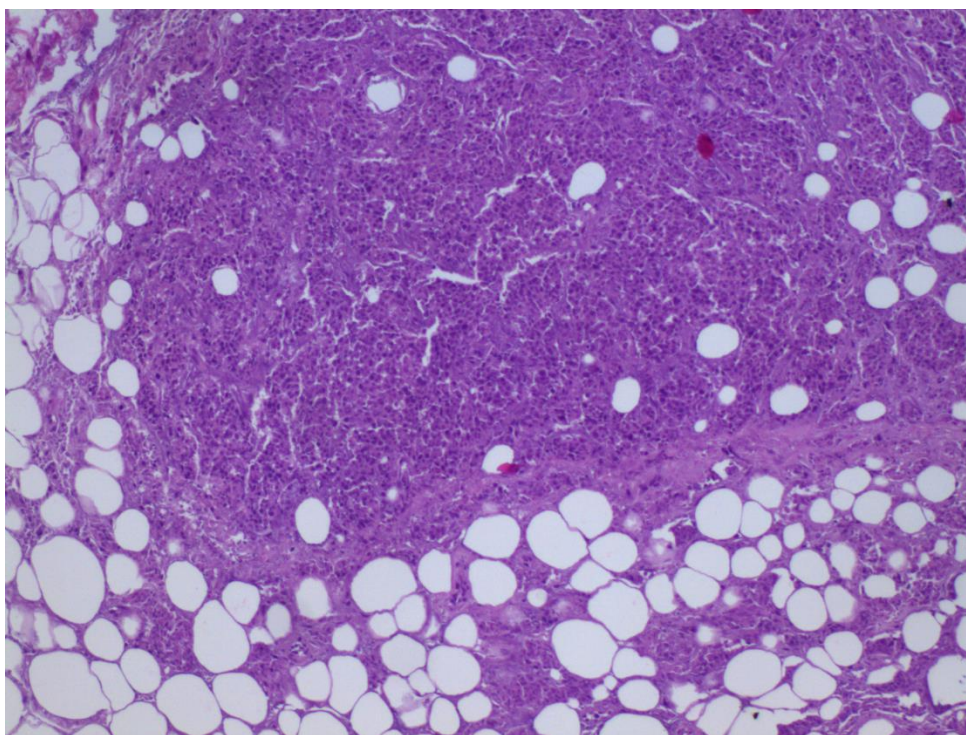
Rycina 6.8. Tkanka zdrowa pacjentki



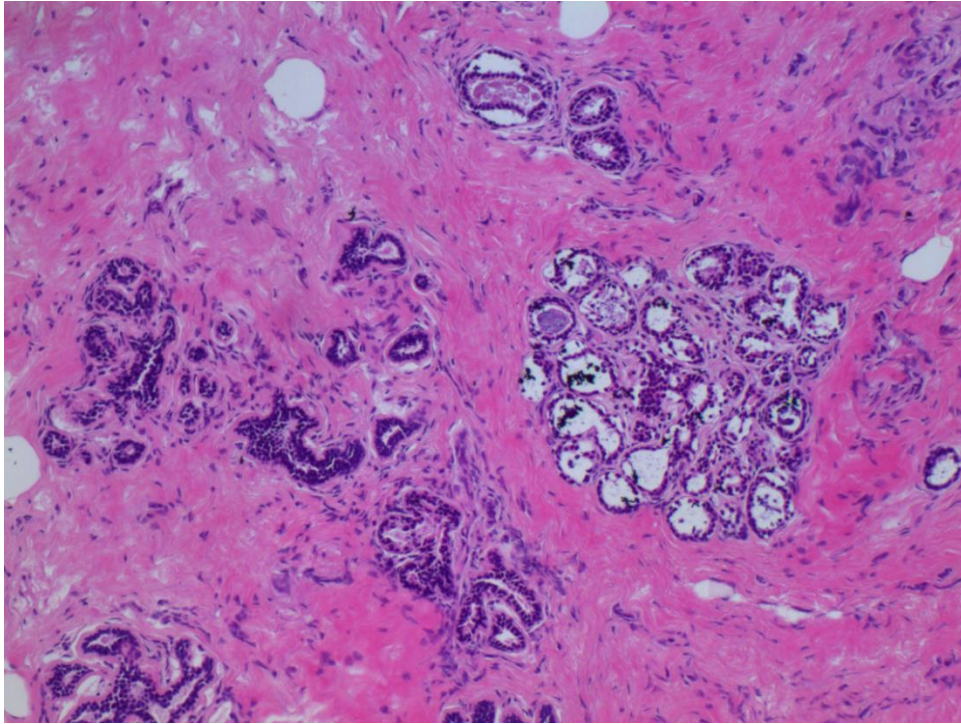
Rycina 6.9. Tkanka nowotworowa pacjentki



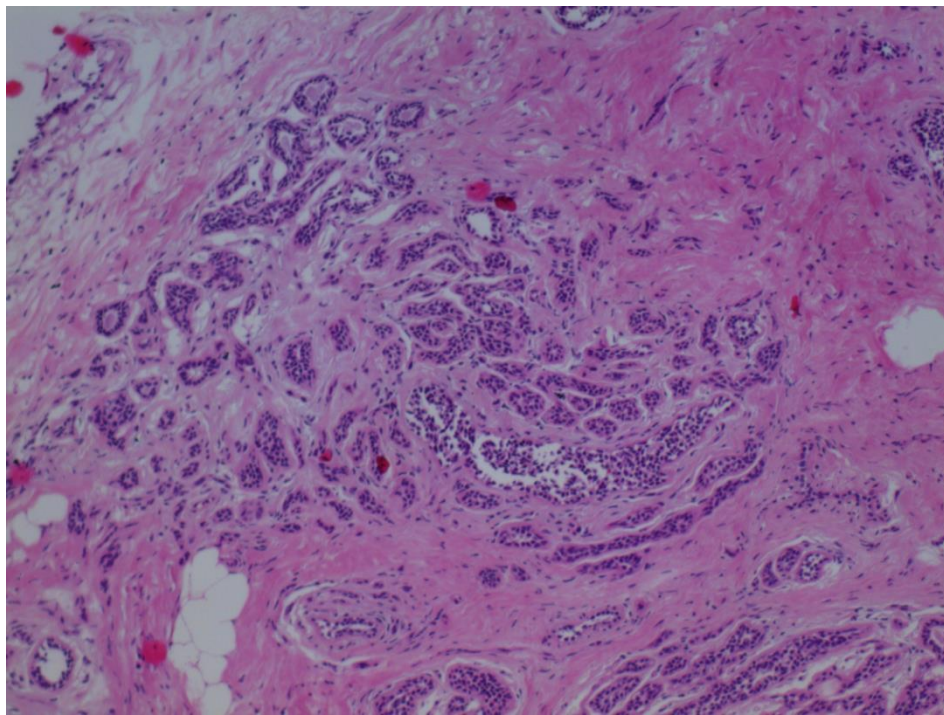
Rycina 6.10. Tkanka zdrowa pacjentki



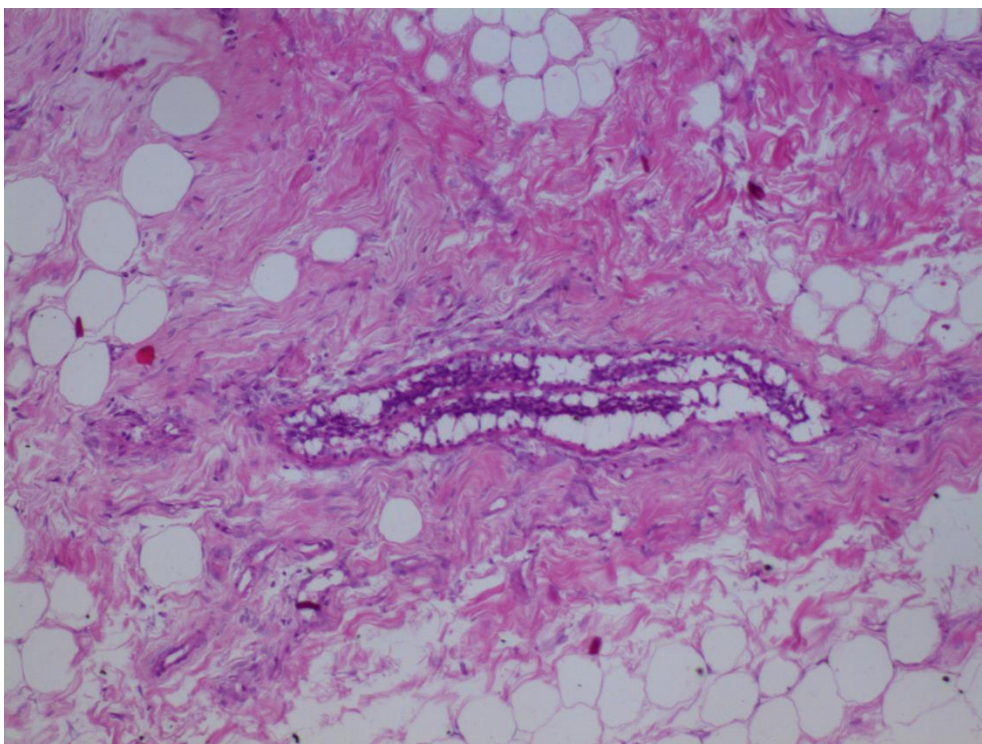
Rycina 6.11. Tkanka nowotworowa pacjentki



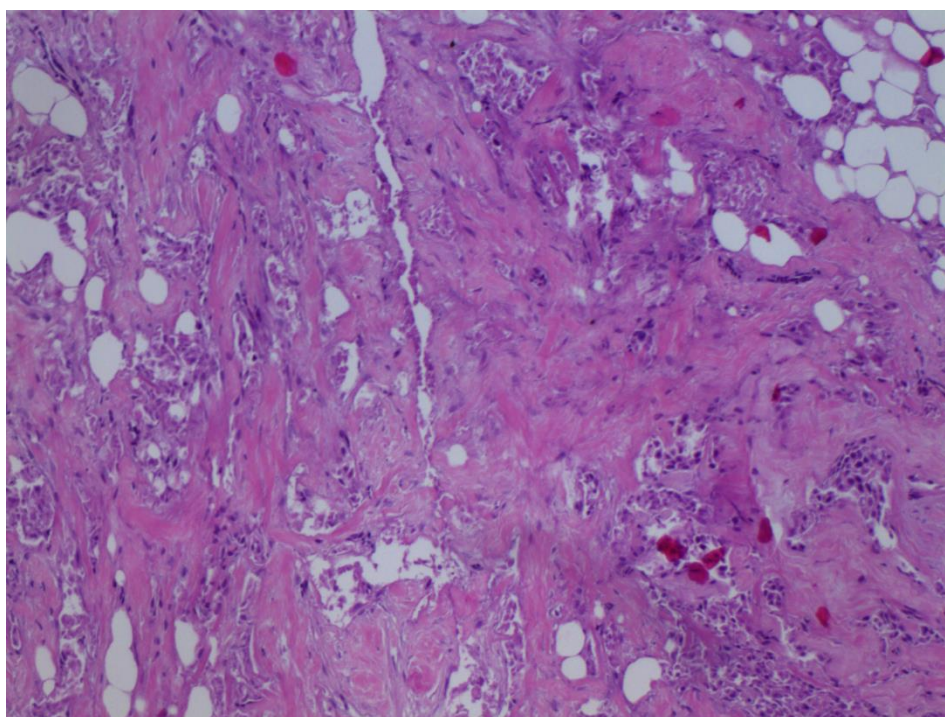
Rycina 6.12. Tkanka zdrowa pacjentki



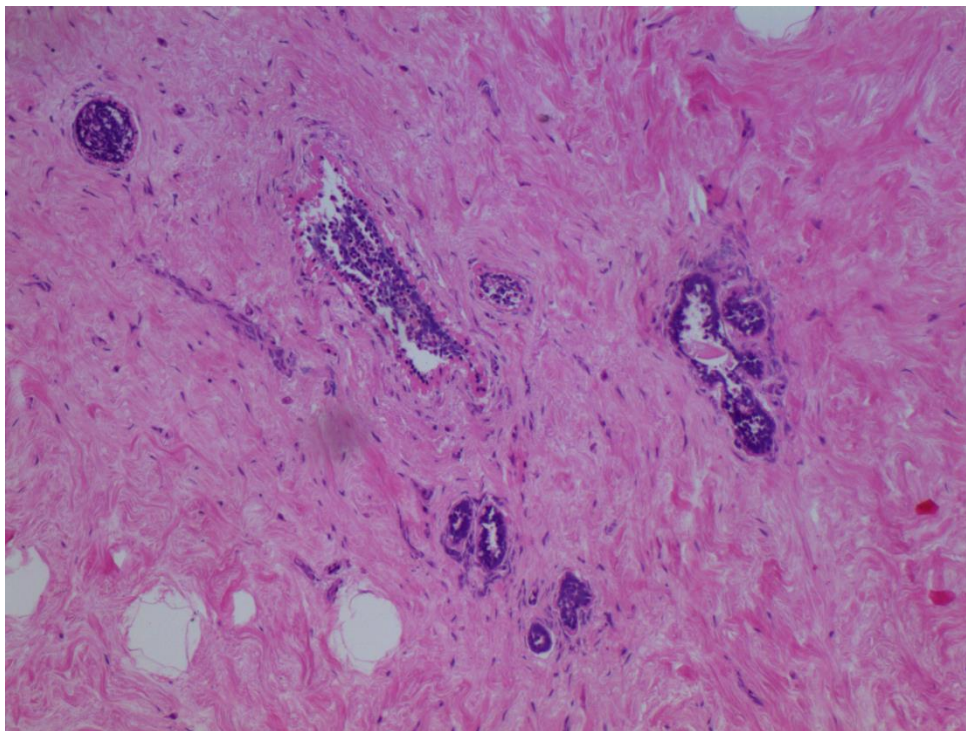
Rycina 6.13. Tkanka nowotworowa pacjentki



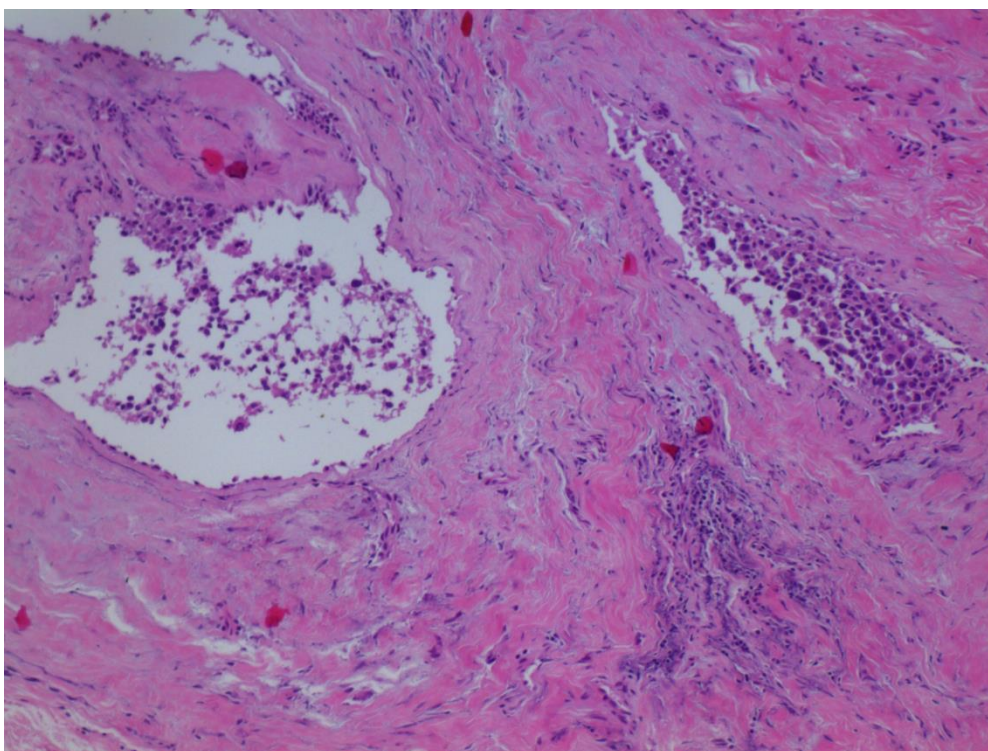
Rycina 6.14. Tkanka zdrowa pacjentki



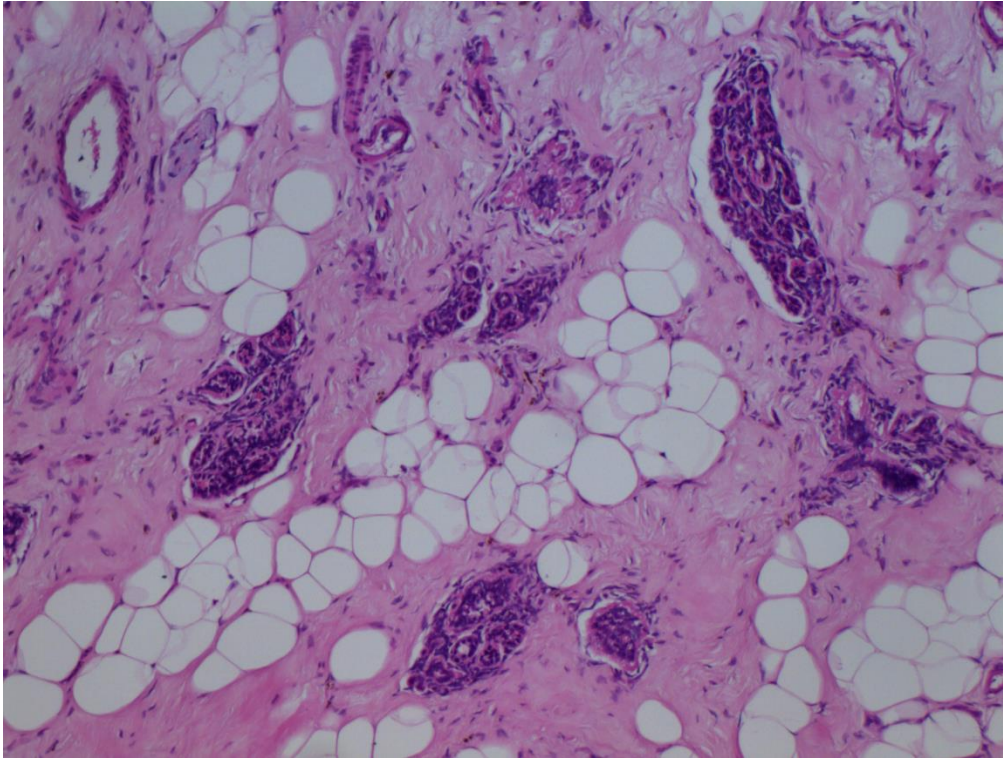
Rycina 6.15. Tkanka nowotworowa pacjentki



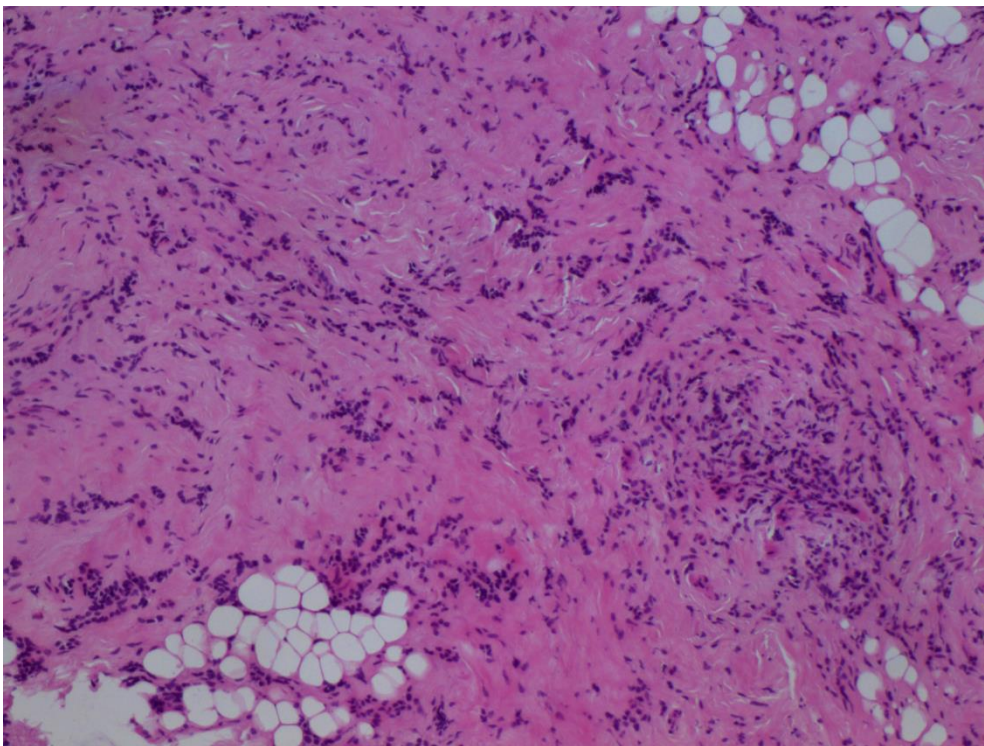
Rycina 6.16. Tkanka zdrowa pacjentki



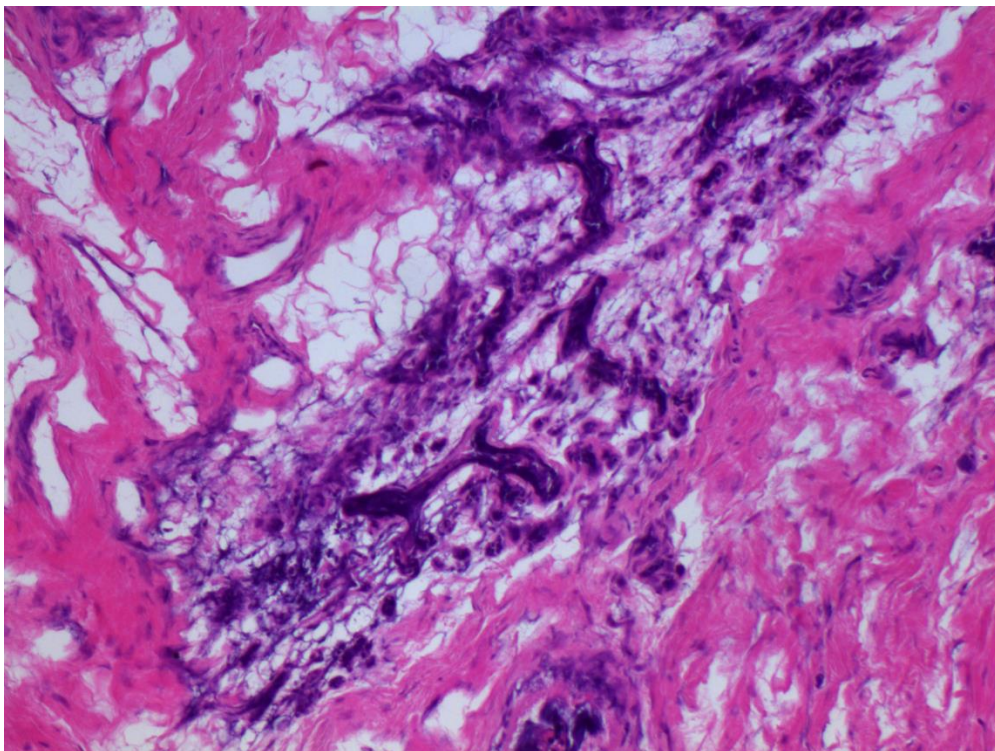
Rycina 6.17. Tkanka nowotworowa pacjentki



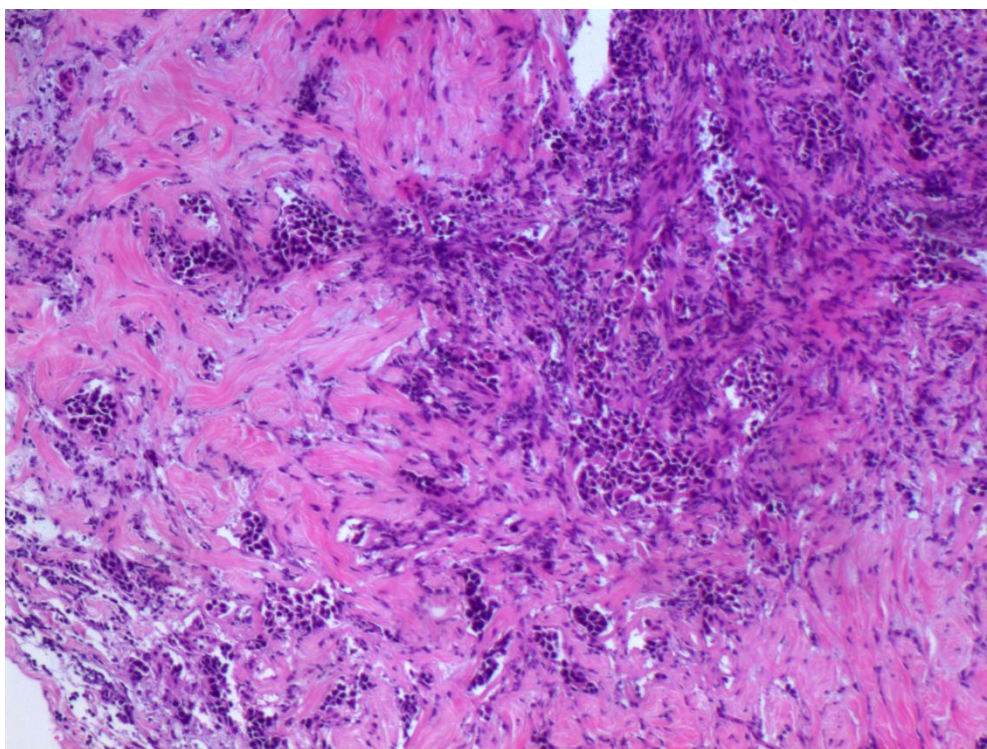
Rycina 6.18. Tkanka zdrowa pacjentki



Rycina 6.19. Tkanka nowotworowa pacjentki



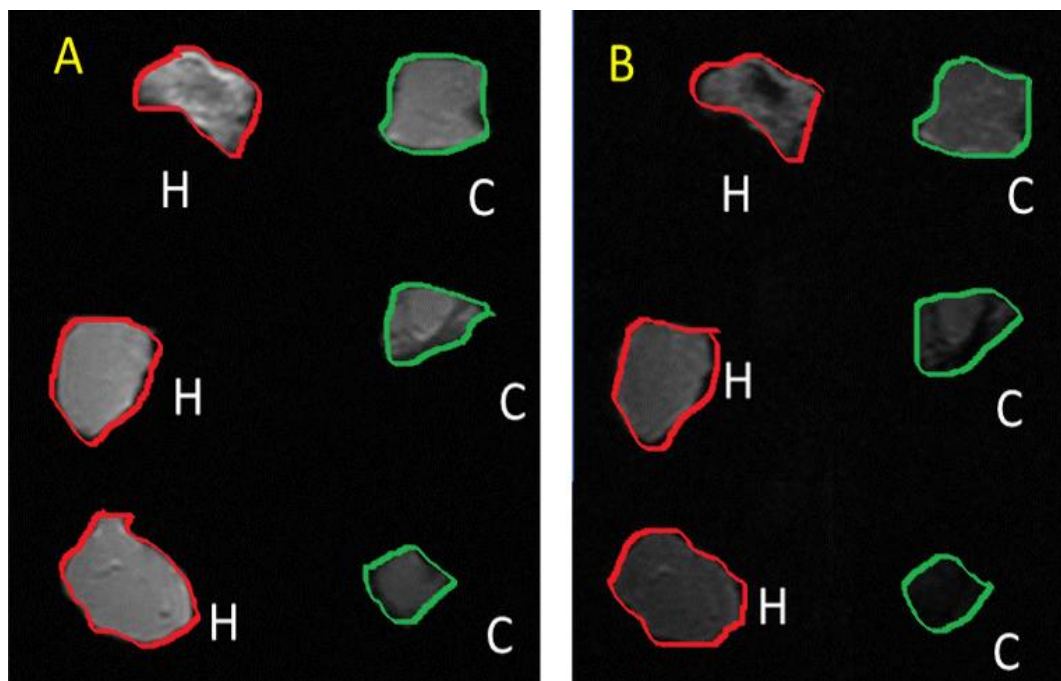
Rycina 6.20. Tkanka zdrowa pacjentki



Rycina 6.21. Tkanka nowotworowa pacjentki

6.2. Pomiar Magnetycznym Rezonansem Jądrowym tkanek zdrowych i nowotworowych

Aplikację pomiaru MR zastosowano do próbek tkanki raka piersi *in vivo*. Skany MR wykonano dla zdrowych i nowotworowych wycinków. Region zainteresowania (ROI) został wybrany w obrazowanej tkance w celu obliczenia wartości T_1 i T_2 . Pomiar ROI zostały wybrane bardzo blisko tkanek. Na rycinie 6.22. przedstawiono przykładowy obraz DICOM MR próbek. Obraz A uzyskano przy użyciu parametrów czasowych: TE= 3ms TR= 15 000ms. Natomiast na obrazie B przedstawiono zwizualizowane próbki czasem TE= 85ms i czasem TR= 10 000ms.



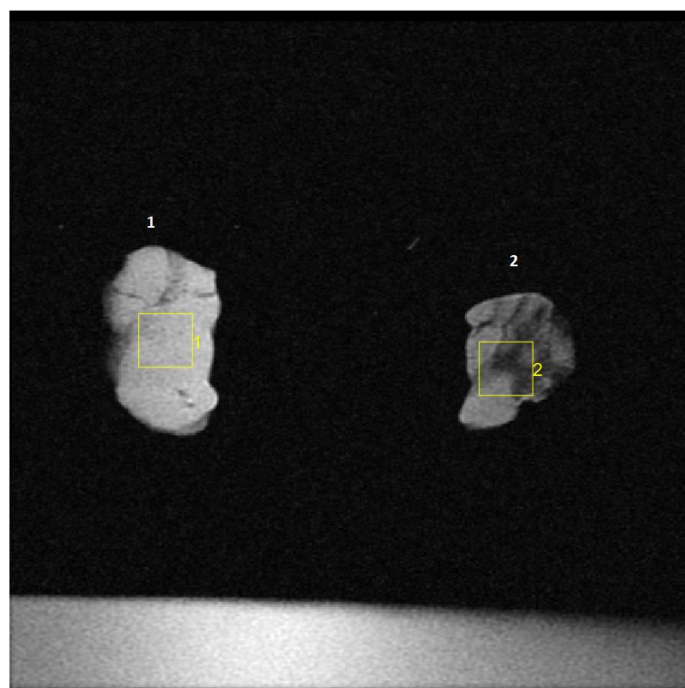
Rycina 6.22. Przykładowy obraz DICOM w próbkach zdrowych (H) oraz nowotworowych (C). Obszar ROI został wybrany na podstawie geometrii tkanek

W tabeli 6.1. przedstawiono uśrednione wyniki czasów relaksacji T_1 i T_2 tkanek zdrowych oraz tkanek nowotworowych.

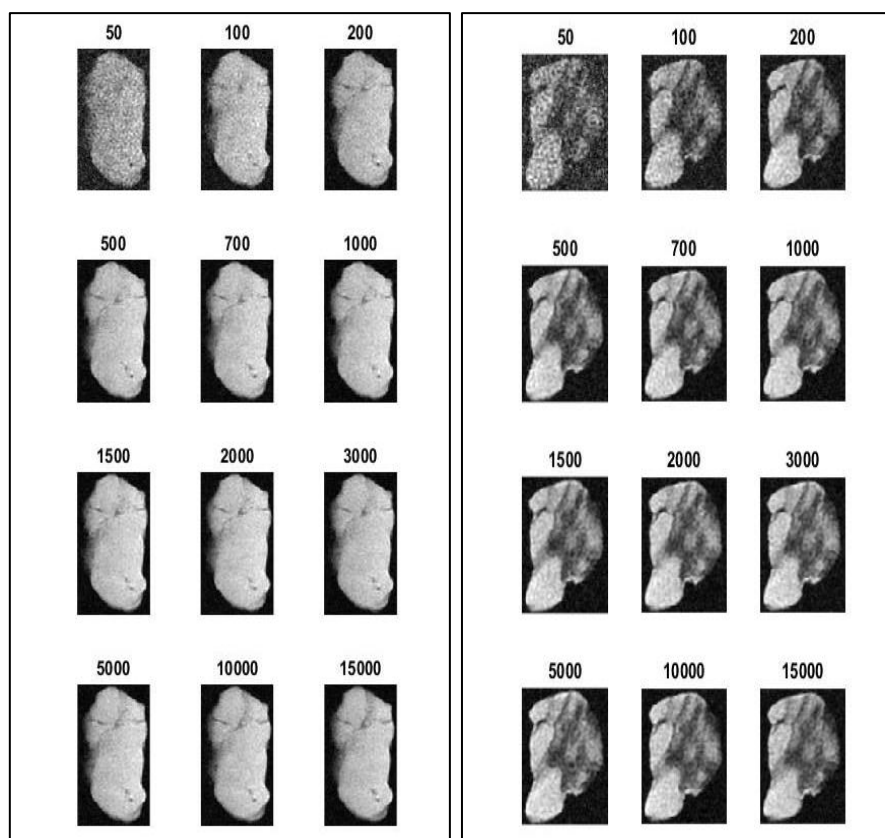
Tabela 6.1. Uśrednione wyniki czasów relaksacji dla próbek tkanek zdrowych i tkanek nowotworowych *in vitro* bez leczenia

Typ tkanki	Liczba próbek	Czas T_1 [ms]	Niepewność [ms]	Czas T_2 [ms]	Niepewność [ms]
Zdrowa	30	475	± 21	71	± 5
Nowotworowa	30	1456	± 11	54	± 2

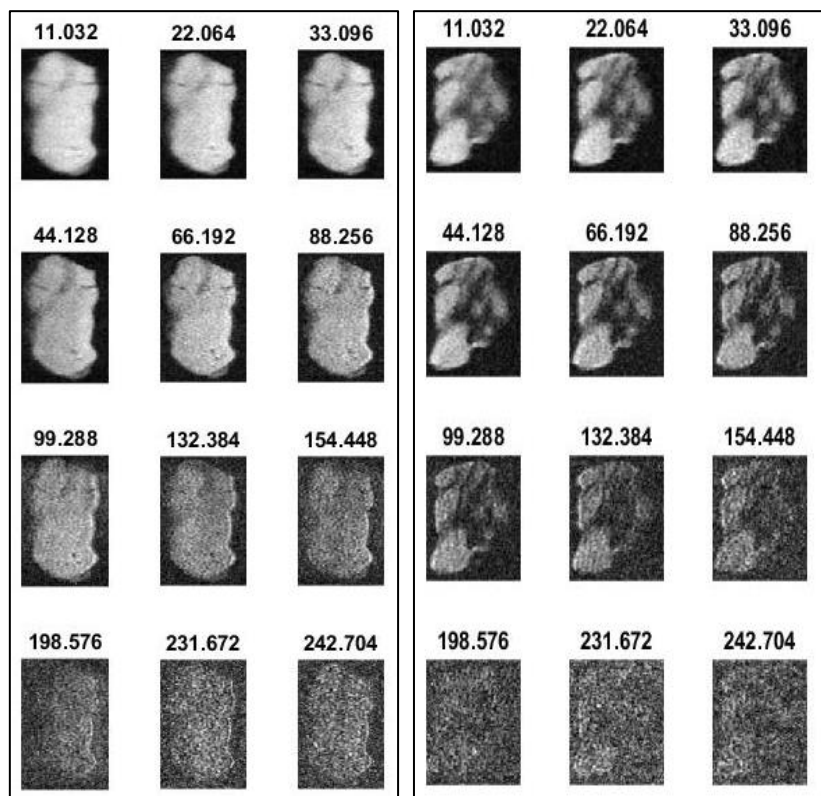
Otrzymane dane z badania MR (obrazy DICOM) wykorzystano w celu wykonania wykresów oraz mapy czasów relaksacji T_1 i T_2 . Na rycinach 6.23.-6.58. przedstawiono otrzymane obrazy z badania MR czterech grup tkanek zdrowych.



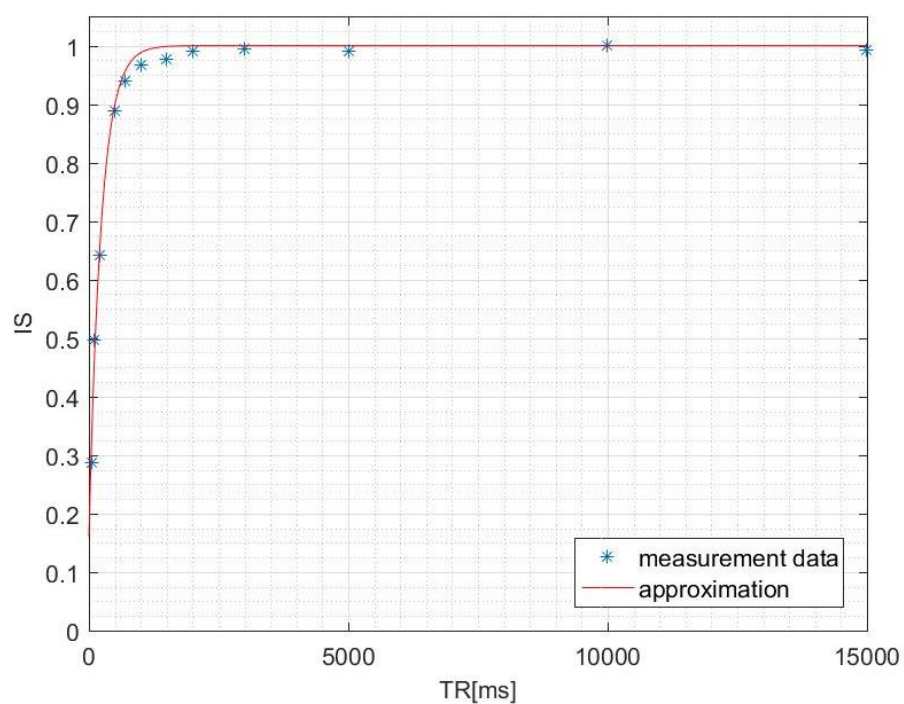
Rycina 6.23. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek



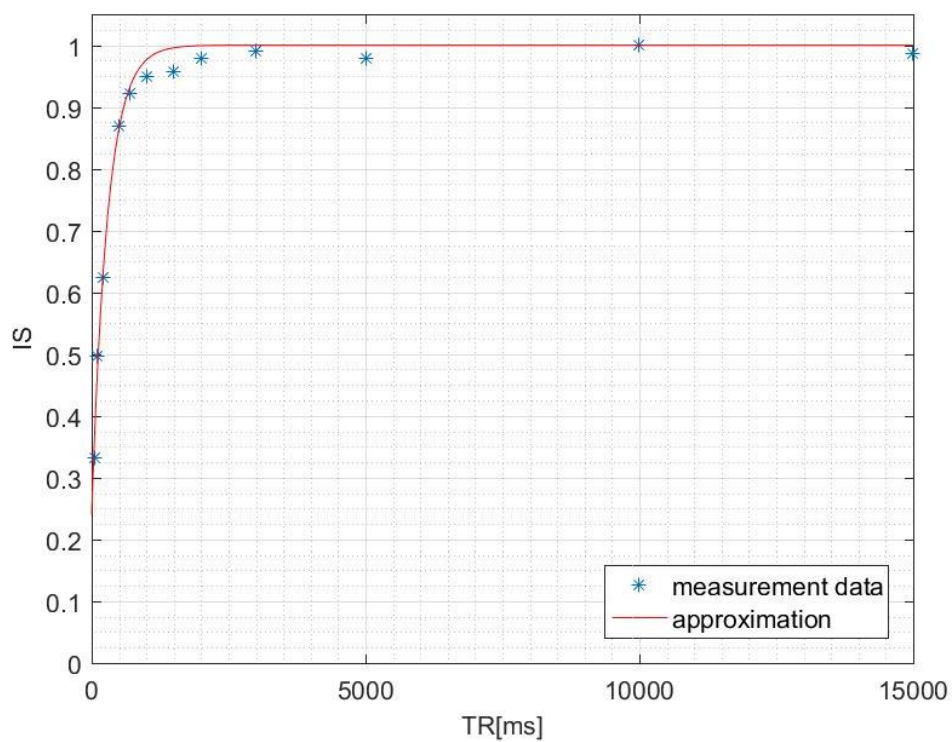
Rycina 6.24. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek



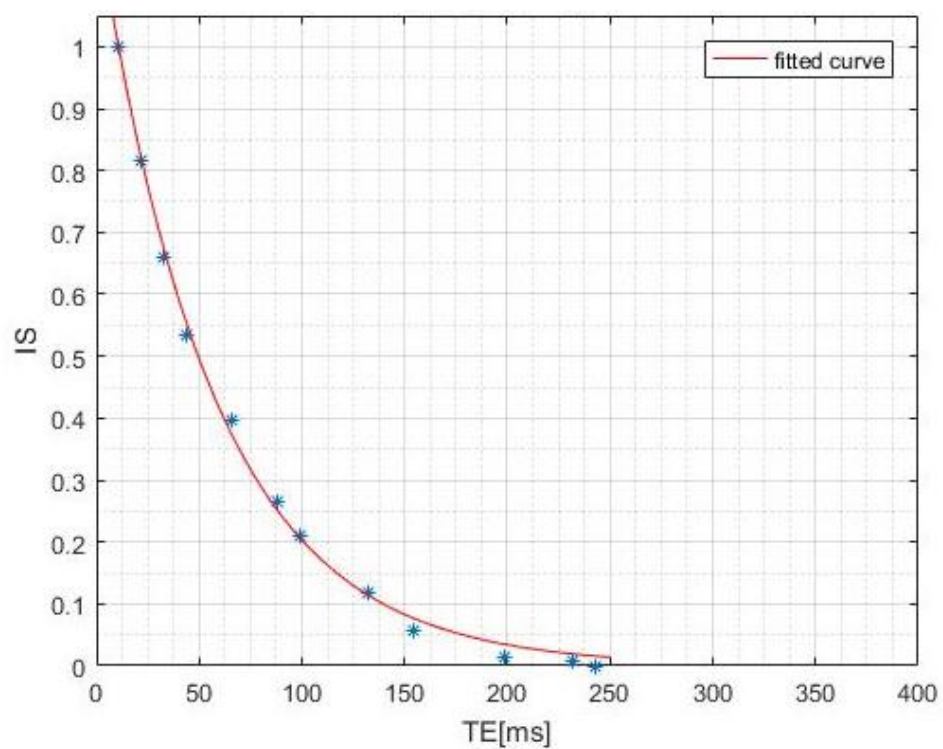
Rycina 6.25. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek



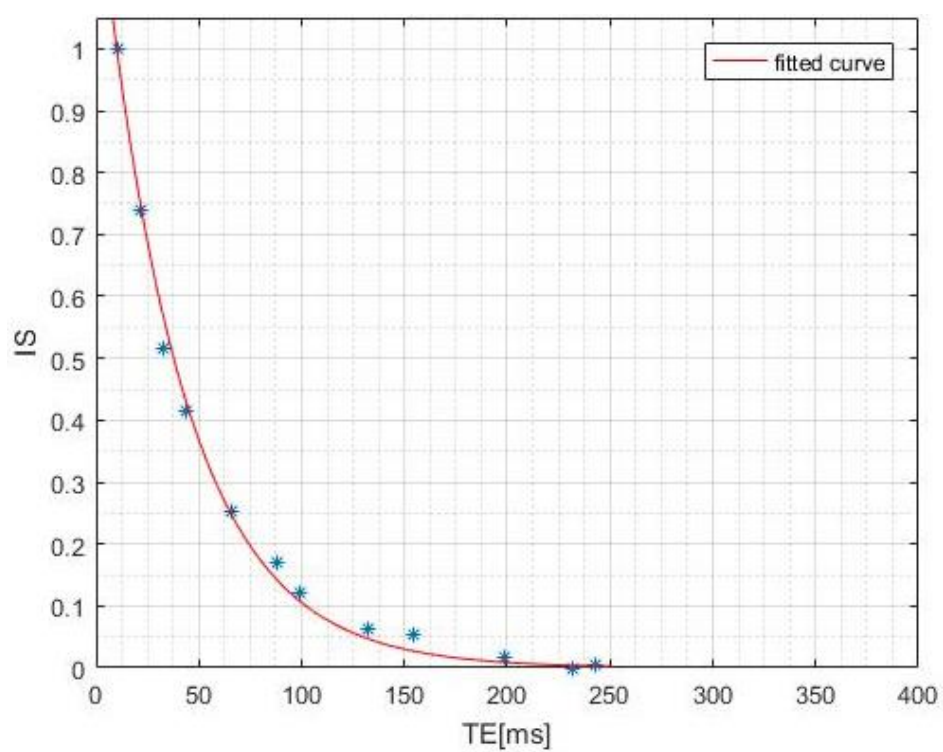
Rycina 6.26. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 1



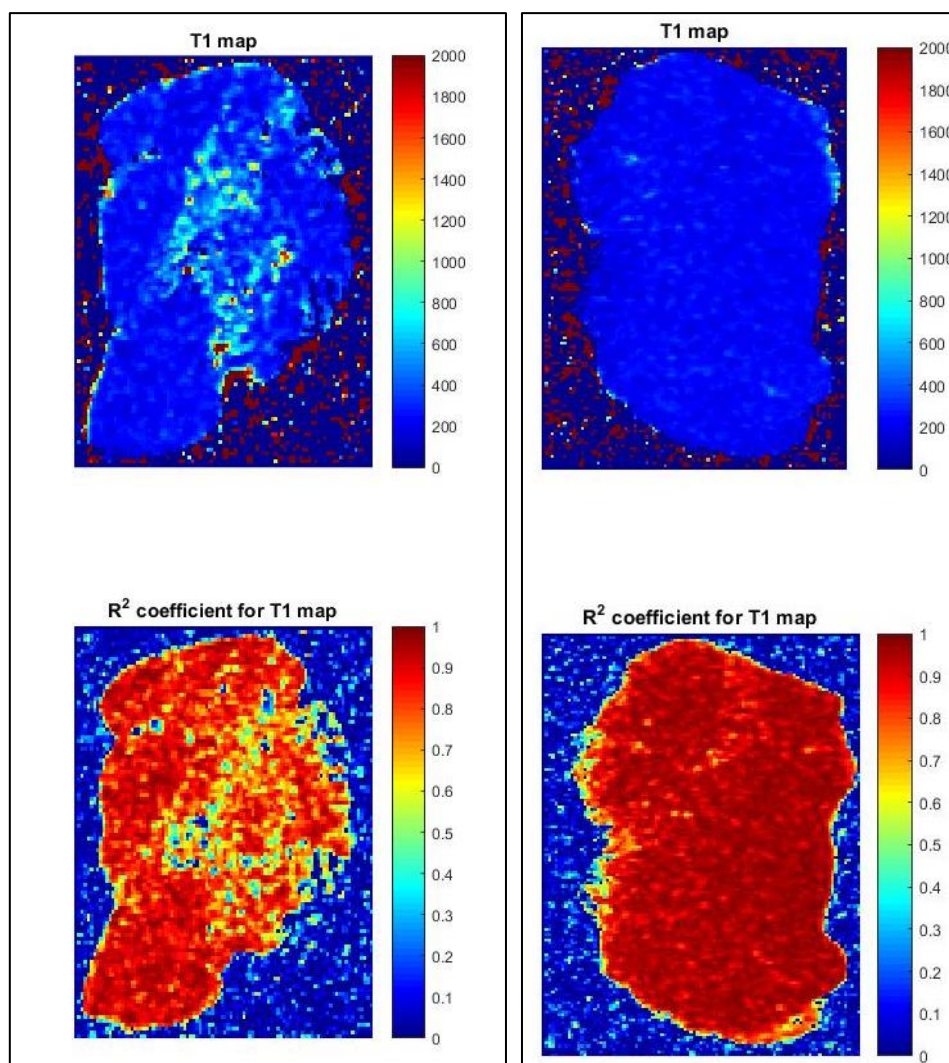
Rycina 6.27. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 2



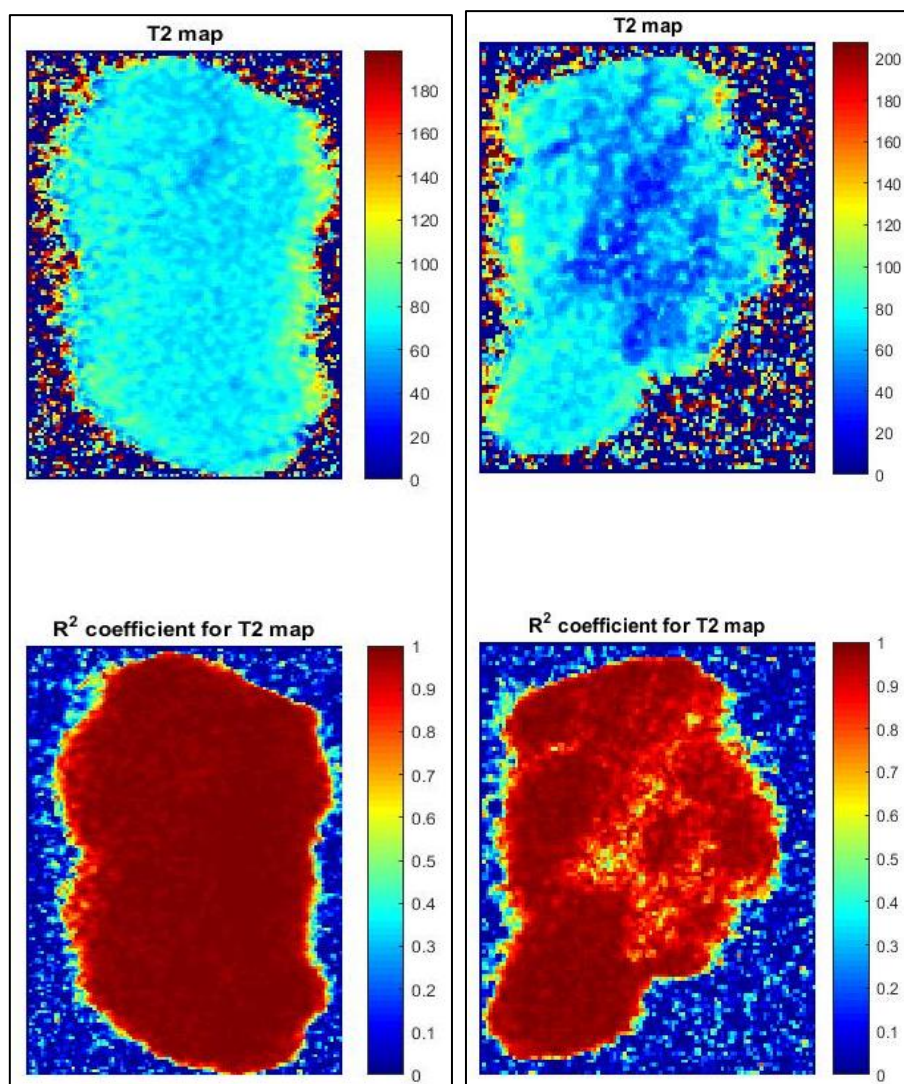
Rycina 6.28. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 1



Rycina 6.29. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 2



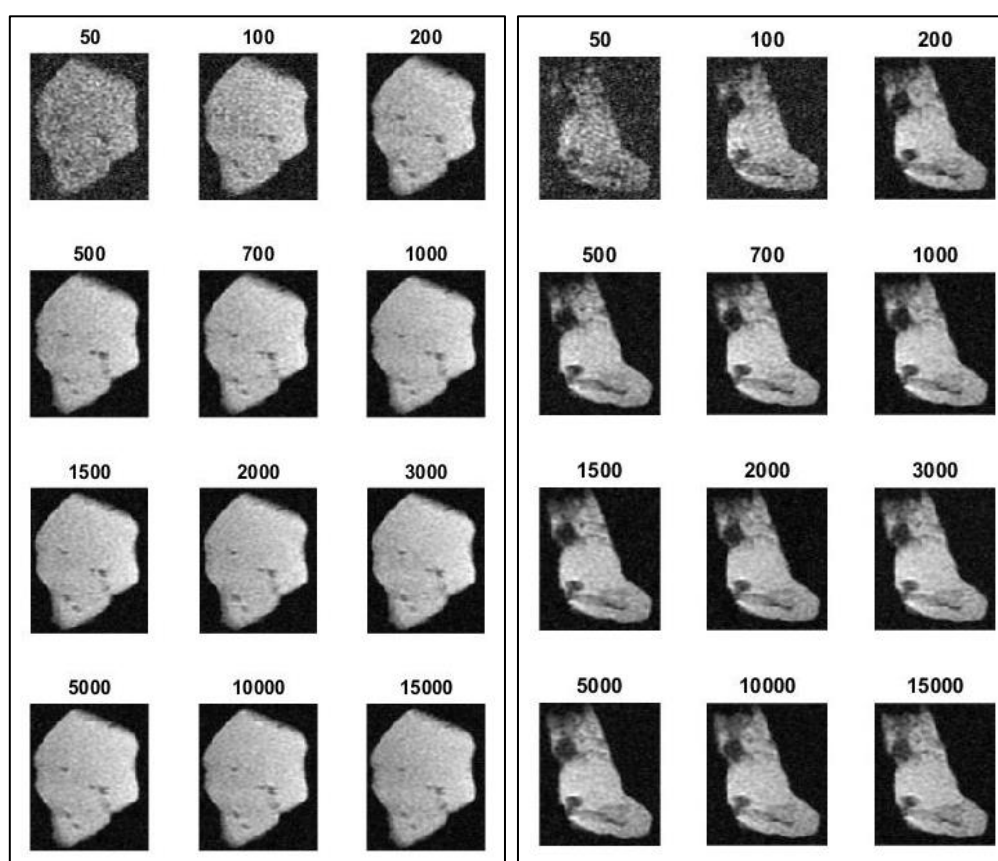
Rycina 6.30. Mapa T_1 próbek



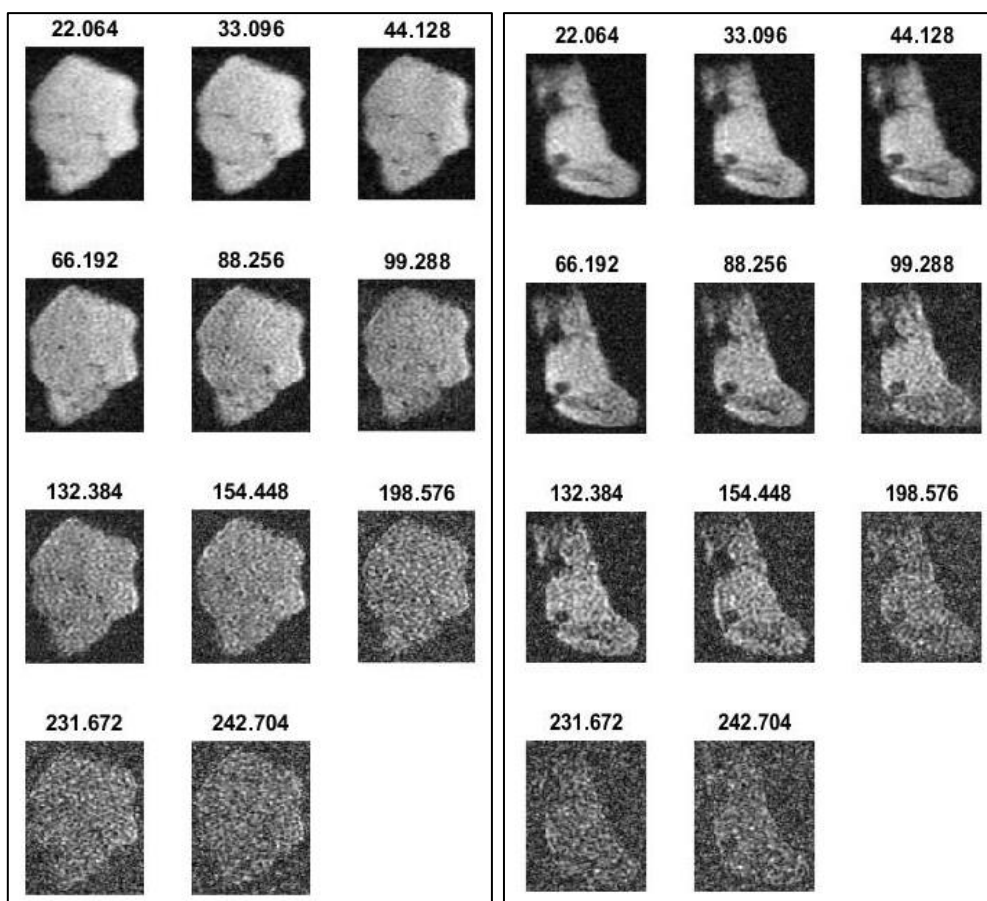
Rycina 6.31. Mapa T_2 próbek



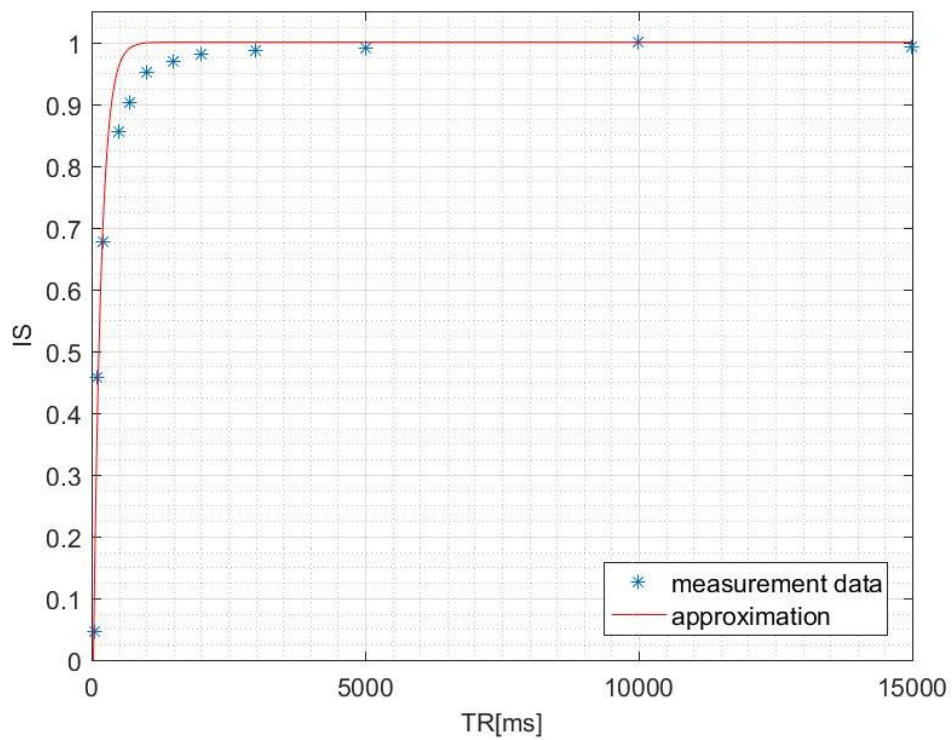
Rycina 6.32. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek



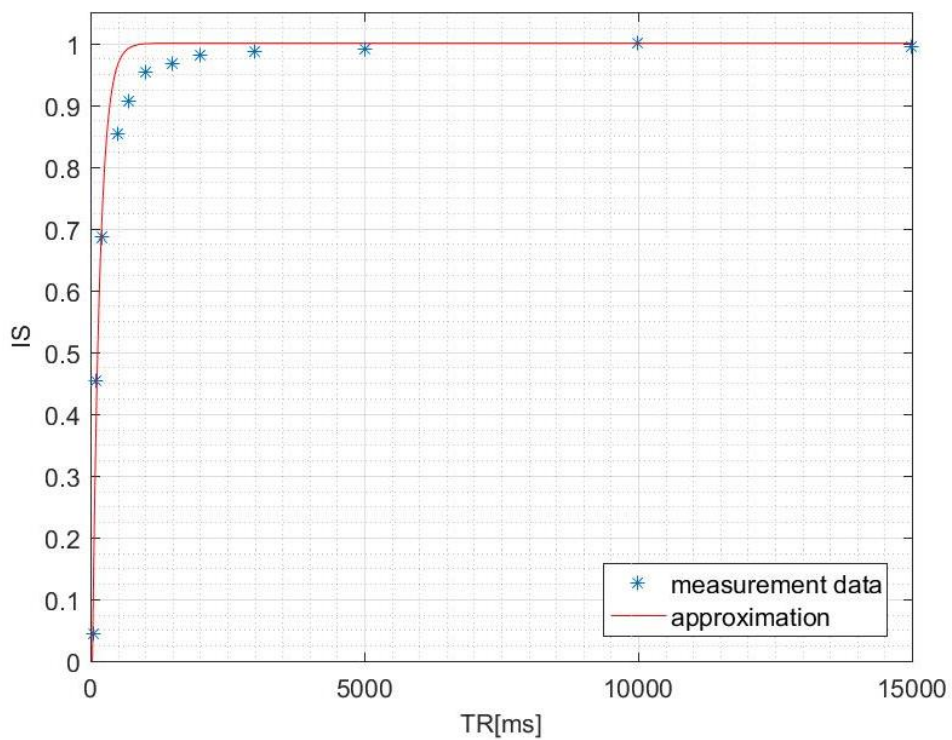
Rycina 6.33. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek



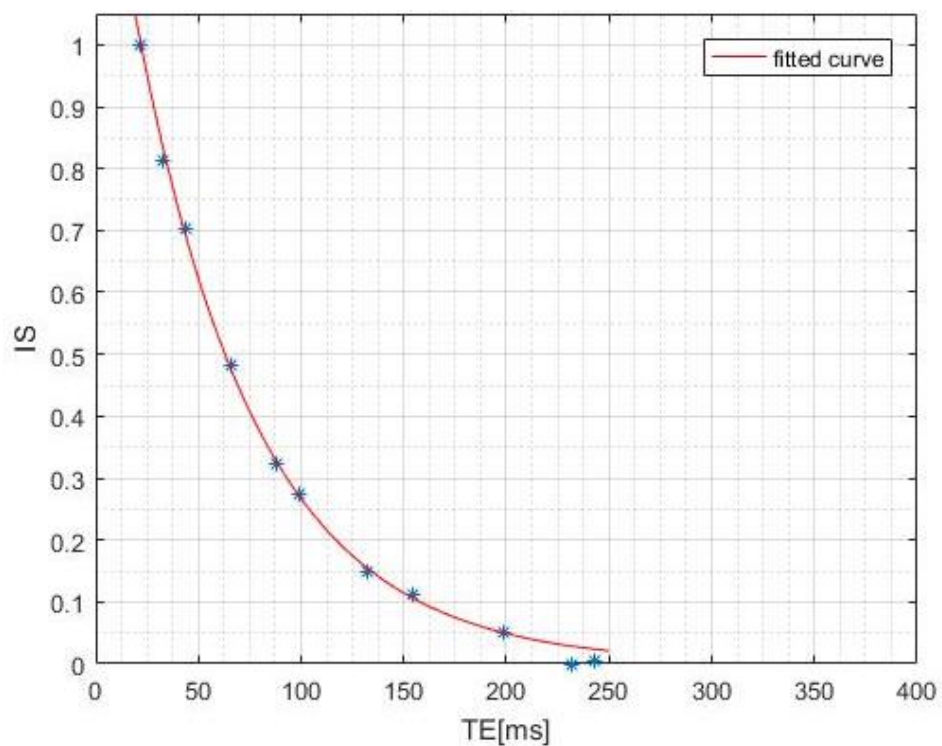
Rycina 6.34. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek



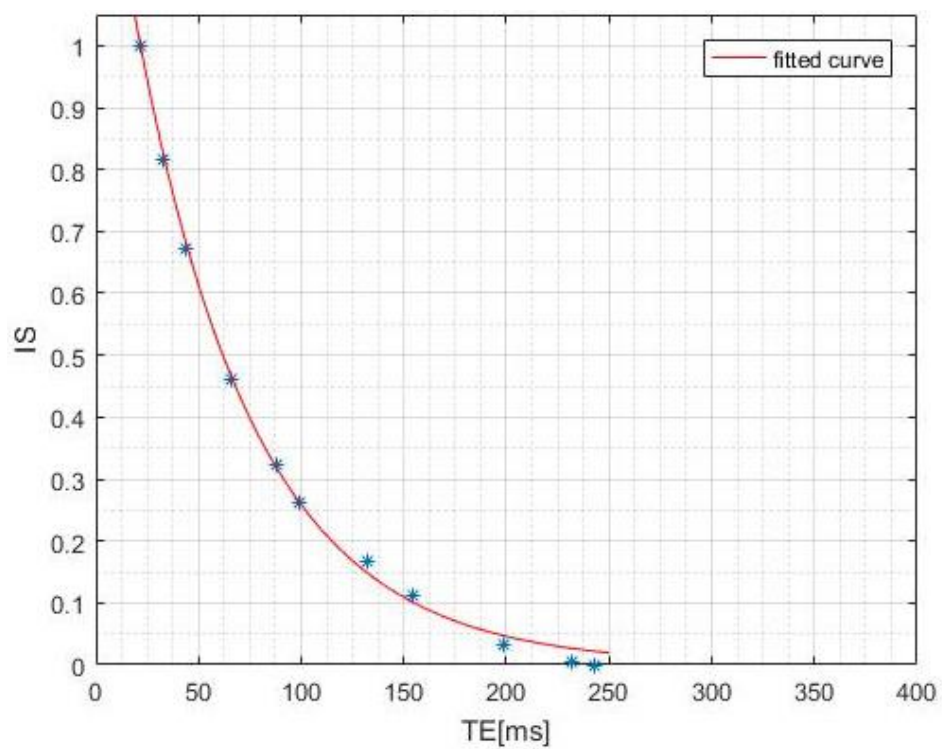
Rycina 6.35. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 3



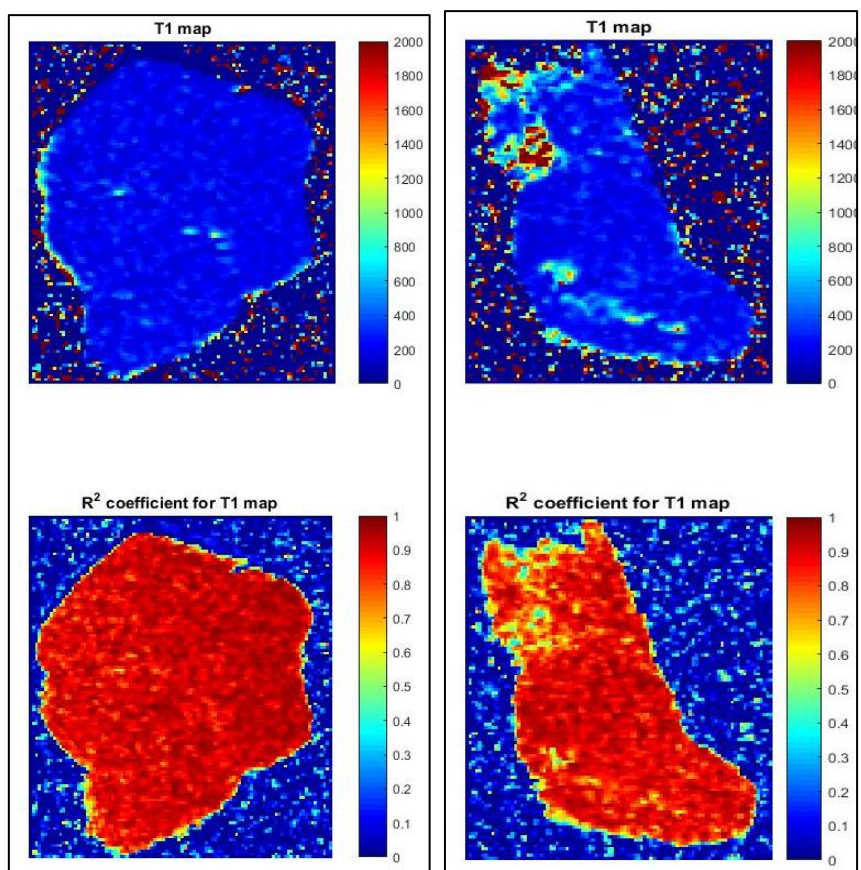
Rycina 6.36. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 4



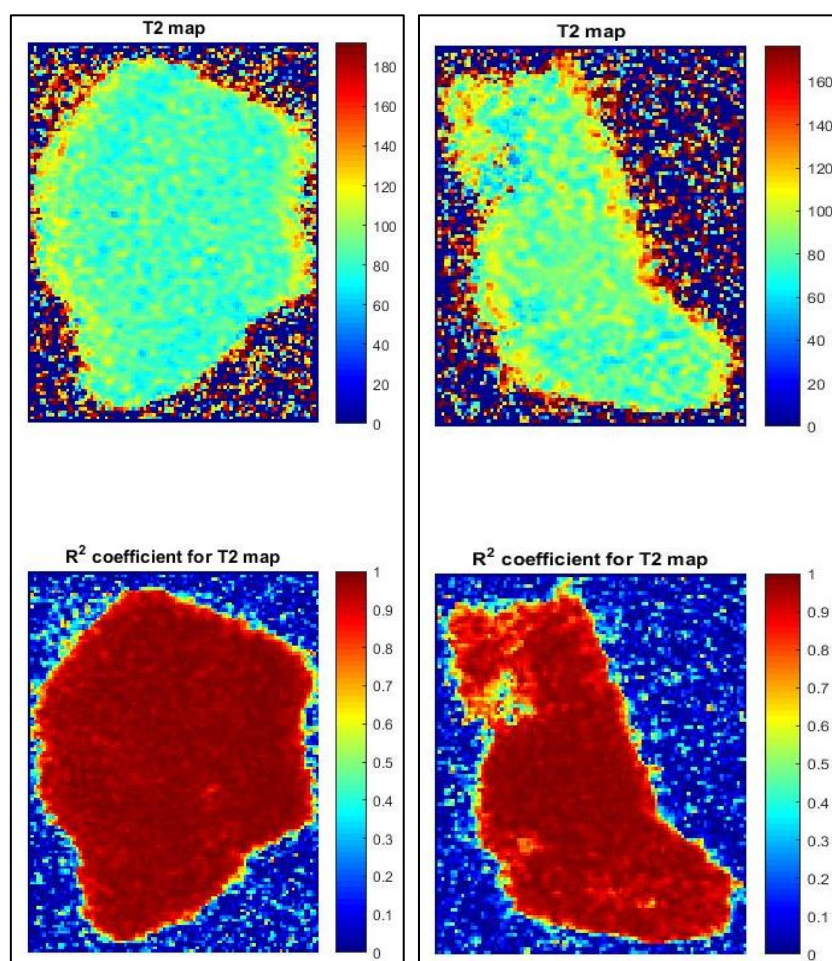
Rycina 6.37. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 3



Rycina 6.38. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 4



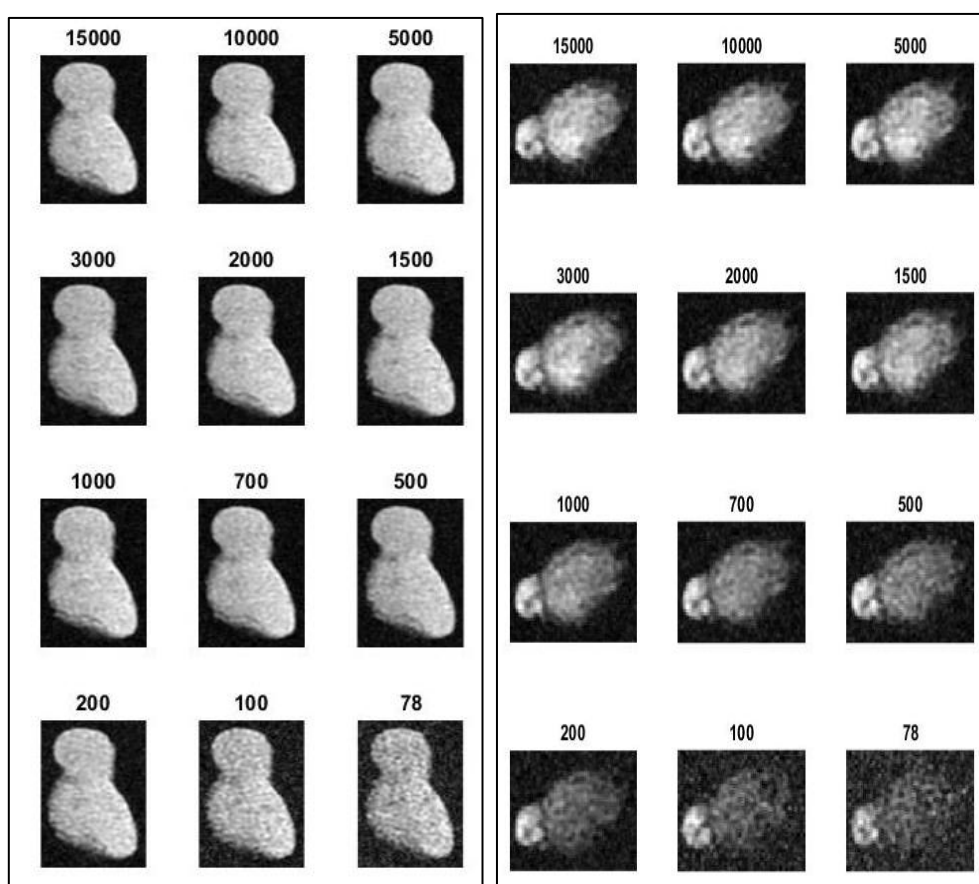
Rycina 6.39. Mapa T_1 próbek



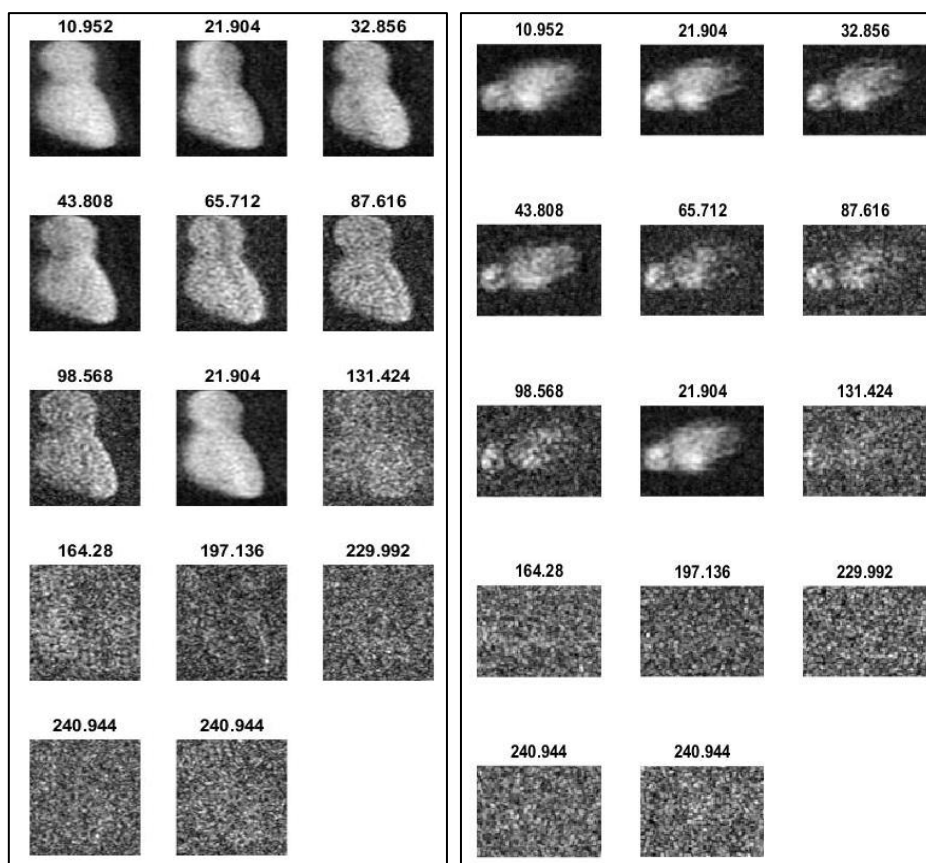
Rycina 6.40. Mapa T_2 próbek



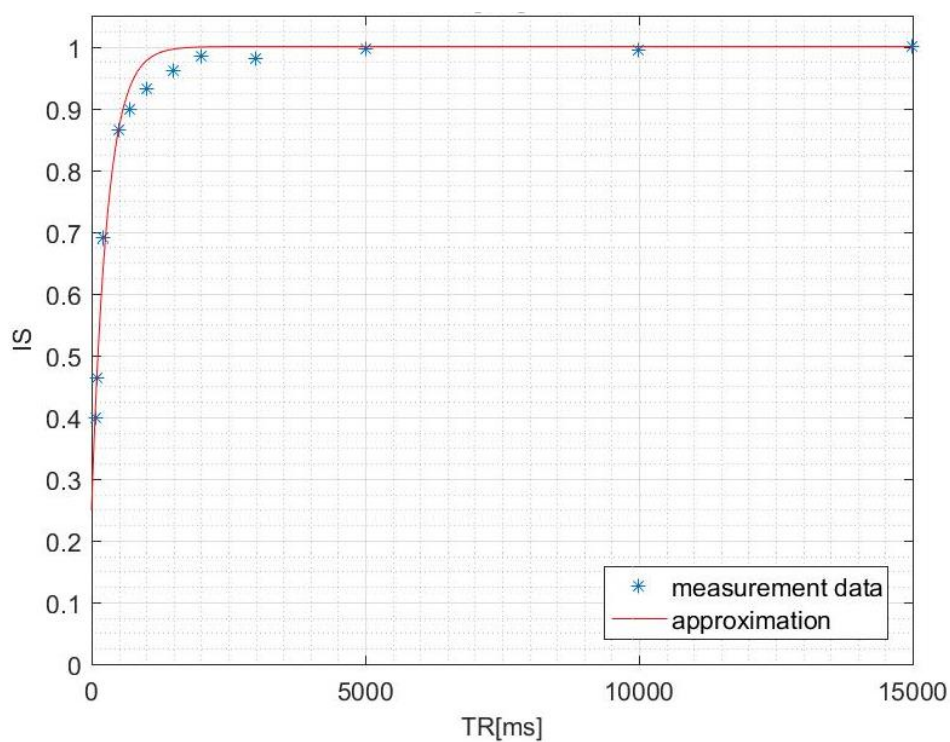
Rycina 6.41. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek



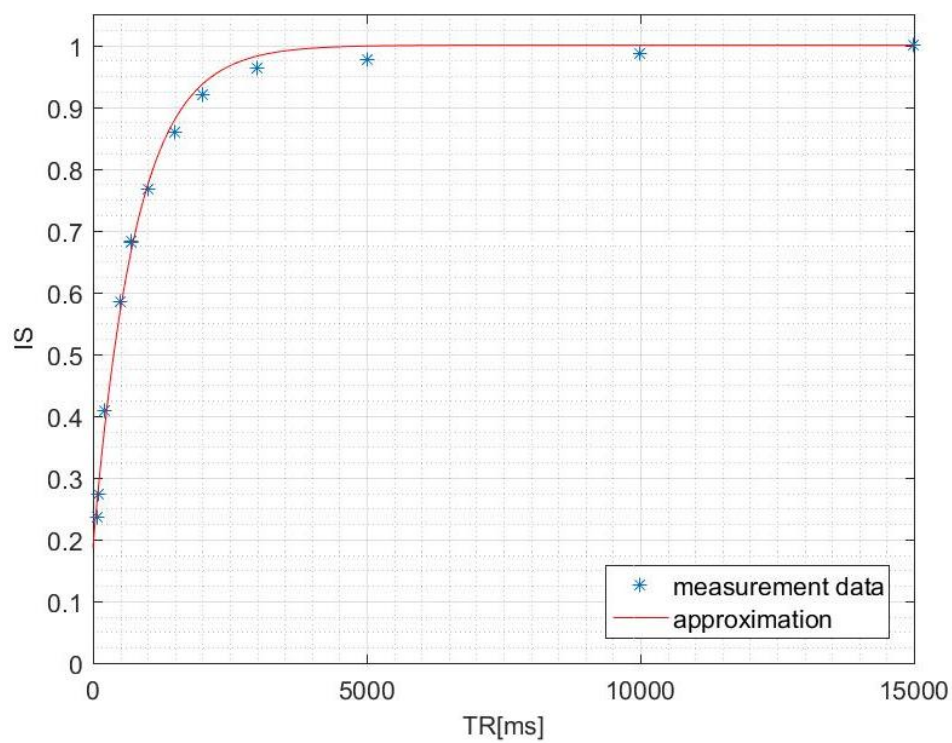
Rycina 6.42. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek



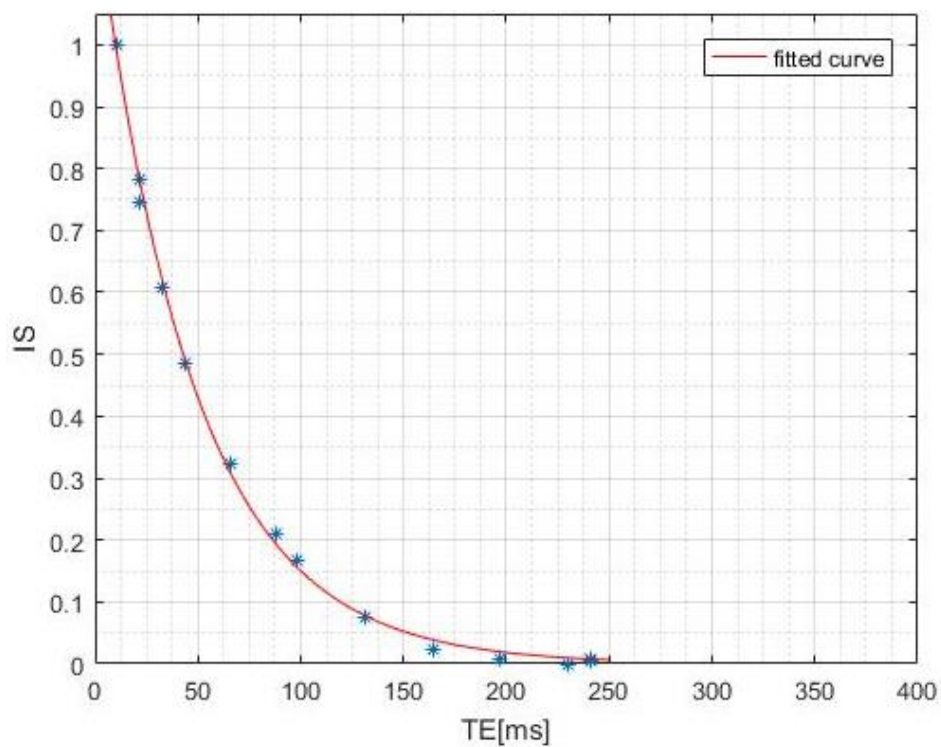
Rycina 6.43. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek



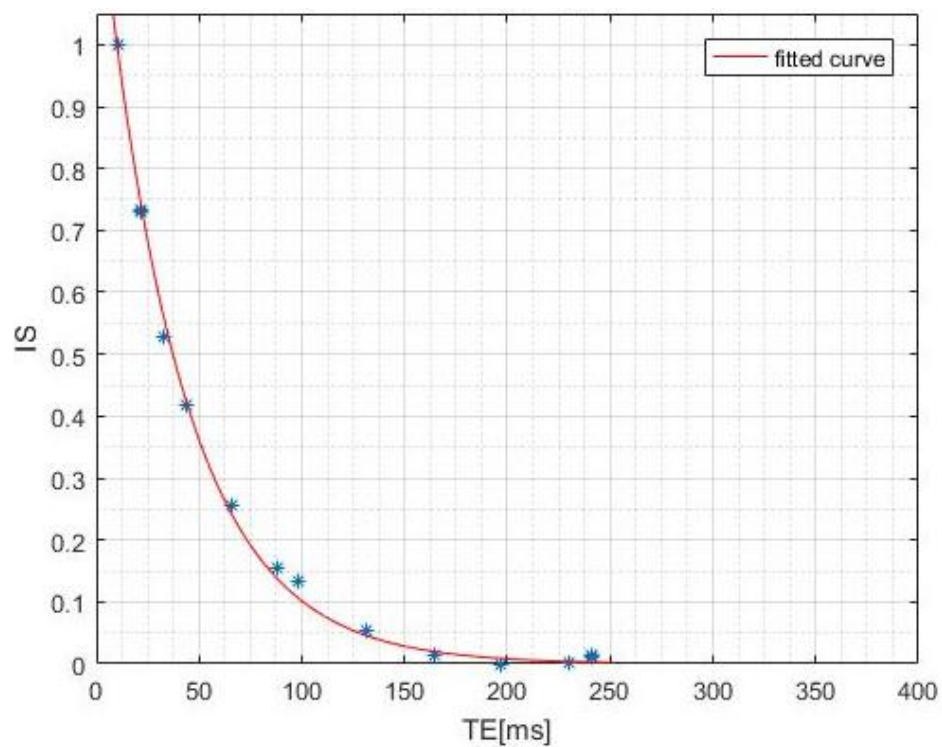
Rycina 6.44. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 5



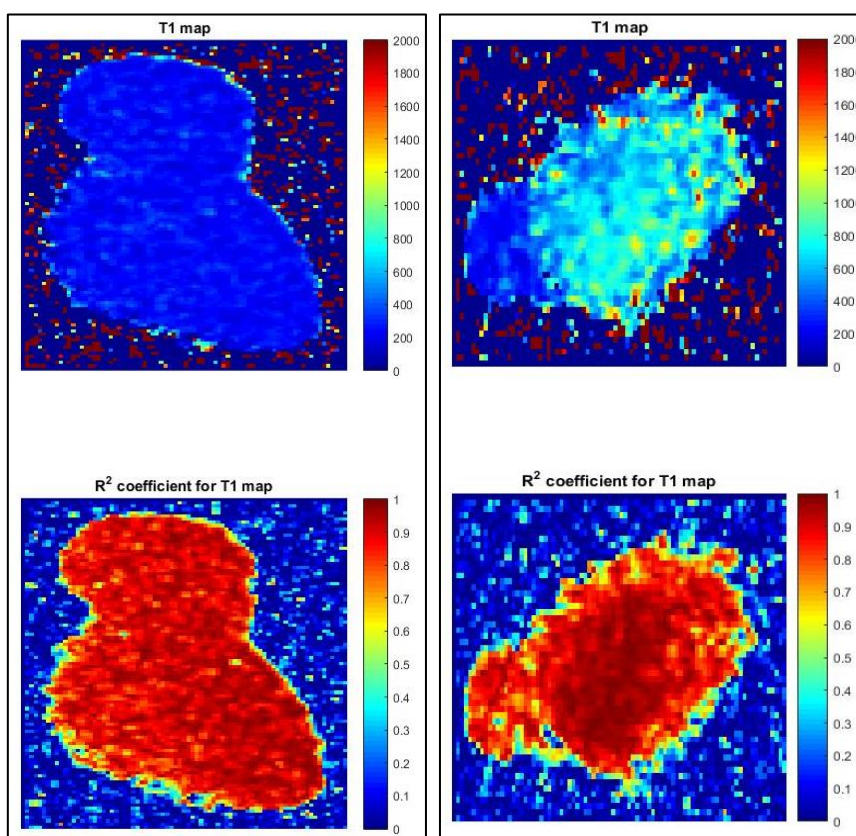
Rycina 6.45. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 6



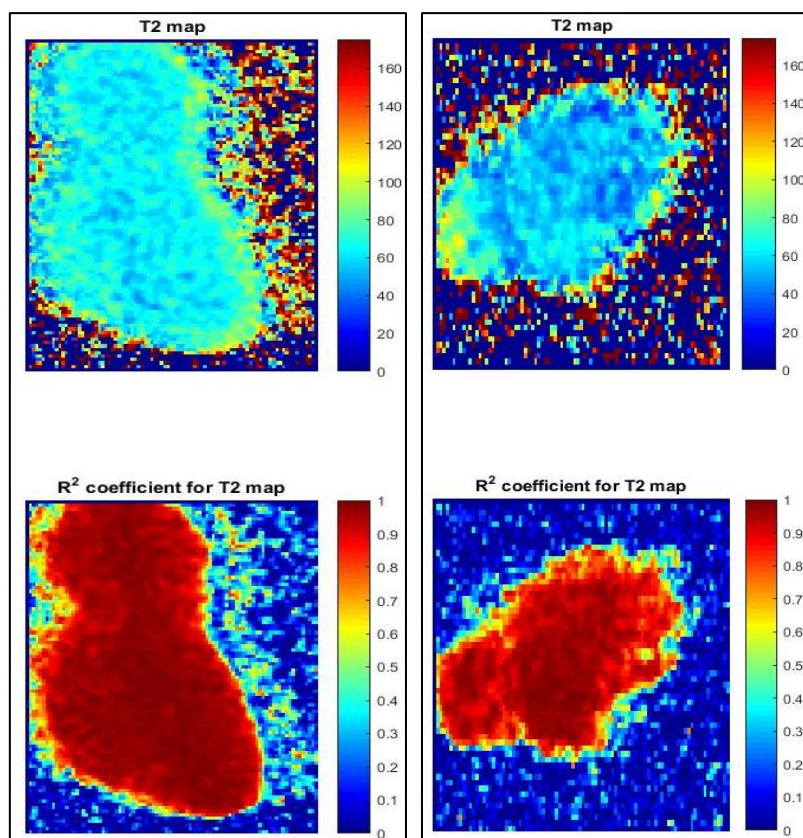
Rycina 6.46. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 5



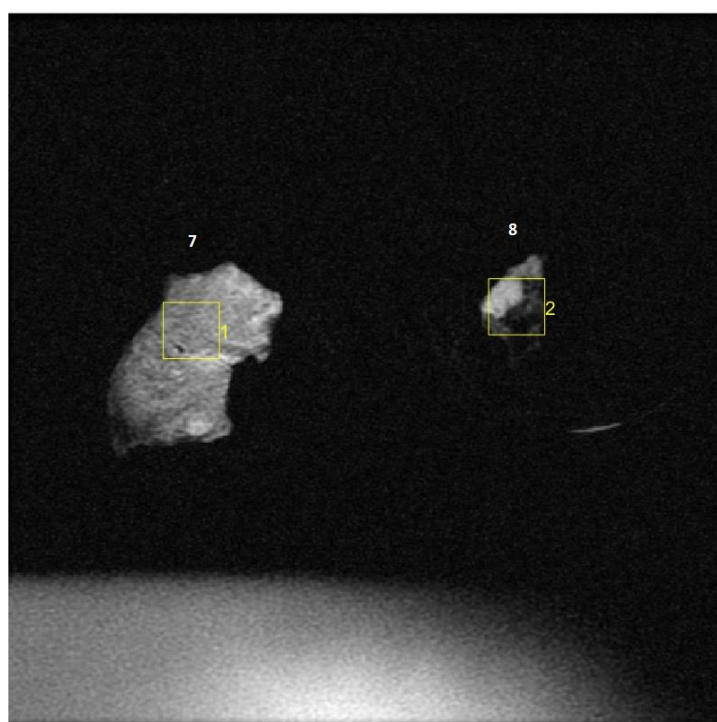
Rycina 6.47. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 6



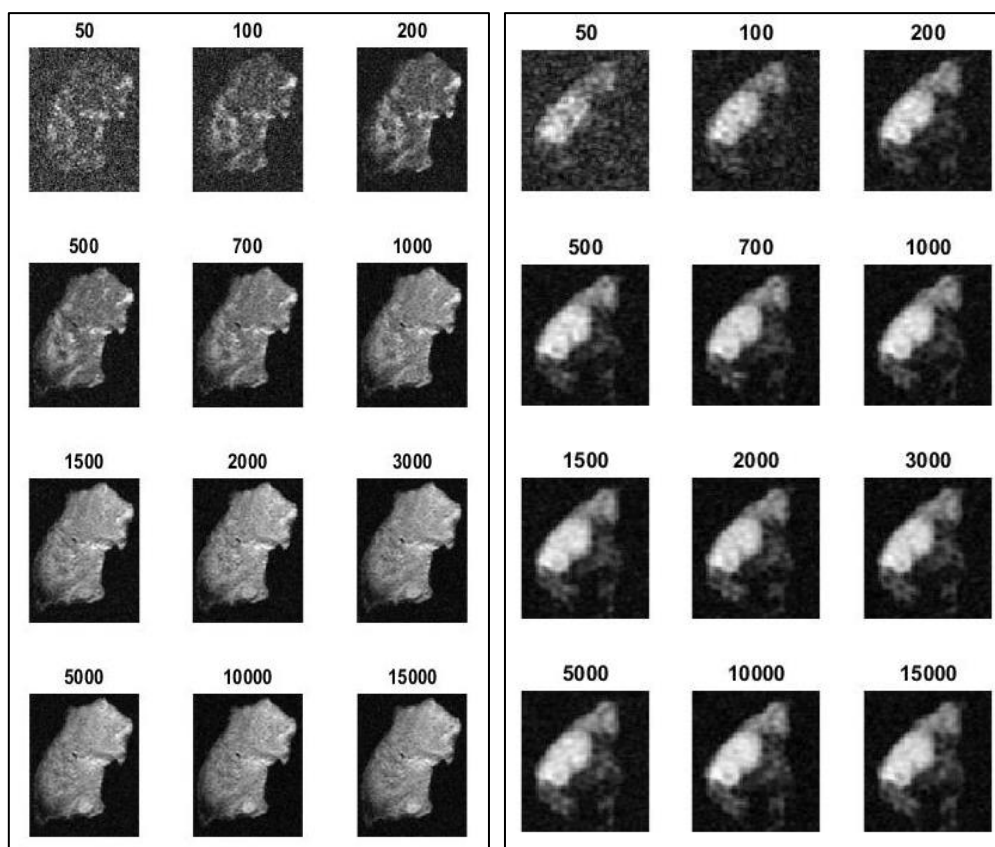
Rycina 6.48. Mapa T_1 próbek



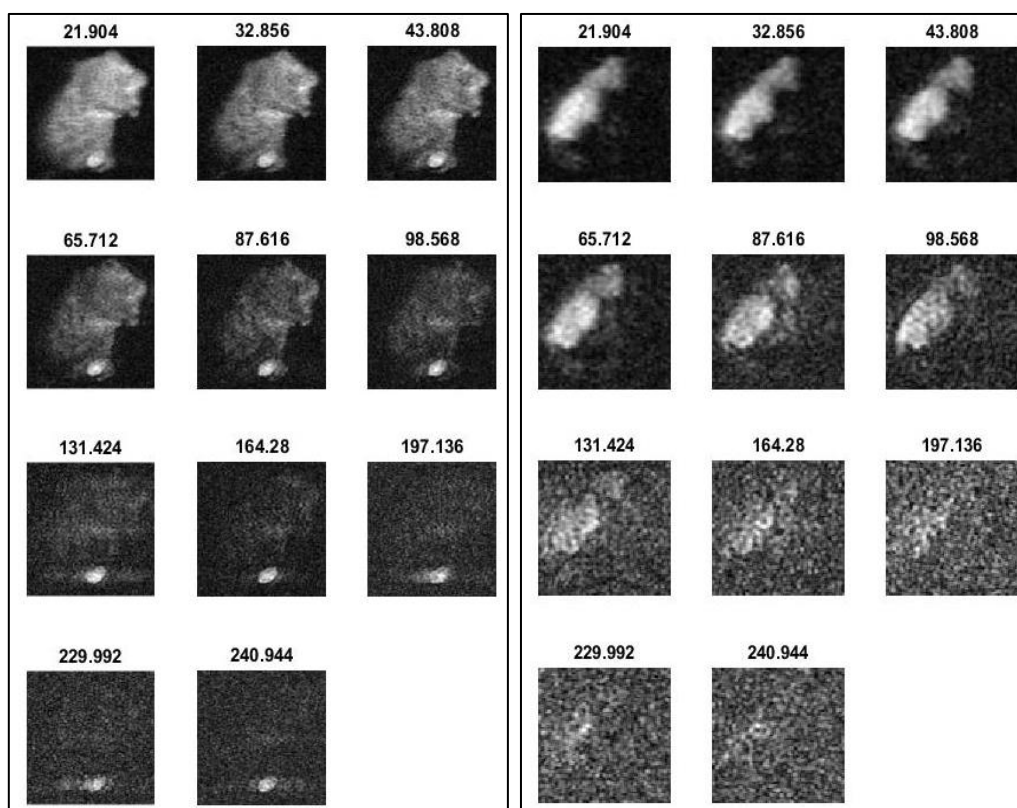
Rycina 6.49. Mapa T_2 próbek



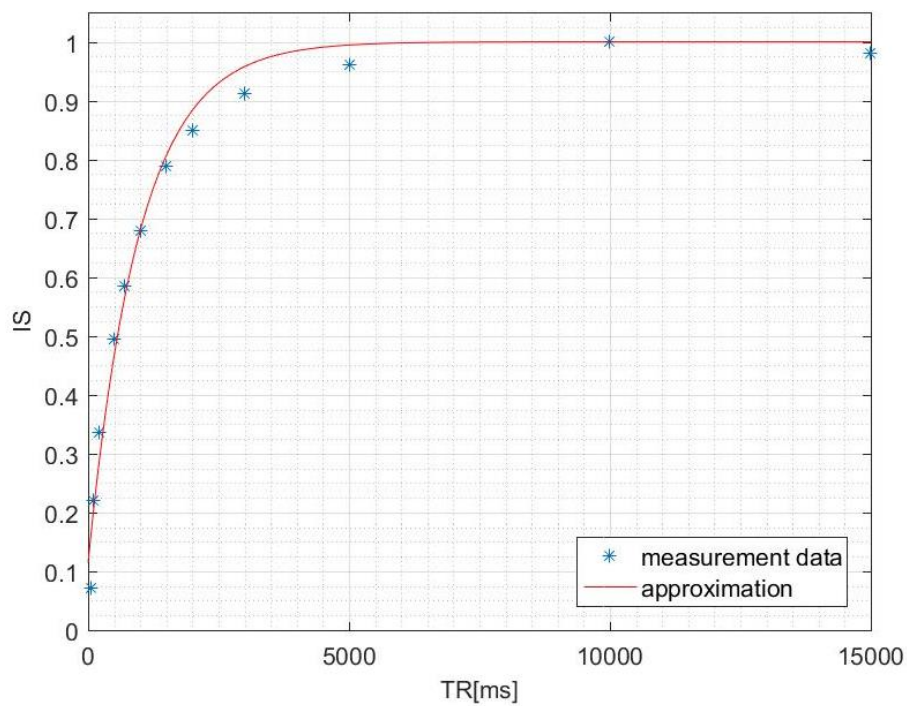
Rycina 6.50. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek



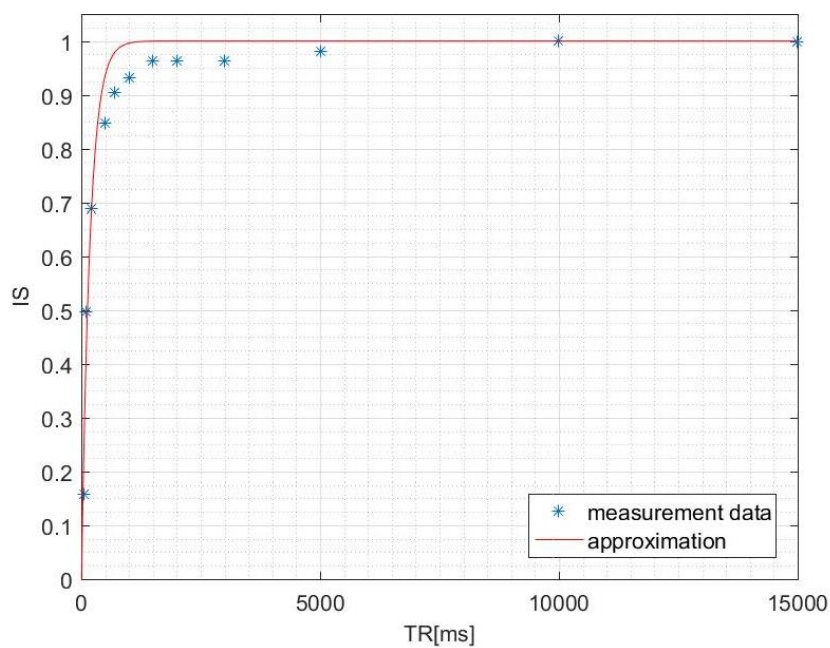
Rycina 6.51. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek



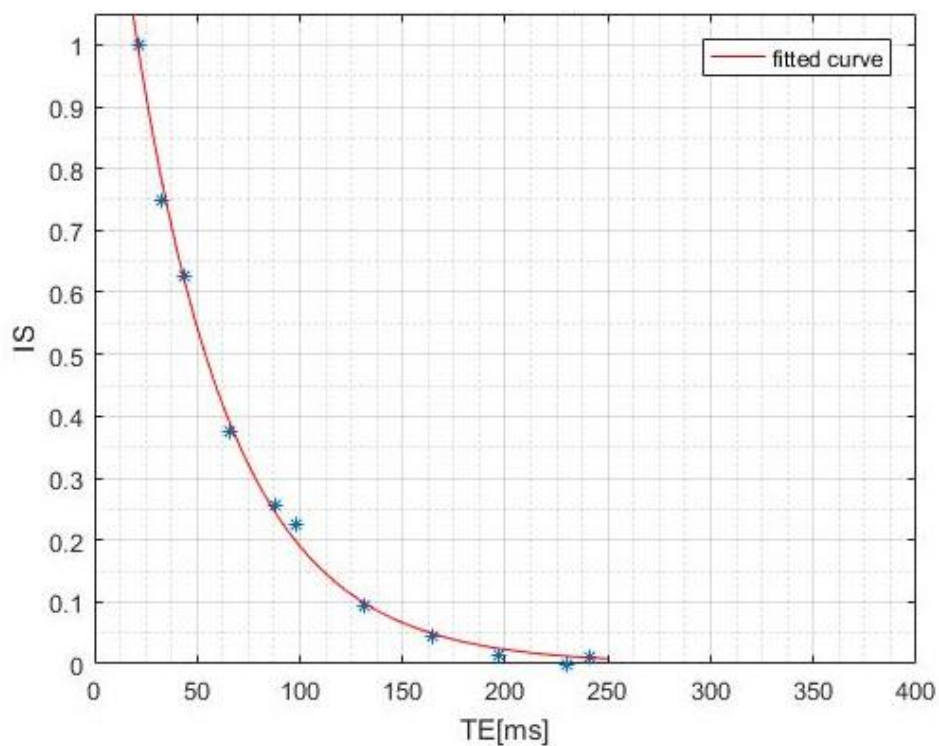
Rycina 6.52. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek



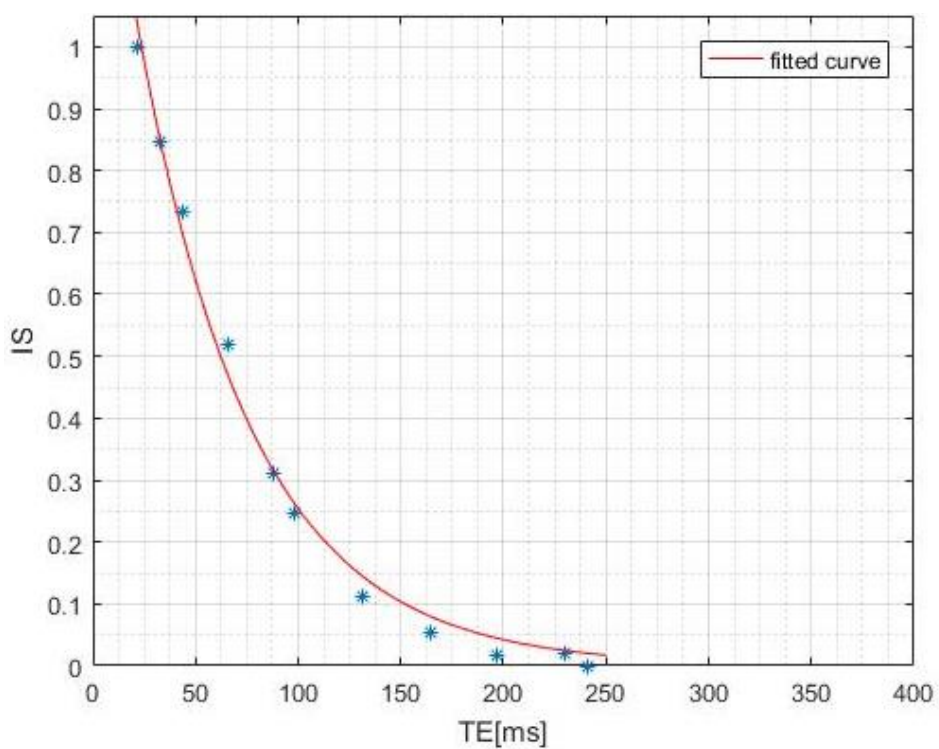
Rycina 6.53. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 7



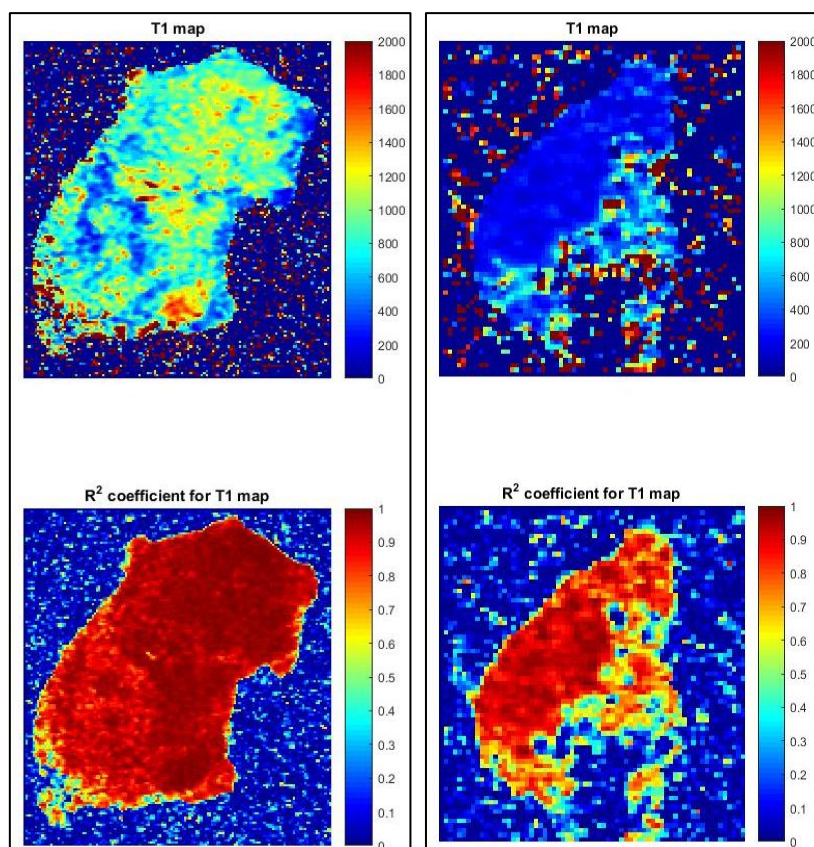
Rycina 6.54. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 8



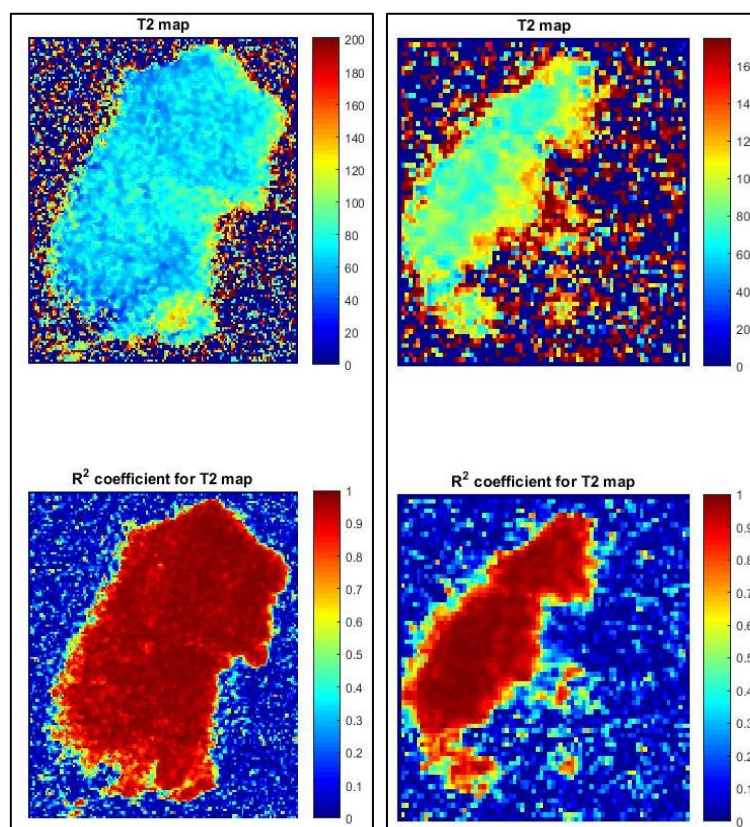
Rycina 6.55. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 7



Rycina 6.56. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 8



Rycina 6.57. Mapa T_1 próbek



Rycina 6.58. Mapa T_2 próbek

Z uzyskanych danych (wykresów, obrazów DICOM oraz map czasowych próbek) sporządzono zbiorczą tabelę uśrednionych wartości czasu relaksacji podłużnej oraz poprzecznej wraz z niepewnością dla wszystkich 30 próbek (tkanek zdrowych i nowotworowych).

Tabela 6.2. Wartości czasów T_1 i T_2 tkanek zdrowych

Numer próbki	Wartość T_1 [ms]	Niepewność [ms]	Wartość T_2 [ms]	Niepewność [ms]
1	1521	± 72	145	± 16
2	1463	± 68	173	± 21
3	1345	± 51	151	± 17
4	1409	± 45	142	± 21
5	1571	± 25	140	± 34
6	1632	± 17	138	± 24
7	1573	± 33	137	± 11
8	1583	± 44	136	± 10
9	1501	± 23	134	± 11
10	1497	± 73	139	± 11
11	1389	± 101	140	± 17
12	1312	± 121	142	± 22
13	1417	± 131	143	± 23
14	1498	± 79	157	± 20
15	1568	± 34	158	± 11
16	1534	± 101	159	± 12
17	1572	± 109	123	± 38
18	1609	± 116	133	± 27
19	1673	± 55	135	± 25
20	1602	± 54	130	± 20
21	1583	± 73	142	± 18
22	1472	± 81	140	± 10
23	1498	± 79	136	± 14
24	1517	± 73	138	± 12
25	1613	± 43	143	± 17

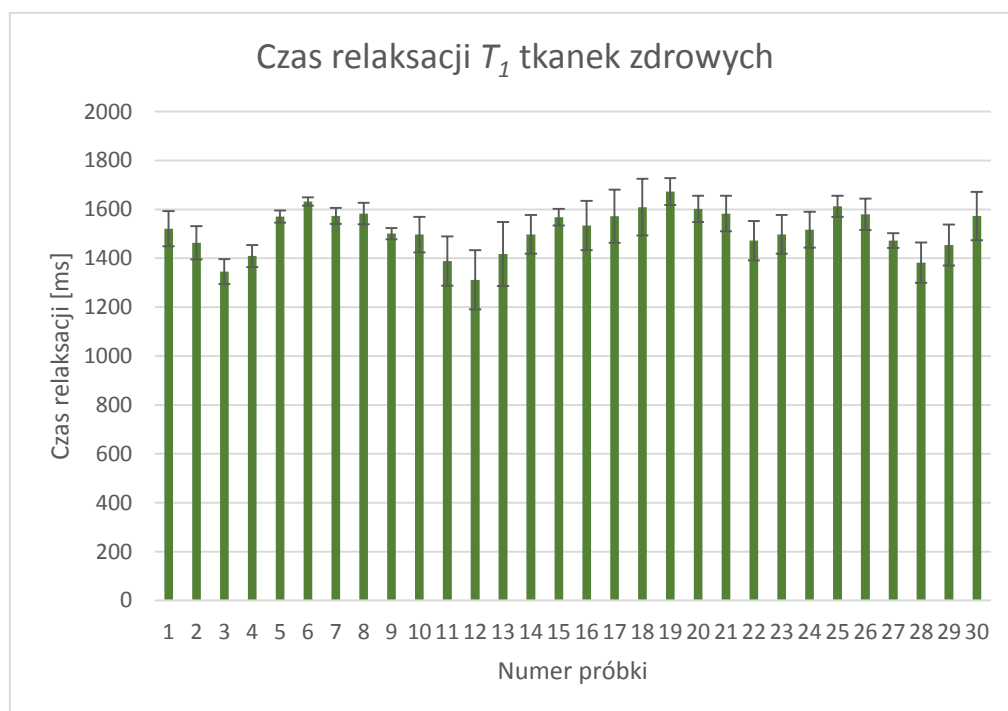
26	1580	± 64	147	± 13
27	1473	± 30	145	± 15
28	1382	± 83	148	± 12
29	1454	± 84	149	± 11
30	1573	± 99	150	± 10

Średnia czasu T_1 : 1513,80 [ms]

Odchylenie standardowe: 89,07 [ms]

Średnia niepewności: 68,70 [ms]

Odchylenie standardowe: 30,83 [ms]



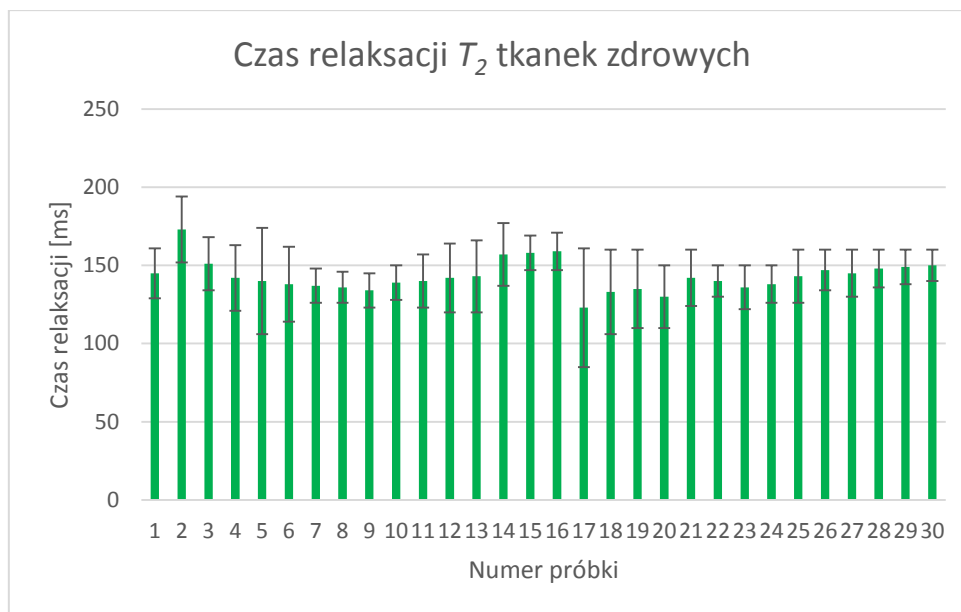
Rycina 6.59. Wartości czasu relaksacji T_1 dla tkanek zdrowych

Średnia czasu T_2 : 143,10 [ms]

Odchylenie standardowe: 9,86 [ms]

Średnia niepewności: 17,43 [ms]

Odchylenie standardowe: 7,15 [ms]



Rycina 6.60. Wartości czasu relaksacji T_2 dla tkanek zdrowych

Tabela 6.3. Wartości czasów T_1 i T_2 tkanek nowotworowych

Numer próbki	Wartość T_1 [ms]	Niepewność [ms]	Wartość T_2 [ms]	Niepewność [ms]
1	809	±73	120	±3
2	816	±22	111	±9
3	781	±35	107	±13
4	725	±48	103	±17
5	923	±15	103	±18
6	960	±77	108	±13
7	624	±30	100	±10
8	841	±49	100	±20
9	713	±36	111	±19
10	786	±31	111	±17
11	686	±29	121	±18
12	809	±101	107	±12
13	789	±89	108	±11
14	970	±12	102	±14
15	851	±34	100	±20
16	864	±49	103	±12

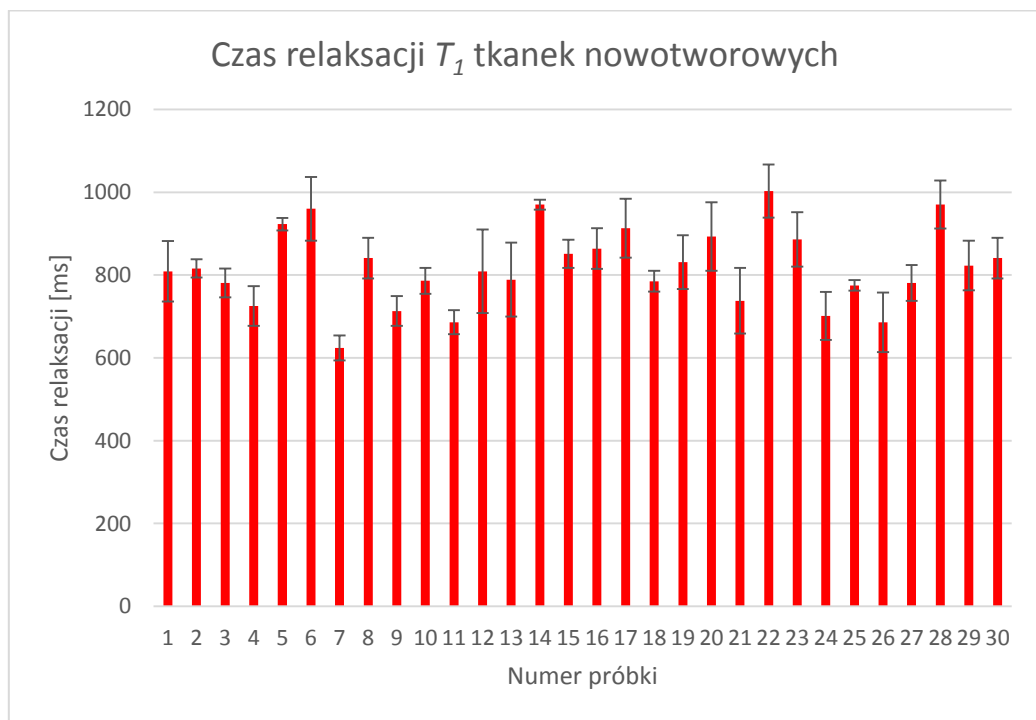
17	913	±71	152	±16
18	785	±25	117	±13
19	831	±65	143	±23
20	893	±83	101	±29
21	738	±79	104	±27
22	1003	±64	108	±28
23	886	±66	109	±11
24	701	±58	115	±14
25	775	±13	116	±15
26	686	±72	111	±16
27	781	±43	100	±17
28	970	±58	104	±18
29	823	±60	107	±19
30	841	±49	109	±20

Średnia czasu T_1 : 819,10 [ms]

Odchylenie standardowe: 93,82 [ms]

Średnia niepewności: 51,20 [ms]

Odchylenie standardowe: 23,84 [ms]



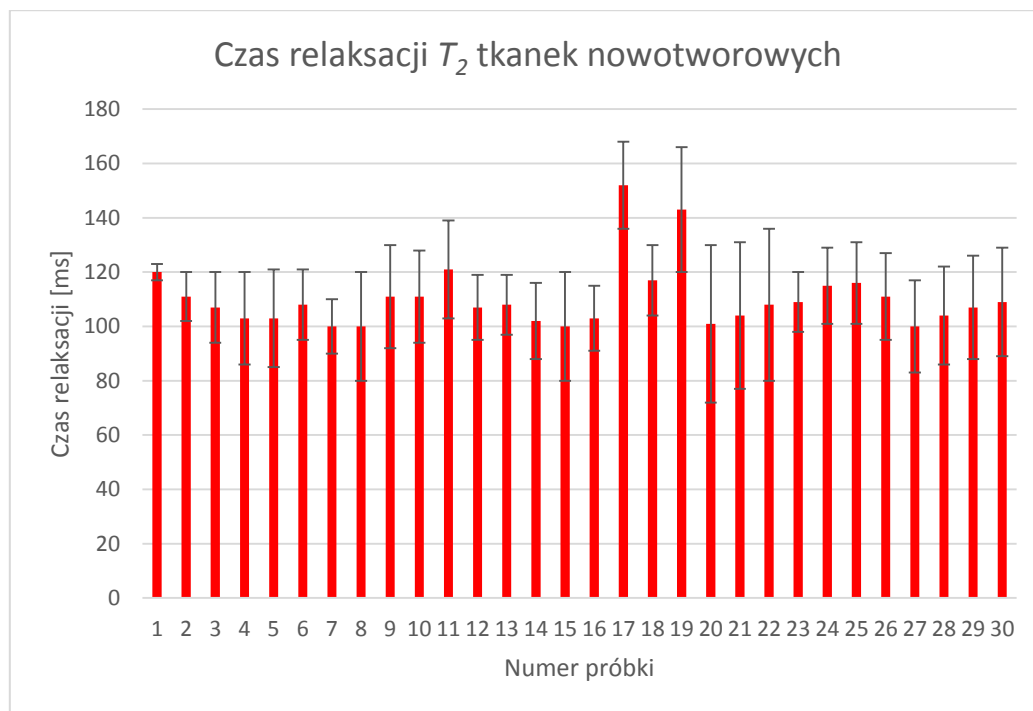
Rycina 6.61. Wartości czasu relaksacji T_1 dla tkanek nowotworowych

Średnia czasu T_2 : 110,37 [ms]

Odchylenie standardowe: 11,73 [ms]

Średnia niepewności: 16,40 [ms]

Odchylenie standardowe: 5,67 [ms]



Rycina 6.62. Wartości czasu relaksacji T_2 dla tkanek nowotworowych

	p-value T_1	p-value T_2
Tkanka zdrowa v.s. tkanka chora	0,002062	0,011033

p< 0.05- wartość istotna statystycznie (zaznaczona kolorem zielonym)

6.3. Aplikacja terapii fotodynamicznej na tkanki kontrolne i tkanki badawcze

Terapia fotodynamiczna obecnie jest w fazie eksperymentalnej, dlatego celem eksperymentu było sprawdzenie, jak procedura PDT wpłynie na tkankę nowotworową i czy w przyszłości będzie możliwe stosowanie tej formy leczenia nowotworu jako alternatywna metoda chemioterapii.

W tabeli 6.2. przedstawiono wyznaczone czasy relaksacji T_1 i T_2 stosowanych fotouczulaczy.

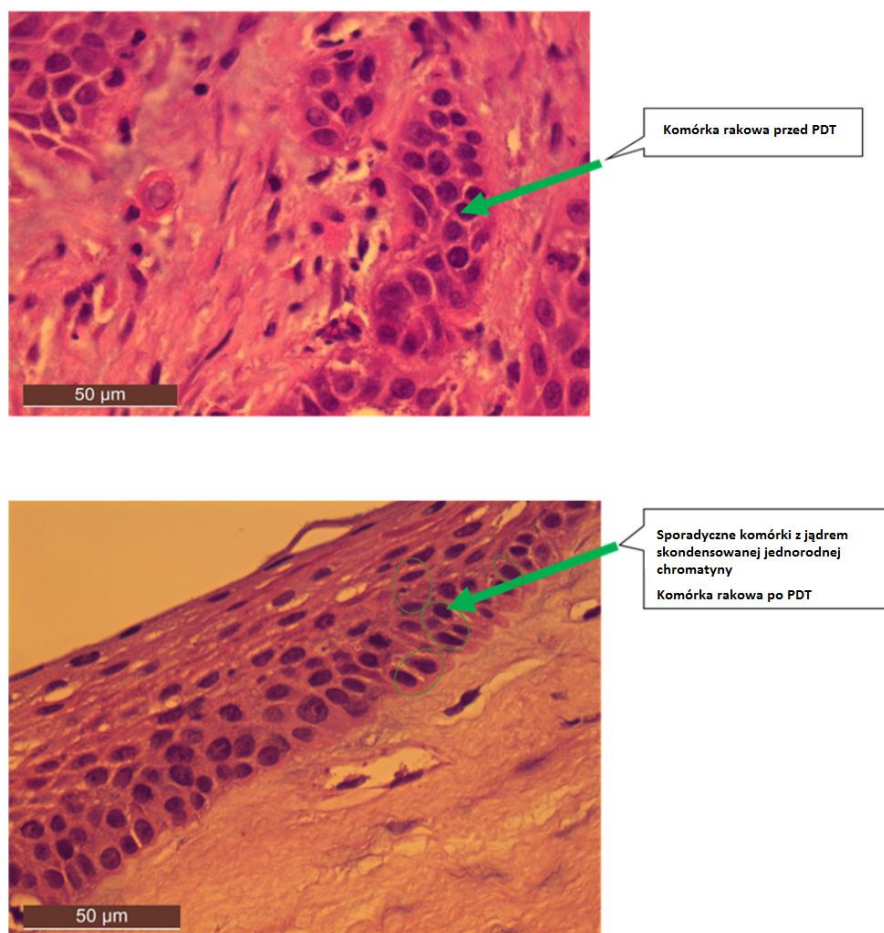
Tabela 6.4. Wyznaczone czasy relaksacji fotouczulaczy

Nazwa fotouczulacza	Stężenie [mM/L]	Czas T_1 [ms]	Niepewność [ms]	Czas T_2 [ms]	Niepewność [ms]
Róż Bengalski	0.01	3051	± 3	71	± 6
	0.02	3212	± 5	73	± 9
	0.03	2802	± 11	76	± 9
	0.04	2605	± 10	77	± 6
	0.05	2682	± 7	72	± 9
Sól disodowa protoporfiryny IX	1	2649	± 7	73	± 10
	2	2946	± 8	73	± 4
	3	3106	± 1	74	± 6
Dichlorek ftalocyjaniny krzemu	0.0003 w CH_2Cl_2	4325	± 4	105	± 3
	0.0006 w CH_2Cl_2	5068	± 6	110	± 2
	0.0012 w CH_2Cl_2	5786	± 12	117	± 1
Chlorowodorek kwasu 5- aminolewulinowego	0.001	2583	± 14	66	± 4
	0.002	2460	± 3	67	± 2
	0.003	2898	± 6	69	± 11

6.4. Histopatologia tkanek po terapii fotodynamicznej

Każdą z próbek pobranych z materiału pooperacyjnego nastrzyknięto jednym z czterech fotouczulaczy o najwyższym stężeniu. Następnie poddawano je

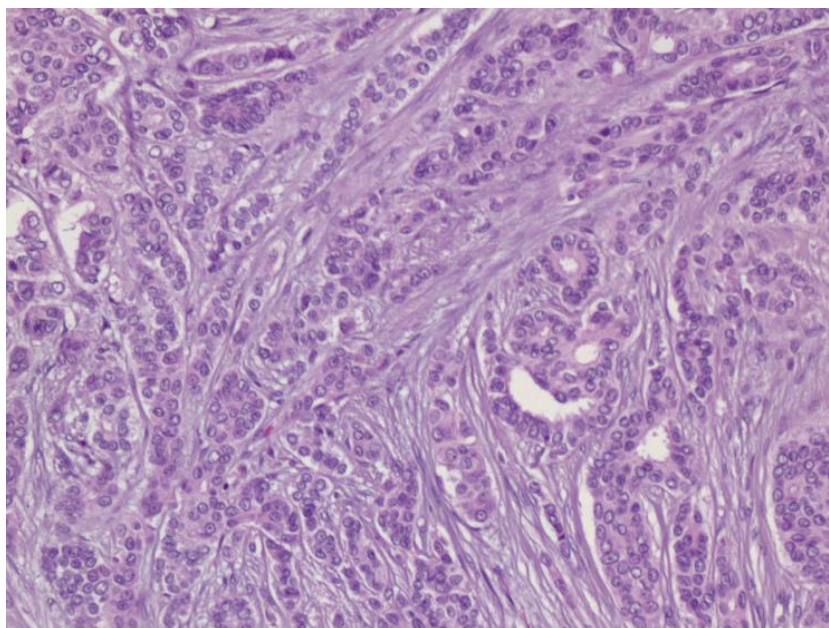
działaniu fali światła o długości dostosowanej do substancji fotouczulającej przez 15 min. Po zakończeniu naświetlania próbki dzielono na dwie równe części. Jedną z nich umieszczano w 4% roztworze formaldehydu w celu utrwalenia i przygotowania do wykonania klasycznego preparatu histologicznego. Drugą część od razu poddawano badaniu rezonansem magnetycznym.



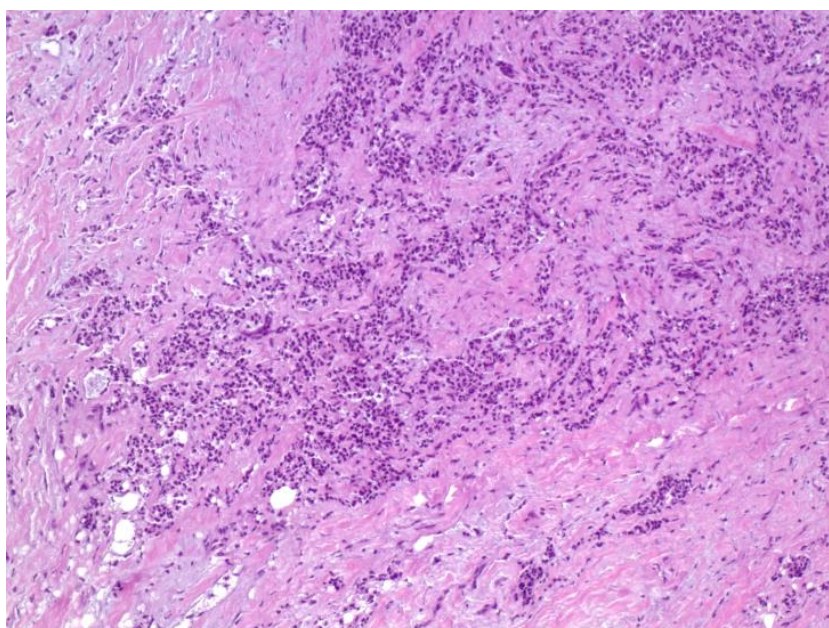
Rycina 6.63. Obraz histopatologiczny tkanki nowotworowej po terapii PDT

Po utrwaleniu próbki w roztworze formaldehydu wykonano serię klasycznych preparatów histopatologicznych i zabarwiono je hematoksyliną i eozyną. Następnie poddano je ocenie mikroskopowej.

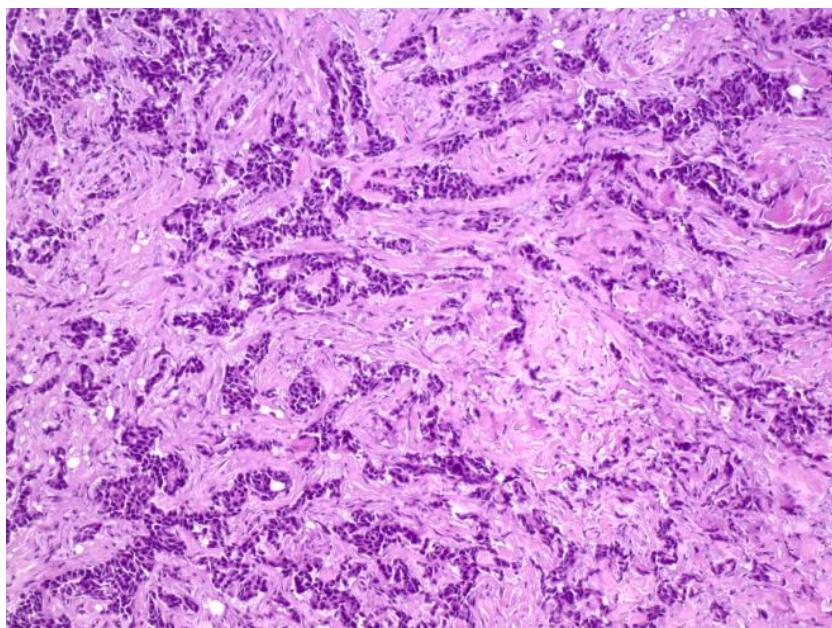
We wszystkich 30 przypadkach stwierdzono obecność zmian w komórkach. Każdy z zastosowanych fotouczulaczy spowodował wystąpienie zmian w komórkach nowotworowych. Stopień ich nasilenia był wprost proporcjonalny do stężenia zastosowanej substancji fotouczulającej. Ryciny 6.64.-6.69. pokazują zmiany i ich nasilenie w tkance nowotworowej po zastosowaniu poszczególnych fotouczulaczy.



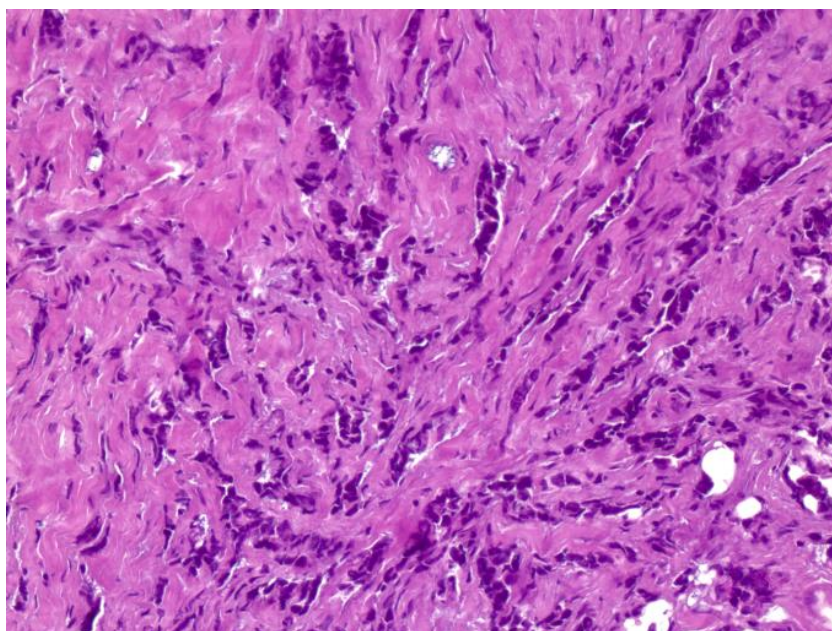
Rycina 6.64. Rak piersi przed zastosowaniem terapii fotodynamicznej



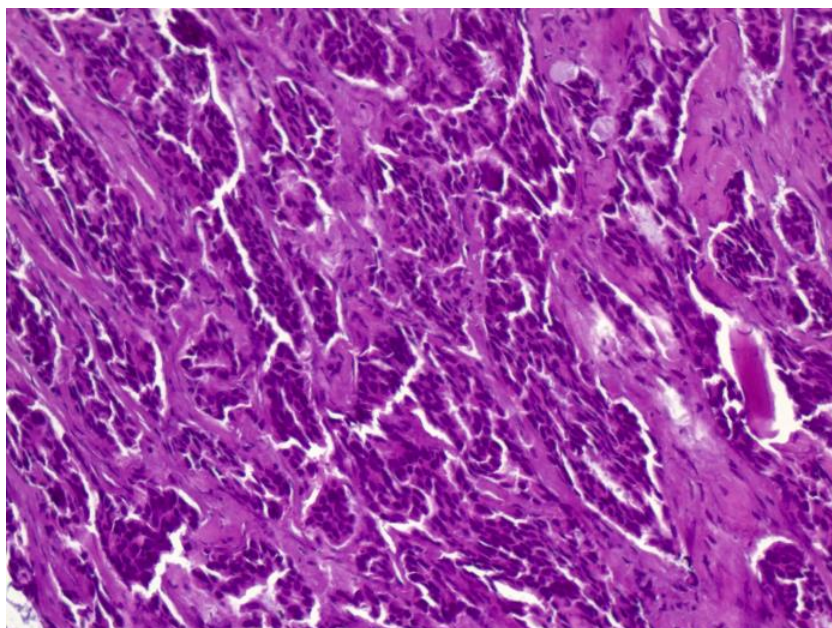
Rycina 6.65. Rak piersi po zastosowaniu terapii fotodynamicznej – róż bengalski 0,01 mM/l



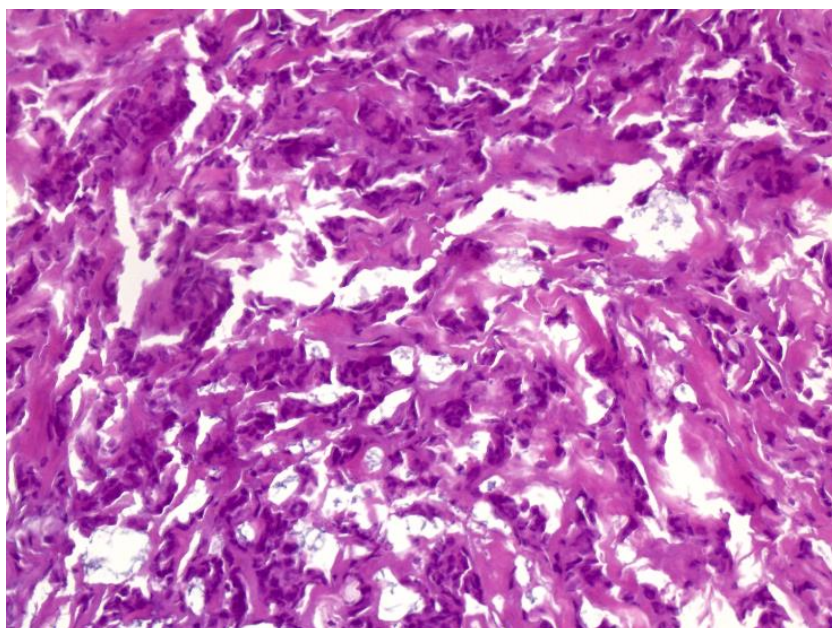
Rycina 6.66. Rak piersi po zastosowaniu terapii fotodynamicznej – róż bengalski 0,05 mM/l



Rycina 6.67. Rak piersi po zastosowaniu terapii fotodynamicznej – sól disodowa protoporfiryny IX 3mM/l



Rycina 6.68. Rak piersi po zastosowaniu terapii fotodynamicznej – dichlorek ftalocyjaniny krzemu 0,0012 w CH_2Cl_2



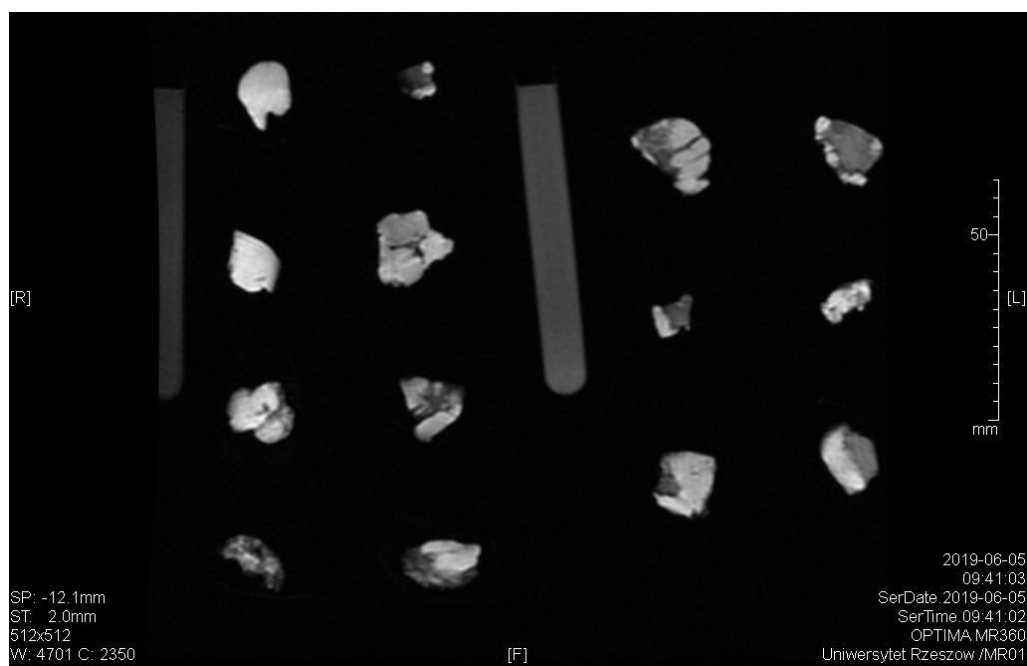
Rycina 6.69. Rak piersi po zastosowaniu terapii fotodynamicznej – chlorowodorek kwasu 5-ALA 0,003 mM/l

We wszystkich przypadkach zmiany są wyraźnie zaznaczone. Układ architektoniczny guza uległ znacznemu zaburzeniu, gruczoły są trudne do rozróżnienia, obkurczone. Rozmiary komórek uległy znacznemu zmniejszeniu. Jądra komórkowe są nieregularne, częściowo pyknotyczne. Chromatyna jest zagęszczona i grudowata. Komórki zlewają się ze sobą, trudno dostrzec granice między nimi. Podścielisko nowotworu jest obrzęknięte.

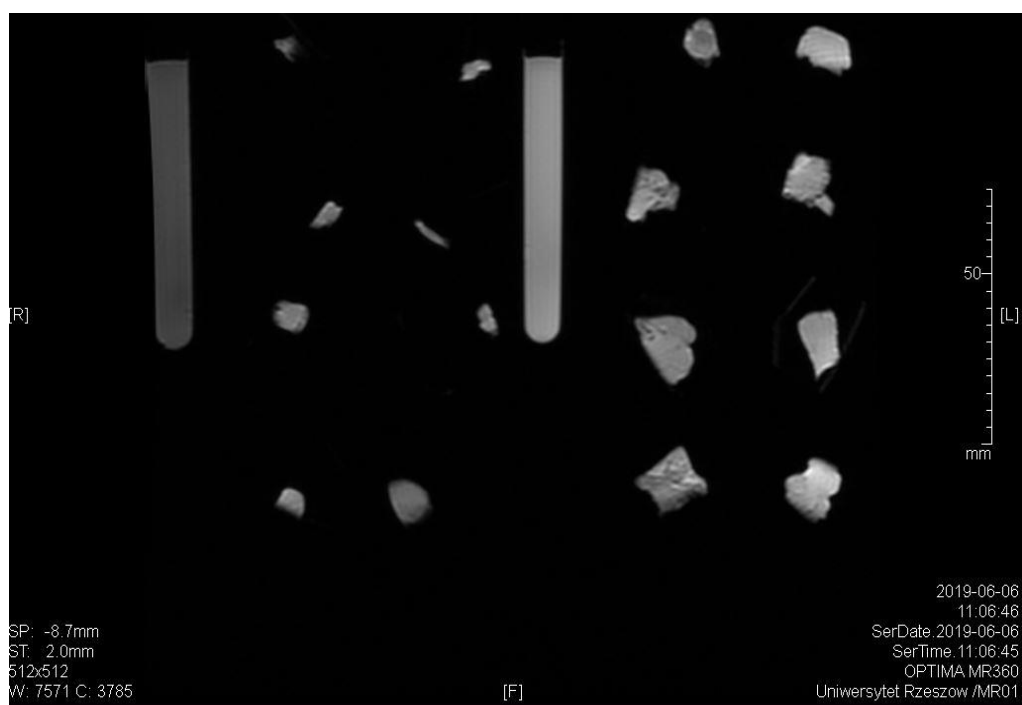
6.5. Pomiar Magnetycznym Rezonansem Jądrowym tkanek po terapii fotodynamicznej

Terapia fotodynamiczna obecnie jest w fazie eksperymentalnej, dlatego celem eksperymentu było sprawdzenie, jak procedura PDT wpłynie na tkankę nowotworową i czy w przyszłości będzie możliwe stosowanie tej formy leczenia nowotworu jako alternatywna metoda chemioterapii.

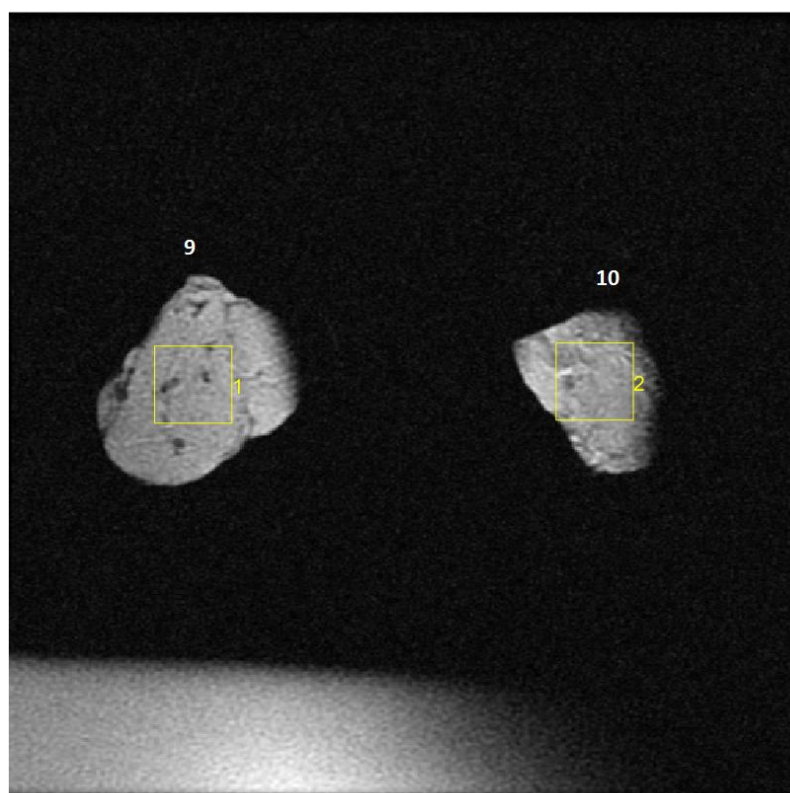
Natomiast na rycinach 6.70.- 6.71. przedstawiono przykładowe obrazy DICOM z badania MR.



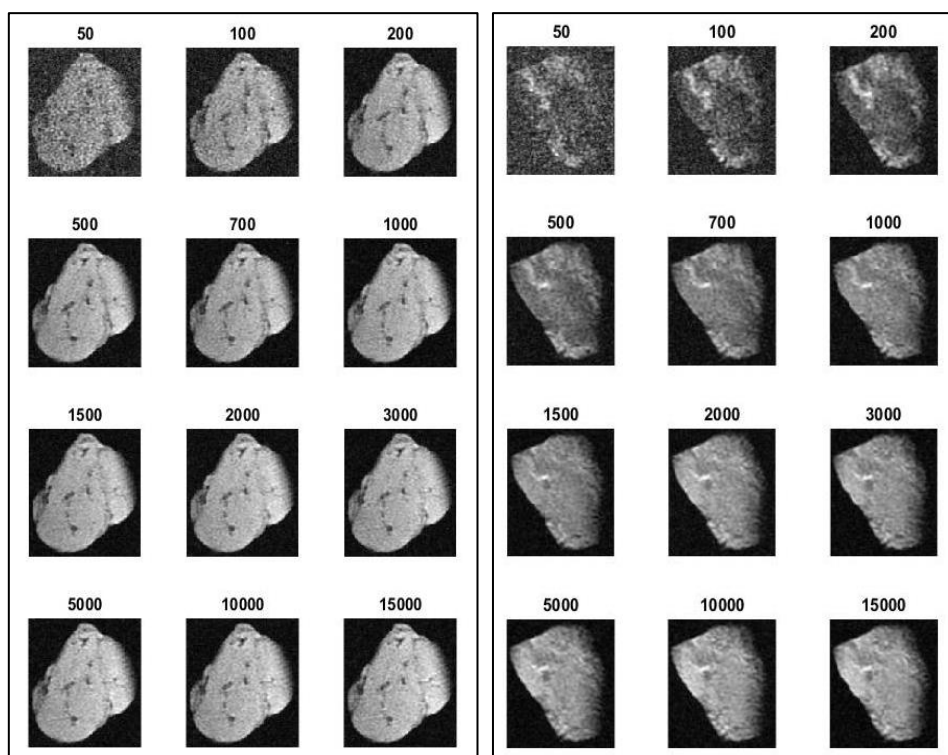
Rycina 6.70. Obraz T_1 badanych próbek, przy parametrach: TE= 3ms, TR= 500ms



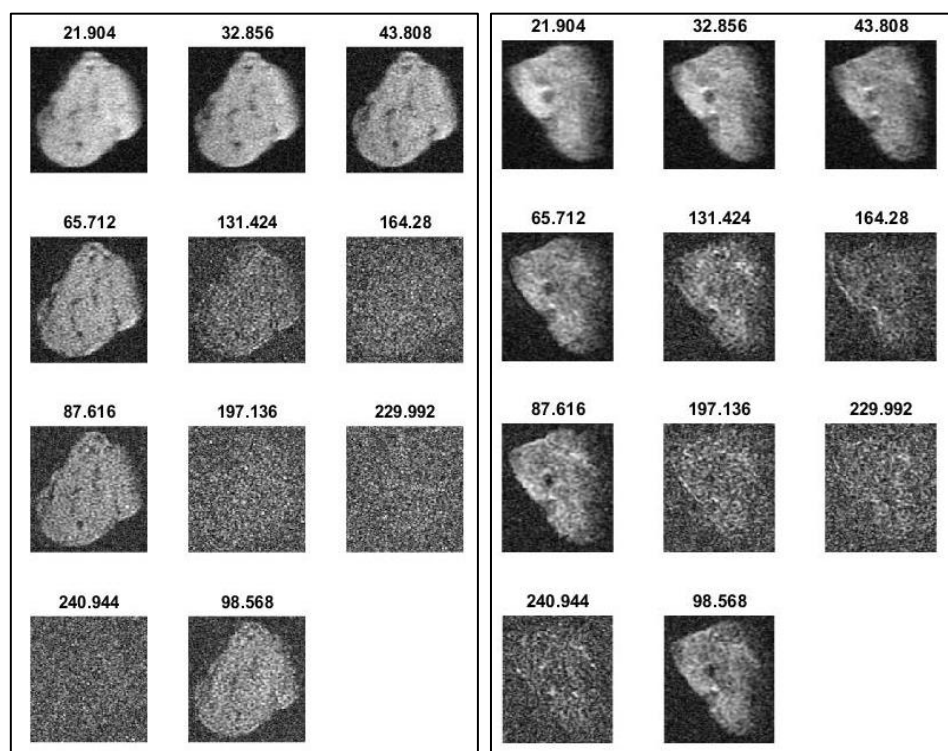
Rycina 6.71. Obraz T_1 badanych próbek, przy parametrach: TE= 3ms, TR= 3000ms
 Na rycinach 6.72.-6.107. przedstawiono obrazy z badania MR tkanek nowotworowych.



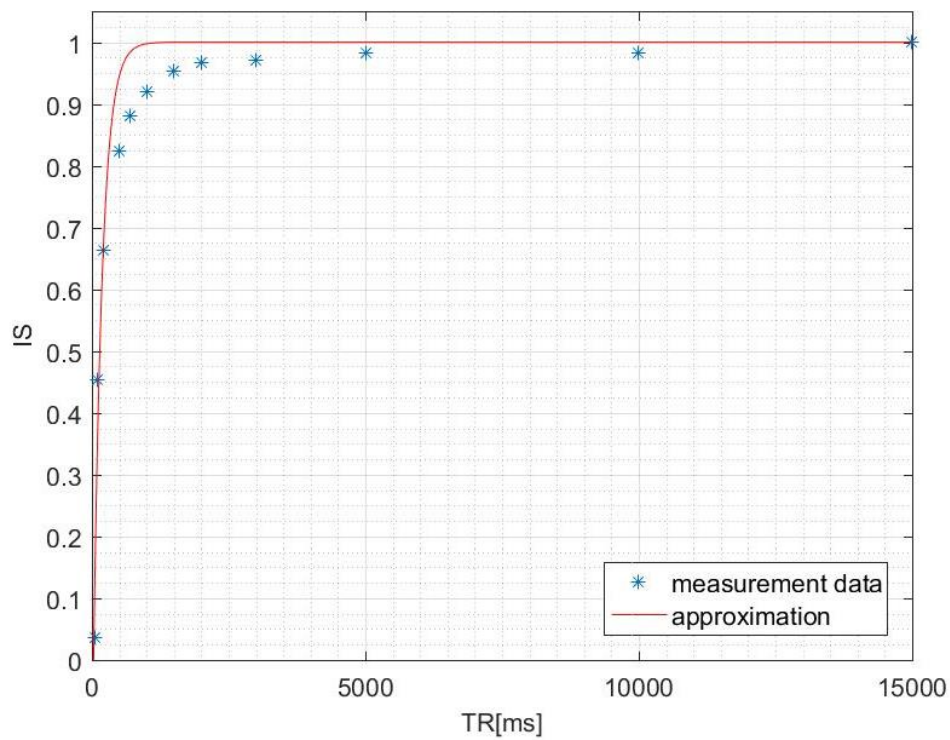
Rycina 6.72. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek



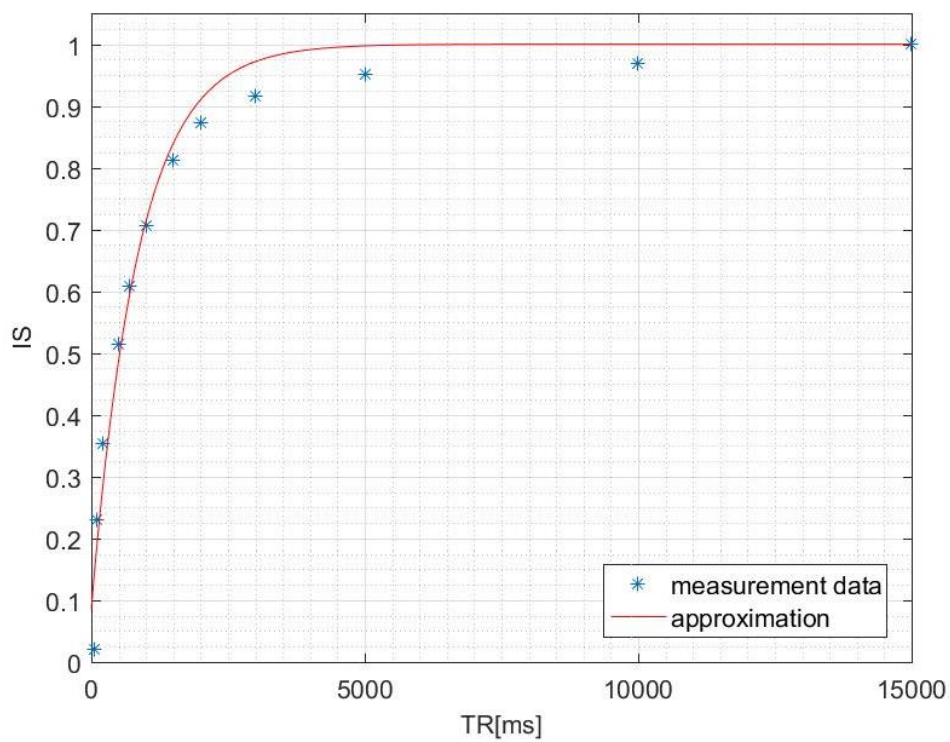
Rycina 6.73. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek



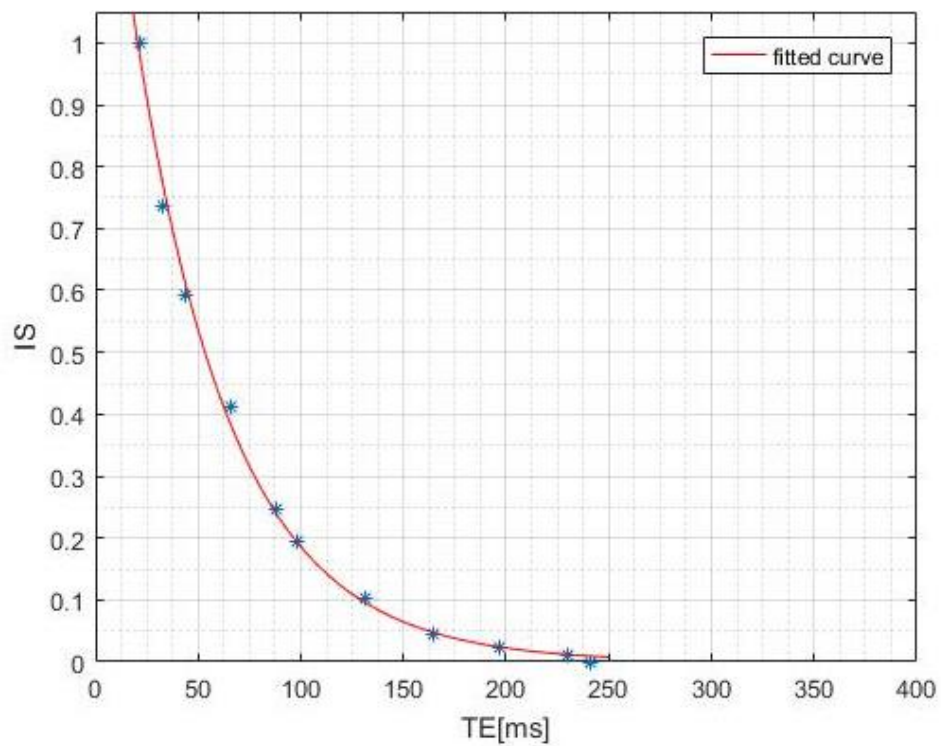
Rycina 6.74. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek



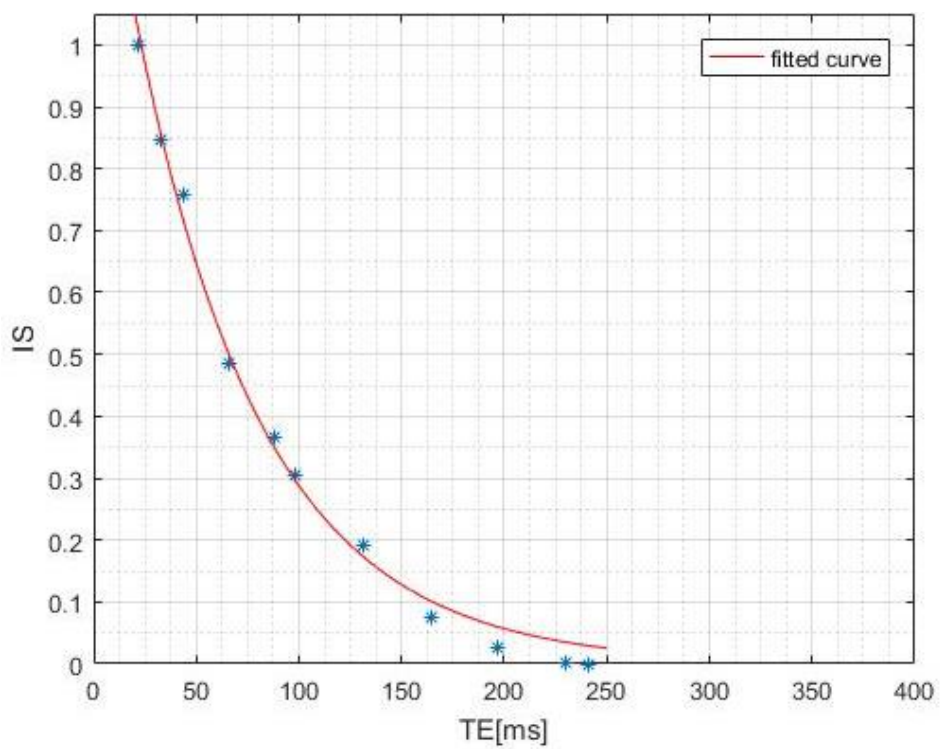
Rycina 6.75. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 9



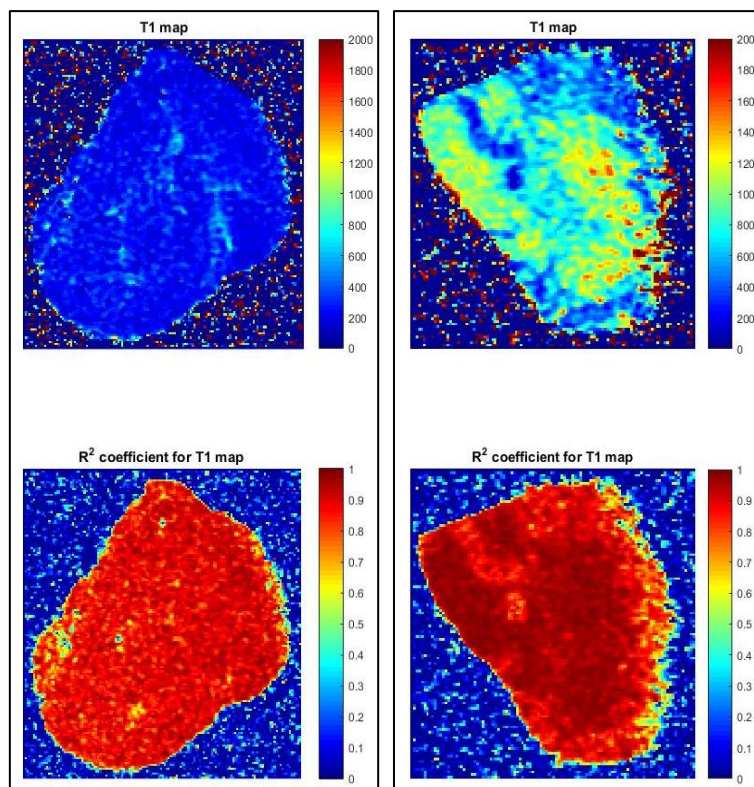
Rycina 6.76. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 10



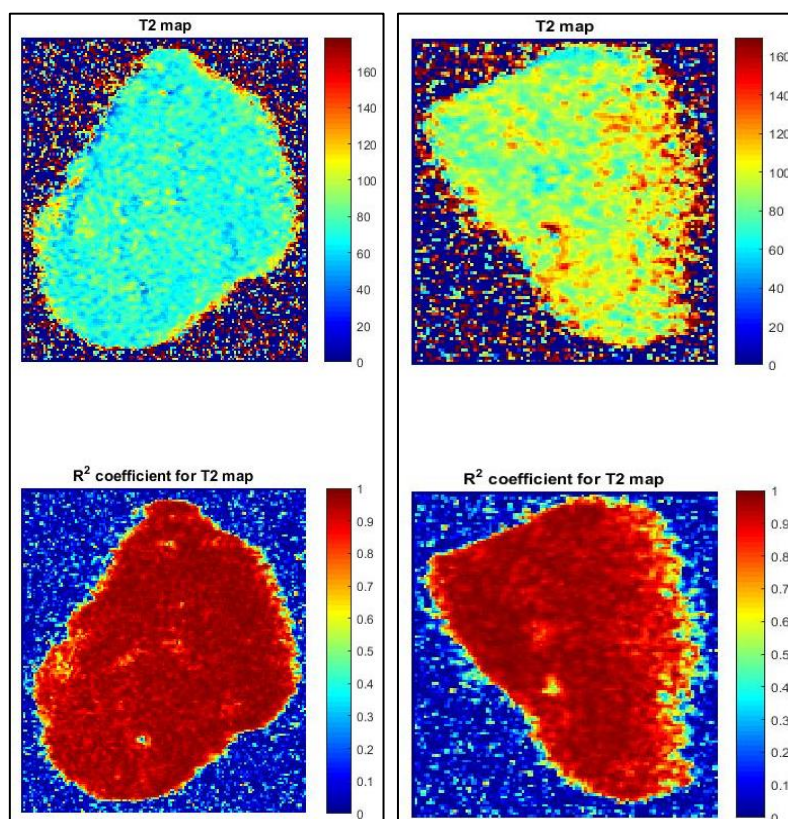
Rycina 6.77. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 9



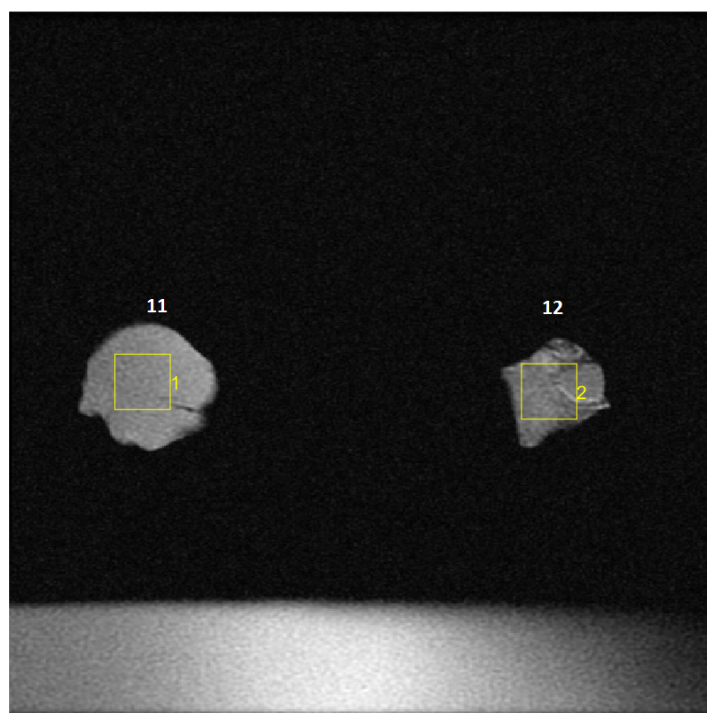
Rycina 6.78. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 10



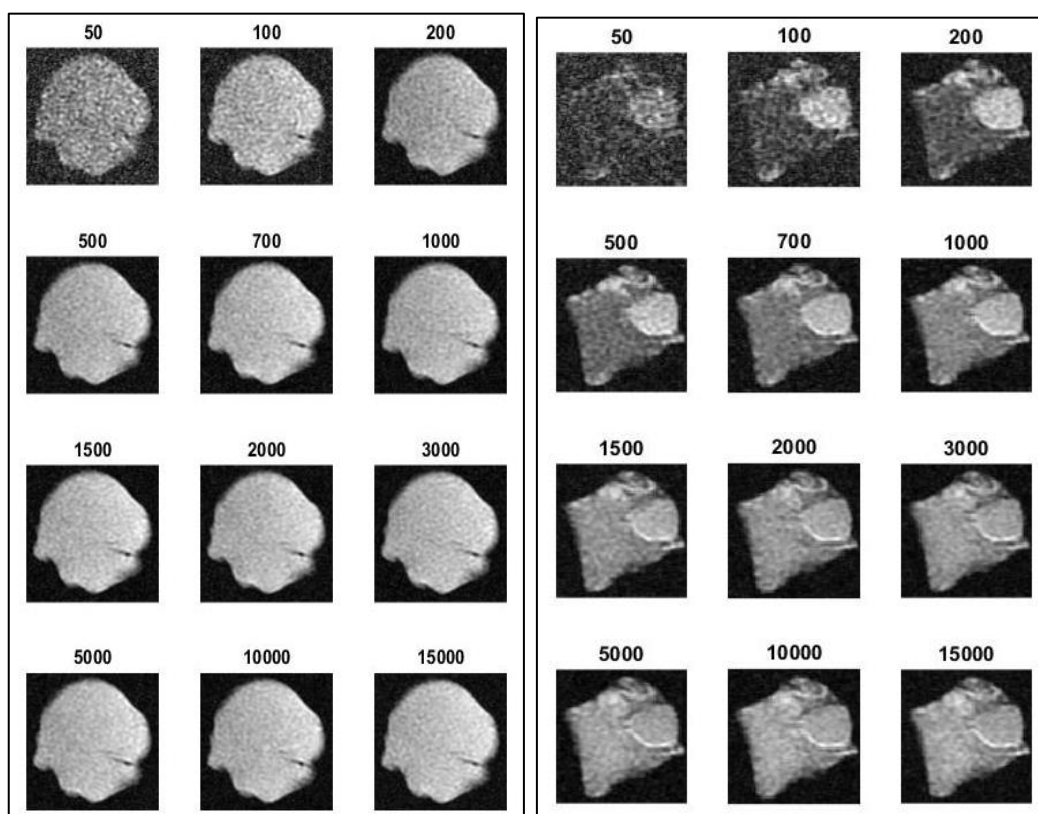
Rycina 6.79. Mapa T_1 próbek



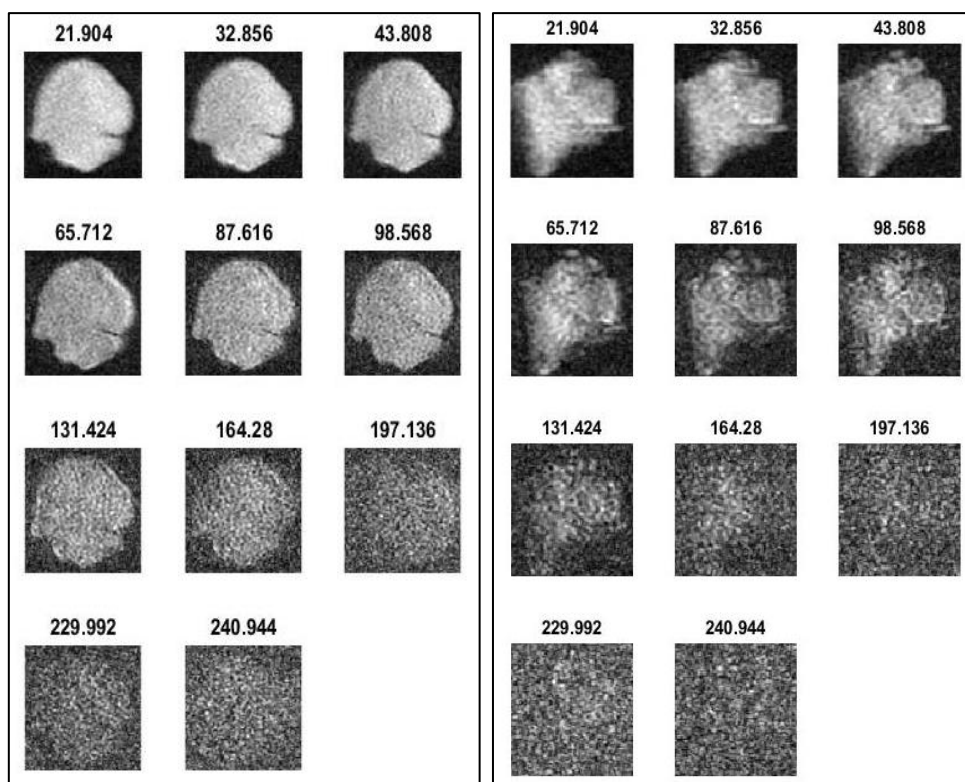
Rycina 6.80. Mapa T_2 próbek



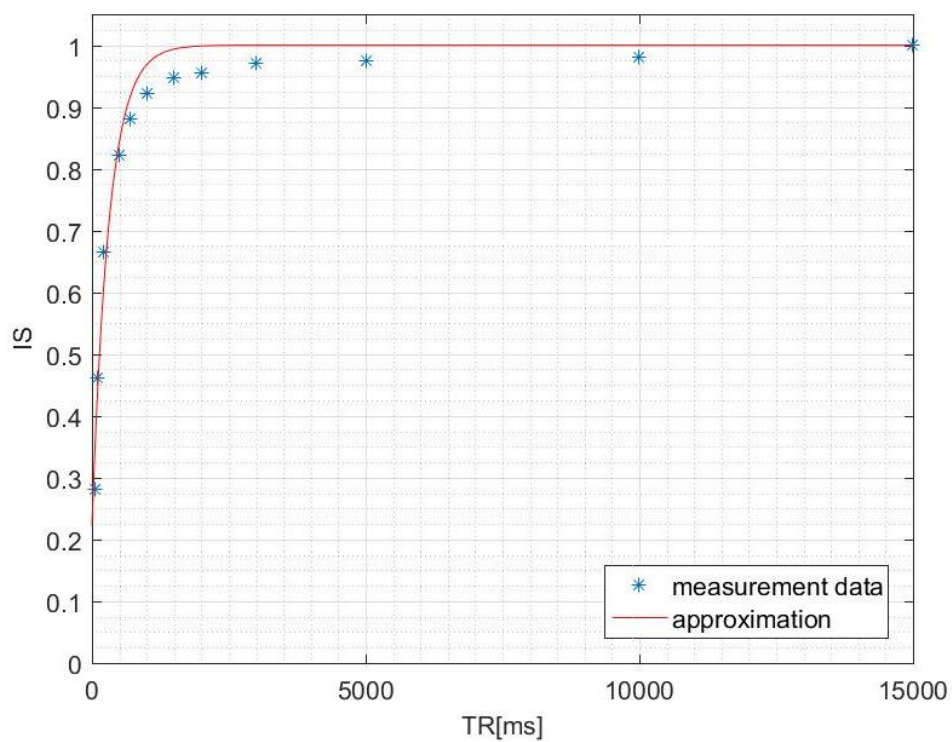
Rycina 6.81. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek



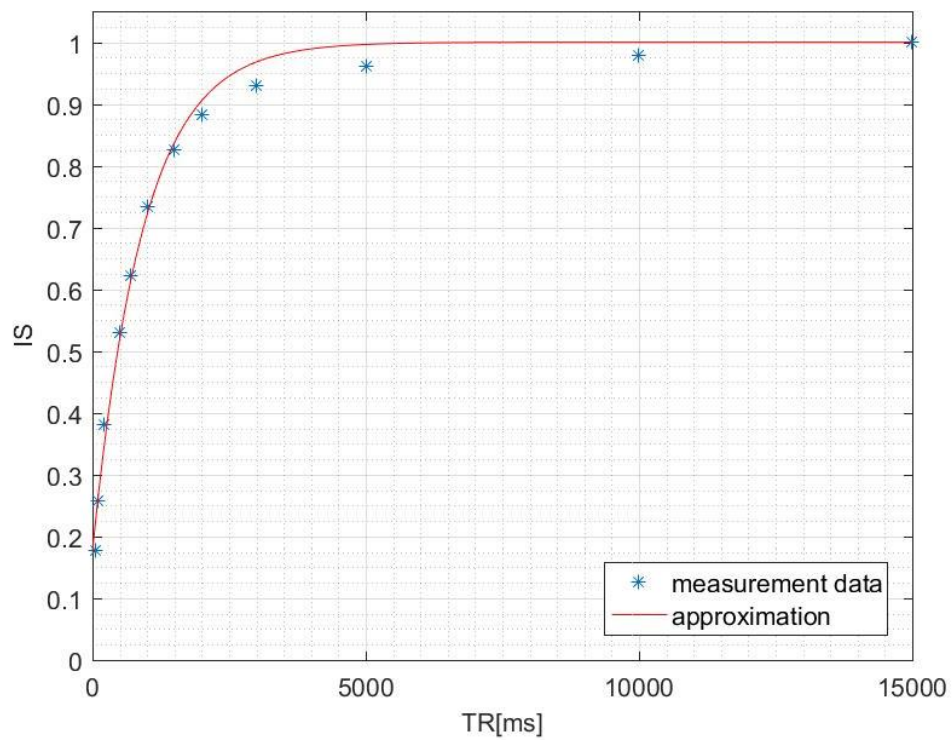
Rycina 6.82. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek



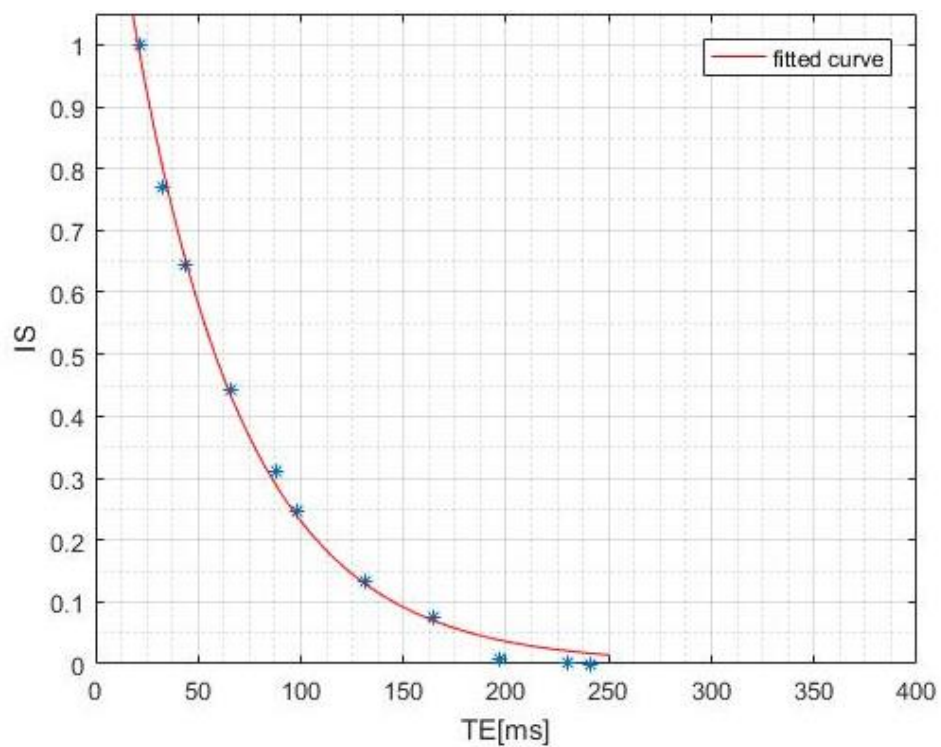
Rycina 6.83. Zestawiono obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek



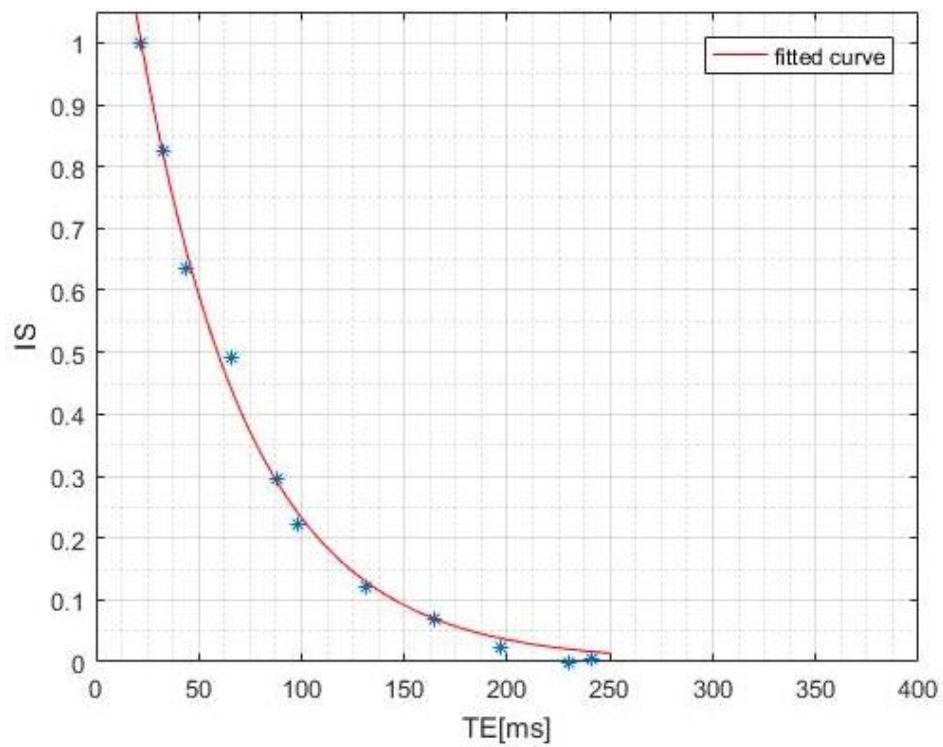
Rycina 6.84. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 11



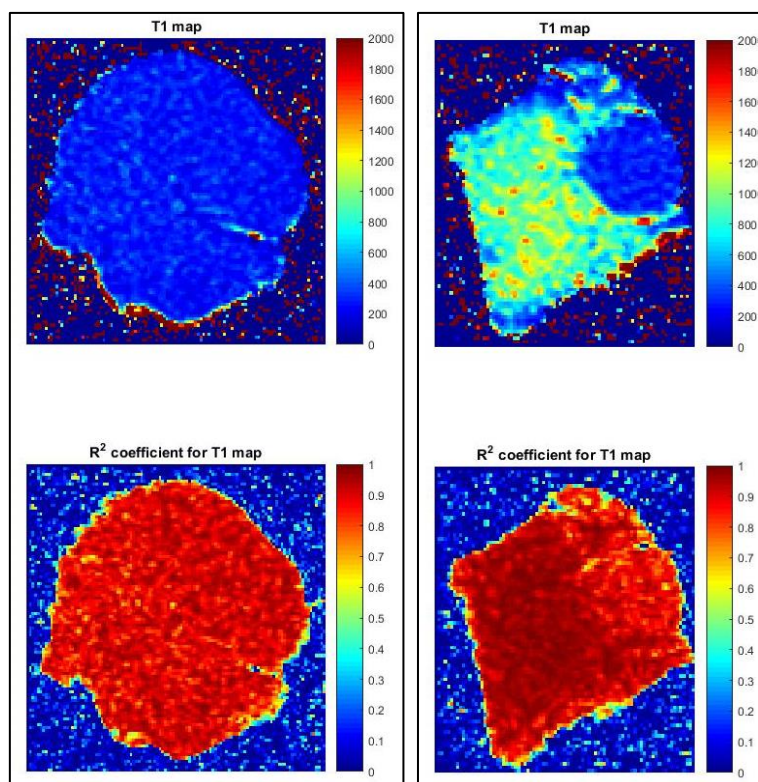
Rycina 6.85. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 12



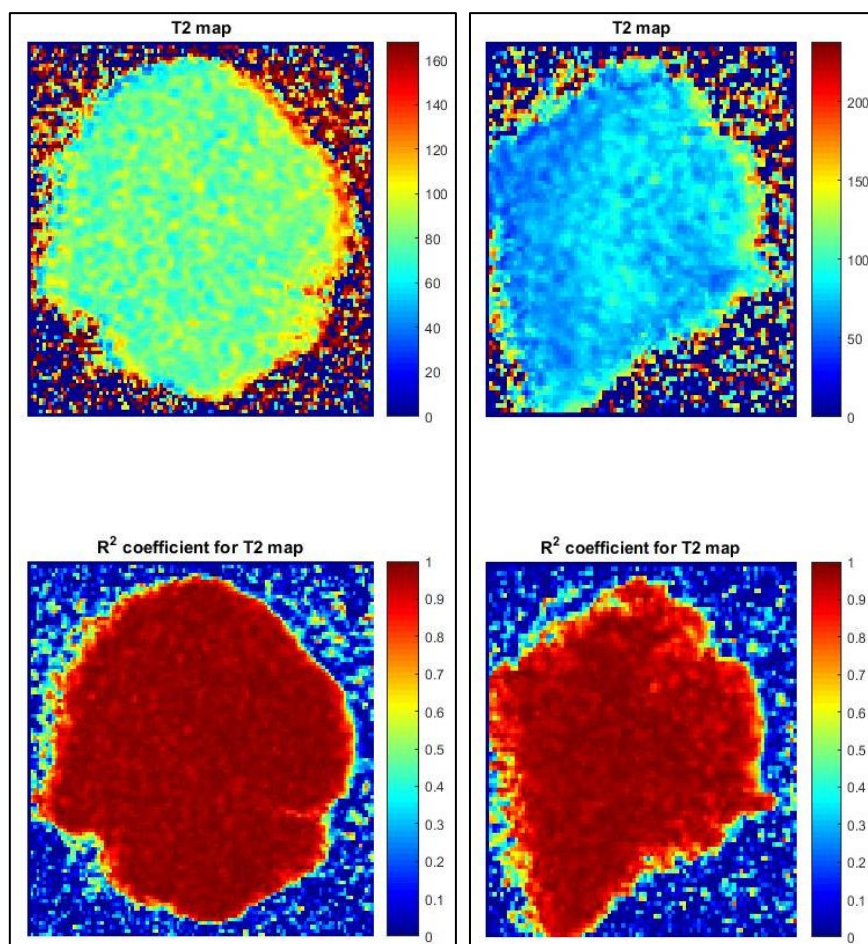
Rycina 6.86. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 11



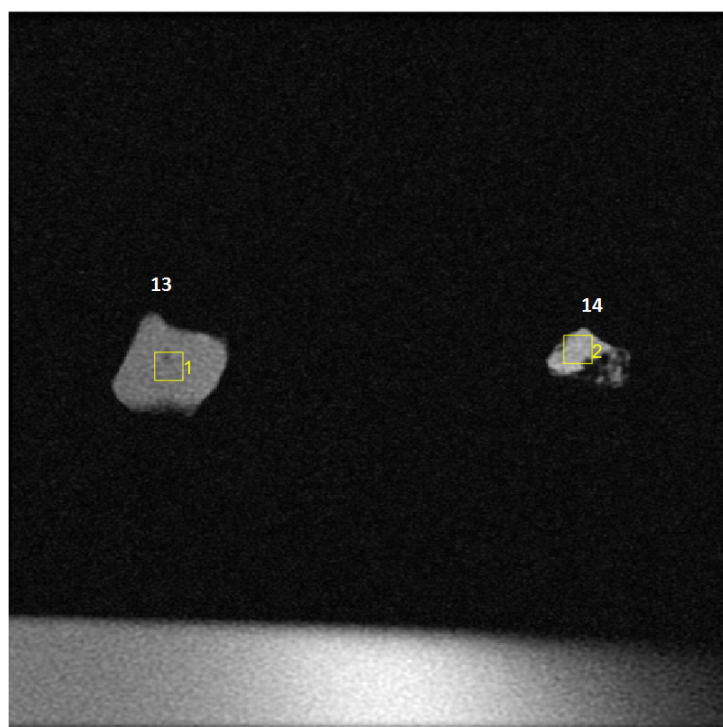
Rycina 6.87. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 12



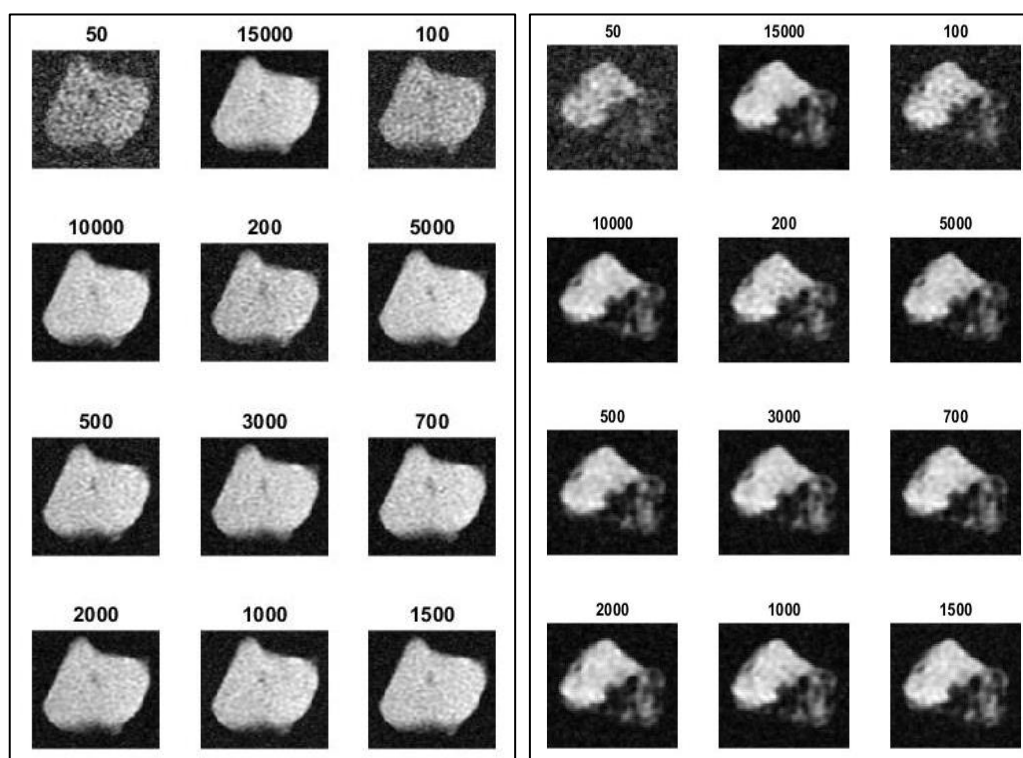
Rycina 6.88. Mapa T_1 próbek



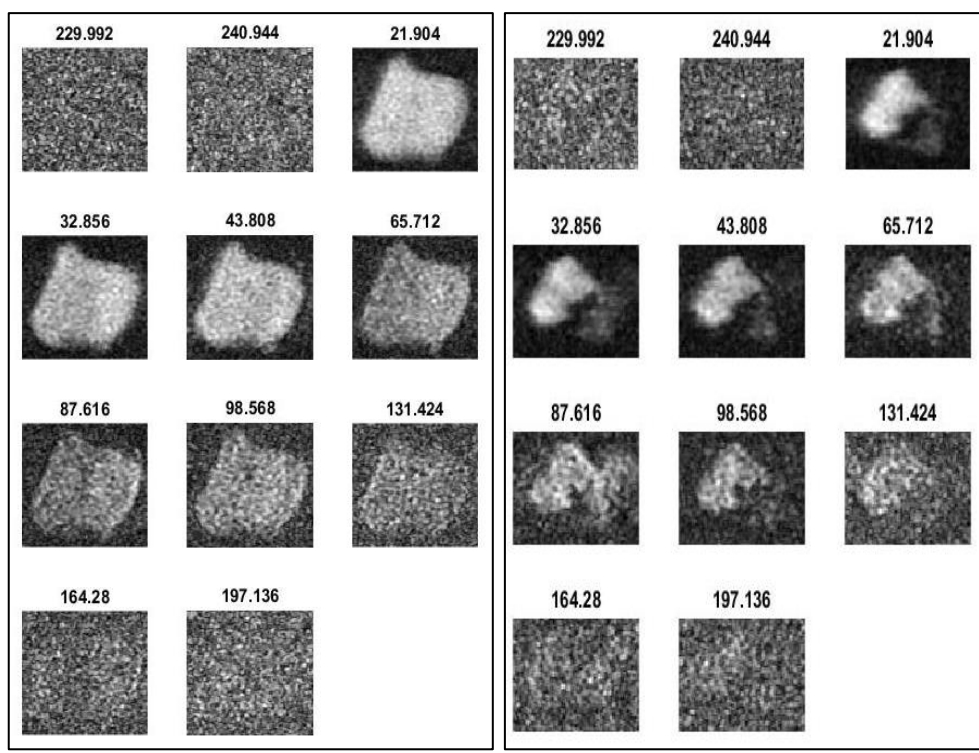
Rycina 6.89. Mapa T_2 próbek



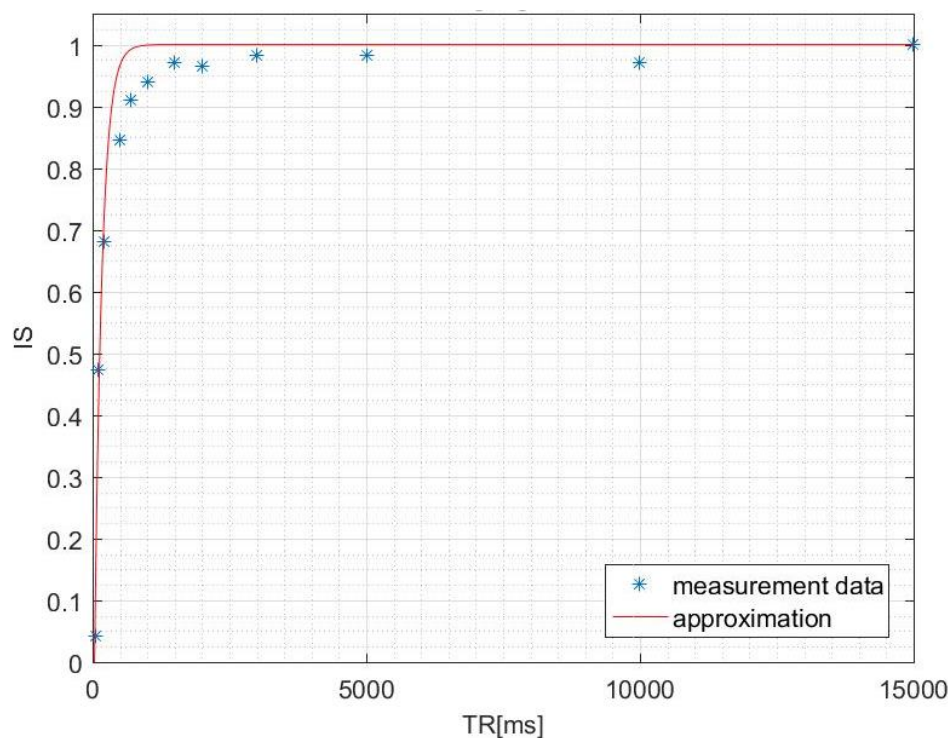
Rycina 6.90. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek



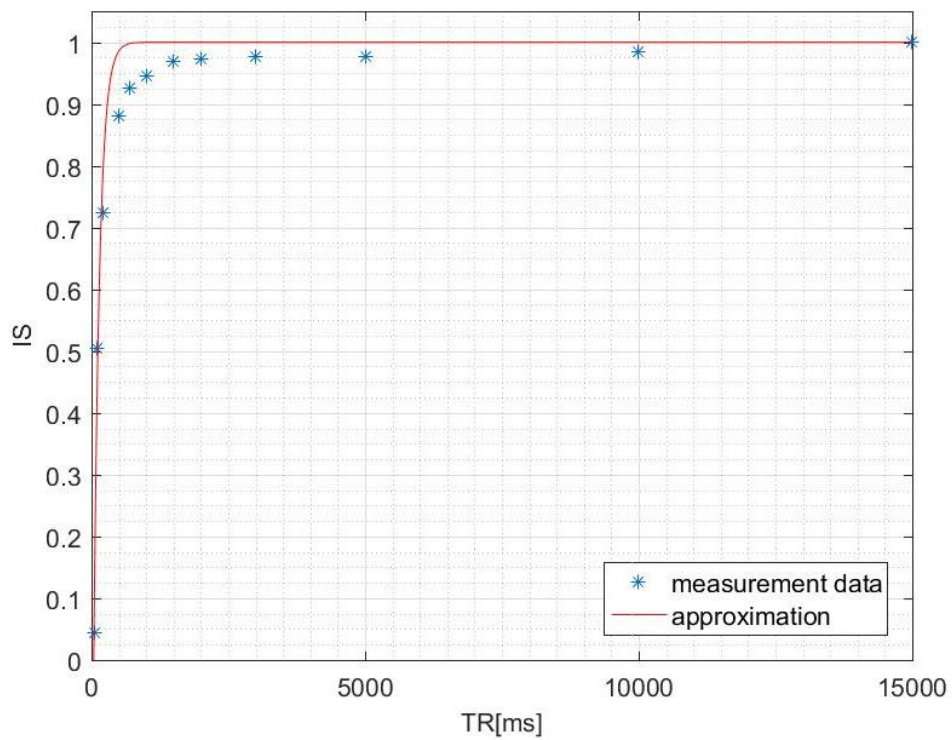
Rycina 6.91. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek



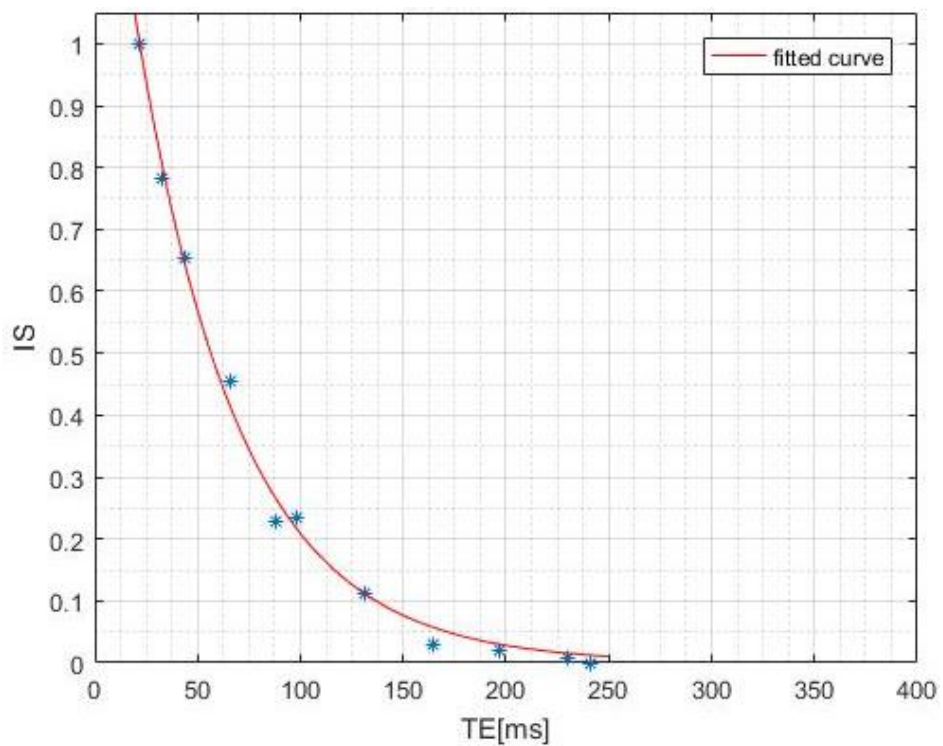
Rycina 6.92. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek



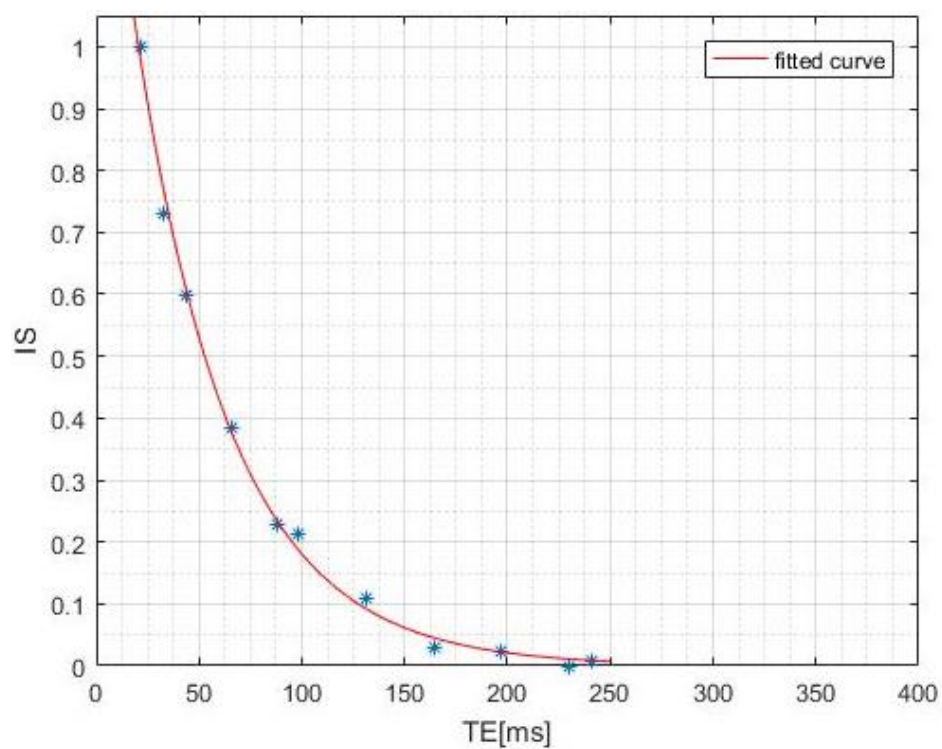
Rycina 6.93. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 13



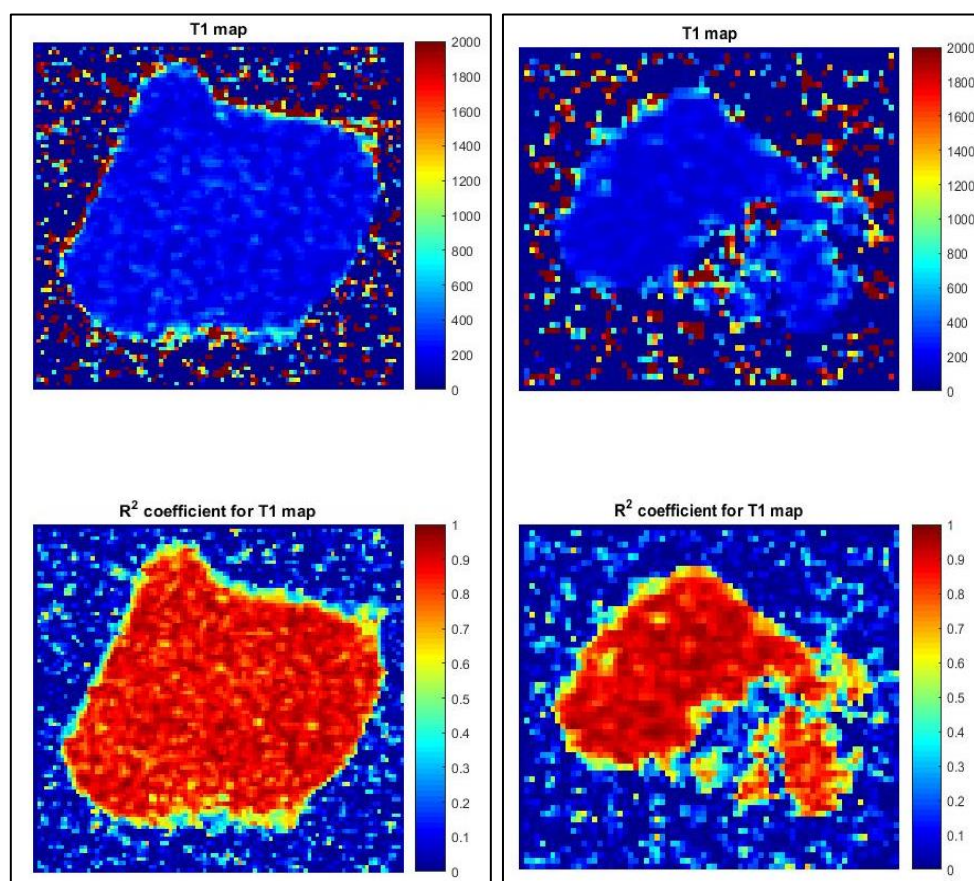
Rycina 6.94. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 14



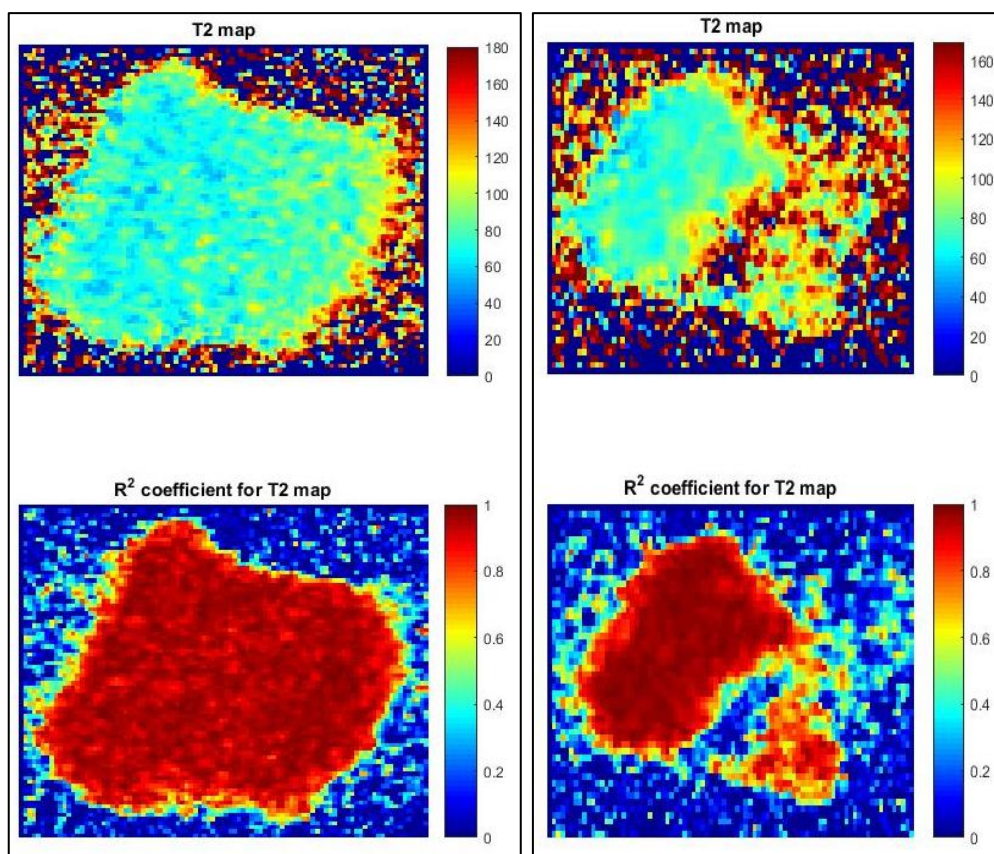
Rycina 6.95. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 13



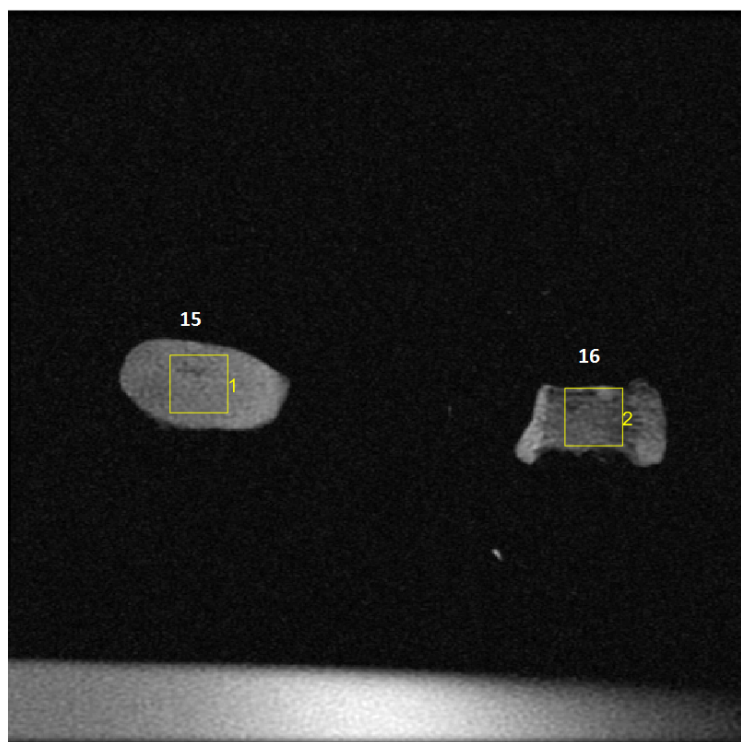
Rycina 6.96. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 14



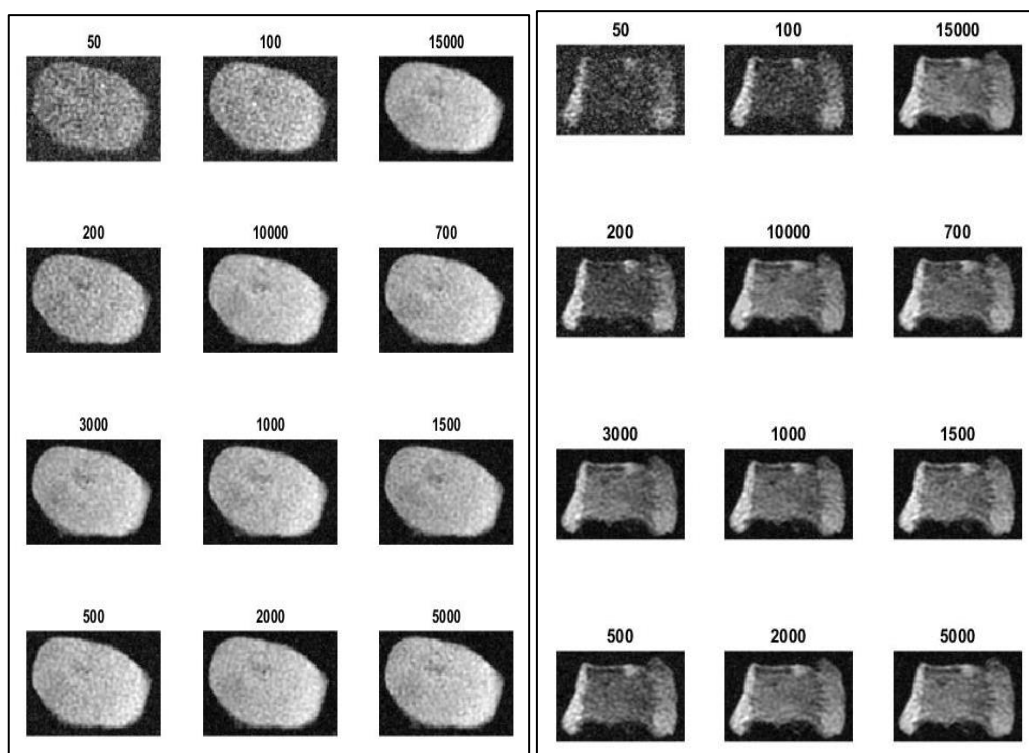
Rycina 6.97. Mapa T_1 próbek



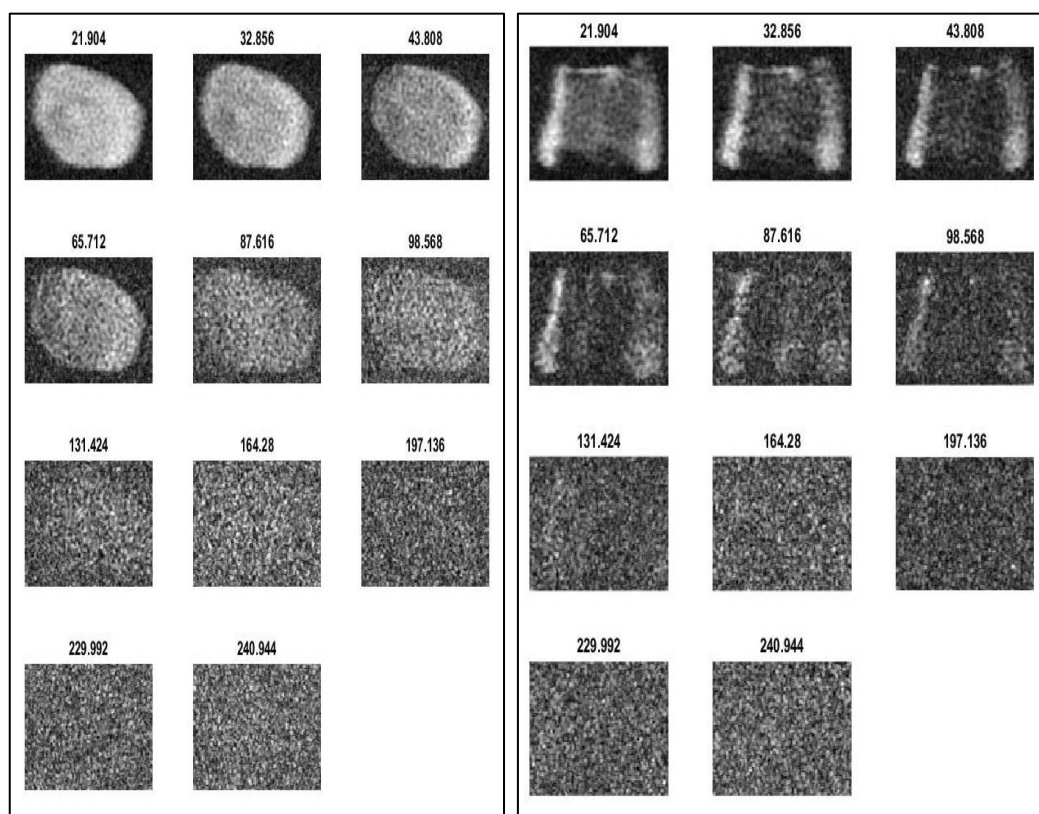
Rycina 6.98. Mapa T_2 próbek



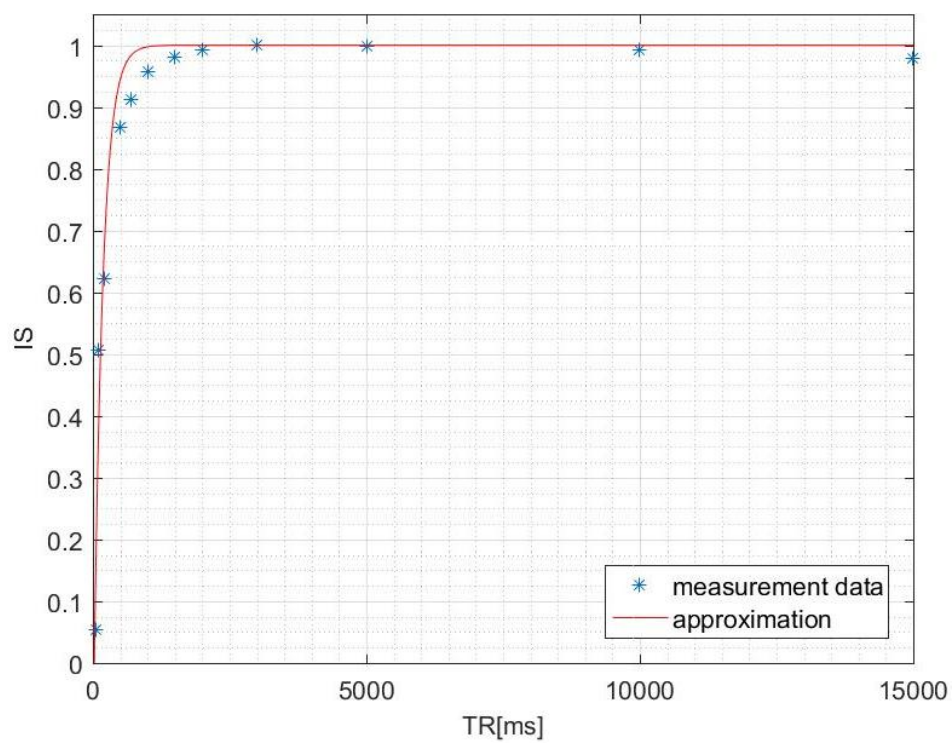
Rycina 6.99. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek



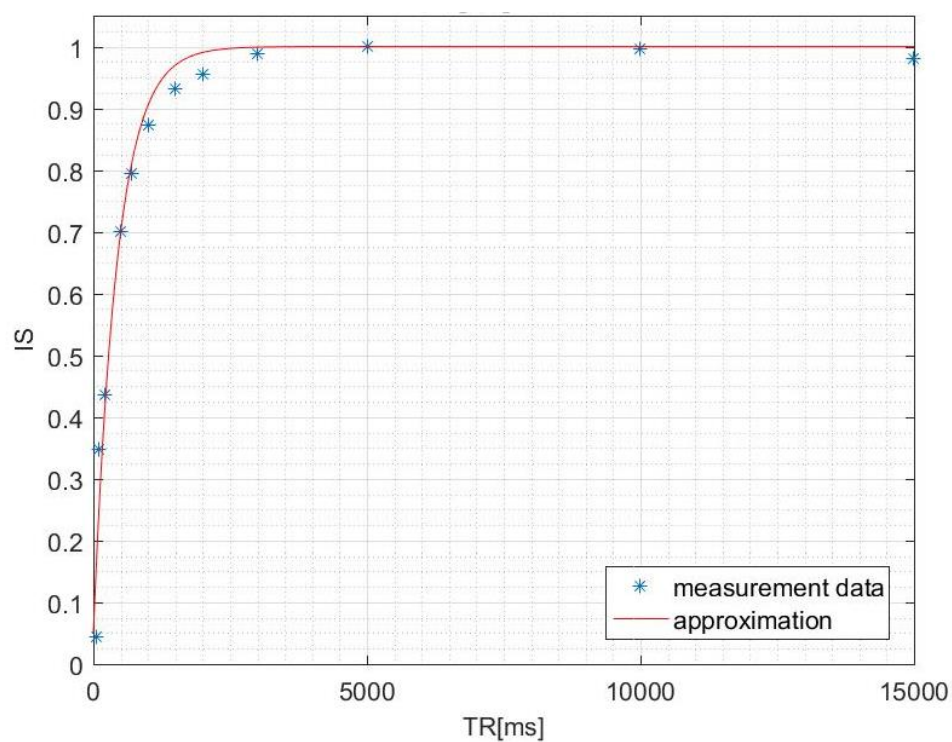
Rycina 6.100. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek



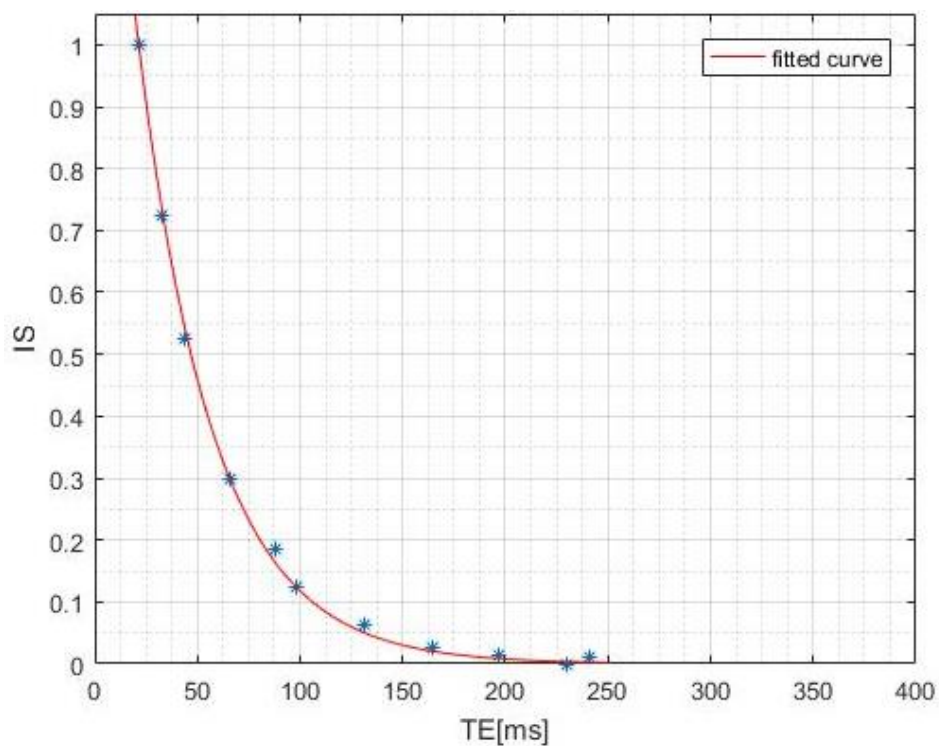
Rycina 6.101. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek



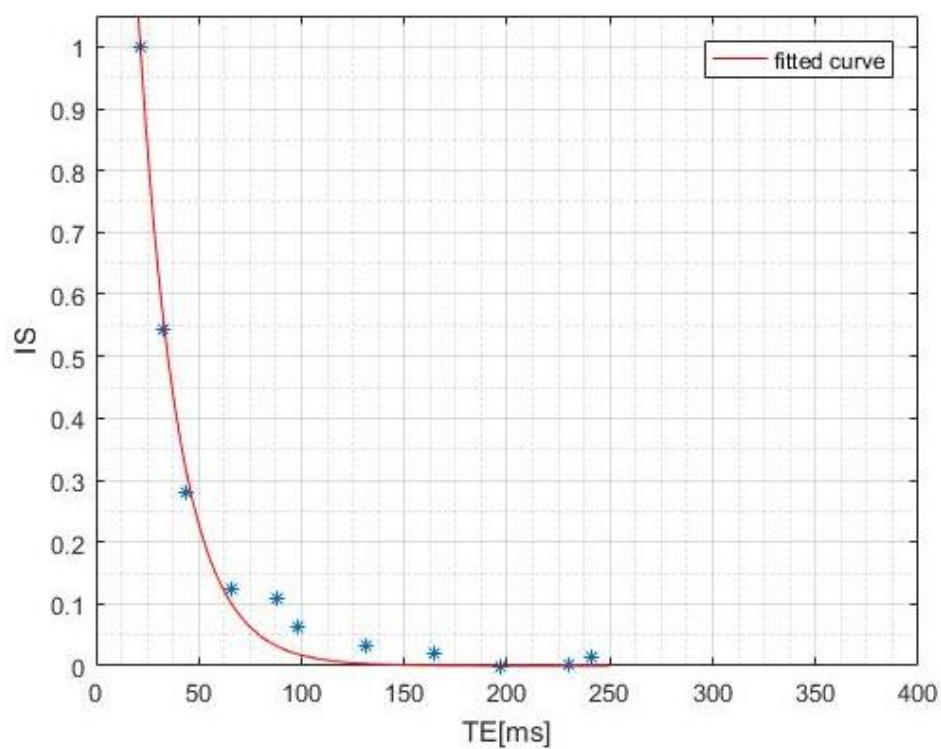
Rycina 6.102. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 15



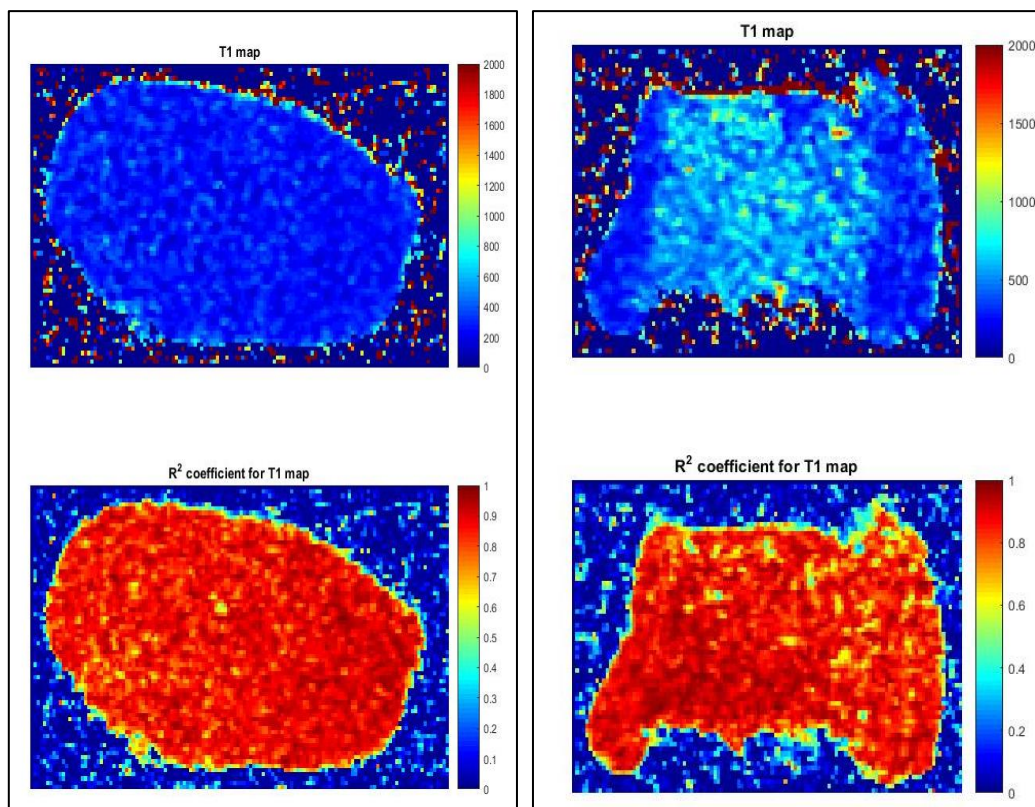
Rycina 6.103. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 16



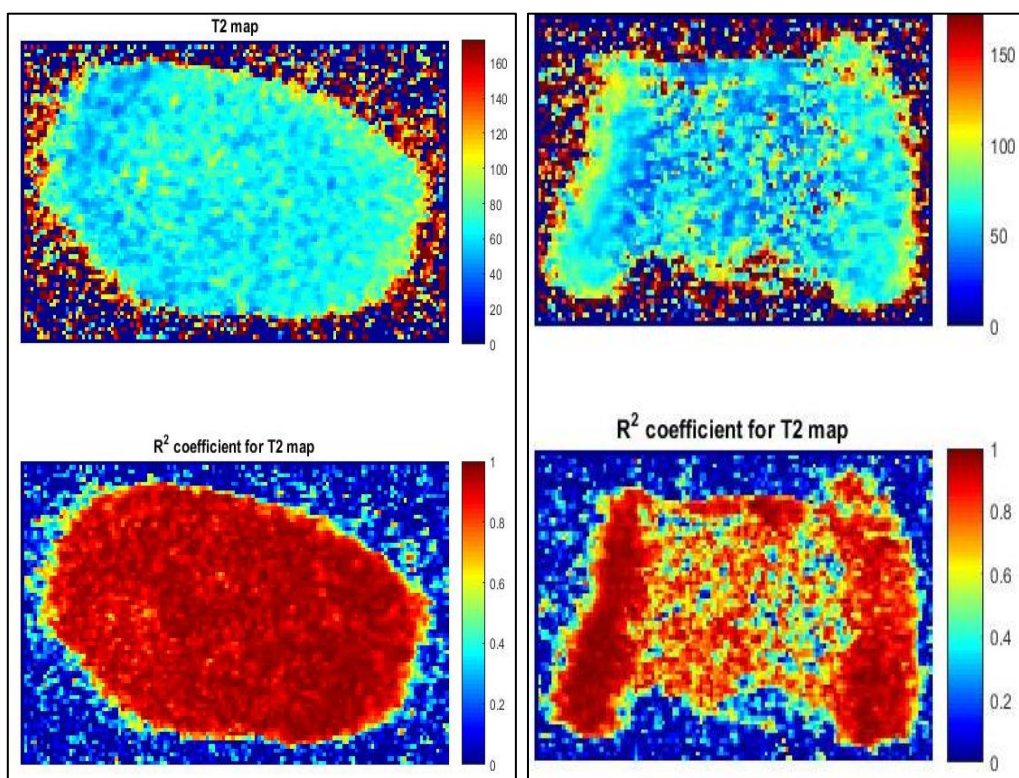
Rycina 6.104. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 15



Rycina 6.105. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 16



Rycina 6.106. Mapa T_1 próbek



Rycina 6.107. Mapa T_2 próbek

Na podstawie otrzymanych wyników z badania MR (obrazów DICOM, wykresów oraz map czasów próbek) zestawiono zbiorcze dane czasów relaksacji T_1 i T_2 danej próbki po terapii PDT w zależności od zastosowanego fotouczulacza.

Tabela 6.5. Wartości T_1 i T_2 tkanek nowotworowych po terapii PDT z różem bengalskim

Numer próbki	Wartość T_1 [ms]	Niepewność [ms]	Wartość T_2 [ms]	Niepewność [ms]
1	663	±71	87	±8
2	652	±44	93	±7
3	644	±12	110	±11
4	672	±76	75	±15
5	406	±74	48	±16
6	610	±96	69	±19
7	662	±59	73	±21
8	663	±64	82	±22
9	625	±35	85	±17
10	669	±22	92	±45
11	608	±88	101	±36
12	611	±23	111	±17
13	698	±29	101	±27
14	605	±20	121	±12
15	678	±48	101	±21
16	662	±82	74	±22
17	597	±13	75	±23
18	593	±22	86	±45
19	606	±17	79	±46
20	621	±81	101	±73
21	653	±73	97	±83
22	624	±44	104	±75
23	672	±48	120	±35
23	608	±53	92	±8
25	689	±23	97	±11
26	671	±11	84	±17

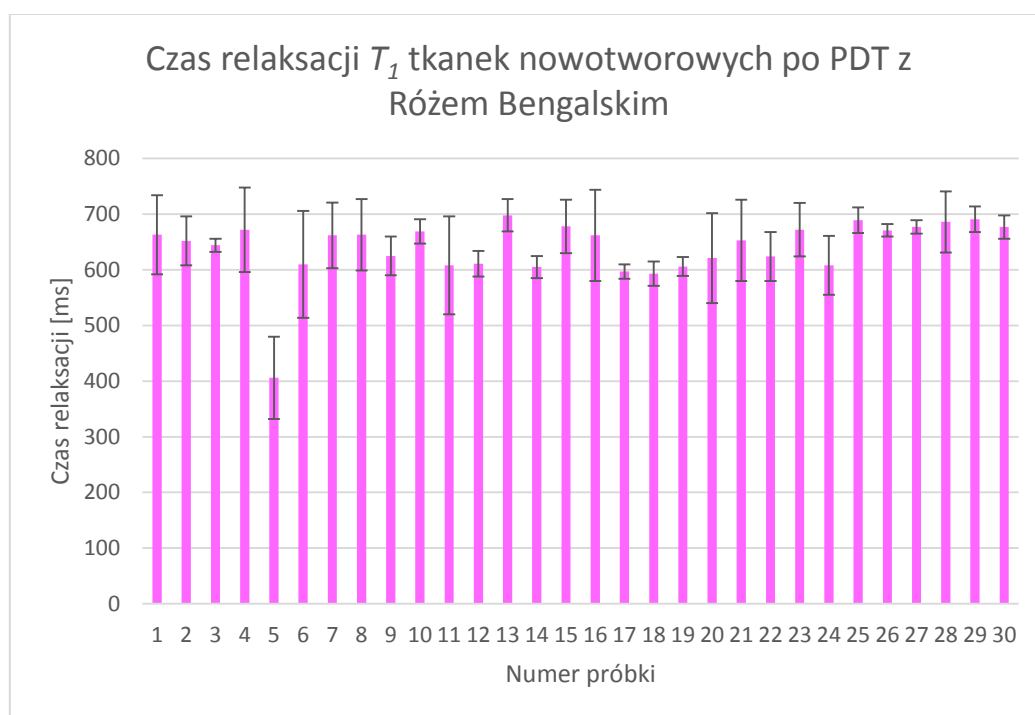
27	677	± 12	93	± 16
28	686	± 55	85	± 25
29	691	± 23	74	± 48
30	677	± 21	85	± 15

Średnia czasu T_1 : 639,77 [ms]

Odchylenie standardowe: 54,68 [ms]

Średnia niepewności: 44,63 [ms]

Odchylenie standardowe: 26,47 [ms]



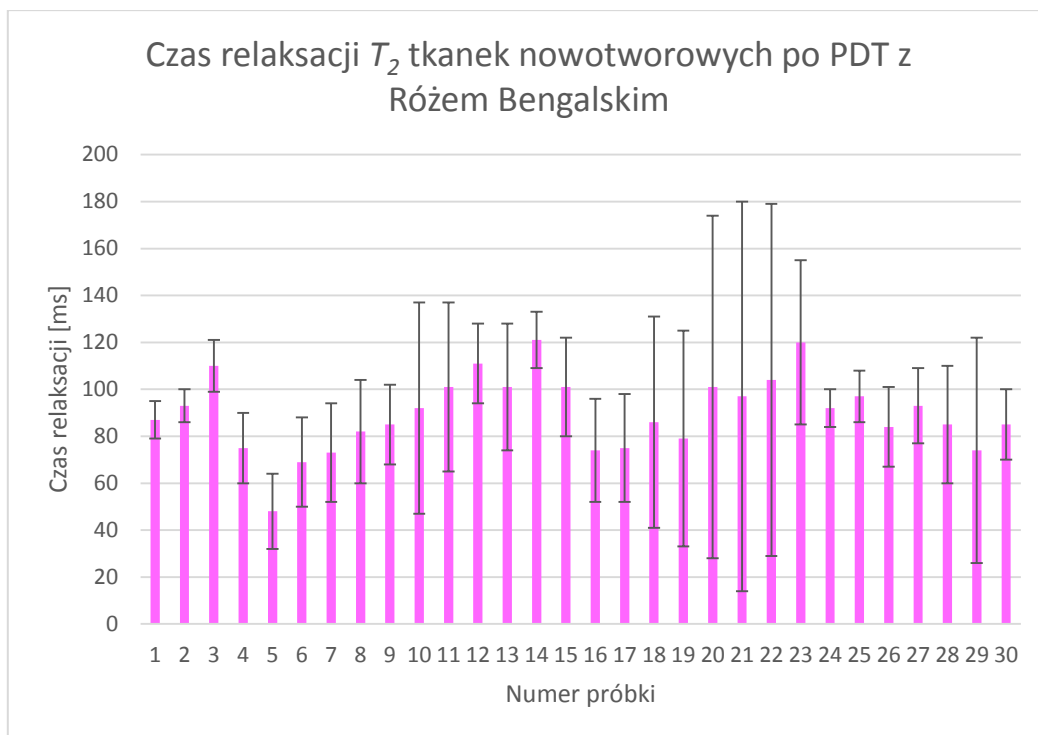
Rycina 6.108. Wartości czasu relaksacji T_1 dla tkanek nowotworowych po PDT z Różem Bengalskim

Średnia czasu T_2 : 89,83 [ms]

Odchylenie standardowe: 15,85 [ms]

Średnia niepewności: 27,87 [ms]

Odchylenie standardowe: 20,36 [ms]



Rycina 6.109. Wartości czasu relaksacji T_2 dla tkanek nowotworowych po PDT z Różem Bengalskim

Tabela 6.6. Wartości T_1 i T_2 tkanek nowotworowych po terapii PDT z solą disodową protoporfiryny IX

Numer próbki	Wartość T_1 [ms]	Niepewność [ms]	Wartość T_2 [ms]	Niepewność [ms]
1	516	±73	111	±8
2	509	±23	87	±7
3	584	±11	110	±11
4	570	±51	75	±15
5	529	±42	48	±16
6	578	±20	69	±19
7	547	±4	73	±21
8	562	±76	82	±22
9	544	±12	117	±55
10	525	±53	97	±16
11	590	±70	96	±1
12	584	±20	95	±10
13	570	±55	94	±14
14	598	±11	87	±17

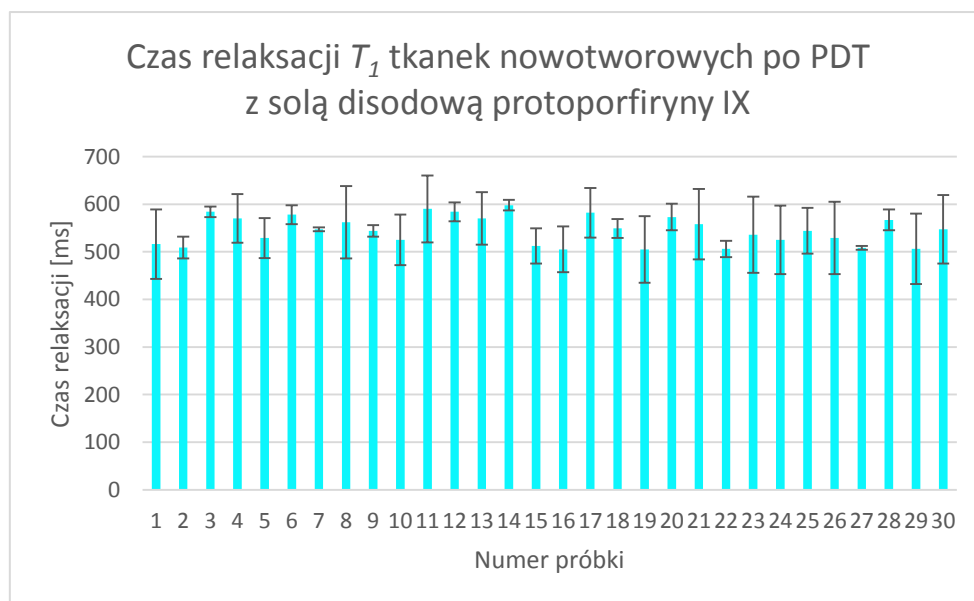
15	512	±37	83	±21
16	505	±48	68	±35
17	582	±52	99	±34
18	549	±20	75	±21
19	505	±70	34	±7
20	573	±28	55	±7
21	558	±74	59	±8
22	506	±17	63	±11
23	536	±80	74	±8
24	525	±72	75	±11
25	544	±48	92	±8
26	529	±76	97	±11
27	508	±4	84	±17
28	567	±22	93	±16
29	506	±74	85	±25
30	547	±72	46	±8

Średnia czasu T_1 : 545,27 [ms]

Odchylenie standardowe: 29,69 [ms]

Średnia niepewności: 43,83 [ms]

Odchylenie standardowe: 25,83 [ms]



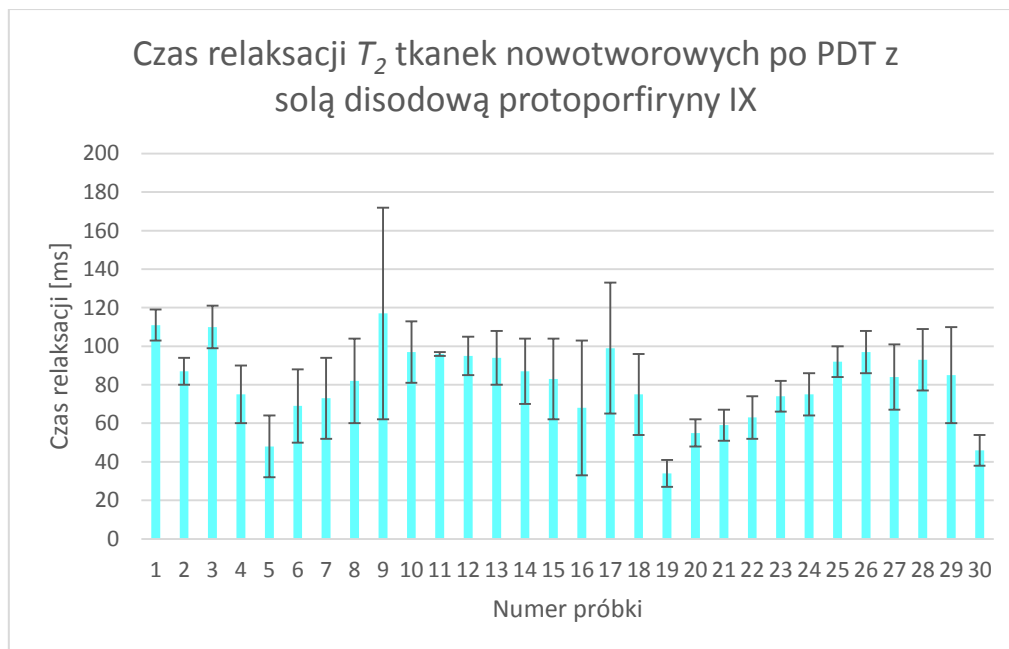
Rycina 6.110. Wartości czasu relaksacji T_1 dla tkanek nowotworowych po PDT z solą disodową protoporfiryny IX

Średnia czasu T_2 : 80,77 [ms]

Odchylenie standardowe: 19,80 [ms]

Średnia niepewności: 16,00 [ms]

Odchylenie standardowe: 10,73 [ms]



Rycina 6.111. Wartości czasu relaksacji T_2 dla tkanek nowotworowych po PDT z solą disodową protoporfiryny IX

Tabela 6.7. Wartości T_1 i T_2 tkanek nowotworowych po terapii PDT z dichlorkiem ftalocyjaniny krzemu

Numer próbki	Wartość T_1 [ms]	Niepewność [ms]	Wartość T_2 [ms]	Niepewność [ms]
1	517	±83	65	±12
2	523	±72	73	±14
3	583	±17	92	±18
4	589	±21	101	±19
5	511	±13	114	±19
6	546	±85	101	±27
7	573	±9	115	±34
8	569	±74	117	±55
9	578	±44	97	±16
10	546	±51	96	±1

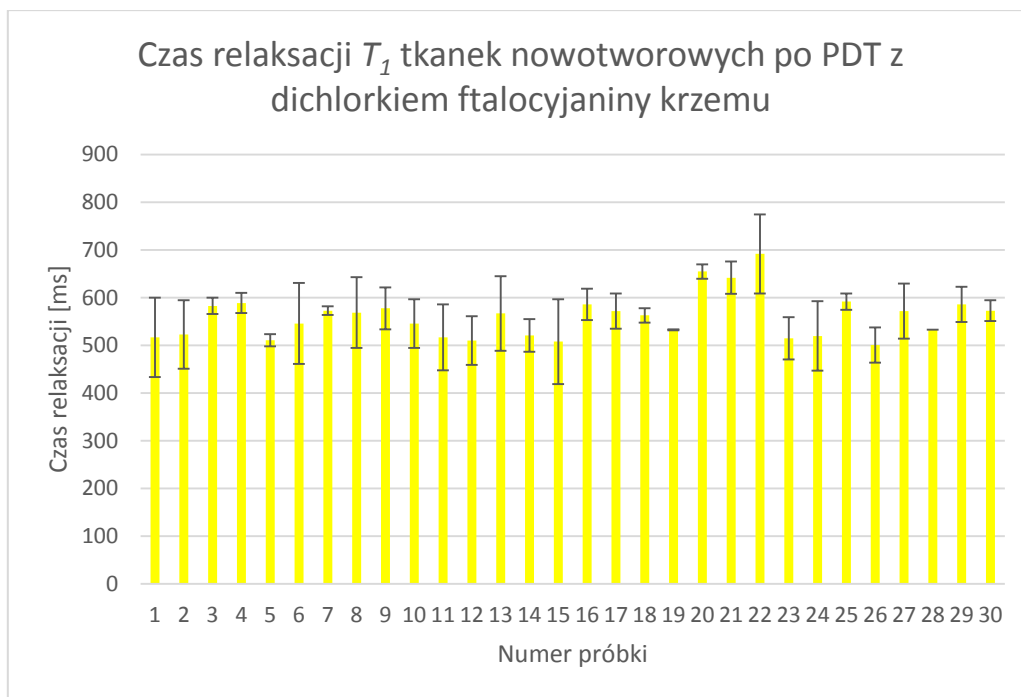
11	517	±69	95	±10
12	510	±51	94	±14
13	567	±78	87	±17
14	521	±34	83	±21
15	508	±89	68	±35
16	586	±33	73	±17
17	572	±37	65	±18
18	563	±15	74	±23
19	533	±1	75	±25
20	655	±15	75	±8
21	642	±34	69	±9
22	692	±83	74	±5
23	515	±44	65	±11
24	520	±73	73	±12
25	592	±17	77	±14
26	501	±37	84	±15
27	572	±58	95	±17
28	533	±0	104	±55
29	586	±37	112	±14
30	573	±22	101	±13

Średnia czasu T_1 : 559,77 [ms]

Odchylenie standardowe: 45,92 [ms]

Średnia niepewności: 43,20 [ms]

Odchylenie standardowe: 27,49 [ms]



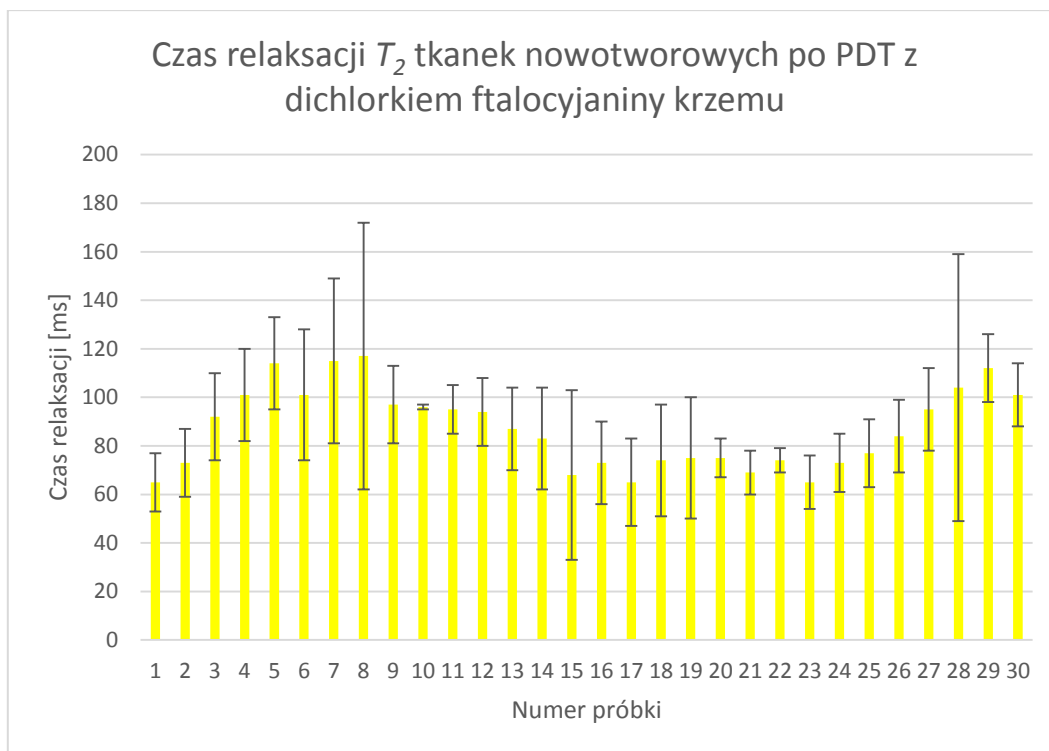
Rycina 6.112. Wartości czasu relaksacji T_1 dla tkanek nowotworowych po PDT z dichlorkiem ftalocyjaniny krzemu

Średnia czasu T_2 : 87,13 [ms]

Odchylenie standardowe: 16,37 [ms]

Średnia niepewności: 18,93 [ms]

Odchylenie standardowe: 12,25 [ms]



Rycina 6.113. Wartości czasu relaksacji T_2 dla tkanek nowotworowych po PDT z dichlorkiem ftalocyjaniny krzemu

Tabela 6.8. Wartości T_1 i T_2 tkanek nowotworowych po terapii PDT z chlorowodorkiem kwasu 5-ALA

Numer próbki	Wartość T_1 [ms]	Niepewność [ms]	Wartość T_2 [ms]	Niepewność [ms]
1	1153	43	74	8
2	1211	62	75	11
3	1213	45	96	12
4	1030	4	87	14
5	1140	17	93	15
6	1317	43	75	17
7	1125	77	83	24
8	1217	31	94	25
9	1301	73	97	43
10	1333	34	83	44
11	1158	72	85	34
12	1204	32	74	35
13	1199	17	75	44

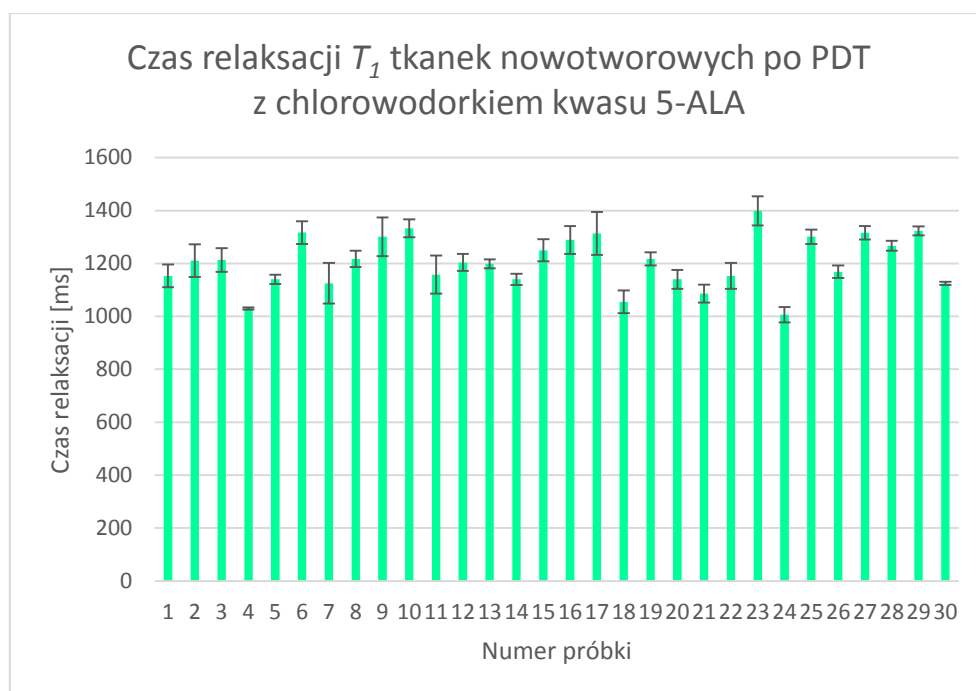
14	1140	21	67	24
15	1250	42	85	17
16	1289	53	69	19
17	1314	81	71	21
18	1055	43	74	22
19	1217	25	67	24
20	1140	36	101	17
21	1086	34	99	34
22	1153	49	75	21
23	1399	55	34	7
24	1006	29	55	7
25	1301	27	59	8
26	1169	24	63	11
27	1316	25	74	8
28	1267	19	75	11
29	1323	17	87	14
30	1125	6	83	24

Średnia czasu T_1 : 1205,03 [ms]

Odchylenie standardowe: 97,86 [ms]

Średnia niepewności: 37,87 [ms]

Odchylenie standardowe: 20,44 [ms]



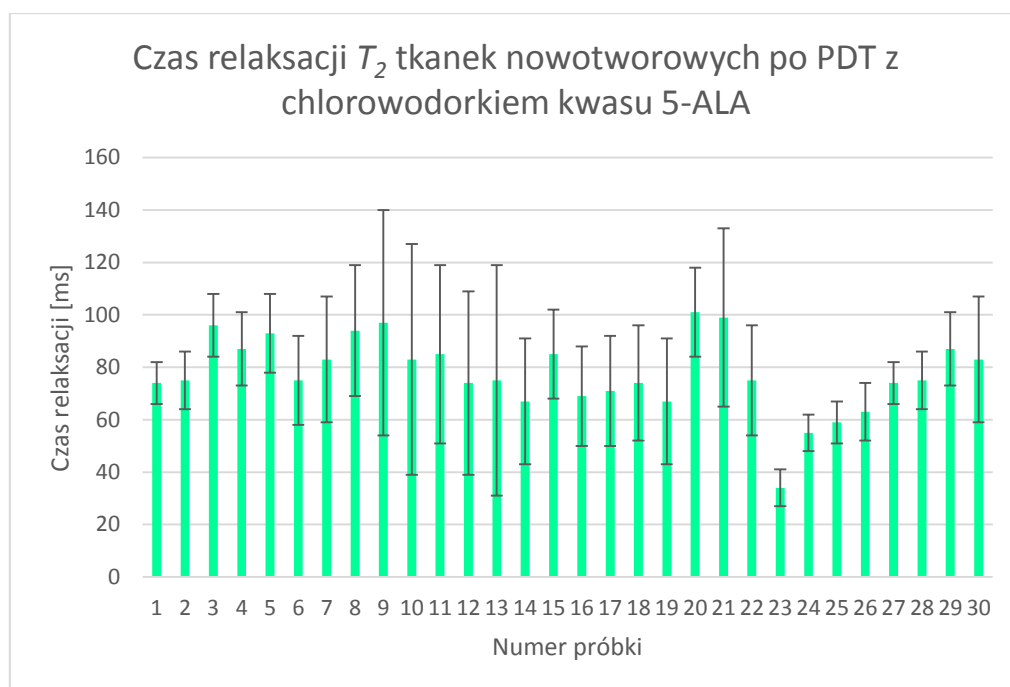
Rycina 6.114. Wartości czasu relaksacji T_1 dla tkanek nowotworowych po PDT z chlorowodorkiem kwasu 5-ALA

Średnia czasu T_2 : 77,63 [ms]

Odchylenie standardowe: 14,38 [ms]

Średnia niepewności: 20,50 [ms]

Odchylenie standardowe: 11,12 [ms]



Rycina 6.115. Wartości czasu relaksacji T_2 dla tkanek nowotworowych po PDT z chlorowodorkiem kwasu 5-ALA

Tabela 6.9. Charakterystyka statystyczna

	p-values T_1	p-values T_2
Tkanka zdrowa v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Róż Bengalski)	0,001163	0,001273
Tkanka zdrowa v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Sól disodowa protoporfiryny IX)	0,000958	0,015059
Tkanka zdrowa v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Dichlorek ftalocyjaniny krzemu)	0,00117	0,012658
Tkanka zdrowa v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Chlorowodorek kwasu 5-ALA)	0,008756	0,006081
Tkanka chora v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Róż Bengalski)	0,00798	0,019392
Tkanka chora v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Sól Disodowa protoporfiryny IX)	0,00358	0,06652
Tkanka chora v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Dichlorek ftalocyjaniny krzemu)	0,006433	0,074521
Tkanka chora v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Chlorowodorek kwasu 5-ALA)	0,001446	0,02742

p<0.05- wartość istotna statystycznie (zaznaczona kolorem zielonym)

7. DYSKUSJA

7.1. Histopatologia tkanek zdrowych, chorych oraz po terapii fotodynamicznej

Histopatologia stanowi najważniejszą metodę potwierdzającą obecność komórek nowotworowych w tkance raka piersi. W celu ich zróżnicowania z rakiem niezbędne jest wykonanie badania histopatologicznego.

7.2. Innowacyjne narzędzie informatyczne do diagnostyki i leczenia raka piersi analizujące dane Magnetycznego Rezonansu Jądrowego

Interpretacja obrazu na podstawie różnic w intensywności sygnału (kontrastu) między różnymi cechami tkanek nazywana jest obrazowaniem jakościowym. Generowanie kontrastu w MR jest jedną z głównych zalet tej metody w porównaniu z jakąkolwiek inną metodą obrazowania. Łącząc różne czasy wzbudzenia i wykrywania sygnału z praktycznie nieskończoną liczbą impulsów elektromagnetycznych, można osiągnąć prawie nieskończone różnice w kontrastach. Głównym celem jest wybór i dostosowanie sekwencji obrazowania w celu uzyskania ostatecznego pożądanego kontrastu MR. Zmierzony sygnał MR jest zawsze określany przez wiele efektów (relaksacja T_1 - T_2 , dyfuzja, perfuzja, podatność, itp.) generowanie czystego kontrastu jest niemożliwe, stąd wskaźnik ważenia zawsze używany jest w nazwach sekwencji. Celem badania jest ustawienie sekwencji obrazowania w taki sposób, aby podkreślić pożądaną efekt kontrastu i zminimalizować pozostałe.

Pierwsze sekwencje obrazowania dostrojono, aby pokazać różnice w relaksacji T_1 i T_2 w tkankach. Obrazy T_1 - T_2 zależne okazały się tak przydatne, że nawet obecnie stanowią podstawę protokołów obrazowania. Nieco później, dzięki zastosowaniu specjalnych gradientów uwrażliwiających na ruch, w sekwencji ważenia dyfuzji wody stało się to możliwe. Obecnie dostępnych jest wiele technik

ważenia kontrastu: T_1 , T_2 , T_2^* , gęstość protonów. Wybór konkretnych sekwencji zależy od preferencji obsługującego oraz specyfiki badania.

Pułapką obrazowania jakościowego jest to, że dokładna ocena ilościowa nie jest możliwa i badanie pokazuje tylko przekrojową informację o efekcie ważonym, a nie dokładne tło, podczas gdy kontrast jest bardzo wrażliwy na parametry techniczne. Jednak szybki czas obrazowania i prosta stosowalność to główna zaleta, która stawia tę metodę na pierwszym miejscu w codziennej diagnostyce.

Kliniczne obrazowanie rezonansem magnetycznym (MR) jest badaniem, służącym do nieinwazyjnego obrazowania ciała ludzkiego. W badaniu, umieszcza się pacjenta w bardzo silnym stałym polu magnetycznym, powodując ustawienie większości spinów magnetycznych jąder atomów w kierunku równoległym do przyłożonego pola - powstaje magnetyzacja podłużna. Dodatkowo samo urządzenie emituje fale o częstotliwościach radiowych, a dokładniej o częstotliwości precesji protonów które powoduje, że zanika podłużna magnetyzacja, a powstaje poprzeczna. Wektor w różnym stopniu odchyła się w stosunku do przyłożonego pola magnetycznego. Po przerwaniu emitowania fal radiowych układ wraca do równowagi energetycznej. Czas, w którym spiny wrócą do ustawienia zgodnie z liniami pola i magnetyzacja podłużna rośnie to czas relaksacji podłużnej spin-sieć T_1 . Jednocześnie w tym czasie zanika magnetyzacja poprzeczna spin-spin T_2 . Ten ostatni etap indukuje impuls elektromagnetyczny, który jest rejestrowany, wzmacniany i przetwarzany na obraz. Słaba intensywność sygnału odpowiada ciemnemu zabarwieniu, silna jasnemu. Intensywność sygnału zależy od wielu czynników, między innymi od ilości wody, budowy biochemicznej i anatomicznej badanej warstwy oraz od stosowanych czasów: (czasu TE oraz czasu TR).

MR zapewnia wysoki kontrast dla tkanek miękkich, bez narażania pacjenta na promieniowanie jonizujące. Systemy obrazowania rezonansu magnetycznego działają zazwyczaj w pasmie częstotliwości radiowych od 1MHz do 100MHz, a systemy TK działają w zakresie od 10¹⁶ Hz do 10¹⁸ Hz, narażając przy tym pacjenta na promieniowanie jonizujące, które może uszkodzić tkanki.

Obrazowanie metodą MR jest bardzo użytecznym narzędziem do poznania anatomii, morfologii, a także składu chemicznego tkanki. MR jest oparty na pomiarze jąder wodoru i nie obejmuje emisji promieniowania jonizującego, jak w

technice TK. MR najczęściej stosuje się w przypadku próbek zawierających jądra ^1H w dużym stężeniu w polu magnetycznym w zakresie od 0,05 do 14 Tesli. MR ocenia fizyczne właściwości obszaru próbki względem sąsiednich obszarów. MR *in vivo* służy głównie do kontrolowania zmian anatomicznych i morfologicznych w organizmie człowieka. Główne zastosowania MR *in vitro* to monitorowanie wody i innych rozpuszczalników, kontrolowane uwalnianie postaci dawkowanego leku, hydratacja tkanki i dyfuzja. Obecnie MR jest wykorzystywany jako standardowy test w obrazowaniu ośrodkowego układu nerwowego, serca, mięśni lub innych tkanek miękkich. MR jest jedną z najpopularniejszych metod diagnostycznych dostępnych dla współczesnej medycyny, a ponadto, ze względu na wysoką czułość i swoistość, jest uważana za najdokładniejszą metodę obrazowania medycznego. W opinii klinicystów i badaczy, MR jest jedną z najdokładniejszych i nieinwazyjnych metod obrazowania. Ta metoda pozwala tworzyć sekcje obrazów w dowolnej płaszczyźnie zarówno żywych organizmów, jak i nieanatomicznych struktur. Sygnał, który otrzymujemy w MR, jest zależny od badanego obiektu i jego właściwości, ale także od indywidualnego protokołu. W MR mamy możliwość uzyskania danych z informacjami morfologicznymi, funkcjonalnymi i metabolicznymi. Pozwala to zobaczyć zmiany w składzie chemicznym tkanki nowotworowej, a następnie ustalić, czy lek działa prawidłowo. W przypadku próbki umieszczonej w silnym polu magnetycznym jądro pochłania energię przesyłanych fal, powodując emitowanie fal o tej samej częstotliwości. Wiadomo, że czasy relaksacji T_1 i T_2 są związane ze stanem wody w przedziałach komórkowych, który obejmuje zawartość wody, ruchliwość wody i oddziaływania między wodą i makrocząsteczkami. Ogólnie rzecz biorąc, im mniejsza jest ruchliwość cząsteczkowa, tym krótszy jest czas relaksacji T_2 .

Technika MR generuje obraz wybranych tkanek. Nowe badania MR prowadzące do zastosowania wyższych pól powinny poprawić zarówno wrażliwość, jak i rozdzielczość widm *in vivo*. Wraz z ulepszonymi technikami lokalizacyjnymi zdolność do pozyskiwania sygnału z mniejszych obszarów powinna prowadzić do lepszej separacji obszaru guza i prawidłowej tkanki, a przyszłe badania mogą być w stanie wygenerować wystarczającą ilość informacji metabolicznej, aby zapewnić parametry diagnostyczne i prognostyczne. MR zapewnia pomiary wartości relaksacji w interesującej badacza tkance. Ogromny potencjał MR w tłumaczeniu

złożonych tkanek biologicznych na parametry fizyczne jest ostatnio szybko rozwijającym się obszarem zainteresowania empirycznego, teoretycznego i klinicznego. Istnieje wiele technik rezonansu magnetycznego, które określają czasy relaksacji protonów: spin-sieć T_1 i spin-spin T_2 . Metody te obejmują techniki takie jak Fully Relaxed Inversion Recovery (IR), Fast Inversion Recovery (FIR), Modified Fast Inversion Recovery (MFIR), Progressive Saturation (PS), Saturation Recovery (SR), Variable Nutation (VN) oraz Look locker (LL). Aby utworzyć mapę T_1 należy zmierzyć serię obrazów z różnymi wartościami TR od wartości najmniejszej do największej, a następnie nałożyć te pomiary na siebie. Aby utworzyć mapę T_2 należy zmierzyć serię obrazów z różnymi wartościami TE od wartości najmniejszej do największej, a następnie nałożyć te pomiary na siebie. Aby uzyskać obraz T_1 -ważony namagnesowanie można uzyskać przed pomiarem sygnału MR przez zmianę czasu powtarzania (TR). Aby utworzyć obraz T_2 -ważony namagnesowanie może zniknąć przed pomiarem sygnału MR zmieniając czas echa (TE). Ilościowy MR przyniósł postępy w medycynie poprzez obrazowanie biochemii komórkowej tkanki. Jednocześnie wprowadzenie pomiaru T_1 i T_2 do biologii zaproponował po raz pierwszy Damadian i wsp. w 1971. W eksperymencie Damadiana wykorzystano dwie linie komórkowe nowotwora złośliwego *in vitro*, których czas relaksacji był większy niż w normalnych zdrowych tkankach. Obserwacja ta została powtórzona *in vivo* przez Weismanna i wsp. Mapy czasu relaksacji można wykorzystać do przestrzennego kodowania dowolnych zmian w dowolnych innych procesach fizycznych wpływających na relaksację. Na przykład mapy relaksacji zostały wykorzystane do uzyskania ilościowych oszacowań stężenia żelaza w wątrobie.

Kobieca piersć składa się głównie z tkanki tłuszczowej. Zwiększona gęstość piersi jest jednym z najsilniejszych czynników ryzyka raka piersi. Pomiar MR w tkance piersi wzmocnionej gadolinem można zastosować do pomiaru proteoglikanu. Badania MR mogą identyfikować różnice molekularne między fibroblastami. Orientacja sieci włókien kolagenowych zależy od relacji woda i proteoglikan. Zdrowy kolagen w zdrowej tkance piersi jest dobrze zorganizowany i spodziewamy się krótkiego czasu relaksacji T_2 . Uszkodzony kolagen umożliwia swobodny przepływ wody. Zmiana w T_2 odzwierciedla orientację kolagenu i jego stężenie. Obserwacja ta może sugerować, że wartości czasów relaksacji spin-spin w tkance piersi są spowodowane zmianami molekularnymi, które mogą być instrumentalne

w wykrywaniu wczesnych komórek nowotworowych. Wartości czasu relaksacji T_1 zależą od względnych proporcji między wodą wolną i związaną. Jednak wykorzystanie MR jako narzędzia ilościowego wymaga wciąż doskonalenia.

Aby w pełni wykorzystać możliwości pomiarów ilościowych w klinice z urządzeniem MR wydaje się konieczne opracowanie programu do analizy po procesie który poda wyniki czasów T_1 i T_2 oraz pozwoli na wygenerowanie mapy organu. Mapa przedstawiająca subtelne różnice między T_1 i T_2 *in vivo* pozwoliłaby na bezbłędne oszacowanie obszaru guza i obszaru zdrowej tkanki. W niniejszym projekcie przeprowadzono badania na tkankach *ex-vivo* (*in vitro*), pobranych od pacjentek podczas usuwania raka piersi. Do badania została użyta część tkanki chorej oraz zdrowej, co pozwoliło przeprowadzić analizę porównawczą. Zaplanowano przebadanie grupy pacjentek nie mniejszą niż 30.

W systemie ekspertowym w postaci algorytmów diagnostycznych opartych na teorii rozpoznawania wzorców wykorzystano wielokryterialną teorię podobieństwa i optymalizacji.

Jednym z głównych zadań w planowanym projekcie było zadanie, polegające na opracowaniu zestawu narzędzi informatycznych do realizacji procesu wspomagania diagnostyki medycznej z użyciem innowacyjnej metody obrazowania MR, umożliwiające nieinwazyjne badanie morfologii chorej tkanki. Zastosowanie analizy czasów relaksacji pozwoliło określić różnice pomiędzy zdrową a nowotworową tkanką (biochemiczną kompozycje). Dodatkowo zainicjowano możliwość różnicowania wśród chorych tkanek. Metoda ma bardzo duży potencjał zastosowania klinicznego, ze względu na to, że stosowane są warunki pomiarowe takie jak: stosowane obecnie w klinice. Zastosowano urządzenia o indukcji pola 1.5T, a badane próbki były pobrane od pacjentek. Badania przeprowadzone na próbkach pobranych od człowieka umożliwiają potencjalnie łatwe przeniesienie procedury badawczej na pacjentów.

W ramach projektu powstał także symulator umożliwiający przeprowadzenie badań jakościowych i porównawczych innych modeli diagnostycznych opierających się na technologiach wnioskowania wywodzących się między innymi z teorii zbiorów rozmytych, teorii zbiorów przybliżonych, sieci bayesowskich oraz sieci neuronowych.

Narzędzia te po zweryfikowaniu będą mogły być wykorzystywane przez zespoły naukowe do opracowywania procesów diagnostycznych dla wybranej klasy

jednostek chorobowych (w szczególności dla raka piersi), określania optymalnych zestawów i sekwencji badań specjalistycznych diagnozowanych pacjentów (jako kolejnego etapu procedury diagnostycznej), wszechstronnego badania jakości (w tym wiarygodności) procesów diagnostycznych, a także do celów dydaktycznych (szkoleniowych) dla studentów uczelni medycznych. W obecnych pracach badawczych analizujących czasy relaksacji uwzględniane są głównie uśrednione czasy relaksacji dla wybranego obszaru/przekroju tkanki (przez wyliczenie uśrednionej wartości intensywności). Można spodziewać się interesujących wyników przy zastosowaniu innych miar niż średnia. Dodatkowo, dotychczasowe badania opierają się na analizie jednego wymiaru (przecięcia) próbki. Przy zastosowaniu analizy jednej próbki dla wielu płaszczyzn możemy otrzymać trójwymiarowe dane dotyczące czasu relaksacji, co pozwoli przebadać całkiem nowy sposób oceny tkanki.

W dotychczasowych badaniach używa się głównie analitycznych metod wyliczenia wskaźników, natomiast w ramach prac eksperymentalnych w przyszłości przewidujemy analizę również algorytmów opartych na inteligencji obliczeniowej, otwierającej wiele niedostępnych do tej pory możliwości. Wczesne diagnozowanie nowotworów piersi może być możliwe poprzez dostarczenie odpowiednich narzędzi dla medycyny translacyjnej, czy w przypadku zastosowania personalizowanej terapii.

Większość prac badawczych w zakresie analizy tkanek metodą MR prowadzona jest z wykorzystaniem skryptów oraz zestawów narzędzi wymagających bardzo specjalistycznej wiedzy zarówno w zakresie biologii/medycyny jak również wiedzy programistycznej. Dostępne narzędzia dostarczają mierny lub znikomy interfejs użytkownika, co jest barierą dla wielu naukowców nieposiadających doświadczenia w pracy ze skomplikowanymi systemami informatycznymi opartymi na skryptach. W związku z powyższym, obecne na rynku rozwiązania nie są dostosowane do rzeczywistych potrzeb naukowców w laboratoriach naukowych. Dostępne systemy analityczne nie są zintegrowane ani z systemami klinicznymi ani z analizatorami medycznymi. Przenoszenie i konwersja danych pozyskanych z kliniki lub urządzeń medycznych do analiz odbywa się manualnie powodując uciążliwość i wzrost ryzyka pomyłek. Badania naukowe z wykorzystaniem rezonansu magnetycznego posiadają ciągle bardzo duży potencjał. Przy coraz

większym upowszechnieniu urządzeń MR oraz bezinwazyjności tej metody diagnostycznej, przenoszenie wyników prac naukowych w zakresie analizy danych do kliniki staje się bardzo atrakcyjne. W pracy badawczej zweryfikowaliśmy, czy za pomocą czasów relaksacji wody metodą rezonansu magnetycznego można wykazać różnice w składzie chemicznym tkanki zdrowej i zmienionej nowotworowo, które w przyszłości można by wykorzystać do ulepszenia obrazowych metod diagnostycznych.

7.3. Terapia fotodynamiczna w raku piersi

Rak piersi jest jedną z najczęstszych przyczyn zgonów z powodu raka u kobiet. Obecnie, wraz z rozwojem wczesnego wykrywania, zwiększoną świadomością społeczną i rodzajami opcji leczenia, wskaźnik przeżywalności poprawił się u prawie każdego rodzaju chorych na raka piersi. Jednak około jedna trzecia pacjentów nadal ma zwiększone szanse nawrotu w ciągu pięciu lat, a pięcioletni względny wskaźnik przeżycia u pacjentów z przerzutami wynosi mniej niż 30%. PDT to technika wytwarzania miejscowej martwicy światłem po uprzednim podaniu środka fotouczulającego. W artykule [82] zanalizowano charakter, bezpieczeństwo oraz skuteczność PDT w leczeniu pierwotnego raka piersi pod kontrolą obrazu. W modelu zwierzęcym przeprowadzono analizę korelacji pomiędzy parametrami MR a analizami histologicznymi [82]. Meisamy i wsp. analizowali zmiany stężenia związków zawierających cholinę oraz przewidywali odpowiedzi kliniczne u pacjentek z miejscowym, zaawansowanym rakiem piersi [83]. Ograniczona głębokość penetracji i efekt nagrzewania lasera stanowią główną przeszkodę dla dalszych zastosowań nanomateriałów *in vivo* [84]. Podobnie jak w przypadku konwencjonalnych terapii, wykazano, że wykonywanie skanów MR na krótko przed PDT i ponownie kilka dni później, bezpośrednio przed zabiegiem chirurgicznym, stanowi potencjalne narzędzie do dokumentowania charakteru i zakresu zmian związanych z PDT, w porównaniu z obrazowaniem patologicznym jako złotym standardem [85]. Obrazowanie MR to klinicznie zatwierdzone podejście o wysokiej rozdzielczości i biokompatybilności, które zostało uznane za najbardziej obiecujące narzędzie w nieinwazyjnej diagnostyce medycznej. Jednak ze względu na nakładanie się czasu relaksacji (T_1) między

tkankami prawidłowymi i nowotworowymi, w diagnostyce guza zwykle ma niską czułość [86].

MR i PDT to również narzędzia w diagnostyce i terapii stosowane w celach wizualizacji nowotworów [87,88].

PDT rozwinęła się w ciągu ostatniego stulecia i obecnie staje się coraz szerzej stosowanym narzędziem medycznym, które uzyskało zgodę organów regulacyjnych na leczenie różnych chorób, przede wszystkim stanów nowotworowych [89]. PDT jest znana od ponad stu lat i obecnie zyskuje akceptację jako alternatywne leczenie raka. Dostarczanie światła jest nadal trudnym problemem w leczeniu raka głębokiego za pomocą PDT. Jedynie światło bliskiej podczerwieni w zakresie 700-1100nm może wnikać głęboko w tkankę, ponieważ większość chromoforów tkankowych, w tym oksyhemoglobina, deoksyhemoglobina, melanina i tłuszcz, słabo absorbuje w oknie bliskiej podczerwieni. Źródłami światła stosowanymi w PDT są lasery, lampy łukowe, diody elektroluminescencyjne i świetlówki. PDT jest używany w wielu różnych zastosowaniach klinicznych. PDT może być doskonałą alternatywą w leczeniu i diagnostyce raka piersi w porównaniu z konwencjonalną chirurgią, chemioterapią i radioterapią. Podstawowymi elementami PDT są odpowiedni PS, tlen i światło. Skuteczność terapii fotodynamicznej zależy od indukcji reakcji fotocytotoksycznych, które są wynikiem aktywacji świetlnej PS, wstępnie zaaplikowanych do organizmu. Warunkiem inicjacji procesów PDT jest absorpcja światła przez PS, a następnie zlokalizowane wytwarzanie cytotoksycznych reaktywnych form tlenu. Wykorzystanie nanocząstek w PDT wykazało ogromne korzyści w porównaniu z wolnymi fotouczulaczami pod względem rozpuszczalności, wczesnej degradacji i biodystrybucji, a także znacznie skuteczniejszej penetracji i wychwytu międzykomórkowego w docelowych komórkach nowotworowych [90].

PDT to przede wszystkim alternatywna metoda dla konwencjonalnego leczenia raka, w której światło o określonej długości jest przykładane do docelowego guza, w którym zlokalizowany jest fotouczulacz lub środek fotochemioterapeutyczny. [91].

Dzięki zastosowaniu nanocząstek jako nośników przenoszących zarówno diagnostyczne, jak i terapeutyczne jednostki molekularne, zindywidualizowana nanomedycyna celowana okazała się obiecującą opcją zwiększenia czułości i

swoistości podczas diagnozy, a także prawdopodobieństwa przeżycia lub przedłużenia przeżycia po terapii [92].

Ze względu na to, iż rak piersi ma niejednorodny charakter zarówno na poziomie komórkowym jak i molekularnym do form leczenia zalicza się zarówno farmakologię jak i terapię interwencyjną [93]. W związku z czym wykrywanie i leczenie komórek nowotworowych na wczesnym etapie ma kluczowe znaczenie dla wydłużenia czasu przeżycia i poprawy jakości życia pacjentów [94,95].

Na ten moment PDT wybierana jest rzadziej w porównaniu z chemio- czy radioterapią [96,97].

Wykorzystanie nanoplatform w terapii PDT przy obrazowaniu MR jest szansą zwiększenia skuteczności obu metod (zarówno diagnostycznej jak i terapeutycznej) [98]. Przykładem stosowanych nanokompozytów są nanocząstki na bazie krzemionki. Jest to obiecująca metoda leczenia nowotworu [99].

Z kolei synteza i stosowanie porfiryn spowodowało ogromny zwrot w kierunku badań nad systemami biomolekularnymi porfiryn w ostatnich latach [100].

Koncepcja wykorzystania fototerapii jest nieinwazyjnym podejściem leczenia np. guzów litych, przez co zbadanie i wykorzystanie pewnych właściwości fotouczulaczy zwiększa potencjalność jej stosowania [101].

Przykładem zwiększenia funkcyjności stosowanej metody jest wykorzystanie wielofunkcyjnych nanoplatform, które mogą selektywnie zabijać komórki rakowe w wysoce zlokalizowanych regionach [102].

Z kolei wykorzystanie diagnostycznych środków kontrastowych w molekularnym obrazowaniu diagnostycznym piersi to cel i szansa rozwoju diagnostyki medycznej [103]. Nowa klasa fotouczulaczy ukierunkowana na naczynia nadal wskazuje na korzyści terapeutyczne stosowania PDT *in vivo* [104,105].

Nanomateriały węglowe zwykle nie działają jako środki do PDT. Powodem może być ich wysoka hydrofobowość. Jednak, gdy powierzchnia jest pasywowana lub funkcjonalizowana, materiały te stają się świetnymi nośnikami dla PDT [106]. Skuteczność biologiczna terapii PDT zależy w głównej mierze od stosowanych fotouczulaczy [107]. Nanomateriały, takie jak: nanocząstki, nanopręty, czy nanopowłoki są powszechnie stosowane w obrazowaniu medycznym i w terapii nowotworowej [108,109]. Skuteczność PDT bazuje głównie na selektywnej akumulacji fotouczulaczy oraz na ich wizualizacji w tkance guza [110-114].

7.4. Magnetyczny Rezonans Jądrowy oraz Terapia Fotodynamiczna w raku piersi

Standardowa czułość, swoistość oraz dokładność diagnostyczna badania MR piersi znajduje się w przedziale 81-99% [115]. MR stosuje się również przy ocenie stanu pacjenta po chemioterapii neoadjuwantowej [116,117]. Należy wspomnieć, iż głównym czynnikiem determinującym podejmowanie decyzji terapeutycznych jest wielkość i ogniskowość guza pierwotnego w raku piersi [118,119]. Przedoperacyjny rezonans magnetyczny piersi jest ważnym uzupełnieniem konwencjonalnego obrazowania w lokoregionalnej ocenie zaawansowania raka piersi i użytecznym narzędziem w planowaniu leczenia [120]. Należy zwrócić szczególną uwagę na wymagania techniczne poszczególnych badań oraz potrzebę automatyzacji technik przetwarzania końcowego, aby odpowiednio obsłużyć rosnącą ilość pozyskiwanych danych. Badania są kontynuowane, koncentrując się na zastosowaniu wyższych mocy pola z ulepszonymi danymi rozdzielczości przestrzennej i czasowej, lepszym zrozumieniu mechanizmu wzmocnienia kontrastu na poziomie komórkowym oraz opracowaniu makromolekularnych i celowanych środków kontrastowych [121]. Ocena ilościowa, dynamiczny MR ze wzmocnionym kontrastem może być wiarygodną metodą przewidywania braku przerzutów do węzłów pachowych u kobiet z rakiem piersi, co pozwala uniknąć operacji pachowych u kobiet z ujemnym wynikiem badania MR [122,123]. Nieinwazyjna terapia raka piersi pod kontrolą MR jest możliwa i skuteczna [124, 125]. Koagulacja termiczna małych guzów piersi za pomocą skoncentrowanego USG pod kontrolą obrazowania MR wydaje się obiecującą nieinwazyjną procedurą ablacji [126]. Z kolei zastosowanie MR w ocenie odpowiedzi na leczenie miejscowo zaawansowanego raka piersi powinno być przedmiotem dalszych badań [127]. Ocena skuteczności MR po chemioterapii w leczeniu raka piersi to jeden z tematów przewodnich wielu artykułów badawczych [128,129]. Rezonans magnetyczny wydaje się być lepszy od konwencjonalnych metod oceny odpowiedzi patologicznej, a niski odsetek reoperacji dla dodatnich marginesów wskazuje na cenną rolę w podejmowaniu decyzji o poddaniu pacjentki np. mastektomii [130]. W badaniu MR wielkość guza koreluje z wielkością patologii; jednak istnieje znaczne przeszacowanie, szczególnie w przypadku guzów > 2cm. Dlatego klinicyści powinni zachować ostrożność, opierając się na wielkości guza z

obrazów MR [131,132]. Z kolei dynamiczny rezonans magnetyczny ze wzmocnieniem kontrastowym również jest w stanie zidentyfikować histopatologiczne cechy raka piersi [133-135].

MR traktowny jest również jako metoda przesiewowa dla kobiet wysokiego ryzyka [136,137]. MR może poprawić diagnostykę raka piersi, zmniejszając odsetek reoperacji [138-141].

Łagodne, jak również złośliwe tkanki nowotworowe piersi wykazują wyższą intensywność fluorescencji niż normalna tkanka piersi po zastosowaniu PS [142]. Terapia sonofotodynamiczna (SPDT) jest obiecującą strategią przeciwnowotworową. W skrócie, SPDT łączy ultradźwięki i światło, aby aktywować PS, które wywołują działania mechaniczne, sonochemiczne i fotochemiczne [143]. Ze względu na to, iż innowacyjne terapie są coraz częściej wykorzystywane przez szpitale i placówki medyczne to rokowania pacjentek z rakiem piersi są znacznie wyższe [144-145].

PDT to metoda teranostyczna dla różnych nowotworów i chorób [146].

W innym badaniu [147] oceniano efekty i mechanizm działania połączenia nieodwracalnej elektroporacji i PDT w komórkach raka piersi *in vitro* i *in vivo*.

W eksperymencie [148] PDT zastosowano na preparaty histopatologiczne. Po analizie stwierdzono charakterystyczne cechy martwicy PDT, w przeciwieństwie do martwicy spontanicznej. Badanie to potwierdza potencjalną rolę PDT w leczeniu wczesnego raka piersi [148].

PDT jest terapią binarną z wykorzystaniem leku i źródła światła o wysokiej energii. PDT jest zatwierdzony dla kilku stanów przednowotworowych i złośliwych. Ostatnie dane *in vitro* i dane na zwierzętach sugerują, że zwiększoną cytotoksyczność dla nowotworu można osiągnąć przy znacznie mniejszym uszkodzeniu obocznym normalnych otaczających tkanek, jeśli PDT jest podawana w sposób ciągły w niższej dawce przez dłuższy czas. W oparciu o te obiecujące dane przedkliniczne przeprowadzono fazę I badania klinicznego ciągłej terapii fotodynamicznej o niskim napromieniowaniu przy użyciu energii lasera 630 nm i dożylnie podawanej porforyny sodowej jako fotouczulacza. Określono maksymalną tolerowaną dawkę (MTD) na skórę i odpowiedź guza u pacjentów ze skórnymi i podskórnymi guzkami przerzutowymi, u których nie powiodła się radioterapia i operacja. Wstępne dane sugerują, że PDT niskiej dawki może być

skuteczną metodą terapeutyczną o niskiej zachorowalności w leczeniu skórnych i podskórnych przerzutów raka piersi po mastektomii [149-151].

PDT jest skuteczna w leczeniu różnych rodzajów raka, takich jak rak podstawnocomórkowy i inne nowotwory powierzchniowe. Jednak nadal potrzebne są ulepszenia w dostarczaniu PS, a zastosowanie PDT przeciwko nowotworom położonym głębiej było i jest przedmiotem wielu badań [152,153]. Rosnąca zachorowalność na raka i poszukiwanie skuteczniejszych terapii z minimalnymi efektami ubocznymi skłoniły badaczy do znalezienia alternatywnych nowych metod leczenia. Stwierdzono, że wstrzyknięcie kompleksu ZnPcS4-AN do guza skutecznie pośredniczy w PDT w celu powstrzymania agresywności nowotworu i wywołania jego regresji. Chociaż zmniejszenie objętości guza nie było znaczące, PDT wywołało znaczny wzrost obszaru martwicy obserwowany w centralnym obszarze guza, podobnie jak w innych grupach eksperymentalnych, w tym w grupach leczonych Dox, ale także w regionie obwodowym guza. Co więcej, PDT wykazywało minimalne skutki uboczne. Rzeczywiście, zastosowanie ZnPcS4-AN w pośredniczeniu w PDT ujawniło aktywność przeciwnowotworową podobną do tej uzyskanej podczas stosowania donowotworowej terapii Dox [154]. Badania wykazały, że PDT może prowadzić do inicjacji procesów śmierci apoptycznej. PDT to przeciwnowotworowy sposób z minimalną toksycznością normalnych tkanek. Apoptoza to główny rodzaj zaprogramowanej śmierci komórki wykorzystywany w leczeniu przeciwnowotworowym [155]. Nowe PS w PDT można stosować na głębokości 2cm w celu wywołania powtarzalnych zmian w transkryptach związanych z apoptozą, stresem oraz transportem tlenu [156].

Jednak samo poleganie na PTT i/lub PDT nie może całkowicie zabić komórek nowotworowych z powodu nierównomiernego rozkładu ciepła i stanu niedotlenienia guza, a komórki nowotworowe, które przeżyły leczenie, mogą dalej skutkować nawrotem miejscowym i przerzutami odległymi. W świetle tych faktów połączenie PTT i/lub PDT z innymi terapiami, takimi jak chemioterapia, może być optymalną strategią leczenia raka piersi [157-158]. Terapię fotodynamiczną można również stosować w połączeniu z innymi terapiami konwencjonalnymi; takich jak chirurgia i radioterapia, w celu poprawy ogólnego przeżycia pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem piersi [159]. Według prognoz: co trzecia Polka chora na raka piersi będzie miała przerzuty odległe do innych narządów, takich jak: wątroba, płuca, czy kości. Obecne strategie terapeutyczne leczenia przerzutów do kości są

często ograniczone przez brak selektywności, ciężką toksyczność ogólnoustrojową i suboptymalną skuteczność. Terapia chemio-fotodynamiczna oparta na nanomedycynie zapewnia obiecującą szansę terapeutyczną dla ulepszonej terapii przeciwnowotworowej [160]. Wielokrotne stosowanie PDT może skutecznie hamować wzrost raka piersi. W ciągu ostatniego półwiecza, wraz z rozwojem nowych rodzajów PS i nowych systemów dostarczania światła, PDT przyciągnęło zainteresowanie ludzi jako unikalna metoda leczenia. PDT oferuje alternatywną opcję w leczeniu raka i jest stosowana w przypadku zlokalizowanych powierzchownych lub endoluminalnych stanów złośliwych i przednowotworowych. Wiele badań klinicznych daje obiecujące wyniki dotyczące tego podejścia [161].

PDT to obiecujący sposób leczenia gruczolakowłókniaka piersi. Ze względu na ograniczoną głębokość [162]. Stosowanie leków wraz z terapią PDT to metoda w walce z komórkami nowotworowymi [163]. Szybki rozwój nanotechnologii w ostatnich latach zapewnił i nadal zapewnia wsparcie techniczne w przezwyciężaniu pewnych ograniczeń terapii PDT [164-166]. Pacjenci z pierwotnym rakiem piersi i rakiem piersi z przerzutami do kości mają znacznie obniżoną przeżywalność i jakość życia. Ze względu na słabą skuteczność dostarczania leków terapii przeciwrzutowej i ograniczony wskaźnik odpowiedzi immunoterapii raka piersi, skuteczne leczenie pozostaje ogromnym wyzwaniem. [167]. Zastosowanie PDT w diagnostyce i leczeniu raka jest utrudnione przez wewnętrzne defekty obecnie dostępnych fotouczulaczy, takie jak słaba rozpuszczalność w wodzie i ograniczona głębokość wnikania światła [168]. PDT jest obiecującą metodą terapeutyczną w leczeniu raka, w tym guzów piersi [169].

8. WNIOSKI

W projekcie przebadano histopatologicznie 30 próbek pobranych z guza raka piersi.

A. Badania histopatologiczne użyto do:

- rutynowej analizy tkanek, która w ten sam sposób jak postępuje się w codziennej praktyce klinicznej rozróżniała tkanki zdrowe od tkanek nowotworowych;

- niestandardowej analizy tkanek po aplikacji terapii PDT, która wykazała zmiany w tkance nowotworowej i tkance zdrowej (próba kontrolna)

B. Badania MR czasów relaksacji użyto do:

- niestandardowej analizy tkanek poprzez pomiary T_1 ;
- niestandardowej analizy tkanek poprzez pomiary T_2 .

Charakterystykę statystyczną wykonanych pomiarów zestawiono w tabeli poniżej.

	p-values T_1	p-values T_2
Tkanka zdrowa v.s. tkanka chora	0,002062	0,011033
Tkanka zdrowa v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Róż Bengalski)	0,001163	0,001273
Tkanka zdrowa v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Sól disodowa protoporfiryny IX)	0,000958	0,015059
Tkanka zdrowa v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Dichlorek ftalocyjaniny krzemu)	0,00117	0,012658
Tkanka zdrowa v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Chlorowodorek kwasu 5-ALA)	0,008756	0,006081
Tkanka chora v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Róż Bengalski)	0,00798	0,019392
Tkanka chora v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Sól Disodowa protoporfiryny IX)	0,00358	0,06652
Tkanka chora v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Dichlorek ftalocyjaniny krzemu)	0,006433	0,074521
Tkanka chora v.s. Tkanka nowotworowa po PDT (Chlorowodorek kwasu 5-ALA)	0,001446	0,02742

p<0.05- wartość istotna statystycznie (zaznaczona kolorem zielonym)

Dane ilościowe T_1 , T_2 , uzyskano przy indukcji pola 1.5T na skanerze klinicznym. Zmierzone dane T_1 , T_2 , wydają się być dokładne i precyzyjne, a także porównywalne z danymi uzyskanymi za pomocą dedykowanych systemów o małej średnicy, pracujących przy wyższym natężeniu pola magnetycznego. Wyniki sugerują, że wiarygodne ilościowe pomiary można przeprowadzać na nowoczesnych skanerach klinicznych o wysokim polu widzenia. Eksperymenty nie wymagają specjalnego sprzętu ani elementów oprogramowania do MR. Jednak zawsze należy brać pod uwagę ograniczenia skanera klinicznego w zakresie siły gradientu i elastyczności oprogramowania.

Badania przedkliniczne mają fundamentalne znaczenie w terapii raka piersi. Pomiary czasu relaksacji MR odzwierciedlają zmiany w składzie tkanki raka piersi podczas leczenia farmakologicznego. Czasy relaksacji są wrażliwe na zawartość wody w tkankach. Rezonans magnetyczny wykonywany w trakcie lub po terapii jest dobrym narzędziem do obiektywnej oceny skuteczności leczenia i stopnia poprawy stanu zdrowia.

B. Badania PDT *in vitro* wykazały:

- terapia fotodynamiczna okazała się skuteczna w przypadku raków piersi;
- widoczne zmiany były obserwowane w komórkach po PDT *in vitro*
- zmiany, które powstały po zastosowaniu terapii fotodynamicznej zależą od rodzaju zastosowanego fotouczulacza i jego stężenia.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Bain C, Constant TH, Contreras I, Vega AMB, Jeronimo J, Tsu V. Model for Early Detection of Breast Cancer in Low-Resource Areas: The Experience in Peru. *J Glob Oncol*. 2018;(4):1-7.
2. Chan HP, Wei J, Sahiner B, Rafferty EA, Wu T, Roubidoux M, et al. Computer-aided detection system for breast masses on digital tomosynthesis mammograms: preliminary experience. *Radiology* 2005;237(3):1075-1080.
3. Migowski A, Silva GAE, Dias MBK, Diz MDPE, Sant'Ana DR, Nadanovsky P. Guidelines for early detection of breast cancer in Brazil. II - New national recommendations, main evidence, and controversies. *Cad Saude Publica*. 2018;34(6):e00074817.
4. Suwankhong D, Liamputtong P. Early Detection of Breast Cancer and Barrier to Screening Programmes amongst Thai Migrant Women in Australia: A Qualitative Study *Asian Pac J Cancer Prev*. 2018;19(4):1089-1097.
5. Ogunkorode A, Holtslander L, Anonson J, Maree J. Promoting Early Detection of Breast Cancer and Care Strategies for Nigeria. *Afr J Reprod Health*. 2017;21(2):18-25.
6. Mora P, Faulkner K, Mahmoud AM, Gershan V, Kausik A, Zdesar U, Brandan ME, Kurt S, Davidović J, Salama DH, Aribal E, Odio C, Chaturvedi AK, Sabih Z, Vujnović S, Paez D, Delis H. Improvement of early detection of breast cancer through collaborative multi-country efforts: Medical physics component. *Phys Med*. 2018;48:127-134.
7. Andersson I, Ikeda D, Zackrisson S, et al. Breast tomosynthesis and digital mammography: a comparison of breast cancer visibility and BIRADS classification in a population of cancer with subtle mammographic findings. *Eur Radiol* 2008;18:2817-2825.
8. Helvie MA. Digital Mammography Imaging: Breast Tomosynthesis and Advanced Applications. *Radiol Clin North Am*. 2010;48(5):917-929.

9. Fischer U, Luftner-Nagel S, Baum F, Marten-Engelke K, Wienbeck S. The Value of Quality-Assured Magnetic Resonance Imaging of the Breast for the Early Detection of Breast Cancer in Asymptomatic Women. *J Comput Assist Tomogr*. 2018;42(1):1-5.
10. American College of Radiology. ACR practice parameter for the performance of contrast-enhanced magnetic resonance imaging (MRI) of the breast. American College of Radiology; 2014.
11. Hayden M, Nacher P. History and physical principles of MRI. 2016.
12. Scatliff JH, Morris PJ. From Roentgen to magnetic resonance imaging: the history of medical imaging. *N C Med J*. 2014;75(2): 111-3.
13. Collins J. The history of MRI. *Semin Roentgenol*. 2008; 43(4): 259-60.
14. Benson CB, Doubilet PM. The history of imaging in obstetrics. *Radiology*. 2014; 273(2 Suppl): S92-110.
15. Edelman RR. The history of MR imaging as seen through the pages of radiology. *Radiology*. 2014; 273(2 Suppl): S181-200.
16. Peterson JJ, Bancroft LW. History of arthrography. *Radiol Clin North Am*. 2009; 47(3): 373-86.
17. Ai T, Morelli JN, Hu X, Hao D, Goerner FL, Ager B, Runge VM. A historical overview of magnetic resonance imaging, focusing on technological innovations. *Invest Radiol*. 2012; 47(12):725-41.
18. de Haën C. Conception of the first magnetic resonance imaging contrast agents: a brief history. *Top Magn Reson Imaging*. 2001; 12(4):221-30.
19. Vaughan B. A short illustrated history of magnetic resonance imaging. *Australas Radiol*. 1989; 33(4):390-8.
20. Werner H, Dos Santos JL, Araujo Júnior E. Physical models of the foetus created using magnetic resonance imaging, computed tomography, and ultrasound data: history, description, and potential uses. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2015; 37(4):149-51
21. Geva T. Magnetic resonance imaging: historical perspective. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2006; 8(4):573-80.
22. Kumar, A. History of MRI. *Journal of the Indian Institute of Science*. 2014; 94(4): 363-370.

23. Ackroyd R, Kelty C, Brown N, Reed M. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem Photobiol.* 2001; 74(5): 656-69.
24. Kessel D. Photodynamic Therapy: A Brief History. *J Clin Med.* 2019; 8(10): 1581.
25. Goldberg LH, Landau JM, Moody MN, Marquez D, Jih M, Kimyai-Asadi A, Friedman PM, Busch A, Vergilis-Kalner IJ. Evaluation of the chemopreventative effects of ALA PDT in patients with multiple actinic keratoses and a history of skin cancer. *J Drugs Dermatol.* 2012; 11(5): 593-7.
26. Wiedmann MW, Caca K. General principles of photodynamic therapy (PDT) and gastrointestinal applications. *Curr Pharm Biotechnol.* 2004; 5(4): 397-408.
27. Yano T, Wang KK. Photodynamic Therapy for Gastrointestinal Cancer. *Photochem Photobiol.* 2020; 96(3): 517-523.
28. Kato H. [History of photodynamic therapy--past, present and future]. *Gan To Kagaku Ryoho.* 1996; 23(1): 8-15.
29. van den Bergh H. Photodynamic therapy of age-related macular degeneration: History and principles. *Semin Ophthalmol.* 2001; 16(4): 181-200.
30. Juzeniene A, Moan J. The history of PDT in Norway Part one: Identification of basic mechanisms of general PDT. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2007; 4(1): 3-11.
31. Sieroń A, Kwiatek S. Twenty years of experience with PDD and PDT in Poland--review. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2009; 6(2): 73-8.
32. Juzeniene A, Moan J. The history of PDT in Norway Part II. Recent advances in general PDT and ALA-PDT. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2007; 4(2): 80-7.
33. Semeraro F, Morescalchi F, Russo A, Gambicorti E, Pilotto A, Parmeggiani F, Bartollino S, Costagliola C. Central Serous Chorioretinopathy: Pathogenesis and Management. *Clin Ophthalmol.* 2019; 13: 2341-2352.
34. Moan J, Peng Q. An outline of the hundred-year history of PDT. *Anticancer Res.* 2003; 23(5A): 3591-600.

35. Rkein AM, Ozog DM. Photodynamic therapy. *Dermatol Clin*. 2014; 32(3): 415-25, x.
36. Lee SY, Kim CY, Nam TG. Ruthenium Complexes as Anticancer Agents: A Brief History and Perspectives. *Drug Des Devel Ther*. 2020; 14: 5375-5392.
37. Huang Z. Photodynamic therapy in China: Over 25 years of unique clinical experience Part One-History and domestic photosensitizers. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2006; 3(1): 3-10.
38. Juzeniene A, Nielsen KP, Moan J. Biophysical aspects of photodynamic therapy. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 2006; 25(1-2): 7-28.
39. Ortel B, Shea CR, Calzavara-Pinton P. Molecular mechanisms of photodynamic therapy. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2009; 14(4): 157-72.
40. Mitton D, Ackroyd R. History of photodynamic therapy in Great Britain. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2005; 2(4): 239-46.
41. Le Pillouer-Prost A, Cartier H. Photodynamic Photorejuvenation: A Review. *Dermatol Surg*. 2016; 42(1): 21-30.
42. Cengel KA, Simone CB 2nd, Glatstein E. PDT: What's Past Is Prologue. *Cancer Res*. 2016; 76(9): 2497-9.
43. Banerjee A, George J. Bronchoscopic photodynamic diagnosis and therapy for lung cancer. *Curr Opin Pulm Med*. 2000; 6(4): 378-83.
44. Railkar R, Agarwal PK. Photodynamic Therapy in the Treatment of Bladder Cancer: Past Challenges and Current Innovations. *Eur Urol Focus*. 2018; 4(4): 509-511
45. Barr H, Bown SG, Krasner N, Boulos PB. Photodynamic therapy for colorectal disease. *Int J Colorectal Dis*. 1989; 4(1): 15-9.
46. de Albuquerque IO, Nunes J, Figueiró Longo JP, Muehlmann LA, Azevedo RB. Photodynamic therapy in superficial basal cell carcinoma treatment. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019; 27: 428-432.
47. Hahn SM, Smith RP, Friedberg J. Photodynamic therapy for mesothelioma. *Curr Treat Options Oncol*. 2001; 2(5): 375-83
48. Maeding N, Verwanger T, Krammer B. Boosting Tumor-Specific Immunity Using PDT. *Cancers (Basel)*. 2016; 8(10): 91.

49. Hamblin MR. Photodynamic Therapy for Cancer: What's Past is Prologue. *Photochem Photobiol.* 2020; 96(3): 506-516.
50. Stájer A, Kajári S, Gajdács M, Musah-Eroje A, Baráth Z. Utility of Photodynamic Therapy in Dentistry: Current Concepts. *Dent J (Basel).* 2020; 8(2) :43.
51. Lee CN, Hsu R, Chen H, Wong TW. Daylight Photodynamic Therapy: An Update. *Molecules.* 2020; 25(21): 5195.
52. Zhao Z, Han Y, Lin C, Hu D, Wang F, Chen X, Chen Z, Zheng N. Multifunctional core-shell upconverting nanoparticles for imaging and photodynamic therapy of liver cancer cells. *Chem Asian J.* 2012; 7(4): 830-7.
53. Vicente MG. Porphyrin-based sensitizers in the detection and treatment of cancer: recent progress. *Curr Med Chem Anticancer Agents.* 2001; 1(2): 175-94.
54. Park BJ, Choi KH, Nam KC, Ali A, Min JE, Son H, Uhm HS, Kim HJ, Jung JS, Choi EH. Photodynamic Anticancer Activities of Multifunctional Cobalt Ferrite Nanoparticles in Various Cancer Cells. *J Biomed Nanotechnol.* 2015; 11(2): 226-35.
55. Wang H, Fei B. Diffusion-weighted MRI for monitoring tumor response to photodynamic therapy. *J Magn Reson Imaging.* 2010; 32(2): 409-17.
56. Vaidya A, Sun Y, Ke T, Jeong EK, Lu ZR. Contrast enhanced MRI-guided photodynamic therapy for site-specific cancer treatment. *Magn Reson Med.* 2006; 56(4): 761-7.
57. Liang X, Li X, Jing L, Yue X, Dai Z. Theranostic porphyrin dyad nanoparticles for magnetic resonance imaging guided photodynamic therapy. *Biomaterials.* 2014; 35(24): 6379-88
58. Vaidya A, Sun Y, Feng Y, Emerson L, Jeong EK, Lu ZR. Contrast-enhanced MRI-guided photodynamic cancer therapy with a pegylated bifunctional polymer conjugate. *Pharm Res.* 2008; 25(9): 2002-11.
59. Wu M, Huang S. Magnetic nanoparticles in cancer diagnosis, drug delivery and treatment. *Mol Clin Oncol.* 2017 Nov;7(5):738-746
60. Liu P, Ren J, Xiong Y, Yang Z, Zhu W, He Q, Xu Z, He W, Wang J. Enhancing magnetic resonance/photoluminescence imaging-guided

- photodynamic therapy by multiple pathways. *Biomaterials*. 2019; 199: 52-62.
61. Fei B, Wang H, Muzic RF Jr, Flask C, Wilson DL, Duerk JL, Feyes DK, Oleinick NL. Deformable and rigid registration of MRI and microPET images for photodynamic therapy of cancer in mice. *Med Phys*. 2006 Mar;33(3):753-60.
 62. Shafirstein G, Bellnier DA, Oakley E, Hamilton S, Habitzruther M, Tworek L, Hutson A, Sperryak JA, Sexton S, Curtin L, Turowski SG, Arshad H, Henderson B. Irradiance controls photodynamic efficacy and tissue heating in experimental tumours: implication for interstitial PDT of locally advanced cancer. *Br J Cancer*. 2018; 119(10): 1191-1199.
 63. Imran M, Ramzan M, Qureshi AK, Khan MA, Tariq M. Emerging Applications of Porphyrins and Metalloporphyrins in Biomedicine and Diagnostic Magnetic Resonance Imaging. *Biosensors (Basel)*. 2018; 8(4): 95.
 64. Ding J, Zhao J, Cheng K, Liu G, Xiu D. In vivo photodynamic therapy and magnetic resonance imaging of cancer by TSPP-coated Fe₃O₄ nanoconjugates. *J Biomed Nanotechnol*. 2010; 6(6): 683-6.
 65. Deng K, Wu B, Wang CX, Wang Q, Yu H, Li JM, Li KH, Zhao HY, Huang SW. An Oxidation-Enhanced Magnetic Resonance Imaging Probe for Visual and Specific Detection of Singlet Oxygen Generated in Photodynamic Cancer Therapy In Vivo. *Adv Healthc Mater*. 2020; 9(16): e2000533.
 66. Hao Y, Zheng C, Wang L, Zhang J, Niu X, Song Q, Feng Q, Zhao H, Li L, Zhang H, Zhang Z, Zhang Y. Tumor acidity-activatable manganese phosphate nanoplatfrom for amplification of photodynamic cancer therapy and magnetic resonance imaging. *Acta Biomater*. 2017; 62: 293-305.
 67. Zhou P, Pan L, Deng G, Zhou Z, Zhao H, Peng C, Yang S. Fe@Fe₃Ge₂ nanoparticles for MR imaging-guided NIR-driven photodynamic therapy in vivo. *J Mater Chem B*. 2019; 7(37): 5661-5668.
 68. Dong S, Xu J, Jia T, Xu M, Zhong C, Yang G, Li J, Yang D, He F, Gai S, Yang P, Lin J. Upconversion-mediated ZnFe₂O₄ nanoplatfrom for NIR-

- enhanced chemodynamic and photodynamic therapy. *Chem Sci.* 2019; 10(15): 4259-4271.
69. Schmitt J, Jenni S, Sour A, Heitz V, Bolze F, Pallier A, Bonnet CS, Tóth É, Ventura B. A Porphyrin Dimer-GdDOTA Conjugate as a Theranostic Agent for One- and Two-Photon Photodynamic Therapy and MRI. *Bioconjug Chem.* 2018 Nov 21;29(11):3726-3738.
 70. Qiao XF, Zhou JC, Xiao JW, Wang YF, Sun LD, Yan CH. Triple-functional core-shell structured upconversion luminescent nanoparticles covalently grafted with photosensitizer for luminescent, magnetic resonance imaging and photodynamic therapy in vitro. *Nanoscale.* 2012; 4(15): 4611-23.
 71. Gross S, Gilead A, Scherz A, Neeman M, Salomon Y. Monitoring photodynamic therapy of solid tumors online by BOLD-contrast MRI. *Nat Med.* 2003; 9(10): 1327-31.
 72. Zeng L, Ren W, Xiang L, Zheng J, Chen B, Wu A. Multifunctional Fe₃O₄-TiO₂ nanocomposites for magnetic resonance imaging and potential photodynamic therapy. *Nanoscale.* 2013; 5(5): 2107-13.
 73. Liu J, Du P, Liu T, Córdova Wong BJ, Wang W, Ju H, Lei J. A black phosphorus/manganese dioxide nanoplatfrom: Oxygen self-supply monitoring, photodynamic therapy enhancement and feedback. *Biomaterials.* 2019; 192: 179-188.
 74. Barrett T, Davidson SR, Wilson BC, Weersink RA, Trachtenberg J, Haider MA. Dynamic contrast enhanced MRI as a predictor of vascular-targeted photodynamic focal ablation therapy outcome in prostate cancer post-failed external beam radiation therapy. *Can Urol Assoc J.* 2014; 8(9-10): E708-14.
 75. Sunar U. Monitoring photodynamic therapy of head and neck malignancies with optical spectroscopies. *World J Clin Cases.* 2013; 1(3): 96-105.
 76. Wang D, Zhang N, Jing X, Zhang Y, Xu Y, Meng L. A tumor-microenvironment fully responsive nano-platform for MRI-guided photodynamic and photothermal synergistic therapy. *J Mater Chem B.* 2020; 8(36): 8271-8281.

77. Lu WL , Lan YQ , Xiao KJ , Xu QM , Qu LL , Chen QY , Huang T , Gao J , Zhao Y . BODIPY-Mn nanoassemblies for accurate MRI and phototherapy of hypoxic cancer. *J Mater Chem B*. 2017;5(6): 1275-1283.
78. Hao Y, Zhang B, Zheng C, Niu M, Guo H, Zhang H, Chang J, Zhang Z, Wang L, Zhang Y. Multifunctional nanoplatform for enhanced photodynamic cancer therapy and magnetic resonance imaging. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2017; 151: 384-393.
79. Zhang D , Wu M , Zeng Y , Liao N , Cai Z , Liu G , Liu X , Liu J . Lipid micelles packaged with semiconducting polymer dots as simultaneous MRI/photoacoustic imaging and photodynamic/photothermal dual-modal therapeutic agents for liver cancer. *J Mater Chem B*. 2016; 4(4): 589-599.
80. Park KE, Noh YW, Kim A, Lim YT. Hyaluronic acid-coated nanoparticles for targeted photodynamic therapy of cancer guided by near-infrared and MR imaging. *Carbohydr Polym*. 2017; 157: 476-483.
81. Zhang P, Wu G, Zhao C, Zhou L, Wang X, Wei S. Magnetic stomatocyte-like nanomotor as photosensitizer carrier for photodynamic therapy based cancer treatment. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2020; 194: 111204.
82. Ye YJ, Huang XJ, Luo BC, Wang XY, Cai XR. Application of Multiparametric Magnetic Resonance Imaging to Monitor the Early Antitumor Effect of CuS@GOD Nanoparticles in a 4 T1 Breast Cancer Xenograft Model. *J Magn Reson Imaging*. 2021.
83. Meisamy S, Bolan PJ, Baker EH, Bliss RL, Gulbahce E, Everson LI, Nelson MT, Emory TH, Tuttle TM, Yee D, Garwood M. Neoadjuvant chemotherapy of locally advanced breast cancer: predicting response with in vivo (1)H MR spectroscopy--a pilot study at 4 T. *Radiology*. 2004; 233(2): 424-31
84. Zeng L, Pan Y, Zou R, Zhang J, Tian Y, Teng Z, Wang S, Ren W, Xiao X, Zhang J, Zhang L, Li A, Lu G, Wu A. 808 nm-excited upconversion nanoprobe with low heating effect for targeted magnetic resonance imaging and high-efficacy photodynamic therapy in HER2-overexpressed breast cancer. *Biomaterials*. 2016; 103: 116-127.
85. Banerjee SM, El-Sheikh S, Malhotra A, Mosse CA, Parker S, Williams NR, MacRobert AJ, Hamoudi R, Bown SG, Keshtgar MR. Photodynamic Therapy in Primary Breast Cancer. *J Clin Med*. 2020; 9(2): 483.

86. Zhao X, Shen R, Bao L, Wang C, Yuan H. Chitosan derived glycolipid nanoparticles for magnetic resonance imaging guided photodynamic therapy of cancer. *Carbohydr Polym.* 2020; 245: 116509.
87. Zeng L, Luo L, Pan Y, Luo S, Lu G, Wu A. In vivo targeted magnetic resonance imaging and visualized photodynamic therapy in deep-tissue cancers using folic acid-functionalized superparamagnetic-upconversion nanocomposites. *Nanoscale.* 2015; 7(19): 8946-54.
88. Gao Y , Zhang L , Liu Y , Sun S , Yin Z , Zhang L , Li A , Lu G , Wu A , Zeng L . Ce6/Mn²⁺-chelated polydopamine@black-TiO₂ nanoprobes for enhanced synergistic phototherapy and magnetic resonance imaging in 4T1 breast cancer. *Nanoscale.* 2020; 12(3): 1801-1810.
89. Paszko E, Ehrhardt C, Senge MO, Kelleher DP, Reynolds JV. Nanodrug applications in photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2011; 8(1): 14-29.
90. Ostańska E, Aebischer D, Bartusik-Aebischer D. The potential of photodynamic therapy in current breast cancer treatment methodologies. *Biomed Pharmacother.* 2021; 137: 111302.
91. Montaseri H, Kruger CA, Abrahamse H. Inorganic Nanoparticles Applied for Active Targeted Photodynamic Therapy of Breast Cancer. *Pharmaceutics.* 2021; 13(3): 296
92. Elgqvist J. Nanoparticles as Theranostic Vehicles in Experimental and Clinical Applications-Focus on Prostate and Breast Cancer. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(5): 1102.
93. Wu X, Shaikh AB, Yu Y, Li Y, Ni S, Lu A, Zhang G. Potential Diagnostic and Therapeutic Applications of Oligonucleotide Aptamers in Breast Cancer. *Int J Mol Sci.* 2017;18(9):1851.
94. Zeng L, Xiang L, Ren W, Zheng J, Li T, Chen B, Wu A. Multifunctional photosensitizer-conjugated core-shell Fe₃O₄@ NaYF₄: Yb/Er nanocomplexes and their applications in T₂-weighted magnetic resonance/upconversion luminescence imaging and photodynamic therapy of cancer cells. *RSC Advances.* 2013; 3(33): 13915-13925.
95. Li K, Hong E, Wang B, Wang Z, Zhang L, Hu R, Wang B. Advances in the application of upconversion nanoparticles for detecting and treating cancers. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019; 25: 177-192.

96. Chouikrat R, Seve A, Vanderesse R, Benachour H, Barberi-Heyob M, Richeter S, Raehm L, Durand JO, Verelst M, Frochot C. Non polymeric nanoparticles for photodynamic therapy applications: recent developments. *Curr Med Chem*. 2012; 19(6): 781-92.
97. Chen J, Fan T, Xie Z, Zeng Q, Xue P, Zheng T, Chen Y, Luo X, Zhang H. Advances in nanomaterials for photodynamic therapy applications: Status and challenges. *Biomaterials*. 2020; 237: 119827.
98. Galan LA, Hamon N, Nguyen C, Molnár E, Kiss J, Mendy J, Tripier R. Design of Polyazamacrocyclic Gd³⁺ Theranostic Agent Combining MRI and Two-Photon PDT. 2020.
99. Couleaud P, Morosini V, Frochot C, Richeter S, Raehm L, Durand JO. Silica-based nanoparticles for photodynamic therapy applications. *Nanoscale*. 2010; 2(7): 1083-95.
100. Tsolekile N, Nelana S, Oluwafemi OS. Porphyrin as Diagnostic and Therapeutic Agent. *Molecules*. 2019; 24(14): 2669.
101. Lin CH, Chen YC, Huang PI. Preparation of Multifunctional Dopamine-Coated Zerovalent Iron/Reduced Graphene Oxide for Targeted Phototheragnosis in Breast Cancer. *Nanomaterials (Basel)*. 2020; 10(10): 1957.
102. Shi J, Wang L, Gao J, Liu Y, Zhang J, Ma R, Liu R, Zhang Z. A fullerene-based multi-functional nanoplatform for cancer theranostic applications. *Biomaterials*. 2014; 35(22): 5771-84.
103. Hawrysz DJ, Sevick-Muraca EM. Developments toward diagnostic breast cancer imaging using near-infrared optical measurements and fluorescent contrast agents. *Neoplasia*. 2000: 388-417.
104. Byrne AT, O'Connor AE, Hall M, Murtagh J, O'Neill K, Curran KM, Mongrain K, Rousseau JA, Lecomte R, McGee S, Callanan JJ, O'Shea DF, Gallagher WM. Vascular-targeted photodynamic therapy with BF₂-chelated Tetraaryl-Azadipyromethene agents: a multi-modality molecular imaging approach to therapeutic assessment. *Br J Cancer*. 2009; 101(9): 1565-73.
105. Patrick Felder, Sarah Keller, Gilles Gasser. Polymetallic Complexes for Applications as Photosensitisers in Anticancer Photodynamic Therapy. *Advanced Therapeutics*, Wiley, 2020; 3 (1): pp.1900139

106. Albert K, Hsu HY. Carbon-Based Materials for Photo-Triggered Theranostic Applications. *Molecules*. 2016; 21(11): 1585
107. Baskaran R, Lee J, Yang SG. Clinical development of photodynamic agents and therapeutic applications. *Biomater Res*. 2018; 22:25.
108. Siddique S, Chow JCL. Application of Nanomaterials in Biomedical Imaging and Cancer Therapy. *Nanomaterials (Basel)*. 2020;10(9): 1700.
109. Bechet D, Auger F, Couleaud P, Marty E, Ravasi L, Durieux N, Bonnet C, Plénat F, Frochot C, Mordon S, Tillement O, Vanderesse R, Lux F, Perriat P, Guillemin F, Barberi-Heyob M. Multifunctional ultrasmall nanoplateforms for vascular-targeted interstitial photodynamic therapy of brain tumors guided by real-time MRI. *Nanomedicine*. 2015; 11(3): 657-70.
110. Vanderesse R, Jasniewski J, Miladi I, Billotey C, Tillement O, Lux F, Barberi-Heyob M. Multifunctional Peptide-conjugated hybrid silica nanoparticles for photodynamic therapy and MRI. *Theranostics*. 2012; 2(9): 889-904.
111. Fisher C, Ali Z, Detsky J, Sahgal A, David E, Kunz M, Akens M, Chow E, Whyne C, Burch S, Wilson BC, Yee A. Photodynamic Therapy for the Treatment of Vertebral Metastases: A Phase I Clinical Trial. *Clin Cancer Res*. 2019 Oct 1;25(19):5766-5776.
112. Fischer U, Zachariae O, Baum F, von Heyden D, Funke M, Liersch T. The influence of preoperative MRI of the breasts on recurrence rate in patients with breast cancer. *Eur Radiol*. 2004; 14(10): 1725-31.
113. Lobbes MB, Lalji UC, Nelemans PJ, Houben I, Smidt ML, Heuts E, de Vries B, Wildberger JE, Beets-Tan RG. The quality of tumor size assessment by contrast-enhanced spectral mammography and the benefit of additional breast MRI. *J Cancer*. 2015; 6(2): 144-50.
114. Roganovic D, Djilas D, Vujnovic S, Pavic D, Stojanov D. Breast MRI, digital mammography and breast tomosynthesis: comparison of three methods for early detection of breast cancer. *Bosn J Basic Med Sci*. 2015; 15(4): 64-8.
115. Pinker-Domenig K, Bogner W, Gruber S, Bickel H, Duffy S, Schernthaner M, Dubsky P, Pluschnig U, Rudas M, Trattnig S, Helbich TH. High resolution MRI of the breast at 3 T: which BI-RADS®

descriptors are most strongly associated with the diagnosis of breast cancer? *Eur Radiol.* 2012; 22(2): 322-30.

116. Hahn SY, Ko EY, Han BK, Shin JH, Ko ES. Role of diffusion-weighted imaging as an adjunct to contrast-enhanced breast MRI in evaluating residual breast cancer following neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Radiol.* 2014; 83(2): 283-8.
117. Merckel LG, Knuttel FM, Deckers R, van Dalen T, Schubert G, Peters NH, Weits T, van Diest PJ, Mali WP, Vaessen PH, van Gorp JM, Moonen CT, Bartels LW, van den Bosch MA. First clinical experience with a dedicated MRI-guided high-intensity focused ultrasound system for breast cancer ablation. *Eur Radiol.* 2016; 26(11): 4037-4046.
118. Pop CF, Stanciu-Pop C, Drisis S, Radermekker M, Vandemerckt C, Noterman D, Moreau M, Larsimont D, Nogaret JM, Veys I. The impact of breast MRI workup on tumor size assessment and surgical planning in patients with early breast cancer. *Breast J.* 2018; 24(6) :927-933.
119. Ko ES, Han BK, Kim RB, Ko EY, Shin JH, Hahn SY, Nam SJ, Lee JE, Lee SK, Im YH, Park YH. Analysis of factors that influence the accuracy of magnetic resonance imaging for predicting response after neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2013; 20(8): 2562-8.
120. Schelfhout K, Van Goethem M, Kersschot E, Colpaert C, Schelfhout AM, Leyman P, Verslegers I, Biltjes I, Van Den Haute J, Gillardin JP, Tjalma W, Van Der Auwera JC, Buytaert P, De Schepper A. Contrast-enhanced MR imaging of breast lesions and effect on treatment. *Eur J Surg Oncol.* 2004; 30(5): 501-7.
121. Turnbull LW. Dynamic contrast-enhanced MRI in the diagnosis and management of breast cancer. *NMR Biomed.* 2009; 22(1): 28-39.
122. Murray AD, Staff RT, Redpath TW, Gilbert FJ, Ah-See AK, Brookes JA, Miller ID, Payne S. Dynamic contrast enhanced MRI of the axilla in women with breast cancer: comparison with pathology of excised nodes. *Br J Radiol.* 2002; 75(891): 220-8.
123. Chen JH, Feig B, Agrawal G, Yu H, Carpenter PM, Mehta RS, Nalcioğlu O, Su MY. MRI evaluation of pathologically complete

response and residual tumors in breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Cancer*. 2008; 112(1): 17-26.

124. Huber PE, Jenne JW, Rastert R, Simiantonakis I, Sinn HP, Strittmatter HJ, von Fournier D, Wannenmacher MF, Debus J. A new noninvasive approach in breast cancer therapy using magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound surgery. *Cancer Res*. 2001;61(23): 8441-7.
125. Hylton N. Magnetic resonance imaging of the breast: opportunities to improve breast cancer management. *J Clin Oncol*. 2005; 23(8): 1678-84.
126. Gianfelice D, Khiat A, Amara M, Belblidia A, Boulanger Y. MR imaging-guided focused US ablation of breast cancer: histopathologic assessment of effectiveness-- initial experience. *Radiology*. 2003; 227(3): 849-55.
127. Kwong MS, Chung GG, Horvath LJ, Ward BA, Hsu AD, Carter D, Tavassoli F, Haffty B, Burtness BA. Postchemotherapy MRI overestimates residual disease compared with histopathology in responders to neoadjuvant therapy for locally advanced breast cancer. *Cancer J*. 2006; 12(3) :212-21.
128. Rosen EL, Blackwell KL, Baker JA, Soo MS, Bentley RC, Yu D, Samulski TV, Dewhirst MW. Accuracy of MRI in the detection of residual breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *AJR Am J Roentgenol*. 2003; 181(5): 1275-82.
129. Gianfelice D, Khiat A, Amara M, Belblidia A, Boulanger Y. MR imaging-guided focused ultrasound surgery of breast cancer: correlation of dynamic contrast-enhanced MRI with histopathologic findings. *Breast Cancer Res Treat*. 2003;82(2): 93-101.
130. Bhattacharyya M, Ryan D, Carpenter R, Vinnicombe S, Gallagher CJ. Using MRI to plan breast-conserving surgery following neoadjuvant chemotherapy for early breast cancer. *Br J Cancer*. 2008; 98(2): 289-93.
131. Onesti JK, Mangus BE, Helmer SD, Osland JS. Breast cancer tumor size: correlation between magnetic resonance imaging and pathology measurements. *Am J Surg*. 2008; 196(6): 844-48;

132. Jardim-Perassi BV, Huang S, Dominguez-Viqueira W, Poleszczuk J, Budzevich MM, Abdalah MA, Pillai SR, Ruiz E, Bui MM, Zuccari DAPC, Gillies RJ, Martinez GV. Multiparametric MRI and Coregistered Histology Identify Tumor Habitats in Breast Cancer Mouse Models. *Cancer Res.* 2019 Aug 1;79(15):3952-3964.
133. Montemurro F, Martincich L, Sarotto I, Bertotto I, Ponzzone R, Cellini L, Redana S, Sismondi P, Aglietta M, Regge D. Relationship between DCE-MRI morphological and functional features and histopathological characteristics of breast cancer. *Eur Radiol.* 2007; 17(6):1490-7.
134. Tendulkar RD, Chellman-Jeffers M, Rybicki LA, Rim A, Kotwal A, Macklis R, Obi BB. Preoperative breast magnetic resonance imaging in early breast cancer: implications for partial breast irradiation. *Cancer.* 2009; 115(8): 1621-30.
135. Schmitz AC, van den Bosch MA, Loo CE, Mali WP, Bartelink H, Gertenbach M, Holland R, Peterse JL, Rutgers EJ, Gilhuijs KG. Precise correlation between MRI and histopathology - exploring treatment margins for MRI-guided localized breast cancer therapy. *Radiother Oncol.* 2010; 97(2): 225-32.
136. McLaughlin R, Hylton N. MRI in breast cancer therapy monitoring. *NMR Biomed.* 2011; 24(6): 712-20.
137. Warren RM, Bobrow LG, Earl HM, Britton PD, Gopalan D, Purushotham AD, Wishart GC, Benson JR, Hollingworth W. Can breast MRI help in the management of women with breast cancer treated by neoadjuvant chemotherapy? *Br J Cancer.* 2004; 90(7): 1349-60.
138. Turnbull L, Brown S, Harvey I, Olivier C, Drew P, Napp V, Hanby A, Brown J. Comparative effectiveness of MRI in breast cancer (COMICE) trial: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2010; 375(9714): 563-71.
139. Furusawa H, Namba K, Thomsen S, Akiyama F, Bendet A, Tanaka C, Yasuda Y, Nakahara H. Magnetic resonance-guided focused ultrasound surgery of breast cancer: reliability and effectiveness. *J Am Coll Surg.* 2006; 203(1): 54-63.

140. Kinkel K, Hylton NM. Challenges to interpretation of breast MRI. *J Magn Reson Imaging*. 2001; 13(6): 821-9
141. Muttalib M, Ibrahim R, Khashan AS, Hajaj M. Prospective MRI assessment for invasive lobular breast cancer. Correlation with tumour size at histopathology and influence on surgical management. *Clin Radiol*. 2014; 69(1): 23-8.
142. Frei KA, Bonel HM, Frick H, Walt H, Steiner RA. Photodynamic detection of diseased axillary sentinel lymph node after oral application of aminolevulinic acid in patients with breast cancer. *Br J Cancer*. 2004; 90(4): 805-9.
143. Liu Y, Wang P, Liu Q, Wang X. Sinoporphyrin sodium triggered sono-photodynamic effects on breast cancer both in vitro and in vivo. *Ultrason Sonochem*. 2016; 31: 437-48.
144. Cabral AS, Leonel ECR, Candido NM, Piva HL, de Melo MT, Taboga SR, Rahal P, Tedesco AC, Calmon MF. Combined photodynamic therapy with chloroaluminum phthalocyanine and doxorubicin nanoemulsions in breast cancer model. *J Photochem Photobiol B*. 2021; 218: 112181.
145. de Andrade LR, Tedesco AC, Primo FL, Farias GR, da Silva JR, Longo JP, de Almeida MC, de Souza PE, de Azevedo RB, Pinheiro WO, Lacava ZG. Tumor cell death in orthotopic breast cancer model by NanoALA: a novel perspective on photodynamic therapy in oncology. *Nanomedicine (Lond)*. 2020; 15(10): 1019-1036.
146. Wang X, Hu J, Wang P, Zhang S, Liu Y, Xiong W, Liu Q. Analysis of the in vivo and in vitro effects of photodynamic therapy on breast cancer by using a sensitizer, sinoporphyrin sodium. *Theranostics*. 2015; 5(7): 772-86.
147. Zhang H, Liu K, Xue Z, Yin H, Dong H, Jin W, Shi X, Wang H, Wang H. High-voltage pulsed electric field plus photodynamic therapy kills breast cancer cells by triggering apoptosis. *Am J Transl Res*. 2018; 10(2): 334-351.
148. Banerjee SM, El-Sheikh S, Malhotra A, Mosse CA, Parker S, Williams NR, MacRobert AJ, Hamoudi R, Bown SG, Keshtgar MR.

Photodynamic Therapy in Primary Breast Cancer. *J Clin Med*. 2020; 9(2): 483.

149. Morrison SA, Hill SL, Rogers GS, Graham RA. Efficacy and safety of continuous low-irradiance photodynamic therapy in the treatment of chest wall progression of breast cancer. *J Surg Res*. 2014; 192(2): 235-41.
150. Kue CS, Kamkaew A, Lee HB, Chung LY, Kiew LV, Burgess K. Targeted PDT agent eradicates TrkC expressing tumors via photodynamic therapy (PDT). *Mol Pharm*. 2015; 12(1): 212-22.
151. Duanmu J, Cheng J, Xu J, Booth CJ, Hu Z. Effective treatment of chemoresistant breast cancer in vitro and in vivo by a factor VII-targeted photodynamic therapy. *Br J Cancer*. 2011; 104(9): 1401-9.
152. Kamalidehghan B, Houshmand M, Kamalidehghan F, Jafarzadeh N, Azari S, Akmal SN, Rosli R. Establishment and characterization of two human breast carcinoma cell lines by spontaneous immortalization: Discordance between Estrogen, Progesterone and HER2/neu receptors of breast carcinoma tissues with derived cell lines. *Cancer Cell Int*. 2012; 12(1): 43.
153. Rodrigues MC, Vieira LG, Horst FH, de Araújo EC, Ganassin R, Merker C, Meyer T, Böttner J, Venus T, Longo JPF, Chaves SB, Garcia MP, Estrela-Lopis I, Azevedo RB, Muehlmann LA. Photodynamic therapy mediated by aluminium-phthalocyanine nanoemulsion eliminates primary tumors and pulmonary metastases in a murine 4T1 breast adenocarcinoma model. *J Photochem Photobiol B*. 2020; 204: 111808.
154. Portilho FA, Cavalcanti CE, Miranda-Vilela AL, Estevanato LL, Longo JP, Almeida Santos Mde F, Bocca AL, Martins OP, Simioni AR, Morais PC, Azevedo RB, Tedesco AC, Lacava ZG. Antitumor activity of photodynamic therapy performed with nanospheres containing zinc-phthalocyanine. *J Nanobiotechnology*. 2013; 11: 41.
155. Zhu J, Tian S, Li KT, Chen Q, Jiang Y, Lin HD, Yu LH, Bai DQ. Inhibition of breast cancer cell growth by methyl pyropheophenylchlorin photodynamic therapy is mediated through endoplasmic reticulum stress-induced autophagy in vitro and vivo. *Cancer Med*. 2018 May;7(5):1908-1920.

156. Starkey JR, Rebane AK, Drobizhev MA, Meng F, Gong A, Elliott A, McInnerney K, Spangler CW. New two-photon activated photodynamic therapy sensitizers induce xenograft tumor regressions after near-IR laser treatment through the body of the host mouse. *Clin Cancer Res.* 2008; 14(20): 6564-73.
157. Wan G, Chen B, Li L, Wang D, Shi S, Zhang T, Wang Y, Zhang L, Wang Y. Nanoscaled red blood cells facilitate breast cancer treatment by combining photothermal/photodynamic therapy and chemotherapy. *Biomaterials.* 2018; 155: 25-40.
158. He Z, Jiang H, Zhang X, Zhang H, Cui Z, Sun L, Li H, Qian J, Ma J, Huang J. Nano-delivery vehicle based on chlorin E6, photodynamic therapy, doxorubicin chemotherapy provides targeted treatment of HER-2 negative, $\alpha\beta$ 3-positive breast cancer. *Pharmacol Res.* 2020; 160: 105184.
159. Longo JP, Muehlmann LA, Miranda-Vilela AL, Portilho FA, de Souza LR, Silva JR, Lacava ZG, Bocca AL, Chaves SB, Azevedo RB. Prevention of Distant Lung Metastasis After Photodynamic Therapy Application in a Breast Cancer Tumor Model. *J Biomed Nanotechnol.* 2016; 12(4): 689-99.
160. Huang Y, Xiao Z, Guan Z, Shen Y, Jiang Y, Xu X, Huang Z, Zhao C. A light-triggered self-reinforced nanoagent for targeted chemophotodynamic therapy of breast cancer bone metastases via ER stress and mitochondria mediated apoptotic pathways. *J Control Release.* 2020; 319: 119-134.
161. Xiong W, Wang X, Hu J, Liu Y, Liu Q, Wang P. Comparative study of two kinds of repeated photodynamic therapy strategies in breast cancer by using a sensitizer, sinoporphyrin sodium. *J Photochem Photobiol B.* 2016; 160: 299-305.
162. Zhou X, Zheng M, Zou Y, Wang J, Zhang L, Yin R. 5-Aminolevulinic acid induced photodynamic therapy (ALA-PDT) for erosive adenomatosis of the nipple: A case report. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2021; 35: 102387.
163. de Andrade LR, Tedesco AC, Primo FL, Farias GR, da Silva JR, Longo JP, de Almeida MC, de Souza PE, de Azevedo RB, Pinheiro WO,

- Lacava ZG. Tumor cell death in orthotopic breast cancer model by NanoALA: a novel perspective on photodynamic therapy in oncology. *Nanomedicine (Lond)*. 2020;15(10):1019-1036.
164. Liu J, Yin Y, Yang L, Lu B, Yang Z, Wang W, Li R. Nucleus-Targeted Photosensitizer Nanoparticles for Photothermal and Photodynamic Therapy of Breast Carcinoma. *Int J Nanomedicine*. 2021 ;16: 1473-1485.
 165. Kato H, Usuda J, Okunaka T, Furukawa K, Honda H, Sakaniwa N, Suga Y, Hirata T, Ohtani K, Inoue T, Maehara S, Kubota M, Yamada K, Tsuitsui H. Basic and clinical research on photodynamic therapy at Tokyo Medical University Hospital. *Lasers Surg Med*. 2006 Jun;38(5):371-5.
 166. Jin W, Shi X, Yin H, Zhang H, Wang Z, Chen Q, Wu H, Han Y, Li Y. Comparison of actual and simulated tumoricidal effects induced by photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020; 32: 102060.
 167. Huang Y, Guan Z, Dai X, Shen Y, Wei Q, Ren L, Jiang J, Xiao Z, Jiang Y, Liu D, Huang Z, Xu X, Luo Y, Zhao C. Engineered macrophages as near-infrared light activated drug vectors for chemo-photodynamic therapy of primary and bone metastatic breast cancer. *Nat Commun*. 2021;12(1): 4310.
 168. Luo L, Zhong H, Liu S, Deng L, Luo Y, Zhang Q, Zhu Y, Tian Y, Sun Y, Tian X. Intracellular "activated" two-photon photodynamic therapy by fluorescent conveyor and photosensitizer co-encapsulating pH-responsive micelles against breast cancer. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:5189-5201.
 169. Ferreira I, da Silva GN, Ferreira-Strixino J, Grecco C, Bagnato VS, Salvadori DMF, Rocha NS. PCR analysis of the effect of photodynamic therapy on breast tumors. *Research, Society and Development*, 2021; 10(12): e459101220468-e459101220468.

10. STRESZCZENIE

10.1. W języku polskim

Jednym z dwóch problemów badawczych jest zobrazowanie ognisk komórek rakowych w wycinku tkankowym z raka piersi metodą magnetycznego rezonansu jądrowego. Badanie to może przyczynić się do poprawy wykrywalności nowotworów złośliwych piersi co ułatwi prawidłową ocenę stopnia zaawansowania choroby i pozwoli podjąć właściwą decyzję co do planowanej metody terapeutycznej. Drugim problemem badawczym była histopatologiczna ocena reakcji komórek raka piersi na terapię fotodynamiczną. Reakcja na leczenie oceniona w preparacie mikroskopowym pozwoliła na dobranie optymalnej dawki fotouczulacza do otrzymania pożądanego efektu terapeutycznego.

W badaniach wykorzystany został rezonans magnetyczny o indukcji polu 1.5 Tesli model Optima MR360 firmy General Electric Healthcare. Dodatkowo do wykonywania pomiarów z wykorzystaniem silnego pola magnetycznego wykorzystane zostały dedykowane cewki gradientowe. Analiza otrzymanych danych była wykonana za pomocą licencjonowanego pakietu MATLAB.

Badania przeprowadzono na nieutrwalonych przez formalinę fragmentach tkankowych. W pierwszym etapie wyznaczono relaksację podłużną i poprzeczną, co umożliwiło dokonanie charakterystyki badanych próbek. Na podstawie otrzymanego sygnału cyfrowego i rekonstrukcji obrazu, która powstaje dzięki zastosowaniu transformaty Fouriera otrzymano dane do analizy. Kolejnym etapem była analiza danych, w której dokonano dokładnej oceny otrzymanych wyników, w celu wyznaczenia czasów relaksacji T_1 i T_2 w badanych próbkach. W kolejnym etapie, pod mikroskopem, został oceniony preparat histopatologiczny wykonany z przebadanego wycinka raka piersi. Wycinek zawierał komórki raka piersi oraz tkankę niezmienioną nowotworowo. W ostatniej fazie eksperymentu zmiany widoczne w badaniu MR skorelowano z obrazem histopatologicznym w celu odnalezienia ewentualnych korelacji.

Po wykonaniu obrazowania MR i po zabezpieczeniu fragmentu do wykonania bloczka parafinowego tkanki zostały poddane fototerapii a następnie utrwalone. W zakładzie patomorfologii dokonano oceny preparatu histopatologicznego, a

otrzymany wynik zostanie skorelowany z podaną dawką fotouczulacza. Proces ten pozwolił ustalić minimalną efektywną dawkę terapeutyczną fotouczulacza.

10.2. W języku angielskim

One of the two research problems is the magnetic resonance imaging of cancer cells in the breast cancer tissue specimen. This examination may contribute to the improvement of the detection of breast malignant neoplasms, which will facilitate the correct assessment of the stage of the disease and will allow to make the right decision as to the planned therapeutic method. The second research problem was the histopathological assessment of the response of breast cancer cells to photodynamic therapy. The response to the treatment assessed in the microscopic slide made it possible to select the optimal dose of the photosensitizer to obtain the desired therapeutic effect.

The research used 1.5 Tesla magnetic resonance imaging model Optima MR360 by General Electric Healthcare. Additionally, dedicated gradient coils were used to perform measurements with the use of a strong magnetic field. The analysis of the obtained data was performed using the licensed MATLAB package.

The studies were carried out on tissue fragments that were not fixed by formalin. In the first stage, the longitudinal and transverse relaxation was determined, which made it possible to characterize the tested samples. Based on the obtained digital signal and image reconstruction, which is created by using the Fourier transform, the data for analysis were obtained. The next stage was data analysis, in which the obtained results were carefully assessed in order to determine the T1 and T2 relaxation times in the tested samples. In the next stage, a histopathological preparation made of the examined breast cancer specimen was assessed under a microscope. The excerpt contained breast cancer cells and non-neoplastic tissue. In the last phase of the experiment, the changes visible in the MR examination were correlated with the histopathological image in order to find possible correlations.

After performing MR imaging and securing the fragment for the paraffin block, the tissues were subjected to phototherapy and then fixed. In the pathology

department, the histopathological preparation was assessed and the obtained result will be correlated with the administered dose of photosensitizer. This process allowed to establish the minimum effective therapeutic dose of the photosensitizer.

11. SPIS TABEL I RYCIN

11.1. Spis tabel

Tabela 5.1. Stężenia przygotowanych fotouczulaczy i długości fali światła laserowego stosowanego w PDT dla poszczególnych roztworów	35
Tabela 6.1. Uśrednione wyniki czasów relaksacji dla próbek tkanek zdrowych i tkanek nowotworowych in vitro bez leczenia.....	49
Tabela 6.2. Wartości czasów T_1 i T_2 tkanek zdrowych	70
Tabela 6.3. Wartości czasów T_1 i T_2 tkanek nowotworowych	72
Tabela 6.4. Wyznaczone czasy relaksacji fotouczulaczy	75
Tabela 6.5. Wartości T_1 i T_2 tkanek nowotworowych po terapii PDT z różem bengalskim	100
Tabela 6.6. Wartości T_1 i T_2 tkanek nowotworowych po terapii PDT z solą disodową protoporfiryny IX	102
Tabela 6.7. Wartości T_1 i T_2 tkanek nowotworowych po terapii PDT z dichlorkiem ftalocyjaniny krzemu	104
Tabela 6.8. Wartości T_1 i T_2 tkanek nowotworowych po terapii PDT z chlorowodorkiem kwasu 5-ALA	107
Tabela 6.9. Charakterystyka statystyczna	110

11.2. Spis rycin

Rycina 1.1. Procentowy odsetek liczby nowych przypadków raka piersi w 2020r. na sześciu kontynentach.....	8
Rycina 1.2. Poprawa oceny zakresu zabiegu operacyjnego.....	9
Rycina 2.1. Poprawa efektywności oceny morfologii tkanki zdrowej i tkanki nowotworowej	11
Rycina 3.1. Fizyczno-chemiczna zasada działania PDT.....	16
Rycina 3.2. Poszczególne elementy procedury PDT	18
Rycina 4.1. Pytania naukowe projektu.....	26
Rycina 5.1. Pracownia w Zakładzie Biochemii i Chemii Ogólnej	27
Rycina 5.2. Pracownia w Zakładzie Biochemii i Chemii Ogólnej	28
Rycina 5.3. Pracownia w Zakładzie Fotomedycyny i Chemii Fizycznej Uniwersytetu Rzeszowskiego	28
Rycina 5.4. Pracownia w Klinicznym Zakładzie Patomorfologii w KSW nr 1....	29
Rycina 5.5. Poszczególne kroki tworzenia preparatów histopatologicznych	30
Rycina 5.6. Mikroskop LEICA DM 1000 LED	30
Rycina 5.7. Rezonans Magnetyczny w Laboratorium Badań Ośrodkowego Układu Nerwowego i Kręgosłupa w Przyrodniczo-Medycznym Centrum Badań Innowacyjnych.....	31
Rycina 5.8. Sposób naświetlania próbki laserem.....	34
Rycina 6.1. Charakterystyka parametrów fizyko-chemicznych tkanki zdrowej i tkanki nowotworowej	36
Rycina 6.2. Tkanka zdrowa pacjentki	38
Rycina 6.3. Tkanka nowotworowa pacjentki	38
Rycina 6.4. Tkanka zdrowa pacjentki	39
Rycina 6.5. Tkanka nowotworowa pacjentki	39
Rycina 6.6. Tkanka zdrowa pacjentki	40

Rycina 6.7. Tkanka nowotworowa pacjentki	40
Rycina 6.8. Tkanka zdrowa pacjentki	41
Rycina 6.9. Tkanka nowotworowa pacjentki	41
Rycina 6.10. Tkanka zdrowa pacjentki	42
Rycina 6.11. Tkanka nowotworowa pacjentki	42
Rycina 6.12. Tkanka zdrowa pacjentki	43
Rycina 6.13. Tkanka nowotworowa pacjentki	43
Rycina 6.14. Tkanka zdrowa pacjentki	44
Rycina 6.15. Tkanka nowotworowa pacjentki	44
Rycina 6.16. Tkanka zdrowa pacjentki	45
Rycina 6.17. Tkanka nowotworowa pacjentki	45
Rycina 6.18. Tkanka zdrowa pacjentki	46
Rycina 6.19. Tkanka nowotworowa pacjentki	46
Rycina 6.20. Tkanka zdrowa pacjentki	47
Rycina 6.21. Tkanka nowotworowa pacjentki	47
Rycina 6.22. Przykładowy obraz DICOM w próbkach zdrowych (H) oraz nowotworowych (C). Obszar ROI został wybrany na podstawie geometrii tkanek	48
Rycina 6.23. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek.....	49
Rycina 6.24. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek	50
Rycina 6.25. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek	50
Rycina 6.26. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 1.....	51
Rycina 6.27. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 2.....	51
Rycina 6.28. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 1.....	52
Rycina 6.29. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 2.....	52
Rycina 6.30. Mapa T_1 próbek	53
Rycina 6.31. Mapa T_2 próbek	54
Rycina 6.32. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek.....	55
Rycina 6.33. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek	55
Rycina 6.34. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek	56
Rycina 6.35. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 3.....	57
Rycina 6.36. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 4.....	57
Rycina 6.37. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 3.....	58
Rycina 6.38. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 4.....	58
Rycina 6.39. Mapa T_1 próbek	59
Rycina 6.40. Mapa T_2 próbek	60
Rycina 6.41. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek.....	61
Rycina 6.42. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek	61
Rycina 6.43. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek	62
Rycina 6.44. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 5.....	62
Rycina 6.45. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 6.....	63
Rycina 6.46. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 5.....	63
Rycina 6.47. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 6.....	64
Rycina 6.48. Mapa T_1 próbek	64
Rycina 6.49. Mapa T_2 próbek	65
Rycina 6.50. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek.....	65
Rycina 6.51. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek	66
Rycina 6.52. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek	66
Rycina 6.53. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 7.....	67
Rycina 6.54. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 8.....	67

Rycina 6.55. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 7	68
Rycina 6.56. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 8.....	68
Rycina 6.57. Mapa T_1 próbek	69
Rycina 6.58. Mapa T_2 próbek	69
Rycina 6.59. Wartości czasu relaksacji T_1 dla tkanek zdrowych.....	71
Rycina 6.60. Wartości czasu relaksacji T_2 dla tkanek zdrowych.....	72
Rycina 6.61. Wartości czasu relaksacji T_1 dla tkanek nowotworowych.....	73
Rycina 6.62. Wartości czasu relaksacji T_2 dla tkanek nowotworowych.....	74
Rycina 6.63. Obraz histopatologiczny tkanki nowotworowej po terapii PDT	76
Rycina 6.64. Rak piersi przed zastosowaniem terapii fotodynamicznej.....	77
Rycina 6.65. Rak piersi po zastosowaniu terapii fotodynamicznej – róż bengalski 0,01 mM/l.....	77
Rycina 6.66. Rak piersi po zastosowaniu terapii fotodynamicznej – róż bengalski 0,05 mM/l.....	78
Rycina 6.67. Rak piersi po zastosowaniu terapii fotodynamicznej – sól disodowa protoporfiryny IX 3mM/l.....	78
Rycina 6.68. Rak piersi po zastosowaniu terapii fotodynamicznej – dichlorek ftalocyjaniny krzemu 0,0012 w CH_2Cl_2	79
Rycina 6.69. Rak piersi po zastosowaniu terapii fotodynamicznej – chlorowodorek kwasu 5-ALA 0,003 mM/l.....	79
Rycina 6.70. Obraz T_1 badanych próbek, przy parametrach: TE= 3ms, TR= 500ms.....	80
Rycina 6.71. Obraz T_1 badanych próbek, przy parametrach: TE= 3ms, TR= 3000ms.....	81
Rycina 6.72. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek.....	81
Rycina 6.73. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek..	82
Rycina 6.74. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek .	82
Rycina 6.75. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 9.....	83
Rycina 6.76. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 10.....	83
Rycina 6.77. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 9.....	84
Rycina 6.78. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 10.....	84
Rycina 6.79. Mapa T_1 próbek	85
Rycina 6.80. Mapa T_2 próbek	85
Rycina 6.81. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek.....	86
Rycina 6.82. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek .	86
Rycina 6.83. Zestawiono obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek .	87
Rycina 6.84. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 11.....	87
Rycina 6.85. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 12.....	88
Rycina 6.86. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 11.....	88
Rycina 6.87. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 12.....	89
Rycina 6.88. Mapa T_1 próbek	89
Rycina 6.89. Mapa T_2 próbek	90
Rycina 6.90. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek.....	91
Rycina 6.91. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek .	91
Rycina 6.92. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek .	92
Rycina 6.93. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 13.....	92
Rycina 6.94. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 14.....	93
Rycina 6.95. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 13.....	93
Rycina 6.96. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 14.....	94
Rycina 6.97. Mapa T_1 próbek	94

Rycina 6.98. Mapa T_2 próbek	95
Rycina 6.99. Wybór obszaru zainteresowania badanych próbek.....	95
Rycina 6.100. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_1 badanych próbek.....	96
Rycina 6.101. Zestawione obrazy DICOM czasu relaksacji T_2 badanych próbek.....	96
Rycina 6.102. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 15.....	97
Rycina 6.103. Wykres czasu relaksacji T_1 próbki 16.....	97
Rycina 6.104. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 15.....	98
Rycina 6.105. Wykres czasu relaksacji T_2 próbki 16.....	98
Rycina 6.106. Mapa T_1 próbek	99
Rycina 6.107. Mapa T_2 próbek	99
Rycina 6.108. Wartości czasu relaksacji T_1 dla tkanek nowotworowych po PDT z Różem Bengalskim	101
Rycina 6.109. Wartości czasu relaksacji T_2 dla tkanek nowotworowych po PDT z Różem Bengalskim	102
Rycina 6.110. Wartości czasu relaksacji T_1 dla tkanek nowotworowych po PDT z solą disodową protoporfiryny IX	103
Rycina 6.111. Wartości czasu relaksacji T_2 dla tkanek nowotworowych po PDT z solą disodową protoporfiryny IX	104
Rycina 6.112. Wartości czasu relaksacji T_1 dla tkanek nowotworowych po PDT z dichlorkiem ftalocyjaniny krzemu	106
Rycina 6.113. Wartości czasu relaksacji T_2 dla tkanek nowotworowych po PDT z dichlorkiem ftalocyjaniny krzemu	107
Rycina 6.114. Wartości czasu relaksacji T_1 dla tkanek nowotworowych po PDT z chlorowodorkiem kwasu 5-ALA	109
Rycina 6.115. Wartości czasu relaksacji T_2 dla tkanek nowotworowych po PDT z chlorowodorkiem kwasu 5-ALA	110

ZAŁĄCZNIKI



KOMISJA BIOETYCZNA UNIwersYTETU RZESZOWSKIEGO
UNIwersYTET RZESZOWSKI
ul. Warszawska 26 A, 35-205 Rzeszów
tel. (017) 872 19 25

UCHWAŁA Nr 11/11/2018

Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Rzeszowskim

08/11/2018

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Rzeszowskim, działając na podstawie art. 29 ust. 3 pkt 2 ustawy z dnia 5 grudnia 1996 roku o zawodzie lekarza (Dz. U. z dnia 26 marca 1997 roku, Nr 28, poz.152), zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 roku (Dz. U. Nr 47 poz. 480 z 1999 roku) w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania Komisji Bioetycznych, po zapoznaniu się z wnioskiem obejmującym również zgłoszenie badania oraz po wysłuchaniu dodatkowych informacji złożonych przez wnioskodawcę, w wyniku przeprowadzonej dyskusji i głosowania,

postanawia

projekt badawczy: „Ewaluacja diagnostyczna tkanki nowotworowej raka piersi przy zastosowaniu czasów relaksacji MRI in vivo i in vitro oraz terapii fotodynamicznej in vitro”

zaopiniować pozytywnie.

Uwagi: Uchwała jest ważna na okres objęty planem badań.

Do wiadomości:

Wnioskodawca

Lek. Joanna Gustalik, dr n. med. Ewa Kaznowska, dr hab. n. med. inż. Dorota Bartusik-Aebisher, Prof. UR

Uniwersytet Rzeszowski
Zastępca Przewodniczącego
Komisji Bioetycznej UR
Lidia Czyż
dr n. o zdr. Lidia Czyż

Poszczególne fragmenty pracy jak i wyniki eksperymentalne były tematem przewodnim artykułów polsko i anglojęzycznych w czasopismach (Acta Poloniae Pharmaceutica- Drug Research, Tygiel, Inżynier i Fizyk Medyczny, Nova Science Publishers, European Journal of Clinical and Experimental Medicine) oraz były prezentowane podczas Konferencji (w Lublinie, Rzeszowie i Krakowie). Poniżej przedstawiono spis osiągnięć zebranych w trakcie przygotowywania pracy doktorskiej.

Praca w trakcie zgłaszania:

Artykuł pt. ” **Therapeutic use of singlet oxygen for breast cancer ex vivo**”.

W artykule Acta Poloniae Pharmaceutica- Drug Research (ISSN 2353-5288), vol. 78 No. 4 pp. 447-456, 2021. Numer DOI: 10.32383/appdr/140367.

Autorzy: **Gustalik-Nowicka Joanna**, Aebisher David, Adamczyk Marta, Cieślar Grzegorz, Kawczyk-Krupka Aleksandra.

1.

IDT: 0000055126.

Autorzy: Gustalik-Nowicka Joanna, Aebisher David, Bartusik-Aebisher Dorota.

Tytuł oryginału: Histopatologiczna ocena raka piersi, wykorzystanie rezonansu magnetycznego w diagnostyce raków piersi oraz terapia fotodynamiczna jako obiecująca metoda leczenia

Tytuł całości: W: II Ogólnopolska Konferencja Naukowa "Wyzwania i problemy nauk biomedycznych"(online)

Adres wydawniczy: Lublin : Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL, 2021

Charakt. formalna: polskie abstrakty raportów z badań

Charakt. merytoryczna wg PBN: Abstrakt

Język publikacji: POL

Afiliacja: Gustalik Joanna [*] 0000-0003-0802-9580 4374325;052;KNM, Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570 4004161;052;KNM, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464 4004409;052;KNM

2.

IDT: 0000056296.

Autorzy: Gustalik Joanna, Aebisher David, Bartusik-Aebisher Dorota.

Tytuł oryginału: Przydatność diagnostyczna czasów relaksacji rezonansu magnetycznego oraz skuteczność terapii fotodynamicznej w raku piersi

Tytuł całości: W: Postępy w badaniach nad nowotworami - przegląd wybranych zagadnień / redakcja Łukasz B. Pilarz, Kamil Maciąg

Adres wydawniczy: Lublin : Wydawnictwo Naukowe TYGIEL Sp. z o. o., 2021

Opis fizyczny: S. 101-112 : bibliogr., streszcz. pol., ang.

Uwagi: Tyt. ang.: Diagnostic usefulness of MRI relaxation times and effectiveness of photodynamic therapy in breast cancer

p-ISBN: 978-83-66489-66-0

Liczba arkuszy: 0,5

Słowa kluczowe polskie: rak piersi ; szanse wyleczenia ; terapia

Słowa kluczowe angielskie: breast cancer ; chances of recovery ; therapy

Charakt. formalna: rozdział w języku polskim

Charakt. merytoryczna wg PBN: Rozdział w książce

Język publikacji: POL

Punktacja MEiN: 20.000

Adres url: <http://bc.wydawnictwo-tygiel.pl/public/assets/564/Post%C4%99py%20w%20badaniach%20nad%20nowotworami%20%E2%80%93%20prze%C4%85d%20wybranych%20zagadnie%C5%84.pdf>

Afiliacja: Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580

4374325;052;KNM, Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570

4004161;052;KNM, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464

4004409;052;KNM

3.

IDT: 0000056801.

Autorzy: Gustalik Joanna, Osuchowski Michał.

Tytuł oryginału: Metody diagnostyczne i lecznicze w raku piersi i raku prostaty - ich problemy i ograniczenia

Tytuł całości: W: Różnorodność problemów klinicznych i badawczych w naukach o zdrowiu. T. 2 / pod redakcją Lidii Perenc

Adres wydawniczy: Rzeszów : Uniwersytet Rzeszowski, 2021

Opis fizyczny: S. 489-497 : bibliogr., streszcz. pol., ang.

Uwagi: Tyt. ang.: Diagnostic and treatment methods in breast cancer and prostate cancer - their pitfalls and limitations

p-ISBN: 978-83-7996-902-9

Liczba arkuszy: 0,55

Słowa kluczowe polskie: rak piersi ; rak prostaty ; badania obrazowe

Słowa kluczowe angielskie: breast cancer ; prostate cancer ; imaging tests

Charakt. formalna: rozdział w języku polskim

Charakt. merytoryczna wg PBN: Rozdział w książce

Język publikacji: POL

Punktacja MEiN: 20.000

Adres url:

<https://wydawnictwo.ur.edu.pl/ksi%C4%85%C5%BCki/roznorodnosc-problemow-klinicznych-i-badawczych-w-naukach-o-zdrowiu-tom-2/>

Afiliacja: Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580

4374325;052;KNM, Osuchowski Michał [*] 0000-0001-6207-7474

4453567;052;KNM

4.

IDT: 0000056622.

Autorzy: Gustalik-Nowicka Joanna, Aebisher David, Bartusik-Aebisher Dorota.

Tytuł oryginału: Histopatologiczna ocena raka piersi, wykorzystanie rezonansu magnetycznego w diagnostyce raków piersi oraz terapia fotodynamiczna jako obiecująca metoda leczenia

Tytuł całości: W: Wybrane choroby nowotworowe - diagnostyka i leczenie / redakcja Kinga Kalbarczyk, Monika Maciąg

Adres wydawniczy: Lublin : Wydawnictwo Naukowe TYGIEL Sp. z o. o., 2021

Opis fizyczny: S. 64-70 : bibliogr., streszcz. pol., ang.

Uwagi: Tyt. ang.: Histopathological assessment of breast cancer, the use of magnetic resonance imaging in the diagnosis of breast cancer and photodynamic therapy as a promising treatment method

p-ISBN: 978-83-66489-90-5

Liczba arkuszy: 0,5

Słowa kluczowe polskie: rak piersi ; PDT ; MRI

Słowa kluczowe angielskie: breast cancer ; PDT ; MRI

Charakt. formalna: rozdział w języku polskim

Charakt. merytoryczna wg PBN: Rozdział w książce

Język publikacji: POL

Punktacja MEiN: 20.000

Adres url: [http://bc.wydawnictwo-](http://bc.wydawnictwo-tygiel.pl/public/assets/604/Wybrane%20choroby%20nowotworowe%20%E2%80%93%93%20diagnostyka%20i%20leczenie.pdf)

[tygiel.pl/public/assets/604/Wybrane%20choroby%20nowotworowe%20%E2%80%93%93%20diagnostyka%20i%20leczenie.pdf](http://bc.wydawnictwo-tygiel.pl/public/assets/604/Wybrane%20choroby%20nowotworowe%20%E2%80%93%93%20diagnostyka%20i%20leczenie.pdf)

Afiliacja: Gustalik Joanna [*] 0000-0003-0802-9580 4374325;052;KNM,

Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570 4004161;052;KNM, Bartusik-Aebisher

Dorota [*] 0000-0002-5557-5464 4004409;052;KNM

5.

IDT: 0000054626.

Autorzy: Gustalik Joanna, Aebisher David, Kaznowska Ewa Beata, Bartusik-Aebisher Dorota.

Tytuł oryginału: Mixed adenocarcinoma-neuroendocrine cancer - a case report

Czasopismo: European Journal of Clinical and Experimental Medicine

Szczegóły: 2020 : vol. 18, nr 4, s. 335-337, bibliogr., streszcz. ang.

Uwagi: Poprzednie tytuły czasopisma: Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie: 2011-2015 (ISSN: 2082-369X) Medical Review: 2015-2016 (e-ISSN 2450-6761) ; Review Paper

p-ISSN: 2544-2406

e-ISSN: 2544-1361

Słowa kluczowe angielskie: central nervous system ; MANEC ; mixed adenocarcinoma-neuroendocrine cancer

Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie polskim

Język publikacji: ENG

Punktacja MEiN: 5.000

open-access-text-version: FINAL_PUBLISHED

open-access-licence: CC-BY-NC-ND

open-access-release-time: AT_PUBLICATION

open-access-months: 0

open-access-article-mode: OTHER

Adres url: [http://www.ejcem.ur.edu.pl/system/tdf/mixed_adenocarcinoma-](http://www.ejcem.ur.edu.pl/system/tdf/mixed_adenocarcinoma-neuroendocrine_cancer_-_a_case_report.pdf?file=1&type=node&id=1934&force=)

[_a_case_report.pdf?file=1&type=node&id=1934&force=](http://www.ejcem.ur.edu.pl/system/tdf/mixed_adenocarcinoma-neuroendocrine_cancer_-_a_case_report.pdf?file=1&type=node&id=1934&force=)

DOI: 10.15584/ejcem.2020.4.13

Afiliacja: Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580

4374325;052;KNM, Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570

4004161;052;KNM, Kaznowska Ewa Beata [*] 0000-0002-4135-0678

3986517;052;KNM, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464

4004409;052;KNM

Uwaga dot. automatycznej identyfikacji: Niezidentyfikowano na wykazie dyscyplin

6.

IDT: 0000054439.

Autorzy: Gustalik Joanna, Aebisher David, Bartusik-Aebisher Dorota.

Tytuł oryginału: Przydatność diagnostyczna czasów relaksacji rezonansu magnetycznego oraz skuteczność terapii fotodynamicznej w raku piersi

Tytuł całości: W: Ogólnopolska Konferencja Naukowa "Choroby nowotworowe wyzwaniem dla nauk medycznych w XXI wieku ", 4 grudnia 2020 roku : abstrakty / red. Kinga Kalbarczyk, Monika Maciąg

Adres wydawniczy: Lublin : Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL, 2020

Opis fizyczny: S. 39-40

p-ISBN: 978-83-66261-94-5

Charakt. formalna: polskie abstrakty raportów z badań

Charakt. merytoryczna wg PBN: Abstrakt

Język publikacji: POL

Adres url: [http://bc.wydawnictwo-](http://bc.wydawnictwo-tygiel.pl/public/assets/489/Og%C3%B3lnopolska%20Konferencja%20Naukowa%20%E2%80%9EChoroby%20nowotworowe%20wyzwaniem%20dla%20nauk%20medycznych%20w%20XXI%20wieku%E2%80%9D.%20Abstrak)

[tygiel.pl/public/assets/489/Og%C3%B3lnopolska%20Konferencja%20Naukowa%20%E2%80%9EChoroby%20nowotworowe%20wyzwaniem%20dla%20nauk%20medycznych%20w%20XXI%20wieku%E2%80%9D.%20Abstrak](http://bc.wydawnictwo-tygiel.pl/public/assets/489/Og%C3%B3lnopolska%20Konferencja%20Naukowa%20%E2%80%9EChoroby%20nowotworowe%20wyzwaniem%20dla%20nauk%20medycznych%20w%20XXI%20wieku%E2%80%9D.%20Abstrak)

Afiliacja: Gustalik-Nowicka Joanna [] 0000-0003-0802-9580

4374325;052;KNM, Aebisher David [] 0000-0002-2661-6570

4004161;052;KNM, Bartusik-Aebisher Dorota [] 0000-0002-5557-5464

4004409;052;KNM

7.

IDT: 0000054010.

Autorzy: Gustalik Joanna, Bartusik-Aebisher Dorota, Aebisher David.

Tytuł oryginału: Diagnostyka obrazowa nowotworów złośliwych piersi

Tytuł oryginału: Imaging diagnosis of malignant breast cancer

Tytuł całości: W: Radiologia Wspólna Sprawa - RWS 2020 : konferencja naukowo-szkoleniowa 24-25.10.2020, Rzeszów / kom. org.: Dorota Bartusik-Aebisher i in.

Adres wydawniczy: Rzeszów : Uniwersytet Rzeszowski, 2020

Słowa kluczowe polskie: Diagnostyka obrazowa ; terapia ; Diagnostyka

Słowa kluczowe angielskie: imaging diagnostics ; therapy ; diagnostics

Charakt. formalna: polskie abstrakty raportów z badań

Charakt. merytoryczna wg PBN: Abstrakt

Język publikacji: POL, ENG

Afiliacja: Gustalik-Nowicka Joanna [] 0000-0003-0802-9580 4374325;000;000,

Bartusik-Aebisher Dorota [] 0000-0002-5557-5464 4004409;052;KNM, Aebisher

David [] 0000-0002-2661-6570 4004161;052;KNM

8.

IDT: 0000048918.

Autorzy: Gustalik Joanna, Kaznowska Ewa Beata, Bartusik-Aebisher Dorota.

Tytuł oryginału: Przydatność diagnostyczna czasów relaksacji metodą rezonansu

magnetycznego oraz skuteczność terapii fotodynamicznej w raku piersi. Cz. 1
Tytuł całości: W: Analiza zagadnienia, analiza wyników - wystąpienie młodego naukowca : edycja 1 : Rzeszów, 21.05.2019, Łódź, 23.05.2019, Szczecin, 29.05.2019, Wrocław, 30.05.2019 : materiały konferencyjne / oprac. Marcin Kuczera

Adres wydawniczy: Kraków : Creativetime, 2019

Opis fizyczny: : bibliogr.

Uwagi: Konferencja Młodych Naukowców

p-ISBN: 978-83-63058-88-3

Charakt. formalna: polskie abstrakty raportów z badań

Charakt. merytoryczna wg PBN: Abstrakt

Język publikacji: POL

Afiliacja: Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580

4374325;052;KNM, Kaznowska Ewa Beata [*] 0000-0002-4135-0678

3986517;052;KNM, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464

4004409;052;KNM

9.

IDT: 0000048919.

Autorzy: Gustalik Joanna, Kaznowska Ewa Beata, Bartusik-Aebisher Dorota.

Tytuł oryginału: Przydatność diagnostyczna czasów relaksacji metodą rezonansu magnetycznego oraz skuteczność terapii fotodynamicznej w raku piersi. Cz. 2

Tytuł całości: W: Analiza zagadnienia, analiza wyników - wystąpienie młodego naukowca : edycja 1 : Rzeszów, 21.05.2019, Łódź, 23.05.2019, Szczecin, 29.05.2019, Wrocław, 30.05.2019 : materiały konferencyjne / oprac. Marcin Kuczera

Adres wydawniczy: Kraków : Creativetime, 2019

Opis fizyczny: : bibliogr.

p-ISBN: 978-83-63058-88-3

Charakt. formalna: polskie abstrakty raportów z badań

Charakt. merytoryczna wg PBN: Abstrakt

Język publikacji: POL

Afiliacja: Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580

4374325;052;KNM, Kaznowska Ewa Beata [*] 0000-0002-4135-0678

3986517;052;KNM, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464

4004409;052;KNM

10.

IDT: 0000049287.

Autorzy: Gustalik Joanna, Bartusik-Aebisher Dorota, Ostańska Elżbieta, Przyczyna Piotr, Osuchowski Michał, Aebisher David, Galiniak Sabina Monika, Kaznowska Ewa Beata.

Tytuł oryginału: Epidemiology of breast cancer in Podkarpackie voivodship

Czasopismo: European Journal of Clinical and Experimental Medicine

Szczegóły: 2019 : vol. 17, nr 3, s. 242-245, bibliogr., streszcz. ang.

Uwagi: Poprzednie tytuły czasopisma: Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie: 2011-2015 (ISSN: 2082-369X) Medical Review: 2015-2016 (e-ISSN 2450-6761) ; Review Paper

p-ISSN: 2544-2406

e-ISSN: 2544-1361

Słowa kluczowe angielskie: breast cancer ; statistics ; epidemiology ;

Podkarpackie Voivodship

Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie polskim

Język publikacji: ENG

Punktacja MEiN: 5.000

Adres url:

http://www.ejcem.ur.edu.pl/system/tdf/epidemiology_of_breast_cancer_in_podkarpackie_voivodship.pdf?file=1&type=node&id=1843&force=

DOI: 10.15584/ejcem.2019.3.7

Afiliacja: Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580

4374325;052;KNM, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464

4004409;052;KNM, Ostasńska Elżbieta [*];042;WMED, Przyczyna Piotr

[*];042;WMED, Osuchowski Michał [*] 0000-0001-6207-7474

4453567;052;KNM, Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570

4004161;052;KNM, Galiniak Sabina Monika [*] 0000-0002-1129-3553

3995456;052;KNM, Kaznowska Ewa Beata [*] 0000-0002-4135-0678

3986517;052;KNM

Uwaga dot. automatycznej identyfikacji: Niezidentyfikowano na wykazie dyscyplin

11.

IDT: 0000049075.

Autorzy: Gustalik Joanna, Bartusik-Aebisher Dorota, Aebisher David, Kaznowska Ewa Beata.

Tytuł oryginalu: Imaging methods of early detection and screening for breast cancer. A review

Czasopismo: European Journal of Clinical and Experimental Medicine

Szczegóły: 2019 : vol. 17, nr 2, s. 142-145, bibliogr., streszcz. ang.

Uwagi: Poprzednie tytuły czasopisma: Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie: 2011-2015 (ISSN: 2082-369X) Medical Review: 2015-2016 (e-ISSN 2450-6761) ; Review Paper

p-ISSN: 2544-2406

e-ISSN: 2544-1361

Słowa kluczowe angielskie: breast cancer ; breast MRI ; early detection ; screening

Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie polskim

Język publikacji: ENG

Punktacja MEiN: 5.000

Adres url:

<https://repozytorium.ur.edu.pl/bitstream/handle/item/4757/6%20gustalik-imaging%20methods.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

DOI: 10.15584/ejcem.2019.2.6

Afiliacja: Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580

4374325;052;KNM, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464

4004409;052;KNM, Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570

4004161;052;KNM, Kaznowska Ewa Beata [*] 0000-0002-4135-0678

3986517;052;KNM

Uwaga dot. automatycznej identyfikacji: Niezidentyfikowano na wykazie dyscyplin

12.

IDT: 0000050064.

Autorzy: Przyczyna Piotr, Aebisher David, Gustalik Joanna, Galiniak Sabina, Bartusik-Aebisher Dorota, Kaznowska Ewa Beata.

Tytuł oryginalu: Imaging studies of kidney cancer

Czasopismo: European Journal of Clinical and Experimental Medicine

Szczegóły: 2019 : vol. 17, nr 4, s. 334-337, bibliogr., streszcz. ang.

Uwagi: Poprzednie tytuły czasopisma: Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie: 2011-2015 (ISSN: 2082-369X) Medical Review: 2015-2016 (e-ISSN 2450-6761) ; Review Paper

p-ISSN: 2544-2406

e-ISSN: 2544-1361

Słowa kluczowe angielskie: Kidney cancer ; MRI ; PET

Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie polskim

Język publikacji: ENG

Punktacja MEiN: 5.000

Adres url:

http://www.ejcem.ur.edu.pl/system/tdf/imaging_studies_of_kidney_cancer.pdf?file=1&type=node&id=1858&force=

DOI: 10.15584/ejcem.2019.4.8

Afiliacja: Przyczyna Piotr [*];042;WMED, Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570 4004161;052;KNM, Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580 4374325;052;KNM, Galiniak Sabina Monika [*] 0000-0002-1129-3553 3995456;052;KNM, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464 4004409;052;KNM, Kaznowska Ewa Beata [*] 0000-0002-4135-0678 3986517;052;KNM

Uwaga dot. automatycznej identyfikacji: Niezidentyfikowano na wykazie dyscyplin

13.

IDT: 0000049084.

Autorzy: Osuchowski Michał, Aebisher David, Gustalik Joanna, Bartusik-Aebisher Dorota, Kaznowska Ewa Beata.

Tytuł oryginalu: The advancement of imaging in diagnosis of prostate cancer

Czasopismo: European Journal of Clinical and Experimental Medicine

Szczegóły: 2019 : vol. 17, nr 1, s. 67-70, bibliogr., streszcz. ang.

Uwagi: Poprzednie tytuły czasopisma: Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie: 2011-2015 (ISSN: 2082-369X) Medical Review: 2015-2016 (e-ISSN 2450-6761) ; Review Paper

p-ISSN: 2544-2406

e-ISSN: 2544-1361

Słowa kluczowe angielskie: MRI ; PET ; prostate carcinoma

Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie polskim

Język publikacji: ENG

Punktacja MEiN: 5.000

Adres url:

http://www.ejcem.ur.edu.pl/system/tdf/the_advancement_of_imaging_in_diagnosis_of_prostate_cancer.pdf?file=1&type=node&id=1812&force=

DOI: 10.15584/ejcem.2019.1.11

Afiliacja: Osuchowski Michał [*] 0000-0001-6207-7474 4453567;052;KNM,

Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570 4004161;052;KNM, Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580 4374325;052;KNM, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464 4004409;052;KNM, Kaznowska Ewa Beata [*] 0000-0002-4135-0678 3986517;052;KNM

Uwaga dot. automatycznej identyfikacji: Niezidentyfikowano na wykazie dyscyplin

14.

IDT: 0000049295.

Autorzy: Ostańska Elżbieta, Bartusik-Aebisher Dorota, Gustalik Joanna, Aebisher David, Galiniak Sabina Monika, Kaznowska Ewa Beata.

Tytuł oryginału: The use of imaging tests to obtain optimal margins in breast surgery

Czasopismo: European Journal of Clinical and Experimental Medicine

Szczegóły: 2019 : vol. 17, nr 3, s. 246-249, bibliogr., streszcz. ang.

Uwagi: Poprzednie tytuły czasopisma: Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie: 2011-2015 (ISSN: 2082-369X) Medical Review: 2015-2016 (e-ISSN 2450-6761) ; Review Paper

p-ISSN: 2544-2406

e-ISSN: 2544-1361

Słowa kluczowe angielskie: breast conserving surgery ; ductal carcinoma in situ ; extensive intraductal component ; invasive breast cancer ; lobular carcinoma in situ

Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie polskim

Język publikacji: ENG

Punktacja MEiN: 5.000

Adres url:

http://www.ejcem.ur.edu.pl/system/tmf/the_use_of_imaging_tests_to_obtain_optimal_margins_in_breast_surgery.pdf?file=1&type=node&id=1844&force=

DOI: 10.15584/ejcem.2019.3.8

Afiliacja: Ostańska Elżbieta [*];000;000, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464 4004409;052;KNM, Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580 4374325;052;KNM, Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570 4004161;052;KNM, Galiniak Sabina Monika [*] 0000-0002-1129-3553 3995456;052;KNM, Kaznowska Ewa Beata [*] 0000-0002-4135-0678 3986517;052;KNM

Uwaga dot. automatycznej identyfikacji: Niezidentyfikowano na wykazie dyscyplin

15.

IDT: 0000049646.

Autorzy: Ostańska Elżbieta, Aebisher David, Gustalik Joanna, Leksa Natalia, Bartusik-Aebisher Dorota.

Tytuł oryginału: Flow Cytometry : Acute Leukaemia

Tytuł całości: W: Introduction to Flow Cytometry / editor Jakub Werner

Adres wydawniczy: New York : Nova Science Publishers, 2019

Opis fizyczny: 25 s. : bibliogr., streszcz. ang.

Seria: Cell Biology Research Progress

Uwagi: eBook

p-ISBN: 978-1-53616-604-0

Liczba arkuszy: 1,5

Słowa kluczowe angielskie: leukemia ; flow cytometry ; treatment response

Charakt. formalna: rozdział w języku obcym

Charakt. merytoryczna wg PBN: Rozdział w książce

Język publikacji: ENG

Punktacja MEiN: 5.000

Adres url: <https://novapublishers.com/shop/introduction-to-flow-cytometry/>

Afiliacja: Ostańska Elżbieta [*];042;WMED, Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570 4004161;052;KNM, Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580 4374325;052;KNM, Leksa Natalia [*] 0000-0002-0349-550X 3977924;052;KNM, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464 4004409;052;KNM

16.

IDT: 0000049645.

Autorzy: Gustalik Joanna, Aebisher David, Leksa Natalia, Ostańska Elżbieta, Bartusik-Aebisher Dorota.

Tytuł oryginału: Flow Cytometry : Disorders of Plasma Cells

Tytuł całości: W: Introduction to Flow Cytometry / editor Jakub Werner

Adres wydawniczy: New York : Nova Science Publishers, 2019

Opis fizyczny: 18 s. : bibliogr., streszcz. ang.

Seria: Cell Biology Research Progress

Uwagi: eBook

p-ISBN: 978-1-53616-604-0

Liczba arkuszy: 1,0

Słowa kluczowe angielskie: flow cytometry ; cells ; disorders

Charakt. formalna: rozdział w języku obcym

Charakt. merytoryczna wg PBN: Rozdział w książce

Język publikacji: ENG

Punktacja MEiN: 5.000

Adres url: <https://novapublishers.com/shop/introduction-to-flow-cytometry/>

Afiliacja: Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580 4374325;052;KNM, Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570 4004161;052;KNM, Leksa Natalia [*] 0000-0002-0349-550X 3977924;052;KNM, Ostańska Elżbieta [*];042;WMED, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464 4004409;052;KNM

17.

IDT: 0000049650.

Autorzy: Leksa Natalia, Aebisher David, Gustalik Joanna, Ostańska Elżbieta, Bartusik-Aebisher Dorota.

Tytuł oryginału: Flow Cytometry : Normal Blood and Bone Marrow Populations

Tytuł całości: W: Introduction to Flow Cytometry / editor Jakub Werner

Adres wydawniczy: New York : Nova Science Publishers, 2019

Opis fizyczny: 20 s. : bibliogr., streszcz. ang.

Seria: Cell Biology Research Progress

Uwagi: eBook

p-ISBN: 978-1-53616-604-0

Liczba arkuszy: 1,1

Słowa kluczowe angielskie: flow cytometry ; normal blood cells ; Bone marrow

cells

Charakt. formalna: rozdział w języku obcym

Charakt. merytoryczna wg PBN: Rozdział w książce

Język publikacji: ENG

Punktacja MEiN: 5.000

Adres url: <https://novapublishers.com/shop/introduction-to-flow-cytometry/>

Afiliacja: Leksa Natalia [*] 0000-0002-0349-550X 3977924;052;KNM, Aebisher

David [*] 0000-0002-2661-6570 4004161;052;KNM, Gustalik-Nowicka Joanna

[*] 0000-0003-0802-9580 4374325;052;KNM, Ostańska Elżbieta

[*];042;WMED, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464

4004409;052;KNM

18.

IDT: 0000049628.

Autorzy: Gustalik Joanna, Aebisher David, Kaznowska Ewa Beata, Bartusik-Aebisher Dorota.

Tytuł oryginału: Przydatność diagnostyczna czasów relaksacji w raku piersi

Czasopismo: Inżynier i Fizyk Medyczny

Szczegóły: 2019 : vol. 8, nr 5, s. 349

Uwagi: Streszczenie

p-ISSN: 2300-1410

Słowa kluczowe polskie: rak piersi ; Diagnostyka ; morfologiczne zmiany

Charakt. formalna: polskie abstrakty raportów z badań

Charakt. merytoryczna wg PBN: Abstrakt

Język publikacji: POL

Afiliacja: Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580

4374325;052;KNM, Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570

4004161;052;KNM, Kaznowska Ewa Beata [*] 0000-0002-4135-0678

3986517;052;KNM, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464

4004409;052;KNM

Uwaga dot. automatycznej identyfikacji: Niezidentyfikowano na wykazie dyscyplin

19.

IDT: 0000049618.

Autorzy: Gustalik Joanna, Aebisher David, Kaznowska Ewa Beata, Bartusik-Aebisher Dorota.

Tytuł oryginału: Przydatność diagnostyczna terapii fotodynamicznej w raku piersi

Czasopismo: Inżynier i Fizyk Medyczny

Szczegóły: 2019 : vol. 8, nr 5, s. 349

Uwagi: Streszczenie

p-ISSN: 2300-1410

Słowa kluczowe polskie: rak piersi ; tkanka nowotworowa ; terapia fotodynamiczna

Charakt. formalna: polskie abstrakty raportów z badań

Charakt. merytoryczna wg PBN: Abstrakt

Język publikacji: POL

Adres url: [http://inzynier-medyczny.pl/wp-](http://inzynier-medyczny.pl/wp-content/uploads/2019/10/IFM_201905-Zajawka.pdf)

[content/uploads/2019/10/IFM_201905-Zajawka.pdf](http://inzynier-medyczny.pl/wp-content/uploads/2019/10/IFM_201905-Zajawka.pdf)

Afiliacja: Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580
4374325;052;KNM, Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570
4004161;052;KNM, Kaznowska Ewa Beata [] 0000-0002-4135-0678
3986517;000;000, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464
4004409;052;KNM

Uwaga dot. automatycznej identyfikacji: Niezidentyfikowano na wykazie dyscyplin

20.

IDT: 0000049609.

Autorzy: Gustalik Joanna, Aebisher David, Kaznowska Ewa Beata, Bartusik-Aebisher Dorota.

Tytuł oryginału: Terapia fotodynamiczna w raku piersi, perspektywy

Czasopismo: Inżynier i Fizyk Medyczny

Szczegóły: 2019 : vol. 8, nr 5, s. 349

Uwagi: Streszczenie

p-ISSN: 2300-1410

Słowa kluczowe polskie: rak piersi ; tkanka nowotworowa ; terapia fotodynamiczna

Charakt. formalna: polskie abstrakty raportów z badań

Charakt. merytoryczna wg PBN: Abstrakt

Język publikacji: POL

Afiliacja: Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580
4374325;052;KNM, Aebisher David [*] 0000-0002-2661-6570
4004161;052;KNM, Kaznowska Ewa Beata [] 0000-0002-4135-0678
3986517;000;000, Bartusik-Aebisher Dorota [*] 0000-0002-5557-5464
4004409;052;KNM

Uwaga dot. automatycznej identyfikacji: Niezidentyfikowano na wykazie dyscyplin

21.

IDT: 0000047227.

Autorzy: Opalińska Aleksandra, Sawińska Edyta, Samotij Dominik, Ostańska Elżbieta, Gustalik Joanna, Reich Adam Andrzej.

Tytuł oryginału: Biopsja wycinająca zmiany barwnikowej macierzy paznokcia

Czasopismo: Forum Dermatologicum

Szczegóły: 2018 : T. 4, nr 2, s. 84-86, bibliogr., streszcz. ang.

p-ISSN: 2451-1501

e-ISSN: 2451-151X

Słowa kluczowe polskie: czerniak popdpaznokciowy ; dermoskopia ; biopsja wycinająca

Charakt. formalna: artykuł w czasopiśmie polskim

Język publikacji: POL

Punktacja MEiN: 5.000

Adres url:

https://journals.viamedica.pl/forum_dermatologicum/article/view/59441/45185

Afiliacja: Opalińska Aleksandra [];000;000, Sawińska Edyta [];000;000, Samotij Dominik [*] 0000-0002-6594-5369 3988478;052;KNM, Ostańska Elżbieta [];000;000, Gustalik-Nowicka Joanna [*] 0000-0003-0802-9580 4374325;052;KNM, Reich Adam Andrzej [*] 0000-0002-5573-1754

1535466;052;KNM

Uwaga dot. automatycznej identyfikacji: Niezidentyfikowano na wykazie dyscyplin