https://doi.org/10.15388/vu.thesis.380 https://orcid.org/0000-0001-7899-6942

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Juras Kišonas

# Jonizuojančiosios spinduliuotės poveikio sveikiems audiniams tyrimai

DAKTARO DISERTACIJA

Gamtos mokslai, Biofizika (N 011)

VILNIUS 2022

Disertacija rengta 2017–2021 metais Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centre ir Nacionaliniame vėžio institute.

**Mokslinis vadovas – prof. habil. dr. Ričardas Rotomskis** (Nacionalinis vėžio institutas, gamtos mokslai, biofizika, N 011).

**Mokslinis konsultantas – dr. Jonas Venius** (Nacionalinis vėžio institutas, gamtos mokslai, biofizika, N 011).

Gynimo taryba:

**Pirmininkas** – prof. dr. Saulius Bagdonas (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai, biofizika, N 011).

# Nariai:

prof. dr. Virginijus Barzda (Toronto universitetas, gamtos mokslai, biofizika, N 011),

vyr. m. d. dr. emeritė Janina Didžiapetrienė (Nacionalinio vėžio institutas, gamtos mokslai, biologija, N 010),

dr. Ernestas Janulionis (Nacionalinis vėžio institutas, gamtos mokslai, biofizika, N 011),

prof. dr. Arvydas Laurinavičius (Valstybinis patologijos centras, gamtos mokslai, biologija, N 010).

Disertacija ginama viešame Gynimo tarybos posėdyje 2022 m. rugsėjo mėn. 27 d. 15 val. Vilniaus Universiteto Gyvybės mokslų centro R-401 auditorijoje. Adresas: Saulėtekio al. 7, Vilnius, Lietuva, tel. +370 678 34327; el. paštas neringa.daugelaviciene@gmc.vu.lt.

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje ir VU interneto svetainėje adresu: <u>https://www.vu.lt/naujienos/ivykiu-kalendorius</u>

https://doi.org/10.15388/vu.thesis.380 https://orcid.org/0000-0001-7899-6942

VILNIUS UNIVERSITY

Juras Kišonas

# Studies on the effects of ionizing radiation on healthy tissues

DOCTORAL DISSERTATION

Natural Sciences Biophysics (N 011)

VILNIUS 2022

The dissertation was prepared between 2017 and 2021 at Vilnius University Life Sciences Center ant National Cancer Institute.

Academic supervisor – Prof. Habil. Dr. Ričardas Rotomskis (National Cancer Institute, Natural Sciences, biophysics, N 011).

Academic consultant – Dr. Jonas Venius (National Cancer Institute, Natural Sciences, Biophysics, N 011).

This doctoral dissertation will be defended in a public meeting of the Dissertation Defence Panel:

**Chairman** – Prof. Dr. Saulius Bagdonas (Vilnius University, Natural Sciences, Biophysics, N 011).

# Members:

Prof. Dr. Virginijus Barzda (University of Toronto, Natural Sciences, Biophysics, N 011),

Dr. Ernestas Janulionis (National Cancer Institute, Natural Sciences, Biophysics, N 011),

Senior researcher Dr. emeritus Janina Didžiapetrienė (National Cancer Institute, Natural Sciences, Biology, N 0101),

Prof. Dr. Arvydas Laurinavičius (National Center of Pathology, Natural Sciences, Biology, N 0101).

The dissertation shall be defended at a public meeting of the Dissertation Defence Panel at 3 p.m. on 27th Septemmber 2022 in auditorium R-401 of the Life Science Center of Vilnius University. Address: Saulėtekio Ave. 7, Vilnius, Lithuania. Tel. +37067834327; e-mail: neringa.daugelaviciene@gmc.vu.lt.

The text of this dissertation can be accessed at the library of Vilnius University, as well as on the website of Vilnius University: <a href="http://www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius">www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius</a>

# SANTRUMPOS

- AK aktininė keratozė
- ANOVA dispersijos analizė (angl. analysis of variance)
- APL antigeną pateikiančios ląstelės
- AUC plotas po kreive (angl. area under the curve)
- BLK bazoląstelinė karcinoma
- CCD krūvio sąsajos kamera (angl. charge coupled device)
- ChST chemospindulinis gydymas

CTCAE – nepageidaujamų reakcijų terminologijos kriterijų skalė (angl. Common Terminology Criteria For Adverse Events)

CTV – klinikinis taikinio tūris (angl. clinical target volume)

DCIS – duktalinė karcinoma in situ (angl. ductal carcinoma in situ)

- DD drėgna deskvamacija
- DE epidermio struktūros pažeidimas (angl. disarrayed epidermis)
- DEJ dermo-epiderminė jungtis

DLQI – dermatologinis gyvenimo kokybės indeksas (*angl. dermatology life quality index*)

- D<sub>mean</sub> vidutinė dozė (angl. mean dose)
- D-OKT dinaminė optinė koherentinė tomografija

FD-OKT - nuo dažnio priklausanti optinė koherentinė tomografija

full-HD – aukštos raiškos

fx – frakcija

- G0 ląstelės ciklo ramybės fazė
- G1 ląstelės ciklo augimo fazė
- G2 ląstelės ciklo pasiruošimo mitozei fazė

GPP - geriausia palaikomoji priežiūra

HD-OKT – aukštos raiškos optinė koherentinė tomografija

He - helis

HI – homogeniškumo indeksas

HT – hormonoterapija

IEP – ilginės energijos perdava

DGT – dvigubi grandinių trūkiai

DL – dendritinės ląstelės

DNR - deoksiribonukleorūgštis

ECOG – rytų jungtinė onkologijos grupė (*angl. eastern cooperative oncology group*)

ER - estrogenų receptoriai

ERY – eritema

GTP - glutationo peroksidazė

Gy – grėjai

HO – hemo oksigenazė

HSP27 – karščio šoko baltymas 27 (angl. "heat-shock" protein 27)

IASF -- informuoto asmens sutikimo forma

IDC – invazinė duktalinė karcinoma (angl. invasive ductal carcinoma)

ILC - invazinė lobulinė karcinoma (angl. invasive lobular carcinoma)

IL-1 - interleukinas 1

IL-1 $\alpha$  – interleukinas 1 alfa

IL-1 $\beta$  – interleukinas 1 beta

IL-6 – interleukinas 6

IL-8 – interleukinas 8

IRJ – individualus radiojautrumas

- JS jonizuojančioji spinduliuotė
- KAM konfokalinė atspindžio mikroskopija
- KMI kūno masės indeksas
- LL Langerhanso ląstelės
- LR laisvieji radikalai
- M ląstelės ciklo mitozės fazė
- m metai
- max maksimumas
- MDK multidisciplininė komisija
- MeV megaelektronvoltai
- MFM multifotonė mikroskopija
- min minimumas
- mv milivatai
- N skaičius
- NVI Nacionalinis Vėžio Institutas
- OB optinė biopsija
- OKT optinė koherentinė tomografija
- OS oksidacinis stresas
- p reikšmingumo lygmuo
- PDP pažeistos dermos papilos
- PI pasikliautinasis intervalas
- PLK plokščialąstelinė karcinoma
- PTV planavimo taikinio tūris (angl. planning target volume)
- POP papildoma odos priežiūra
- PR progesterono receptoriai

Ref. – referentinė grupė

RJ – radiojautrumas

RTOG – spindulinio gydymo onkologijos grupė (*angl. Radiation Therapy Oncology Group*)

S – ląstelės ciklo DNR sintezės fazė

SD – spindulinis dermatitas

SN – standartinis nuokrypis (angl. standard deviation)

SCGG – palaikomojo vėžio gydymo gairių sudarymo grupė (*angl. supportive care guidelines group*)

ST – spindulinė terapija

SOD - superoksid dismutazė

SŽD – suminė židininė dozė

TS – tikimybių santykis

TGFβ – transformuojantis augimo faktorius beta

TNF- $\alpha$  – naviko nekrozės faktorius alfa (*angl. tumor necrosis factor alpha*)

ULD – uždegiminės ląstelės dermoje

UV – ultravioletiniai spinduliai

UVA - ultravioletiniai A spinduliai

UVB – ultravioletiniai B spinduliai

VGT - vienos grandinės trūkiai

 $\chi 2$  – chi kvadrato kriterijus

# TURINYS

SANTRUMPOS
1. ĮVADAS
1.1. Darbo aktualumas
1.2. Darbo tikslas
1.3. Darbo uždaviniai
1.4. Ginamieji teiginiai15
1.5. Darbo mokslinis naujumas
1.6. Autoriaus indėlis
2. MOKSLINIŲ TYRIMŲ DISERTACIJOS TEMA APŽVALGA IR ANALIZĖ
<ul> <li>2.1. Jonizuojančiosios spinduliuotės sąveika su biologinėmis medžiagomis</li> <li>18</li> </ul>
2.2. Spindulinis dermatitas: etiologija, patofiziologija, klinika, diagnostika ir gydymas
2.2.1. Ūminio spindulinio dermatito etiologija, patofiziologija ir klinika 27
2.2.2. Lėtinio spindulinio dermatito etiologija, patofiziologija ir klinika 29
2.2.3. Spindulinio dermatito diagnostika ir gydymas
2.2.4. Spindulinio dermatito prevencija ir gydymas
2.2.5. Spindulinio dermatito rizikos veiksniai
2.3. Individualus radiojautrumas ir jo pritaikymas spindulinėje terapijoje33
2.4. Optinės biopsijos technologijų apžvalga
2.4.1. Histologinis odos ištyrimas spindulinio gydymo metu
2.4.2. Optinės odos biopsijos metodikos
2.4.3. KAM panaudojimas odos navikų diagnostikoje
2.4.4. OKT panaudojimas odos navikų diagnostikoje
2.4.5. MFM panaudojimas odos navikų diagnostikoj
2.4.6. KAM panaudojimas tiriant odos reakciją į jonizuojančiąja spinduliuotę

2.4.7 spine	7. Kitų OB metodikų panaudojimas tiriant odos reakciją į jonizuojančiąją duliuotę
2.4.8	3. Dermoskopijos panaudojimas spindulinio dermatito diagnostikoje 46
3.	MEDŽIAGOS IR METODAI 48
3.1.	Biomedicininis tyrimas
3.2.	Tiriamųjų atranka
3.3.	Tiriamųjų randomizacija 49
3.4.	IRJ nustatymas
3.5.	Spindulinis gydymas
3.6.	Klinikinis spindulinio dermatito vertinimas52
3.7.	Skaitmeninės dermoskopijos ir KAM atlikimas
3.8.	Gyvenimo kokybės vertinimas57
3.9.	Statistinė duomenų analizė 57
4.	REZULTATAI
4.1.	Pilotinis tyrimas
4.2.	Tiriamųjų apibūdinimas64
4.3.	Klinikinis ūminio spindulinio dermatito pasireiškimas65
4.4. KAN	Jonizuojančiosios spinduliuotės sukeltų odos pažeidimų vertinimas M 65
4.5. dern	Jonizuojančiosios spinduliuotės sukelto odos pažeidimo vertinimas noskopu67
4.6. KAN	Ūminio spindulinio dermatito klinikinio vertinimo palyginimas su A ir skaitmenine dermoskopija68
4.7.	KAM predikcinės reikšmės vertinimas72
4.8. pasii	Odos priežiūros įtaka klinikiniam ūminio spindulinio dermatito reiškimui73
4.9.	IRJ įtaka klinikiniam ūminio spindulinio dermatito pasireiškimui76
4.10 pasii	. Įvairių rizikos veiksnių įtaka klinikiniam ūminio spindulinio dermatito reiškimui
4.11	. Gyvenimo kokybės pokyčiai spindulinio gydymo metu
5.	REZULTATŲ APTARIMAS

5.1. Pilotinis tyrimas
5.2. ST ir klinikinis ūminio soindulinio dermatito pasireiškimas
5.3. Mikroskopinis jonizuojančiosios spinduliuotės sukelto odos pažeidimo vertinimas
5.4. Dermoskopinis jonizuojančiosios spinduliuotės sukelto odos pažeidimo vertinimas
5.5. KAM predikcinė vertė
5.6. Ūminio spindulinio dermatito klinikinio pasireiškimo priklausomybė nuo odos priežiūros
5.7. Ūminio spindulinio dermatito klinikinio pasireiškimo priklausomybė nuo IRJ
5.8. Ūminio spindulinio dermatito klinikinio pasireiškimo priklausomybė nuo kitų rizikos veiksnių
5.9. Gyvenimo kokybės įtaka klinikiniam ūminio spindulinio dermatito pasireiškimui
IŠVADOS
PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS
LITERATŪROS SĄRAŠAS95
PRIEDAI
SUMMARY OF DOCTORAL DISSERTATION 116
PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS149
TRUMPOS ŽINIOS APIE DISERTANTĄ 150
PADĖKA151

# 1. ĮVADAS

# 1.1. Darbo aktualumas

Lietuvoje kasmet nustatoma apie 17800 naujų susirgimų vėžiu (NVI Vėžio Registro 2015 m. duomenys). Spindulinė terapija (ST) taikoma apie 50 proc. vėžiu sergančių pacientų [1]. Nuo 50 iki 95 proc. pacientų, kuriems taikoma ST, kliniškai pasireiškia jonizuojančiosios spinduliuotės biologinio poveikio sukeltas odos uždegimas - spindulinis dermatitas (SD) [2-4].

Oda priklauso greitai proliferuojančių audinių grupei, todėl yra jautri jonizuojančiosios spinduliuotės poveikiui. Jonizuojančiajai spinduliuotei sąveikaujant su biologinėmis struktūromis vyksta branduolio ir mitochondrijų DNR pažeidimai, susidaro laisvieji deguonies radikalai, visa tai sukelia bazinio sluoksnio keratinocitų ir plauko folikulų kamieninių ląstelių pažeidimą ir uždegiminę reakciją [5].

Odos pažeidimas prasideda praėjus kelioms valandoms po jonizuojančiosios spinduliuotės poveikio ir gali trukti iki 90 dienų - tai ūminis SD.

Ūminio SD pasireiškimą galima skirstyti į keletą fazių. Pirmosios fazės metu, dėl suaktyvėjusios kapiliarinės kraujotakos, vystosi generalizuota eritema, kuri atsiranda po kelių valandų nuo jonizuojančiosios spinduliuotės poveikio ir trunka iki kelių dienų. Dažnai šis odos paraudimas pastebimas tik specialiai tiriant odą (pvz., dermoskopu). Nuo 2 dienų iki 6 savaičių, dėl citokinų poveikio pasireiškia antroji odos spindulinio pažeidimo fazė, kurios klinikinė išraiška priklauso nuo jonizuojančiosios spinduliuotės dozės. Pradžioje sustiprėja paraudimas, oda įgauna blyškų rožinį atspalvį, gali pasireikšti epiliacija, tačiau kitų epidermio pažeidimų nestebima. Odai tenkančios jonizuojančiosios spinduliuotės dozė dote denkančios jonizuojančiosios spinduliuotės dozės suvaitę taikant ST) ryškėja odos paraudimas ir patinimas, gali atsirasti epidermio pažeidimo židinių, sukeliančių sausą deskvamaciją. Didesnės jonizuojančiosios spinduliuotės dozės sukelia drėgną deskvamaciją ar odos nekrozę bei išopėjimus. Trečiosios fazės metu, praėjus 5 savaitėms nuo ST pabaigos, vyksta odos gijimas ir hiperpigmentacija [6].

Klinikinių tyrimu metu nustatyta, jog SD pasireiškimą lemia ne tik pacientų lytis, kūno masė, fizinis aktyvumas, ligos stadija [7], bet ir individualus radiojautrumas [8, 9]. Manoma, jog genetiniai veiksniai lemia apie 15 proc. didesnį pacientų jautrumą JS poveikiui [10]. Siekiama identifikuoti jonizuojančiajai spinduliuotei jautresnius asmenis ir individualizuoti jų spindulinį gydymą. Nustatyta, jog tiriant chromosomų pažeidimus apšvitintuose kraujo limfocituose ir taip nustatant pacientų individualų radiojautrumą prieš ST, galima prognozuoti ankstyvąsias ir vėlyvąsias odos spindulines reakcijas [8, 11].

Kasdienėje praktikoje ir klinikinių tyrimų metu ūminio SD pasireiškimą vertina gydantis gydytojas, kuris remiasi odos pažeidimo vertinimo skalėmis ir savo klinikine patirtimi. Dažniausiai naudojamasi JAV Nacionalinio vėžio instituto (angl. *National Cancer Institute*) sudaroma nepageidaujamų reakcijų terminologijos kriterijų ((CTCAE) angl. *Common Terminology Criteria for Adverse Events*) skale [6]. Pagal šią skalę ūminis SD skirstomas į penkis laipsnius.

Spindulinio dermatito laipsnis vertinamas vizualiai pagal šiuos simptomus: odos eritema (paraudimas), deskvamacija (pleiskanojimas), edema (patinimas), kraujavimas, nekrozė ir išopėjimas (5 lentelė).

Kliniškai reikšmingas yra trečio ir aukštesnio laipsnio ūminis SD, nes tokiu atveju turi būti skiriamas papildomas spindulinės reakcijos gydymas, o kartais pagrindinis gydymas (ST) nutraukiamas, kol odos pažeidimas sumažėja iki 2 laipsnio. 3 ir/ar 4 laipsnio ūminis SD nustatomas 25 proc. pacientų, kuriems taikomas chemospindulinis (ChST) gydymas [3].

Ūminis SD vertinimas ne tik pagal CTCAE, bet ir pagal kitas skales: RTOG (angl. *Radiation Therapy Oncology Group*), onkologinės slaugos draugijos (angl. *Oncology Nursing Society*), *Douglas ir Fowler*, bei spindulinio dermatito sunkumo skalė [5].

Dažniausiai naudojamos CTCAE ir RTOG skalės, tačiau nėra sutarta, kuris jonizuojančiosios spinduliuotės pažeistos odos vertinimo metodas geriausias. Visos minėtos spindulinio odos pažeidimo vertinimo skalės remiasi subjektyviu, vizualiniu odos pažeidimų aprašymu. Pagal dvi pagrindines skales (CTCAE ir RTOG) išskiriami keturi ūminio SD laipsniai (o penktas yra paciento mirtis). Toks ūminio SD simptomatikos aprašymas yra nepakankamas, todėl atsiranda kitos skalės, kuriuose naudojama nuo 6 iki 14 odos pažeidimo lygių.

Reikia pažymėti, kad net ir taikant išplėstines skales neįvertinami paciento subjektyviai jaučiami odos pažeidimo požymiai: jautrumas, niežulys, deginimas, skausmas, sukeliamas emocinis ir fizinis diskomfortas. Todėl kuriami klausimynai, kurių pagalba pacientas pats vertina jaučiamus odos pažeidimo požymius. Dažnai pacientai nurodo platesnį simptomų spektrą, nei gydytojas gali įvertinti remdamasis CTCAE ar RTOG skalėmis. Taip pat pacientų jaučiamų simptomų vertinimas nebūtinai koreliuoja su klinicisto atliekamu odos pažeidimo vertinimu [12].

Taigi, ūminis SD yra dažna ir neretai rimta klinikinė problema, kuri įtakoja gydymo pasirinkimą ir jo eigą daugeliui ST gydomų pacientų. Apsunkintas odos pažeidimo vertinimas ir nesutapimas tarp kliniškai stebimų ir paciento jaučiamų simptomų skatina ieškoti papildomų ir saugių odos pažeidimo vertinimo metodų, kurie galėtų padėti objektyviai įvertinti šiuos pažeidimus, juos nuspėti prieš simptomų atsiradimą, taip palengvinant gydytojo darbą skiriant gydymą ir pagerinant paciento komfortą gydymo metu.

Šiuo metu yra sukurta įvairių neinvazinės odos mikroskopijos prietaisų paremtų skirtingomis metodikomis: tai dermoskopija, aukšto dažnio ultrasonografija, optinė koherentinė tomografija, daugiafotoninė tomografija, konfokalinė atspindžio mikroskopija.

Konfokalinė atspindžio mikroskopija (KAM) leidžia neinvaziniu būdu tirti odą *in vivo*. KAM metu audinys apšviečiamas 830 nm bangos ilgio šviesa, o į detektorių patenka tik iš apšviesto taško atsispindėję fotonai. Taip gaunamas aukštos kokybės ir kontrastingas vaizdas iš skirtingų audinio sluoksnių, t. y., vaizdai gaunami realiu laiku *in vivo* neatliekant jokios intervencijos [13, 14]. Komerciniai KAM prietaisai turi integruotą skaitmeninį dermoskopą, kurio pagalba oda nufotografuojama prieš mikroskopijos atlikimą. Taip atliekama skaitmeninė dermoskopija leidžia vizualiai įvertinti odą ir galimus jos pažeidimus.

Pastaruoju metu intensyviai tyrinėjama KAM svarba piktybinių ir nepiktybinių odos ligų diagnostikoje [14]. KAM yra taikoma tiriant uždegiminių odos ligų pasireiškimą [15, 16]. Jonizuojančiosios spinduliuotės sukeltas odos uždegimas (spindulinis dermatitas) vertinamas ir šiuo metodu. *S. Vano-Galvan* ir bendraautoriai naudodami konfokalinę mikroskopiją ištyrė šešių dėl krūties vėžio švitintų pacienčių ūminio SD eigą. Tyrimo metu nustatyta, jog šiuo metodu galima saugiai ištirti jonizuojančios spinduliuotės sukeliamus biologinius odos pokyčius dar prieš klinikinių simptomų (kaip paraudimas, patinimas, pleiskanojimas) pasireiškimą [17].

Klinikinių tyrimų metu aktyviai tyrinėjama, kokios ūminio SD prevencijai ir gydymui naudojamos priemonės yra efektyviausios. Kanados palaikomojo vėžio gydymo gairių sudarymo grupė (*angl. Supportive Care Guidelines Group (SCGG)*) 2005 m. atliko sisteminę apžvalgą siekdami išsiaiškinti, kokia yra optimali ūminio SD prevencija ir gydymas. Ekspertai išanalizavo 28 klinikinius tyrimus ir nustatė, jog tik odos prausimas ST metu reikšmingai apsaugo nuo SD atsiradimo. Ir nei viena ūminio SD gydymui naudojama priemonė nebuvo veiksminga [18]. Šios grupės ekspertų nuomone, paprasto, bekvapio, be lanolino, hidrofilinio tepalo naudojimas galėtų mažinti ūminio SD atsiradimo tikimybę.

Kita 2013 m. atlikta daugiau nei trijų tūkstančių pacientų meta-analizė nenustatė, jog bent viena ūminio SD profilaktikai ar gydymui naudojama priemonė būtų veiksminga [19]. Dar vieną 47 klinikinių tyrimų meta-analizę

2014 m. atliko *Raymond* ir bendraautoriai. Autoriai teigia, jog papaino/tripsino/hymotripsino proteolitinių fermentų vartojimas sumažina ūminio SD pasireiškimą ir sunkaus laipsnio ūminio SD atsiradimą. Visgi pagrindinė šios analizės išvada yra ta, jog labai trūkstapalyginamųjų tyrimų, tiriančių atskirų intervencijų įtaką ūminio SD pasireiškimui [20].

# 1.2. Darbo tikslas

Nustatyti konfokaline atspindžio mikroskopija stebimų odos pažeidimo požymių sąsajas su klinikine ūminio spindulinio dermatito eiga ir individualiomis pacientų charakteristikomis, bei įvertinti konfokalinės atspindžio mikroskopijos predikcinę vertę.

# 1.3. Darbo uždaviniai

- 1. Identifikuoti dėl JS poveikio atsirandančius odos pažeidimo požymius stebimus atliekant konfokalinę atspindžio mikroskopiją, nustatyti jų pasireiškimo eigą ir dažnį, bei palyginti su klinikiniu ūminio spindulinio dermatito pasireiškimu (pagal CTCAE skalę).
- 2. Įvertinti skaitmeninės dermoskopijos reikšmę ankstyvam ūminio spindulinio dermatito nustatymui.
- 3. Įvertinti konfokalinės atspindžio mikroskopijos predikcinę vertę ūminio spindulinio dermatito pasireiškimui.
- 4. Įvertinti individualaus radiojautrumo reikšmę ūminio spindulinio dermatito pasireiškimui.

# 1.4. Ginamieji teiginiai

- KAM metu stebimi dėl JS poveikio atsirandantys odos pakitimai yra nustatomi anksčiau nei atsiranda klinikiniai ūminio SD simptomai, ir turi tipinę eigą: pirmiausiai nustatomi odos struktūros pažeidimo nesukeliantys požymiai (egzocitozė, spongiozė ir uždegiminės ląstelės dermoje), tuo tarpu struktūriniai odos pakitimai (epidermio struktūros pažeidimas ir pažeistos dermos papilos) pasireiškia vėliau.
- Spindulinio gydymo metu atliekama skaitmeninė dermoskopija JS sukeliamus odos pažeidimus leidžia nustatyti anksčiau nei atsiranda klinikiniai simptomai.
- 3. Spindulinio gydymo pradžioje KAM metodu aptinkami požymiai leidžia prognozuoti ūminio SD sunkumą gydymo pabaigoje.

4. IRJ neturi įtakos klinikiniam ūminio SD pasireiškimui.

# 1.5. Darbo mokslinis naujumas

KAM yra plačiai naudojamas neinvazinis odos tyrimo metodas pritaikomas piktybinių ir gerybinių susirgimų diagnostikai, bei gydymo efektyvumui vertinti. Iki šiol paskelbta tik viena publikacija [17], kurioje aprašoma, kaip KAM buvo panaudota ir ūminio SD vertinimui, tačiau tik su šešiais pacientais. Tai pirmasis prospektyvinis klinikinis tyrimas analizuojantis JS sukeltus odos pakitimus panaudojant KAM ir dermoskopiją, į kurį įtraukta daugiau nei šimtas tiriamųjų. Tyrimo metu atlikta daugiau nei 600 KAM matavimų ir tiek pat skaitmeninių dermoskopijų, todėl tai didžiausios apimties tyrimas nagrinėjantis neinvazinių odos tyrimo metodų panaudojimą ST metu.

Tai pirmasis didelės apimties klinikinis tyrimas, kurio metu nustatyta, jog:

-atliekant KAM ir dermoskopiją ankstyvus JS sukeliamus odos pažeidimus galima nustatyti anksčiau nei atsiranda klinikiniai ūminio SD simptomai;

-KAM stebimi dėl JS poveikio atsirandantys odos pažeidimai turi tipinę eigą;

-ST pradžioje atliekant KAM galima prognozuoti ūminio SD sunkumą gydymo pabaigoje;

-prieš ST nustatomas IRJ neturi įtakos klinikiniam ūminio SD pasireiškimui.

# 1.6. Autoriaus indėlis

Šio darbo autorius yra tyrimo idėjos sumanytojas ir pagrindinis įgyvendintojas. Autorius planavo biomedicininio tyrimo eigą ir parengė dokumentus Vilniaus regioninio bioetikos komiteto ir Valstybinės duomenų apsaugos inspekcijos leidimams gauti. Autorius buvo pagrindinis biomedicininio tyrimo tyrėjas, į tyrimą įtraukė visus tiriamuosius ir koordinavo jų dalyvavimą biomedicininiame tyrime. Kartu su kitais biomedicininio tyrimo tyrėjais dalyvavo visuose ūminio SD klinikiniuose vertinimuose. Disertantas atliko visus matavimus panaudojant dermoskopiją ir KAM, kartu su kitais tyrėjais atliko šių matavimų vertinimus. Tiriamųjų individualų radiojautrumą Radiacinės saugos centre nustatė dr. Olga

16

Sevriukova, o šios disertacijos autorius atliko individualaus radiojautrumo ir klinikinių duomenų sąsajų vertinimą. Susistemino visus tyrime naudojamus duomenis ir konsultuodamasis su statistiku atliko rezultatų statistinę analizę. Disertantas yra visų pranešimų pagrindinis autorius ir pranešėjas, taip pat visų publikacijų pagrindinis autorius.

# 2. MOKSLINIŲ TYRIMŲ DISERTACIJOS TEMA APŽVALGA IR ANALIZĖ

2.1. Jonizuojančiosios spinduliuotės sąveika su biologinėmis medžiagomis

Radioaktyvumas - tai nestabilaus (radioaktyvaus) atomo virsmas stabiliu izotopu/ais išspinduliuojant radioaktyvias daleles ar elektromagnetines bangas (1 pav.).



**1 pav.** Radioaktyvaus atomo skilimas išspinduliuojant radioaktyvias daleles ar elektromagnetines bangas, pagal [21].

Alfa spinduliavimas vyksta, kai iš skylančio atomo išmetamas aukštos energijos helio (He) branduolys (alfa dalelė). Šios dalelės pasižymi mažiausia skvarba. Jas sulaiko popieriaus lapas ar odos paviršius. Beta spinduliavimas vyksta, kai iš skylančio atomo išmetamas aukštos energijos elektronas (beta dalelė) ar pozitronas. Šių dalelių skvarba didesnė nei alfa, tačiau vis tiek santykinai nedidelė. Sulaiko gilesni odos sluoksniai ar plona aliuminio plokštelė. Gama spinduliavimas vyksta, kai iš skylančio atomo išspinduliuojamos aukštos energijos elektromagnetinės bangos (gama ar spinduliai). Pasižyminčios didele skvarba. rentgeno Neutronu spinduliavimas vyksta, kai iš skylančio atomo išmetamai neutronai, pasižymintys ypač didele skvarba (2 pav.).



2 pav. Radioaktyvių dalelių ir bangų skvarba, pagal [22].

Visos paminėtos dalelės ir elektromagnetinės bangos pasižymi didele energija, todėl gali sukelti atomų ar molekulių jonizaciją ir priklauso jonizuojančiajai spinduliuotei (JS). Jonizacija yra procesas, kurio metu atomas arba molekulė įgyja arba praranda elektroną ir tampa neigiamu arba teigiamu jonu. Jonizacija vyksta atomui susidūrus su kitu atomu, subatomine dalele, jonu ar sąveikaujant su elektromagnetine banga (3 pav.).



**3 pav**. Jonizacija, pagal [23]

JS sąveikaujant su biologinėmis medžiagomis (audiniais, ląstelėmis) svarbi ilginės energijos perdava (IEP), kuri parodo vidutinį sugeriamos energijos kiekį ilgio vienetui JS keliaujant per medžiagą. Didele IEP pasižymi neutronai ir alfa dalelės, maža - rentgeno, gama spinduliai, bei elektronai. JS sąveiką su biologinėmis medžiagomis galima skirstyti į keletą lygių: atomų, molekulių, ląstelių, audinių/organų, individo ir populiacijos (1 lentelė).

Trukmė	Lygmuo	Biologinis efektas
$10^{-18} - 10^{-12}$ s	Atomų	Atomų jonizacija
$10^{-12} - 10^{-5}$ s	Molekulių	Molekulių sužadinimas. Laisvųjų radikalų susidarymas. Radiocheminės reakcijos.
ss/hh	Ląstelių	Ląstelių funkcijos ir morfologijos pažeidimas. Žuvimas
dd/mm	Audinių/organų	Audinių/organų spindulinės reakcijos ir spinduliniai pažeidimai
Metai	Individo	Gyvenimo trukmės sutrumpėjimas, antriniai navikai, organizmo žūtis
Kartos	Populiacijos	Genetiniai pažeidimai (paveldimos ligos)

1	lentelė.	JS	saveikos	su bio	logine	medžiaga	lvgme	nvs ir	biolog	giniai	efektai
_			~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~		0		- ) 8	)~		9	

ss/hh – sekundės/valandos; dd/mm – dienos/mėnesiai.

Krūvį turinčios dalelės (elektronai, protonai, jonai, alfa dalelės) tiesiogiai dalyvauja biomolekulių jonizacijoje. Gama spinduliai (fotonai) krūvio neturi, todėl visų pirma sąveikauja su atomais, o šių sąveikų metu gali susidaryti elektronai, kurie dalyvauja tolimesnėse jonizacijos reakcijoje. Rentgeno ir gama spindulių sąveika su biologine medžiaga priklauso nuo turimos energijos (4 pav. D). Fotonų energijai siekiant iki maždaug 0,5 MeV jie su atomais sąveikauja vykstant fotoefektui: fotonas iš atomo išmuša elektroną jam atiduodamas visą savo energiją. (4 pav. A). Fotonų energijai didėjant (1-5 MeV) pradeda ryškėti Komptono efektas: fotonas išmuša elektroną, o pats juda toliau turėdamas mažesnę energiją (4 pav. B). Fotono energijai siekiant bent 1,02 MeV, vyksta porų susidarymas – fotonas atsitrenkia į branduolį ir pranyksta, o susidaro elektronas ir pozitronas (4 pav. C). Susidarę elektronai toliau dalyvauja JS ir biologinės medžiagos sąveikoje.



**4 pav.** A – fotoefektas pagal [24]; - B Komptono efektas, pagal [24]; C – porų susidarymas, pagal [25]; D – atomų ir JS sąveikos priklausomybė nuo fotonų energijos, pagal [26].

Kaip minėta aukščiau, su biomolekulėmis sąveikauja krūvį turinčios JS dalelės. Ši sąveika vyksta tiesiogiai ir netiesiogiai. Tiesioginis JS poveikis vyksta, kai fotonų išmušti greitai judantys elektronai tiesiogiai sąveikauja su DNR, riebalų rūgščių ir baltymų biomolekulėmis. Netiesioginio poveikio metu fotonų išmušti greitai judantys elektronai veikia per vandens molekules, o biomolekules pažeidžia susidarę laisvieji radikalai (LR). JS veikiant vandens molekules vyksta vandens radiolizė (5 pav.).



Šio proceso metu susidaro LR: vandenilio radikalai, hidroksilo radikalai, superoksido radikalai, taip pat peroksidas ir hidratuotas elektronas. Susidaręs LR kiekis tiesiogiai priklauso nuo JS dozės. Didžioji dalis ląstelių pažeidimų vyksta per netiesioginį JS poveikio mechanizmą, nes vanduo sudaro apie 70 proc. ląstelės.

Ląstelių genetinę informaciją sauganti DNR yra svarbiausia biomolekulė, kurią gali pažeisti JS. Žinoma, jog ląstelę paveikus 1-2 Gy JS doze susidaro 1000-2000 bazių pažeidimų; ~1000 vienos grandinės trūkių (VGT) ir ~40 dvigubų grandinių (DGT) trūkių (6 pav.). Ląstelių žūtis labiausiai koreliuoja su DGT skaičiumi.



**6 pav.** DNR pažeidimai atsirandantys ląsteles paveikus 1-2 Gy JS doze. Pagal Kavanagh J. N. Et al. 2013 [28].

DGT - reti, bet letaliausi sveikų audinių ir navikų ląstelėms. Neatitaisyti ar blogai atitaisyti DNR DGT sukelia chromosomų trūkius ir ląstelių žūtį.

JS poveikis lastelėms priklauso nuo lastelės ciklo fazės (7 pav.). Lastelės gyvavimo cikla sudaro ramybės (G0), augimo (G1), DNR sintezės (S), pasiruošimo mitozei (G2) ir mitozės (M) fazės. Vertinant JS poveiki lastelėms, svarbu ne tik jautrumas JS kiekvienos fazės metu, bet ir pereinant iš vienos fazės į kitą. Ląstelės jautrumas JS yra didesnis tam tikrose fazėse ir pereinant iš vienos fazės i kita. G0 fazėje lastelės vra ramybės būsenoje ir santykinai atsparios JS poveikiui. Tačiau pereinant iš G0 i S faze lastelė vra jautri JS. G1 fazėje vyksta ląstelės augimas, jos metu ląstelės atsparios JS. Pereinant į S fazę tikrinama, ar ląstelė gali dalintis, jei ląstelė pažeista, vyksta apoptozė. Šiame etape lastelė jautri JS. S fazėje vyksta DNR sintezė ir visu 46 chromosomu dvigubėjimas, tuomet lastelė yra atspariausia JS, nes atsirade DNR pažeidimai gali būti reparuojami. Pereinant iš S į G2 fazę ląstelės yra vidutiniškai jautrios JS. G2 fazėje vyksta pasiruošimas mitozei, tikrinama, ar veiks mitozės mechanizmai, ar chromosomos išsirikiavę į eilę. Mitozės ir citokinezės metu vyksta lastelės dalinimasis. Šioje fazėje lastelės jautriausios JS.



**7 pav.** Ląstelės ciklo fazės. Išorinis žiedas: I – interfazė, M – mitozė. Vidinis žiedas: M – mitozė,  $G_1$  – augimo fazė;  $G_0$  – ramybės fazė; S – DNR sintezės fazė;  $G_2$  – pasiruošimo mitozei fazė. Pagal [29].

Sveikų audinių ląstelių žūtis po JS poveikio tiesiogiai priklauso nuo jų radiojautrumo (RJ). Grafiškai (8 pav.) RJ išreiškiamas ląstelių išgyvenamumo kreivėmis, kur y ašyje žymimas išgyvenusių ląstelių skaičius, o x - JS dozė grėjais (Gy).



8 pav. Skirtingų ląstelių jautrumas JS, pagal [30].

Ląstelių jautrumas JS tiesiogiai priklauso nuo dalinimosi greičio, t. y. jauresnės yra dažnai besidauginančios ląstelės (9 pav.).



9 pav. Skirtingų audinių ląstelių radiojautrumas.

JS biologinis poveikis audiniams ir organams labiausiai ištyrinėtas kaip spindulinės reakcijos spinduline terapija (ST) gydomiems pacientams. ST taikoma apie 50 proc. vėžiu sergančių pacientų [1]. ST metu JS veikia ne tik švitinamą naviką, bet ir aplinkinius sveikus audinius. Todėl taikant spindulinį gydymą gali būti sutrikdytos normalių audinių funkcijos (pvz. odos ar gleivinių barjero funkcija). Nuolat atsinaujinančių audinių (kaip oda, virškinamojo trakto gleivinė) pažeidimas dažniausiai susijęs su kamieninių ląstelių proliferacinio aktyvumo sumažėjimu. Kitų audinių pažeidimas vyksta dėl subrendusių ląstelių, kraujagyslių ar audinio stromos pažeidimų. Nuo spindulinių reakcijų kenčia 95 proc. pacientų, kuriems taikoma ST [4, 6].

JS poveikis sveikiems audiniams skirstomas į ūmines ir lėtines spindulines reakcijas (2 lentelė). Ūminės reakcijos prasideda kelios savaitės po JS poveikio ir trunka iki trijų mėnesių, jos būdingos nuolat atsinaujinantiems audiniams, dėl ląstelių žūties, kurią sukelia mitozės fazėje veikusi JS. Lėtinės spindulinės reakcijos būdingos audiniams, kurių parenchimos ląstelės yra subrendusios ir dauginasi retai (pvz. Inkstai, kepenys) arba lėtai (pvz. centrinė nervų sistema). Dėl to santykinai nedaug ląstelių žūsta po JS poveikio mitozės metu. Tokių audinių pažeidimas vyksta dėl antrinio ląstelių pažeidimo, atsirandančio dėl mitybos nepakankamumo sukelto audinių kraujotakos ir stromos pažeidimo.

Ūminės <90d	Lėtinės >90d
Spindulinis mukozitas	Fistulės
Spindulinis dermatitas	Fibrozė
Kraujo pokyčiai	Teleangiektazijos
Silpnumas, nuovargis	Nugaros smegenų pažeidimas
Pykinimas, vėmimas	Spindulinis pulmonitas

2 lentelė. Dažniausios spindulinės reakcijos.

Paveikus JS, sveikų audinių ląstelės gali žūti, arba išskirti daug citokinų ir chemokinų, tai skatina uždegiminį procesą, tačiau nesukelia ląstelių žūties. Minėti uždegimą sukeliantys faktoriai gali skatinti laisvųjų radikalų susidarymą tiek ūminių, tiek ir lėtinių spindulinių reakcijų metu.

Kaip minėta aukščiau, ūminės spindulinės reakcijos būdingos nuolat atsinaujinantiems audiniams ir organams, kaip pvz.: oda, gleivinės, virškinamasis traktas, kaulų čiulpai. Plačiausiai ištyrinėta spindulinio dermatito (SD) patogenezė.

# 2.2. Spindulinis dermatitas: etiologija, patofiziologija, klinika, diagnostika ir gydymas

# 2.2.1. Ūminio spindulinio dermatito etiologija, patofiziologija ir klinika

Odos pažeidimas prasideda praėjus kelioms valandoms po JS poveikio ir gali trukti iki 90 dienų - tai ūminis SD. Pagal simptomus (3 lentelė) ūminio SD pasireiškimą galima skirstyti į keletą fazių. Pirmosios fazės metu, dėl suaktyvėjusios kapiliarinės kraujotakos, vystosi generalizuota eritema, kuri atsiranda po kelių valandų nuo JS poveikio ir trunka iki kelių dienų. Dažnai šis odos paraudimas pastebimas tik specialiai tiriant odą (pvz., dermatoskopu). Nuo 2 dienų iki 6 savaičių, dėl citokinų poveikio pasireiškia antroji odos spindulinio pažeidimo fazė, kurios klinikinė išraiška priklauso nuo JS dozės. Pradžioje sustiprėja paraudimas, oda įgauna blyškų rožinį atspalvį, gali pasireikšti epiliacija, tačiau kitų epidermio pažeidimų nestebima. Odai tenkančios JS dozei pasiekus 40 Gy (apie 4 - 5 ST savaitę) ryškėja odos paraudimas ir patinimas, gali atsirasti epidermio pažeidimo židinių, sukeliančių sausą deskvamaciją. Didesnės JS dozės sukelia drėgną deskvamaciją ar odos nekrozę bei išopėjimus. Trečios fazės metu, praėjus 5 savaitėms nuo ST pabaigos, vyksta odos gijimas ir hiperpigmentacija [4, 6].

Simptomas	Dozė (Gy)	Laikas
Praeinanti eritema	2	valandos
Lengva eritema, epiliacija	6-10	7-10 d.
Ryški eritema, hiperpigmentacija	12-20	2-3 sav.
Sausa deskvamacija	20-25	3-4 sav.
Drėgna deskvamacija	30-40	$\geq 4$ sav.
Išopėjimas	>40	>6 sav.

3 lentelė. Ūminio spindulinio dermatito simptomų pasireiškimas priklausomai nuo jonizuojančiosios spinduliuotės dozės ir laiko. Pagal [5, 6]

Epidermio bazalinio sluoksnio keratinocitai, plauko folikulų kamieninės ląstelės ir melanocitai yra JS jautriausios odos ląstelės [5]. Šių ląstelių pažeidimas ir žūtis lemia uždegiminę odos reakciją. Dėl JS poveikio visų pirma žūsta baziniai keratinocitai. Tai sutrikdo odos atsinaujinimo ir apsauginio barjero funkcijas. Pažeisti keratinocitai išskiria didelius kiekius citokinų (IL-1, TNF- $\alpha$ ). Veikiant JS odoje esantys keratinocitai, fibroblastai ir endotelinės ląstelės stimuliuoja odoje nuolat esančias (Langerhanso,

dendritinės, putliosios ląstelės ir T limfocitai) ir cirkuliuojančias imunines ląsteles. Dėl to vystosi odos imuninis atsakas į JS poveikį (4 lentelė).

Ląstelės	Funkcijos ir jonizuojančiosios spinduliuotės poveikis
Keratinocitai	Užtikrina odos barjerinę funkciją. Jautrūs JS.
	Išskiria citokinus.
Endotelinės	Iškloja dermos kapiliarus. Jautrios JS. Išskiria
ląstelės	adhezijos faktorius. Stimuliuoja imuninį atsaką.
Langerhanso	Antigeną pateikiančios ląstelės. Atsparios JS.
ląstelės	Migruoja į limfinę sistemą. Išskiria citokinus.
Dendritinės	Antigeną pateikiančios ląstelės. Atsparios JS.
ląstelės	Migruoja į limfinę sistemą. Išskiria citokinus.
Putliosios ląstelės	Išskiria citokinus ir stimuliuoja fibroblastus.
Fibroblastai	Sukelia fibrozę. Stimuliuoja imuninį atsaką.
T limfocitai	Išskiria citokinus.

4 lentelė. Odoje esančių ląstelių vaidmuo spindulinio dermatito patogenezėje

Oda turi gausų kapiliarų tinklą, kuriuos iškloja greitai besidauginančios ir JS jautrios endotelio ląstelės. Veikiant JS odos kraujotaka suaktyvėja, kapiliarai tampa pralaidesni migruojančioms imuninėms ląstelėms, o žuvę endotelio ląstelės išskiria adhezijos faktorius (intraląstelinės adhezijos molekulė-1, kraujagyslių ląstelių adhezijos molekulė-1). Dėl to suaktyvėja transendotelinė imuninių ląstelių migracija. Neutrofilų, makrofagų ir leukocitų transendotelinė migracija iš kraujotakos į apšvitintą odą yra pagrindinis JS pažeistos odos požymis. JS sukeltose uždegiminėse odos reakcijose aktyviai dalyvauja antigeną pateikiančios (APL) ląstelės (Langerhanso ir dendritinės ląstelės), kurios iš epidermio migruoja į limfinę sistemą. Gilesniuose odos sluoksniuose (dermoje) esančios putliosios ląstelės, fibroblastai ir T limfocitai taip pat dalyvauja SD patogenezėje išskirdami įvairias biologiškai aktyvias medžiagas. Ūminis SD koreliuoja su IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, citokinų ir chemokinų padidėjusia koncentracija [31-35].

Atliekant tyrimus su laboratoriniais gyvūnais nustatyta, kad epidermio Langerhanso ląstelės (LL) ir dermos dendritinės ląstelės (DL) po JS poveikio migruoja iš odos. Žinoma, kad šis procesas priklauso nuo JS dozės ir laiko [36]. Tačiau nėra aiškaus atsakymo, ar šių JS santykinai atsparių antigeną pateikiančių ląstelių mažėja dėl jų žūties, ar dėl migracijos į regioninius l/m [5]. Klinikinių tyrimų su žmonėmis šioje srityje labai trūksta, todėl kol kas į šiuos klausimus atsakyti sunku.

# 2.2.2.Lėtinio spindulinio dermatito etiologija, patofiziologija ir klinika

Vėlyvos odos spindulinės reakcijos pasireiškia odos fibroze, elastingumo sumažėjimu ir pigmentacija. Žinoma, kad odos fibrozę sukelia odoje esančios ląstelės – fibroblastai. Tyrimais nustatyta, kad dermoje esančios putliosios ląstelės paveiktos JS degranuliuoja ir išskiria biologiškai aktyvias medžiagas (histaminą, serotoniną, TNF- $\alpha$ ), kurios stimuliuoja fibroblastus išskirti chemokinus (CCL8, CCL13, CXCL4 ir CXCL6) [28].

Nustatyta, kad vėlyvų odos spindulinių reakcijų vystymesi dalyvauja tokie mediatoriai kaip transformuojantis augimo faktorius beta (TGFβ), Smad3, kraujagyslių endotelio augimo faktorius ir CCL11. TGFβ jungiasi prie fibroblastų Smad3 receptorių ir taip skatina fibrozę [29].

Svarbų vaidmenį vystantis ūminėms ir lėtinėms spindulinėms reakcijoms atlieka laisvųjų radikalų sukeliamas oksidacinis stresas (OS) [30]. Kaip minėta aukščiau, ankstyvas spindulinis pakenkimas vyksta dėl staigaus LR kiekio padidėjimo. Tačiau vėliau vykstantis uždegiminis atsakas ir citokinų išsiskyrimas sukelia lėtinį LR susidarymą. Nustatyta, kad OS reguliacijoje dalyvauja superoksido dismutazę (SOD), glutationo peroksidazę (GTP), tioredoksinus, hemo oksigenazę (HO) ir "heat-shock" baltymą-27 (HSP27) koduojantys genai.

# 2.2.3. Spindulinio dermatito diagnostika ir gydymas

Kasdienėje praktikoje ir klinikinių tyrimų metu ūminio SD pasireiškimą vertina gydantis gydytojas, kuris remiasi odos pažeidimo vertinimo skalėmis ir savo klinikine patirtimi. Dažniausiai naudojamasi JAV Nacionalinio vėžio instituto (*angl. National Cancer Institute*) sudaroma nepageidaujamų reakcijų terminologijos kriterijų ((CTCAE) *angl. Common Terminology Criteria for Adverse Events*) skale. Pagal šią skalę ūminis SD skirstomas į penkis laipsnius (5 lentelė), kai penktas yra mirtis.

5 lentelė. Ūminio spindulinio dermatito (radiodermatito) laipsniai pagal JAV Nacionalinio vėžio instituto sudarytą nepageidaujamų reiškinių terminologijos kriterijų ((CTCAE) angl. Common Terminology Criteria for Adverse Events) skalę.

ŪSD laipsnis	1	2	3	4
Paraudimas	Nežymus	Vidutinis ir	Žymus	
		žymus		
Deskvamacija	Sausa	Fragmentinė,	Drėgna,	
		drėgna,	išplitusi už	

		apsiribojanti	odos raukšlių	
		raukšlėse.		
Patinimas	-	Vidutinis	Žymus	
Kraujavimas	-	-	Sukelia	Spontaninis
			nežymi trauma	
			ar trynimasis	
Nekrozė	-	-	-	Viso odos
				storio
Išopėjimai	-	-	-	Viso odos
				storio

ŪSD – Ūminis spindulinis dermatitas.

Spindulinio dermatito laipsnis nustatomas vizualiai pagal šiuos simptomus: odos eritema (paraudimas), deskvamacija (pleiskanojimas), edema (patinimas), kraujavimas, nekrozė ir išopėjimas (5 lentelė).

Kliniškai reikšmingas yra trečio ir aukštesnio laipsnio ūminis SD, nes tokiu atveju turi būti skiriamas papildomas spindulinės reakcijos gydymas, o kartais pagrindinis gydymas (ST) nutraukiamas, kol odos pažeidimas sumažėja iki 2 laipsnio. 3 ir/ar 4 laipsnio ūminis SD nustatomas 25 proc. pacientų, kuriems taikomas chemospindulinis (ChST) gydymas [3].

Ūminio SD vertinimas ne tik pagal CTCAE, bet ir pagal kitas skales (6 lentelė): RTOG (*angl. Radiation Therapy Oncology Group*), onkologinės slaugos draugijos (*angl. Oncology Nursing Society*), *Douglas ir Fowler*, spindulinio dermatito sunkumo skalė [5].

Laipsnis	Simptomai			
RTOG skalė				
0	Nėra			
1	Eritema, sausa deskvamacija, epiliacija			
2	Šviesi eritema, drėgna deskvamacija, edema			
3	Susiliejanti drėgna deskvamacija, įdumbanti edema			
4	Išopėjimas, kraujavimas, nekrozė			
Onkologijos slaugos draugijos skalė				
0	Nėra			
1.0	Nežymi, blanki eritema			
1.5	Ryški eritema			
2	Sausa deskvamacija su ar be eritemos			
2.5	Mažo ir vidutinio dydžio drėgna deskvamacija			
3	Susiliejanti drėgna deskvamacija			
3.5	Išopėjimas, kraujavimas, nekrozė			

6 lentelė. Jonizuojančiosios spinduliuotės pažeistos odos vertinimo skalės.

	Douglas ir Fowler skalė
0	Nėra
0.25	Abejotina ar skiriasi nuo normalios odos
0.5	Labai silpnas paraudimas
0.75	Silpnas paraudimas
1.0	Stiprus paraudimas
1.25	Stiprus paraudimas su baltomis dėmėmis, "popieriaus" išvaizda.
1.5	Nedidelis drėgnas pleiskanojančios odos plotas
1.75	Daugiau nei vienas drėgnos deskvamacijos plotas
2	Drėgna deskvamacija apimanti 25 proc. švitinamo ploto
2.25	Drėgna deskvamacija apimanti 33 proc. švitinamo ploto
2.5	Drėgna deskvamacija apimanti 50 proc. švitinamo ploto
2.75	Drėgna deskvamacija apimanti 66 proc. švitinamo ploto
3	Drėgna deskvamacija apimanti didžiąją dalį švitinamo ploto
3.25	Drėgna deskvamacija apimanti didžiąją dalį švitinamo ploto su nedaug
	drėgno eksudato
3.5	Drėgna deskvamacija apimanti didžiąją dalį švitinamo ploto su drėgnu
	eksudatu, nekroze
0.0	Nėra
	Spindulinio dermatito sunkumo skalė
0.5	Vietomis blyški/silpna eritema, silpna hiperpigmentacija
1.0	Silpna ir difuzinė eritema, difuzinė hiperpigmentacija, nestipri epiliacija
1.5	Neabejotina eritema, ryškus patamsėjimas/hiperpigmentacija
2.0	Neabejotina eritema/hiperpigmentacija su nežymia sausa deskvamacija,
	švelnia edema
2.5	Neabejotina eritema/hiperpigmentacija su žvynų deskvamacija
3.0	Gili raudona eritema su sausa deskvamacija, odos lupimasis lakštais
3.5	Violetinė eritema su drėgna deskvamacija, odos lupimasis lakštais, šašo
	fragmentai
4.0	Violetinė eritema su difuzine drėgna deskvamacija, šašo fragmentai,
	nekrozė, išopėjimai

Dažniausiai naudojama CTCAE ir RTOG skalės, tačiau nėra sutarta, kuris jonizuojančiosios spinduliuotės pažeistos odos vertinimo metodas geriausias. Visos minėtos spindulinio odos pažeidimo vertinimo skalės remiasi subjektyviu, vizualiniu odos pažeidimų aprašymu. Pagal dvi pagrindines skales (CTCAE ir RTOG) ūminis SD skirstomas į keturis lygius (0 - simptomų nėra, 5 - mirtis). Toks ūminio SD simptomatikos aprašymas yra nepakankamas, todėl atsiranda kitos skalės, kuriuose naudojama nuo 6 iki 14 odos pažeidimo lygių (6 lent.).

Reikia pažymėti, kad net ir taikant išplėstines skales neįvertinami paciento subjektyviai jaučiami odos pažeidimo požymiai: jautrumas, niežulys, deginimas, skausmas, sukeliamas emocinis ir fizinis diskomfortas. Todėl kuriami klausimynai, kurios pildydamas pacientas pats vertina jaučiamus odos pažeidimo požymius. Dažnai pacientai nurodo platesnį simptomų spektrą, nei gydytojas gali įvertinti remdamasis CTCAE ar RTOG skalėmis. Taip pat pacientų jaučiamų simptomų vertinimas nebūtinai koreliuoja su klinicisto atliekamu odos pažeidimo vertinimu [12].

# 2.2.4. Spindulinio dermatito prevencija ir gydymas

Klinikinių tyrimų metu aktyviai tyrinėjama, kokios SD prevencijai ir gydymui naudojamos priemonės yra efektyviausios. Kanados palaikomojo vėžio gydymo gairių sudarymo grupė (Supportive Care Guidelines Group (SCGG)) 2005 m. atliko sisteminę apžvalgą, siekdami išsiaiškinti, kokia yra optimali SD prevencija ir gydymas. Ekspertai išanalizavo 28 klinikinius tyrimus ir nustatė, jog tik odos prausimas ST metu reikšmingai apsaugo nuo SD atsiradimo. Tuo tarpu nei viena SD gydymui naudojama priemonė nebuvo veiksminga [18]. Šios grupės ekspertų nuomone, paprasto, bekvapio, be lanolino, hidrofilinio tepalo naudojimas galėtų mažinti SD atsiradimo tikimybę.

Kita 2013 m. atlikta daugiau nei trijų tūkstančių pacientų meta-analizė nenustatė, jog bent viena SD profilaktikai ar gydymui naudojama priemonė būtų veiksminga [19]. Dar viena 47 klinikinių tyrimų meta-analizė atlikta 2013 m. Autoriai teigia, jog papaino/tripsino/hymotripsino proteolitinių fermentų vartojimas sumažina SD pasireiškimą ir sunkaus laipsnio SD atsiradimą. Visgi pagrindinė šios analizės išvada yra ta, jog labai trūksta gerų palyginamųjų tyrimų, tiriančių atskirų intervencijų įtaką SD pasireiškimui [20].

Taigi, SD yra dažna ir neretai rimta klinikinė problema, kuri įtakoja gydymo pasirinkimą ir jo eigą daugeliui ST gydomų pacientų. Apsunkintas odos pažeidimo vertinimas ir nesutapimas tarp kliniškai stebimų ir paciento jaučiamų simptomų skatina ieškoti papildomų ir saugių odos pažeidimo vertinimo metodų, kurie galėtų padėti objektyviai įvertinti šiuos pažeidimus, juos nuspėti prieš simptomų atsiradimą, taip palengvinant gydytojo darbą skiriant gydymą ir pagerinant paciento komfortą gydymo metu.

#### 2.2.5. Spindulinio dermatito rizikos veiksniai

Veiksniai įtakojantys SD pasireiškimą gali būti skirstomi į fizinius (modifikuojami) ir su pacientu susijusius (nemodifikuojami). Fiziniams rizikos veiksniams priskiriama suminė JS dozė, JS dozė tenkanti odai, frakcionavimas (vienkartinė suminė JS dozė spindulinio gydymo metu), JS kritimo kampas. Vieni pirmųjų su pacientu susijusių rizikos veiksnių, kurių įtaka SD pasireiškimui buvo įrodyta klinikinių tyrimų metu, buvo krūties dydis ir KMI (kūno masės indeksas) [37]. Vėliau buvo nustatyta SD sąsaja su paciento amžiumi, lytimi, fiziniu aktyvumu, ligos stadija, rūkymu [38] ar kartu su ST skiriamu gydymu (chemoterapija, biologinė terapija) [39].

# 2.3. Individualus radiojautrumas ir jo pritaikymas spindulinėje terapijoje

Klinikinių tyrimų metu nustatyta, jog SD pasireiškimą lemia ne tik pacientų lytis, kūno masė, fizinis aktyvumas, ligos stadija, bet ir individualus radiojautrumas (IRS) [8, 40]. Manoma, jog genetiniai veiksniai apie 15 proc. pacientų lemia didesnį jų jautrumą jonizuojančiosios spinduliuotės poveikiui [10]. Siekiama identifikuoti JS jautresnius asmenis ir individualizuoti jų spindulinį gydymą. Nustatyta, jog tiriant chromosomų pažeidimus apšvitintuose kraujo limfocituose ir taip nustatant pacientų individualų radiojautrumą prieš ST, galima prognozuoti ankstyvąsias ir vėlyvąsias odos spindulines reakcijas [8, 11]. Tačiau kiti tyrėjai neranda priklausomybės tarp IRS ir SD pasireiškimo [41], todėl ši sritis nėra visiškai ištyrinėta.

Šiuolaikiniai vėžio gydymo metodai yra pajėgūs sunaikinti vėžį, tačiau daugeliu atvejų to negalima padaryti dėl aplinkinių sveikų audinių pažeidimo. ST metu pagrindiniai ribojantys veiksniai yra švitinimo metu skiriama JS dozė, apšvitinamas kūno plotas, audinių tūris ar chemoterapinių vaistų dozė skiriama kartu su ST. Tobulinant priešvėžinius gydymo metodus, turi būti siekiama padidinti naviko ląstelių ir sumažinti sveikų audinių ląstelių jautrumą šiems gydymo metodams, t. y. turi būti didinamas terapinis langas (terapinis indeksas). ST srityje terapinis langas didinamas keliomis skirtingomis strategijomis. Remiantis vaizdais valdomos ST metodikomis siekiama kuo tiksliau nustatyti naviko tūrį ir į jį realizuoti kuo didesnę JS dozę, t. y. JS dozė didinama remiantis diagnostikos tikslumu ir ST aparatūros gebėjimu tiksliai realizuoti paskirtą dozę. Kita strategija remiasi naujausiais ląstelės biologijos tyrimais ir siekia apsaugoti sveikus audinius nuo žalingo JS poveikio (radioprotektoriai), ir tuo pačiu padidinti naviko ląstelių jautrumą JS (radiosensibilizatoriai) [42].

# 2.4. Optinės biopsijos technologijų apžvalga

#### 2.4.1. Histologinis odos ištyrimas spindulinio gydymo metu

Spindulinių sveikų audinių reakcijų patogenezė dėl savo aktualumo yra plačiai tyrinėjama, tačiau dauguma tyrimų atliekama *in vitro*, arba laboratorinių gyvūnų modeliuose. Tyrimų su žmonėmis atliekama palyginti mažai, nes tiriant patogenezinius veiksnius būtina atlikti sveikų audinių biopsiją gydymo metu. Tačiau yra žinoma, kad JS pailgina chirurginių žaizdų gijimą dėl sulėtėjusios kolageno genų ekspresijos [43], poveikio kraujotakai ar odos ląstelėms [44]. Dėl to padaugėja chirurginių komplikacijų operaciją atliekant po ST ar jos metu [45].

Nors neseniai atliktoje literatūros apžvalgoje ir analizėje teigiama, kad įmanoma saugiai atlikti biopsiją švitinimo metu, tačiau pažymima, kad dauguma analizuotų tyrimų net netiria komplikacijų, kurios atsiranda biopsiją atliekant ST metu [46].

Dėl etinių sumetimų odos biopsija spinduline terapija gydomiems vėžiu sergantiems pacientams dažniausiai nėra atliekama [47]. Todėl tenka remtis istoriniais tyrimais atliktais prieš beveik 30 m. [48], kuriuose nurodoma, kad SD būdingi histologiniai požymiai yra perivaskuliniai uždegiminių ląstelių (limfocitų, histiocitų, mononuklearų, T limfocitų) infiltratai aplink išsiplėtusias kraujagysles, endotelinių ląstelių patinimas, pakitę (nekrozavę ar daugiabranduoliai) keratinocitai, mitotinės figūros (kartais atipinės) baziniame epidermio sluoksnyje ir už jo ribų. Tačiau šie histologinių tyrimų rezultatai remiasi vos keleto pacientų biopsinės medžiagos ištyrimu.

Sveikų audinių spindulinių reakcijų patogenezės tyrimams būtiną biopsiją ir histologinį ištyrimą galėtų pakeisti optinė biopsija.

# 2.4.2. Optinės odos biopsijos metodikos

Optinė biopsija (OB) yra įvairiomis technologijomis paremtas tyrimo metodas, kuris leidžia įvertinti audinio morfologiją jo nepažeidžiant. Klinikinėje praktikoje ir klinikiniuose tyrimuose OB metu dažniausiai naudojamos šios metodikos (7 lentelė): konfokalinė atspindžio mikroskopija (KAM), optinė koherentinė tomografija (OKT), multifotonė mikroskopija (MFM).

10 (	1	0,0,0,0	
Savybė	KAM	OKT	MFM
Vaizdinimo gylis	200-300 µm	2-3 mm	200 µm
Skersinė skyra	0,5-1 μm	<10 µm	<0,5 µm
Ašinė skyra	<5 µm	3-15 μm	<2 µm

7 lentelė. Multifotonės mikroskopijos (MFM) palyginimas su konfokalia atspindžio mikroskopija (KAM) ir optine koherentine tomografija (OKT).

OKT pasižymi geriausiu vaizdinimo gyliu, kuris siekia 2-3 mm, tačiau skiriamoji geba yra blogiausia lyginant su KAM ir MFM. Būtent santykinai maža skyra yra pagrindinis šios metodikos trūkumas ribojantis klinikinį pritaikymą diagnostikoje [49].

MFM pasižymi geriausia skyra iš visų šių metodikų. MFM metu galima ne tik įvertinti biologinių objektų ląstelinę struktūrą, bet ir biomolekulių (kaip NADPH, porfirinai, kolagenas ir t.t.) fluorescencijos intensyvumą bei gyvavimo trukmę. Kadangi tai vėliausiai klinikinėje praktikoje pradėta naudoti metodika, todėl jos pritaikymas kol kas yra siauriausias [50].

KAM pasižymi gera skiriamąja geba, bet santykinai maža skvarba. Tačiau tai anksčiausiai plačiai klinikinėje praktikoje pradėta naudoti metodika, todėl šiuo metu yra "aukso standartas" optinėje biopsijoje. Būtent su KAM yra lyginamos kitos OB metodikos atliekant klinikinius tyrimus [51].

KAM metu audinys apšviečiamas 830nm bangos ilgio šviesa, o į detektorių patenka atsispindėjusi šviesa. Dėl labai mažos diafragmos į detektorių nepatenka atspindžiai iš šalia esančių taškų, dėl to ši mikroskopija yra konfokali (10 pav.). Objektiniam staleliui judant pažingsniui, gaunamas aukštos kokybės ir kontrastingas vaizdas iš skirtingų audinio vietų ir sluoksnių, t. y., vaizdai gaunami realiu laiku *in vivo* neatliekant jokios intervencijos. Skersinė KAM skiriamoji geba siekia 0,5-1,0 µm, tai leidžia vertinti tiriamojo objekto audinių ląstelinę struktūrą [52].



10 pav. Konfokalinės atspindžio mikroskopijos schema. Pagal [52].

Kontrastas KAM vaizduose priklauso nuo audinio struktūrų lūžio rodiklio. Kuo jis didesnis, tuo šviesesnės struktūros matomos KAM vaizduose. Dėl to odoje ryškiausiai matomas melaninas ir melanosomos.

Siekiant vizualizuoti gilesnius odos ar kito audinio sluoksnius, reikia didesnės energijos lazerio. Komerciniuose KAM prietaisuose standartiškai naudojamas 830 nm bangos ilgio lazeris, kuris nesukelia audinių pažeidimo, bet riboja vaizdinimo gylį iki 200-300 µm.

# 2.4.3. KAM panaudojimas odos navikų diagnostikoje

Diagnozuojant odos navikinius susirgimus pirminį vertinimą atlieka gydytojas dermatologas, ir tik jam įtariant onkologinį susirgimą atliekama odos biopsija diagnozei patvirtinti. Abu šie diagnostikos metodai turi trūkumų. Gydytojo atliekamas pakitimų vertinimas yra subjektyvus ir priklauso nuo asmeninės patirties, todėl jautrumas nėra didelis ir nesiekia 50 proc, o specifiškumas apie 85 proc. Tuo tarpu odos biopsija yra intervencinė procedūra, po kurios lieka randas. Tyrimais nustatyta, kad KAM teigiama prognostinė reikšmė, diagnozuojant melanomas ir kitus odos navikinius susirgimus, siekia 96 proc. [53].
Pirmieji moksliniai straipsniai, kuriuose nagrinėjama KAM nauda diagnozuojant pigmentinius odos navikinius susirgimus, publikuoti dar 2001 [54]. Nustačius, kad KAM metodu galima diferencijuoti piktybinius ir nepiktybinius pigmentinius odos pakitimus (11 pav.), atsirado daug klinikinių tyrimų, kurie nagrinėja šio metodo naudą diagnozuojant odos vėžį ir gerybinius susirgimus. Pirmasis klinikinis tyrimas, kuriame buvo siekiama nustatyti KAM jautrumą ir specifiškumą diagnozuojant pigmentinius odos susirgimus, buvo atliktas A. Gerger ir bendraautorių 2004 m. Šio tyrimo metu nustatytas 88,2 proc. KAM jautrumas ir 97,6 proc. specifiškumas diagnozuojant melanomą [55].



**11 pav**. Pigmentiniai odos pakitimai vaizdinant konfokaline atspindžio mikroskopija. Pagal [55]. A – šviesios apvalios gerybinio apgamo ląstelės. B – didelės ir polimorfiškos melanomos ląstelės.

Klinikinių tyrimų metu įrodyta, kad panaudojus KAM galima ne tik diagnozuoti odos navikus, bet ir nustatyti jų subtipus. Pavyzdžiui, nodulinei

bazoląstelinei karcinomai (BLK) būdingi navikinių ląstelių lizdai apsupti fibrozinių pertvarų ir padidinto diametro kraujagyslių (12 pav.). Elastozė ir navikų lizdai susieti su bazinių ląstelių sluoksniu būdingi paviršinei BLK. Naviko subtipo nustatymas *in vivo* galėtų leisti išvengti biopsijos ir tinkamai parinkti gydymo taktiką [56].



**12 pav.** Nodulinė bazoląstelinė karcinoma (BLK). Pagal [56]. A – klinikinis vaizdas. B – dermoskopija. C – ovalus bazaloidinių ląstelių lizdas hematoksilinueozinu dažytame histologiniame bandinyje. D – kapiliarų grupės (raudona rodyklė) papiliariniame dermos sluoksnyje vaizdinant konfokaline atspindžio mikroskopija (KAM). E – KAM vaizdinimas. Ovalus bazaloidinių ląstelių lizdas dermoje (balta rodyklė) su tamsiu tarpnavikiniu tarpu. Raudona rodyklė – didelio diametro kapiliaras šalia naviko. Žvaigždutė – hiperreflektinė fibrozinė pertvara aplink naviką.

Šiuo metu literatūroje jau galima aptikti ne tik pavienių klinikinių tyrimų, kuriuose nustatomas KAM jautrumas ir specifiškumas odos navikų diagnostikoje [55, 57], bet ir tokių tyrimų sisteminių apžvalgų [51, 58]. 2016 m S. J. Edwards ir bendraautoriai publikavo Jungtinėje Karalystėje atliktų tyrimų sisteminę apžvalgą apie KAM panaudojimą odos ligų diagnostikai. Autoriai nustatė, kad KAM jautrumas diagnozuojant melanomą siekia 97,8 %, o nustatant nemelanominį odos vėžį - 92,4 proc. Specifiškumas buvo 52 – 80 proc. [59].

KAM tikslumas diagnozuojant odos navikus buvo nagrinėjamas ir kitoje 2017 m. publikuotoje sisteminėje apžvalgoje. Šioje analizėje nagrinėti tyrimai, kuriuose buvo tiriamas KAM ir dermoskopijos efektyvumas diagnozuojant odos melanoma ir baziniu lasteliu karcinoma. Trijuose klinikiniuose tyrimuose buvo nustatomas KAM jautrumas ir specifiškumas diagnozuojant melanoma. Visuose tyrimuose apskaičiuotas KAM metodikos jautrumas buvo labai aukštas ir siekė nuo 94 iki 100 proc. Tuo tarpu specifiškumas kito gerokai platesnėse ribose, nuo 62 iki 92 proc. [51]. Meta-analizė, kuri buvo atlikta siekiant ivertinti KAM tiksluma diagnozuojant odos navikus, nustatė, kad šiuo metodu melanoma diagnozuojama 92,7 proc. jautrumu ir 78,3 proc. specifiškumu, o baziniu ląstelių karcinoma – 91,7 proc. jautrumu ir 91,3 proc. specifiškumu [57]. Taigi nelieka jokiu abejoniu dėl šio metodo tikslumo diagnozuojant odos vėži.

Apibendrinant galima teigti, kad daugumos panašių klinikinių tyrimų metu nustatytas KAM jautrumas nustatant melanomą yra 70-92 proc., specifiškumas 84-88 proc., o diagnozuojant nepigmentinius navikus (kaip bazinių ląstelių karcinoma) jautrumas yra 92-100 proc., o specifiškumas 85-97 proc. [60]. Pagal šiuos duomenis KAM jautrumas yra panašus kaip ir dermoskopijos, tačiau specifiškumas žymiai geresnis, ypač nustatant nepigmentinius darinius. Tyrimų metu nustatytas didelis KAM jautrumas (85 proc.) ir specifiškumas (84 proc.) diagnozuojant amelanotinę melanomą [57].

# 2.4.4. OKT panaudojimas odos navikų diagnostikoje

OKT panaudojimas navikinių susirgimų diagnostikoje yra ribotas dėl santykinai mažos skiriamosios gebos. Šiuo metodu galima tiriant odą identifikuoti atskirus jos sluoksnius, tačiau ne pavienes ląsteles. Visgi OKT yra plačiai tyrinėjama kaip odos nepigmentinio vėžio diagnostikos metodas. Bazoląstelinio ir plokščialąstelinio odos vėžio diagnostikoje dažniausiai naudojami prietaisai veikiantys FD-OKT (nuo dažnio priklausomos OKT) metodika. Klinikinių tyrimu metu nustatyta, kad naudojant FD-OKT padidėja bazoląstelinės karcinomos diagnostikos jautrumas, specifiškumas ir tikslumas, lyginant su dermoskopija. Atlikus prospektyvinį, kohortinį klinikinį tyrimų metu nustatytas OKT jautrumas siekė 87 proc., o

specifiškumas – 80 proc. Geriausia koreliacija tarp histopatologinio ištyrimo ir OKT buvo nustatyta tiriant navikus esančius iki 4 mm gylyje [61].



**13 pav.** Bazoląstelinės karcinomos diagnostikos kriterijai optinės koherentinės tomografijos vaizduose. Pagal [31]. A – pažeista dermo-epidermio jungtis (DEJ) – mėlyna rodyklė. Tamsi apvali struktūra viršutinėje dermos dalyje (rožinės rodyklės) apsupta hiperreflektine aureole (oranžinės žvaigždutės). B – šalia esanti sveika oda su nepažeista DEJ (mėlynos rodyklės).

2014 m. atliktoje apžvalgoje nustatyta, kad visuose tyrimuose, kuriuose buvo tiriama BLK diagnostika panaudojant OKT metodiką, buvo paminėtas tas pats požymis (pav. 13): apvali tamsi struktūra viršutiniame dermoje apsupta hiperreflektine aureole [31]. Remiantis 2015 m. atlikta sistemine apžvalga, kuri nagrinėjo OKT panaudojimą BLK diagnostikai ir gydymo planavimui, galima teigti, kad šis metodas yra tinkamas odos navikų diagnostikai. Šios analizės metu nustatyta, kad panaudojus OKT, bazoląstelinė karcinoma diagnozuojama 79-95,7 proc. jautrumu ir 75,3-96 proc. specifiškumu [62].

Atliekant dermoskopiją BLK diagnozė nustatoma aptikus į besišakojantį medį panašias paviršines kraujagysles. Todėl dinaminė arba speklų variacijos OKT taip pat yra tinkamas neinvazinis metodas nustatantis šios rūšies odos vėžį. Atliekant D-OKT (dinaminė OKT) skersiniame pjūvyje matomos ryškiai pailgėjusios odos kraujagyslės, o išilginiame pjūvyje – netvarkingai išsidėsčiusios ir įvairaus diametro kraujagyslės. Taip pat visame navike stebimas sutankėjęs kraujagyslių tinklas, kuris yra ryškus periferinėje dalyje ir leidžia naviką atskirti nuo sveikos odos [63].

Tyrinėjant BLK panaudojus HD-OKT (aukštos raiškos OKT) metodiką nustatyta, kad dažniausiai stebimas požymis yra pilkos/tamsios subepidermio ar dermos lobulinės struktūros [64].

Panaudojus OKT dažnai tyrinėjama odos aktininė keratozė (AK), kuri yra ikivėžinis odos susirgimas atsirandantis dėl saulės poveikio. Iš AK ilgainiui gali išsivystyti odos vėžys – plokščialąstelinė karcinoma (PLK). Gydytojui dermatologui kliniškai yra sunku atskirti šiuos du susirgimus, todėl dažnai prireikia odos biopsijos. AK yra dažnas odos susirgimas, todėl aktyviai ieškoma neinvazinių tyrimų metodų, kurie leistų šį susirgimą diferencijuoti nuo PLK *in vivo*.

FD-OKT principu veikiantys klinikinėje praktikoje naudojami prietaisai leidžia realiu laiku atlikti dviejų tipų vaizdinimą. Vienu atveju gaunamas vertikalios plokštumos vaizdas, analogiškas histopatologiniam tyrimui. Kitu atveju gaunamas horizontalios plokštumos vaizdas, analogiškai kaip KAM.

Tyrimų metu nustatyta, kad atliekant FD-OKT pagrindinis AK požymis yra šviesūs dryžiai viršutiniame epidermyje apsupti hiperechogeniniu plotu. Atlikus klinikinių tyrimų apžvalgą, kurie nagrinėjo AK diagnostiką panaudojant OKT, nustatyta, kad visi autoriai stebėjo normalios odos sluoksnių struktūros sutrikimą. Šiek tiek rečiau aptinkamas požymis buvo epidermio sustorėjimas, o šviesūs dryžiai buvo nustatyti dvejuose trečdaliuose tyrimų [65]. Į šią apžvalgą įtraukti ir 5 tyrimai, kuriuose AK buvo tiriama panaudojant HD-OKT. Visuose penkiuose tyrimuose nustatyti du AK požymiai: epidermio struktūros suardymas kartu su atipine "medaus korio" struktūra. Trijuose tyrimuose nustatytas išreikštos dermo-epitelinės jungties (DEJ) simptomas.

Pigmentinių odos pažeidimų, kaip melanomos, diagnostika šiuo metu technologiškai nepakankamai tiksli net ir naudojant HD-OKT [66, 67].

# 2.4.5. MFM panaudojimas odos navikų diagnostikoj

MFM plačiai naudojama dermatologijoje kaip įvairiausių odos būklių diagnostikos priemonė. Be tyrimų nagrinėjusių odos vėžį, MFT naudota tiriant autoimunines odos ligas [68], odos gijimą ir senėjimą, vaistų ir nanodalelių pernešimą odoje [69].

MFM panaudojimas ikiklinikinių tyrimų metu siekiant diagnozuoti odos vėžį laboratorinių gyvūnų navikų modeliuose pradėtas prieš beveik 30 m. [58].

Vienas pirmųjų tyrimų su pacientų operacine medžiaga buvo atliktas prieš maždaug 20 m. Ištyrus 25 pacientų odos mėginius po BLK pašalinimo nustatyta, kad šiam navikui būdingas fluorescencijos poslinkis į mėlynąją spektro pusę, ryškesnė fluorescencija žadinant 800 nm ir pailgėjusi fluorescencijos gyvavimo trukmė lyginant su sveika oda [70].

Tik 2015 m. buvo atliktas klinikinis tyrimas, kuriame pademonstruota, kad MFM vaizdinimo metu įmanoma nustatyti pagrindinius BLK patologinės diagnostikos požymius *in vivo* (14 pav.). Ištyrus 10 BLK pažeidimų nustatyti bazaloidinių ląstelių lizdai skirtinguose odos sluoksniuose, apsupti kolageno skaidulomis. MFT vaizdai *in vivo* gerai koreliavo su histopatologiniu ištyrimu [71].



14 pav. Bazoląstelinės karcinomos kriterijai multifotoninėje tomografijoje. Pagal [71]. A – klinikinis vaizdas. B - granulinio epidermio sluoksnio multifotoninė mikroskopija (MFM) rodanti pailgėjusias navikines ląsteles. C – apatinio epidermio sluoksnio MFM rodanti viena kryptimi išsidėsčiusias ląsteles. D – Mėlynos kolageno skaidulos naviko viršuje MFM vaizde. E – paralelinės kolageno skaidulos supančios naviką. F – hematoksilinu-eozinu dažytas histologinis vaizdas

Pirmieji tyrimai bandant MFM panaudoti melanomos diagnostikai atlikti 2005 m. Atlikus pigmentinio odos darinio MFT vaizdinimą *in vivo* buvo

atliekamos odos biopsijos ir gauti rezultatai lyginami tarpusavyje. Tyrimo metu nustatyta, kad atliekant MFM galima atskirti navikinius pakitimus nuo sveiko audinio. MFM jautrumas ir specifiškumas diagnozuojant odos melanomą buvo nustatytas ištyrus 83 melanocitinius apgamus. Buvo nustatyti šeši melanomos kriterijai, aptinkami *in vivo* MFM. Metodo jautrumas siekė 95 proc., specifiškumas 97 proc. Panaudojus logistinę regresiją, nustatyti reikšmingiausi melanomos diagnostikos kriterijai (15 pav.): epidermio architektūros sutrikimas, išnykę keratinocitų ribos, pleomorfinės ar dendritinės ląstelės [72].



15 pav. Melanomos kriterijai multifotoninėje tomografijoje. Pagal [72]. a melanocitai raginiame epidermio sluoksnyje pažymėti balta rodykle. Dideli tarpląsteliniai tarpai ir neryškios keratinocitų ribos granuliniame (b) ir spinoziniame (c) epidermio sluoksniuose. Ląstelių fragmentai ir dendritinės struktūros (balta rodyklė) spinoziniame (d) epidermio sluoksnyje. Skalė – 40 μm.

Taip pat pademonstruotos MFM galimybės sveiką odą atskirti nuo AK ar PLK. Viso tirta 12 pacientų, kuriems kliniškai buvo diagnozuota AK, ir PLK šešiems iš jų. Sveikos odos plotai buvo tiriami kaip kontrolė. MFM vaizdai lyginti su histopatologiniu tyrimu. Panaudojus MFM nesunkiai nustatyti keratinocitų morfologiniai pokyčiai: padidėję tarpląsteliniai tarpai, padidėję branduoliai, pakitusi ląstelių forma [73].

# 2.4.6. KAM panaudojimas tiriant odos reakciją į jonizuojančiąją spinduliuotę

Literatūroje maždaug nuo 2000 m. galima aptikti klinikinių tyrimų, kurių metu KAM pradėta naudoti fotobiologinių tyrimų metu, t. y. tiriant odos reakciją į nejonizuojančią spinduliuotę. Svarbiausia tokių tyrimų išvada buvo patvirtinimas, kad KAM yra tinkamas metodas odos morfologiniam vertinimui [74, 75].

Vieni pirmųjų tyrimų, kurių metu KAM buvo panaudota odos reakcijai į JS tirti, buvo atlikti su laboratoriniais gyvūnais tiriant UV spinduliuotės įtaką odai. Šio tyrimo metu nustatyta, kad po UV poveikio KAM metodu stebimi šie pokyčiai epidermyje: melanocitų skaičiaus, dendritiškumo ir dydžio padidėjimas, taip pat pigmento keratinocituose padidėjimas. Tyrimo autoriai pažymi, kad KAM stebimi požymiai nustatomi anksčiau negu juos galima pamatyti akimi [76].

Pirmieji klinikiniai tyrimai su žmonėmis, kuomet KAM panaudota tiriant odoje vykstančius pokyčius po UV spinduliuotės poveikio, literatūroje paskelbti beveik prieš 15 m. Tyrimų metu nustatyta, kad po UVA spinduliuotės poveikio padidėja epidermio granulinio sluoksnio ląstelės [77], sustorėja raginis epidermio sluoksnis [78], pakinta epidermio pigmentacija [79], padidėja bazinio sluoksnio pigmentacija, dermos vazodilatacija ir edema [80].

Vėliau KAM pradėta naudoti dinaminiam odos pažeidimo vertinimui, kuris atsiranda veikiant UV spinduliuotei [81]. Taip pat buvo pademonstruota, kad KAM yra tinkamas metodas UVB fototerapijos vertinimui gydant psoriaze sergančius pacientus [82], kaip ir fotodinaminės terapijos efektyvumui vertinti gydant bazoląstelinę karcinomą [83].

Klinikiniai tyrimai, kurių metu panaudojus KAM tiriamas UV spinduliuotės poveikis odai, įdomūs bei naudingi dar ir tuo, kad jų metu dažniausiai būna atliekama odos biopsija ir histologinio tyrimo rezultatai lyginami su KAM vaizdais. Pavyzdžiui, tyrimas su sveikais tiriamaisiais parodė, kad atlikus KAM galima nustatyti visus histologinio ištyrimo metu stebimus UV spindulių paveiktos odos pažeidimo simptomus: edemą, vazodilataciją, uždegiminių ląstelių infiltraciją [84]. Kaip minėta aukščiau, spindulinį gydymą taikant vėžiu sergantiems pacientams, papildomos biopsijos neatliekamos dėl etinių sumetimų. Todėl KAM atlikimas spindulinės terapijos metu įgyja didelę reikšmę, nes leidžia be jokios žalos pacientui tyrinėti sveikų audinių reakciją, kuomet didelės JS dozės naudojamos gydant vėžį.

Puikus KAM panaudojimo spindulinės terapijos metu pavyzdys yra Vano-Galvan ir bendraautoriu atliktas tyrimas. Šie autoriai pirmieji atliko klinikini tyrimą su šešiomis dėl krūties vėžio švitinamomis pacientėmis, kurio metu buvo panaudota KAM tiriant odos spindulines reakcijas ST metu. Spinduliniam gydymui naudota standartinė metodika, kuomet visa krūtis švitinama karta per diena dvieju Gy doze iki suminės 50 Gy dozės. Tyrėjai atliko odos KAM prieš spindulinį gydymą (kontrolė), pirmąją ST dieną (2 Gy dozė), 15 d. (20 Gy), 30 d. (40 Gy) ir 45 d. (savaitė po to, kai buvo realizuota 50 Gy dozė). Pirmąją ST dieną jokių odos pažeidimo simptomų nustatyta nebuvo. Realizavus 20 Gy doze, (15 diena) visoms pacientėms KAM metu buvo nustatyta odos spongiozė (tarplastelinio skysčio susikaupimas, kitaip patinimas, edema) ir egzocitozė. Uždegiminės lastelės dermoje nustatytos 4 iš 6 pacienčių. Atliekant vaizdinima 30 d. (40 Gy) buvo stebimas minėtu simptomu sustiprėjimas ir papildomai aptiktos DL. Taip pat nustatytas dermos papilų struktūros pažeidimas. Atliekant vaizdinima 45 diena (50 Gy) ryškiausiai matomi simptomai buvo odos hiperpigmentacija, DL ir melanofagai [17].

Aukščiau minėto tyrimo autoriai pažymėjo, kad pirmieji SD požymiai KAM metodu buvo nustatyti prieš atsirandant klinikiniams simptomams, t. y. 15 d. Tai labai įdomus ir klinikinėje praktikoje aktualus atradimas, kuris, tikėtina, gali padėti prognozuoti ir anksčiau pradėti gydyti SD.

Šio tyrimo rezultatai atitinka aukščiau aprašytus SD požymius stebimus histologinio tyrimo metu [48]. Atliekant KAM gan anksti stebimi uždegiminių ląstelių infiltratai dermoje, kurie yra pagrindinis JS pažeistos odos požymis.

KAM taip pat buvo panaudota odos vertinimui taikant paviršiumi plintančios melanomos (lentigo maligna melanoma) spindulinį gydymą. Šio klinikinio tyrimo metu buvo tiriami 6 pacientai, kuriems kartą per savaitę buvo taikoma rentgenoterapija. Vienkartinė dozė odai siekė 20 Gy, o suminė šešių sav. dozė - 120 Gy. Spindulinio gydymo metu atliekant KAM, visiems pacientams buvo nustatyti šie požymiai: išsiplėtusios kraujagyslės, apoptotinės ląstelės, uždegiminių ląstelių kiekio epidermyje padidėjimas. DL buvo stebimos visiems pacientams, o trims iš jų šių ląstelių skaičius padidėjo gydymo metu. Visiems pacientams bent kartą buvo aptikti melanofagai. Nekrozė nustatyta keturiems pacientams iš šešių [85].

Literatūroje nerasta tyrimų, kurių metu KAM būtų naudojama tiriant lėtines odos ar kitų audinių spindulines reakcijas. Žinoma, kad lėtiniam SD būdinga dėl kolageno išvešėjimo atsirandanti odos fibrozė ir pigmentacija, kurią lemia melanino kiekio padidėjimas. Melaninas ir kolagenas dėl savo lūžio rodiklių yra gerai matomi atliekant KAM vaizdinimą. Todėl KAM galėtų būti naudojama tiriant lėtines odos spindulines reakcijas.

Apžvelgti klinikiniai tyrimai leidžia daryti išvadą, kad KAM yra tinkamas odos vaizdinimo metodas ST metu. Tačiau minėtų tyrimų apimtis yra labai maža. Todėl, siekiant pagrįsti KAM naudą tiriant spindulinių reakcijų patogenezę *in vivo*, būtina atlikti didelės apimties klinikinius tyrimus.

# 2.4.7. Kitų OB metodikų panaudojimas tiriant odos reakciją į jonizuojančiąją spinduliuotę

Šiuo metu nėra klinikinių tyrimų, kurių metu naudojant OKT ar MFM būtų tyrinėjama odos reakcija į JS. Tačiau yra keletas tyrimų su laboratoriniais gyvūnais.

MFM tiriant laboratorinių pelių odos ankstyvą spindulinę reakciją nustatyta, kad paveikus JS, epidermio ląstelės ir tarpląsteliniai tarpai padidėja ir tampa nelygūs [86].

Pademonstruota, jog atliekant OKT angiografiją galima stebėti šiuos JS sukeltus laboratorinių pelių odos pokyčius: odos sustorėjimas, stambesnių kraujagyslių išsiplėtimas ir netaisyklingos kraujagyslių ribos [87].

# 2.4.8. Dermoskopijos panaudojimas spindulinio dermatito diagnostikoje

Dermoskopija yra dar vienas tyrimo metodas, kuris leidžia neinvaziniu būdu tirti odą. Atliekant dermoskopiją odos paviršius apšviečiamas, padidinamas ir nufotografuojamas. Dermoskopija buvo sukurta vėžinių odos ligų diagnostikai (pvz. melanomos), tačiau vėliau nustatyta, kad šis metodas naudingas ir tiriant uždegimines odos ligas [88].

Literatūroje galima rasti tik vieną klinikinį tyrimą, į kurį buvo trauktos 44 krūties vėžiu sergančios moterys, kurioms ST metu buvo atliekama švitinamos odos dermoskopija ir klinikinis vertinimas. Nustatyta, kad panaudojus dermoskopiją gaunama papildomos informacijos (eritema, hiperpigmentacija) apie JS sukeliamą odos pažeidimą [89].

Dažnai komerciniai KAM prietaisai yra komplektuojami kartu su dermoskopine kamera. Šiuo metu nėra publikuotų klinikinių tyrimų, kurių metu SD būtų tirtas panaudojant KAM ir dermoskopiją, tačiau sėkmingas šių tyrimų metodų pritaikymas pigmentinių odos pakitimų diagnostikoje [90, 91] rodo, jog jie gali būti sėkmingai pritaikyti ir tiriant SD.

# 3. MEDŽIAGOS IR METODAI

#### 3.1. Biomedicininis tyrimas

Norint pasiekti užsibrėžta tikslą ir įgyvendinti iškeltus uždavinius, buvo suplanuotas biomedicininis tyrimas: "Jonizuojančiosios spinduliuotės ūminio odos pažeidimo vertinimas remiantis individualiu sukelto radiojautrumu ir in vivo konfokalia atspindžio mikroskopija". Nacionaliniame Vėžio Institute buvo parengtas ir apsvarstytas tyrimo protokolas (nr. II-2016-4). Buvo gautas Vilniaus regioninio biomedicininių tyrimų komiteto leidimas (Nr.:158200-17-908-418) atlikti šį tyrimą (1 priedas). Taip pat gautas Valstybinės duomenų apsaugos inspekcijos leidimas (Nr. 2R-3005 (2.6-1)) atlikti asmens duomenų tvarkymo veiksmus (2 priedas). Tvrimas vykdytas 2017 – 2020 metais Nacionaliniame Vėžio Institute (NVI). Gautas leidimas naudoti dermatologinį gyvenimo kokybės klausimyną (3 priedas).

#### 3.2. Tiriamųjų atranka

Pacientams, kuriems NVI multidisciplininės komisijos (MDK) nutarimu nuspręsta taikyti spindulinį gydymą, buvo pasiūlyta dalyvauti šiame tyrime.

Visi tiriamieji susipažino su Informuoto asmens sutikimo forma (IASF) ir pasirašė sutikimą dalyvauti biomedicininiame tyrime (4 priedas).

Į tyrimą įtraukti tiriamieji atitinkantys šiuos įtraukimo kriterijus:

• pacientai, kurie savarankiškai rašytiniu būdu gali patvirtinti savo apsisprendimą dalyvauti tyrime;

- amžius >18 metų Informuoto asmens sutikimo formos pasirašymo metu;
- pacientams, kuriems MDK metu nuspręsta taikyti ST;
- būklė pagal ECOG skalę [92] (5 priedas) siekia nuo 0 iki 2 balų.

Į tyrimą nebuvo įtraukiami tiriamieji remiantis šiais neįtraukimo kriterijais:

• Būklė pagal ECOG skalę >3 balų (5 priedas);

• Prieš tai taikyta chemoterapija ar spindulinė terapija.

Į tyrimą iš viso įtraukta 110 pacienčių sergančių I-II stadijos krūties vėžiu, kurioms buvo atlikta krūtį tausojanti operacija ir numatomas spindulinis gydymas.

#### 3.3. Tiriamųjų randomizacija

Visi tiriamieji atsitiktiniu būdu buvo suskirstyti į dvi grupes pagal tai, kokia odos priežiūra bus skiriama spindulinio gydymo metu. Pirmos (geriausios palaikomosios priežiūros (GPP)) grupės tiriamiesiems skirta įprastai spindulinio gydymo metu taikoma odos priežiūra, t. y. kasdienis odos prausimas duše ir laisvų natūralaus audinio rūbų dėvėjimas. Jei šios grupės tiriamiesiems spindulinis dermatitas pasiekia II laipsnį pagal CTCAE skalę, skiriamas kremas ("Medetkų kremas", Sanitas) odai tepti 2 kartus per dieną. Antros (papildomos odos priežiūros (POP)) grupės tiriamiesiems taip pat taikoma geriausia palaikomoji odos priežiūra ir papildomai nuo gydymo pradžios skiriamas paprastas, bekvapis, drėkinamasis kremas ("Kremas Basalis Clinic", Lietuvos Sveikatos Mokslų Universiteto vaistinė). Odos priežiūros priemones tiriamiesiems neatlygintinai skyrė Nacionalinis Vėžio Institutas.

#### 3.4. IRJ nustatymas

Prieš pradedant ST tiriamiesiems iš venos buvo paimamas kraujas (apie 8 ml) IRJ nustatymui. IRJ buvo nustatomas Radiacinės Saugos Centre naudojant G2 metodą [93].

G2 metodas yra paremtas G2 patikros taško, ląstelės cikle esančio tarp G2 ir M fazių, efektyvumo nustatymu. G2 patikros taške yra tikrinama, ar replikuotoje DNR nėra trūkumų. Jų radus, ląstelės ciklas sustoja - ciklas "areštuojamas". Kofeinu paveikus G2 patikros taška, jis panaikinamas, ir dirbtinai simuliuojamas asmenu. turinčiu šitaip vra ataksiiosteleangiektazijos sindromą, jautrumas jonizuojančiajai spinduliuotei, nes yra žinoma, kad ši sindroma turinčių individų lastelių augimo cikle G2 patikros taškas yra neefektyvus, ir visos pažeistos ląstelės, kurios sveiko žmogaus atveju yra sustabdomos, pereina toliau į cikla. Manoma, kad G2 patikros taško efektyvumas galėtų būti vienas jautrumo jonizuojančiajai spinduliuotei matų. Yra ieškoma chromosomų trūkių, ir santykio procentine išraiška tarp trūkių skaičiaus kultūroje be kofeino ir kultūroje su kofeinu išreiškiamas G2 patikros taško efektyvumas [94].

*Periferinio kraujo limfocitų auginimas.* Periferinio kraujo limfocitų auginimui steriliomis sąlygomis paruošiamas mišinys iš šių pagrindinių reagentų: mitybinės terpės, fetalinio veršiuko serumo, fitohemaglutinino, antibiotikų. Į centrifuginius mėgintuvėlius supilstoma po 4,5 ml mišinio ir 0,5 ml kraujo. Limfocitų kultūros auginamos inkubatoriuje palaikant 37°C temperatūrą, su 5 proc.  $CO_2$  ir 95 proc. drėgmės koncentracija. Kultūros augimas vykdomas 72 valandas. Po to kultūra yra apšvitinama 1 Gy jonizuojančiosios spinduliuotės doze ir išskirstoma į dvi dalis. Į vieną jų yra įdedama kofeino, kad stimuliuotų ląstelių augimo ciklą ir panaikintų G2 patikros tašką prieš ląstelėms pereinant iš G2 į M fazę. Abi perskirtos kultūros yra inkubuojamos dar 20 minučių 37 laipsnių temperatūroje be kolcemido, ir, sustabdžius ciklą metafazėje su kolcemidu, paliekamos dar valandai, tam kad susikauptų pakankamas kiekis metafazės stadijos ląstelių.

*Fiksacijos procedūra*. Limfocitų kultūros centrifuguojamos, viršnuosėdinis sluoksnis pašalinamas, nuosėdos resuspenduojamos 37°C temperatūros hipotoniniu 0,075M kalio chlorido tirpalu ir inkubuojama 15 min., 37°C temperatūroje. Atliekamas pakartotinis centrifugavimas, viršnuosėdinis skystis pašalinamas, o ląstelės resuspenduojamos ir fiksuojamos atšaldytame metanolio-ledinės acto rūgšties fiksatoriuje. Fiksacijos procedūra kartojama dar 2 kartus. Užfiksuotos kultūros naudojamos mikroskopinių stiklelių ruošimui.

*Preparatų ruošimas*. Ląstelių suspensija 0,02 ml lašais lašinama ant mikroskopinio stiklelio, kuris prieš tai buvo lengvai sušlapintas distiliuotu vandeniu. Mikroskopiniai stikleliai paliekami išdžiūti kambario temperatūroje.

Paruošti stikleliai nudažomi Giemsa dažų ir PBS tirpalo mišiniu, specialiais klijais užklijuojamas dengiamasis stiklelis.

*Pažaidų analizavimas mikroskopu ir rezultatų apdorojimas*. Chromosomų pažaidos (16 pav.) analizuojamos Axio Imager Z2 mikroskopu su Metasystems Metafer automatine stiklelių analizavimo sistema. Vaizdas matomas kompiuterio ekrane naudojant Metafer 4.0 programinę įrangą ir jos papildinius DCscore, Msearch, AutoCapt, MNscore.



16 pav. Chromosomos trūkis metafazės stadijos ląstelėje.

Pagal nustatytą IRJ tiriamieji gali būti suskirstyti į 4 kategorijas: atsparius JS (IRJ <30 proc.), normaliai jautrius (30 proc.≤IRJ≤50 proc.), jautrius (50 proc.≤IRJ≤70 proc.) ir labai jautrius (IRJ >70 proc.).

3.5. Spindulinis gydymas

Remiantis krūties vėžio gydymo gairėmis tiriamiesiems buvo skirtas visos krūties spindulinis gydymas. ST buvo realizuota taikant tradicinę 3D-ST metodiką (17 pav). Suminė JS dozė tenkanti krūties planavimo taikinio tūriui (planning target volume – PTV) siekė 50 grėjų (Gy), kasdien skiriant po 2 Gy per gydymo frakciją (fx), penkis kartus per savaitę.



17 pav. Visos krūties švitinimo trijų dimensijų spindulinės terapijos (3D ST) planas

#### 3.6. Klinikinis spindulinio dermatito vertinimas

Klinikinis ūminio spindulinio dermatito vertinimas buvo atliekamas remiantis nepageidaujamų reakcijų terminologijos kriterijų skale (*angl. Common Terminology Criteria For Adverse Events* – CTCAE) skale [6], kuri pateikiama 5-oje lentelėje. Kontrolinis vertinimas visada būdavo atliekamas prieš ST, o vėliau vertinama kartą per savaitę (kas 5 fx) iki gydymo pabaigos. Nepriklausomai vienas nuo kito vertinimus atlikdavo trys gydytojai onkologai radioterapeutai. Kiekvienas gydytojas individualiai įvertindavo odos pažeidimo simptomus (paraudimas, patinimas, sausa ir drėgna deskvamacija, kraujavimas, išopėjimas ir nekrozė) ir remdamasis jų išreikštumu nustatydavo ūminio SD laipsnį. Galutinis ūminio SD laipsnis buvo nustatomas susumavus visų vertintojų įverčius, ir kai bent dviejų vertintojų įverčiai sutapdavo.

# 3.7. Skaitmeninės dermoskopijos ir KAM atlikimas

Skaitmeninė dermoskopija buvo atliekama kartu su kiekvienu KAM matavimu, panaudojus komercinį prietaisą - VivaScope® 1500 (18 pav.). Kontroliniai matavimai visada būdavo atliekami prieš ST, o gydymo metu kartojami kartą per savaitę (kas 5 fx) iki gydymo pabaigos.



**18 pav.** VivaScope® 1500 konfokalinis atspindžio mikroskopas iš MAVIG GmbH, Miunchenas, Vokietija.

Abu matavimai buvo atliekami toje pačioje odos vietoje (apatinėje krūties srityje ties vidurine raktikauline linija (19 pav.) tiriamajam gulint ant nugaros ir rankas laikant už galvos. Ši vieta matavimams atlikti pasirinkta dėl gero prieinamumo, lengvo atkartojamumo, bei patogumo tiriamajam ir tyrėjui.



**19 pav.** Dermoskopijos ir konfokalinės atspindžio mikroskopijos atlikimo vieta – raudonas apskritimas; mėlyna linija - vidurinė raktikaulinė linija.

Visa šių matavimų atlikimo procedūra pavaizduoja 18 pav. Pirmiausia prie metalinio žiedo priklijuojamas polimerinis stikliukas (20.1 pav.) ir ant odos užtepamas imersinis aliejus (20.2 pav.). Tuomet metalinis žiedas su polimeriniu stikliuku priklijuojamas prie norimos odos vietos (20.3 pav.). Dermoskopijai atlikti (20.4 pav) buvo naudojamas VivaCam® skaitmeninis dermoskopas (MAVIG GmbH, Miunchenas, Vokietija), kuriame integruota 2 megapikselių CCD kamera.

Aukštos raiškos (full-HD) skaitmeninės dermoskopijos vaizdai buvo naudojami odos paraudimui (eritemai – ERY) įvertinti. Nepriklausomai vienas nuo kito vertinimus atliko trys gydytojai onkologai radioterapeutai pagal skalę nuo 0 iki 2, kai 0 reiškia "eritemos nėra", 1 – "silpna eritema", 2 – "ryški eritema". Galutinis ERY laipsnis buvo nustatomas kai bent dviejų vertintojų įverčiai sutapdavo.



**20 pav.** Dermoskopijos ir konfokalinės atspindžio mikroskopijos atlikimo eiga pagal [52]

Užfiksavus odos vaizdą su skaitmeniniu dermoskopu, ant polimerinio žiedo vidinio paviršiaus buvo tepamas ultragarso gelis (20.5 pav.). KAM atlikti (20.6) buvo naudojamas VivaScope® 1500 (MAVIG GmbH, Miunchenas, Vokietija) medicininis prietaisas, su integruotu 830 nm ilgio elektromagnetines bangas skleidžiančiu, 20 mV (maksimali galia) diodiniu lazeriu (odos apšvietimui), ir 30 kartų didinančiu imersiniu objektyvu, skirtu

lazerio šviesos nukreipimui bei atsispindėjusios šviesos surinkimui. VivaScope $\mathbb{R}$  1500 pasižymi 1,25 µm skersine ir 5,0 µm ašine skyra. Gaunamo vaizdo dydis yra 500 x 500 µm, skenuojama 9 paveikslėlių per sekundę greičiu. Didžiausias galimas suminio odos vaizdo plotas siekia 8 x 8 mm, kurio skiriamoji geba yra 1024 x 1024 pikseliai.



**21 pav.** 4 x 4 mm<sup>2</sup> ploto mozaikinis konfokalinės atspindžio mikroskopijos vaizdas. Raudini kvadratai žymi tris pasirinktas vietas, kuriose atliekami matavimai vertikaliai žemyn kas 5,0  $\mu$ m iki 100  $\mu$ m gylio.

Vaizdinimo sesijos pradžioje buvo fiksuojamas 4 x 4 mm<sup>2</sup> ploto mozaikinis vaizdas epidermio sponozinio-granulinio sluoksnio lygmenyje (21 pav.). Po to trijuose pasirinktuose taškuose buvo atliekami matavimai vertikaliai žemyn kas 5,0  $\mu$ m iki 100  $\mu$ m gylio fiksuojant 500 x 500  $\mu$ m dydžio vaizdus. Vaizdų vertinimą atliko du tyrėjai. JS sukelti odos pažeidimai buvo vertinami pagal skalę nuo 0 iki 2, kur 0 reiškia "pažeidimo nėra", 1 –

pažeidimas apima <50 proc. paveikslėlio, 2 - pažeidimas apima >50 proc. paveikslėlio.

#### 3.8. Gyvenimo kokybės vertinimas

Siekiant įvertinti sąsają tarp SD ir gyvenimo kokybės, tiriamųjų buvo prašoma prieš ST, po 15 fx ir 20 fx užpildyti dermatologinį gyvenimo kokybės indekso (DLQI) klausimyną. Šio klausimyno tikslas yra įvertinti odos problemų įtaką gyvenimo kokybei per paskutinę savaitę [95]. Tam buvo naudojama oficialiai į lietuvių kalbą išversta klausimyno versija (6 priedas). DLQI įvertis nustatomas susumavus visų atsakymų vertes. Mažiausias galimas įvertis yra 0 balų, o didžiausias – 30. Didesnis DLQI įvertis rodo didesnę įtaką gyvenimo kokybei (8 lentelė).

Balas	Įtaka gyvenimo kokybei	Kategorija
0 - 1	Nėra	DLQI 0
2 - 5	Maža	DLQI I
6 – 10	Vidutinė	DLQI II
11 - 20	Didelė	DLQI III
21 - 30	Labai didelė	DLQI IV

8 lentelė. Dermatologinio gyvenimo kokybės indekso interpretacija.

DLQI - dermatologinis gyvenimo kokybės indeksas.

# 3.9. Statistinė duomenų analizė

Statistinė analizė naudota tiriamųjų charakteristikoms apibūdinti ir palyginti skirtingas tiriamųjų grupes. Aprašomojoje statistikoje skaitiniai kintamieji buvo apibūdinami skaičiuojant vidurkį, bei standartinį nuokrypį (SN), o kategoriniams kintamiesiems buvo skaičiuojami reikšmių dažniai (n) ir santykinių dažnių procentai (proc.). Duomenų skirstinio normalumas buvo tikrinamas naudojant Shapiro-Wilk kriterijų. Nepriklausomų grupių vidurkių palyginimui naudotas Kruskal-Wallis testas ir ANOVA. Požymių tarpusavio asociacijai tikrinti buvo taikyta logistinė regresija ir Chi kvadrato ( $\chi$ 2) kriterijus. Rezultatai laikyti statistiškai reikšmingais, jeigu p<0,05. Duomenų analizė atlikta naudojant duomenų analizės programų paketą IBM SPSS 21.0 (Armonk, NY: IBM Corp, JAV, 2012).

#### 4. REZULTATAI

#### 4.1. Pilotinis tyrimas

Pirmiausia buvo atliktas pilotinis tyrimas su 10 tiriamųjų, kurio metu buvo siekiama identifikuoti dėl JS poveikio atsirandančius odos pažeidimo požymius stebimus atliekant KAM ir palyginti juos su klinikiniu ūminio SD pasireiškimu.

Šiems tiriamiesiems prieš pradedant ST buvo atliktas kontrolinis odos vaizdinimas panaudojant KAM, bei įvertinta odos būklė. Vėliau gydymo metu šie matavimai buvo kartojami 1 kartą per savaitę (kas 5 fx).

Klinikiniam ūminio SD pasireiškimui vertinti buvo pasirinktas klasikinis metodas – CTCAE skalė (5 lentelė). Kaskart vertinimas buvo atliekamas trijų gydytojų onkologų radioterapeutų, kurie nepriklausomai vienas nuo kito įvertindavo odos pažeidimo simptomus ir pagal jų išreikštumą nustatydavo ūminio SD laipsnį. Šie įverčiai buvo susumuoti ir galutinis laipsnis nustatomas, kai bent dviejų vertintojų nuomonės sutapdavo. Pilotiniame tyrime dalyvavusių tiriamųjų klinikinio ūminio SD pasireiškimo vertinimas pagal CTCAE skalę pateikiamas 9-oje lentelėje.

ŪSD	Laip.	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
		N (proc.)					
	0	10 (100)	7 (70)	5 (50)	2 (20)	2 (20)	0
CTCAE	Ι	0	3 (30)	5 (50)	8 (80)	6 (60)	6 (60)
CICAL	II	0	0	0	0	2 (20)	4 (40)
	III	0	0	0	0	0	0

9 lentelė. Pilotinio tyrimo dalyvių klinikinis ūminio SD pasireiškimas.

 $\overline{USD} - \overline{u}$ minis spindulinis dermatitas, laip. – laipsnis, fx – frakcija, N – skaičius, proc. – procentai, CTCAE - Common Terminology Criteria for Adverse Events skalė.

Pilotinio tyrimo metu KAM vaizdinimas buvo atliktas kaip aprašyta 3.7 skyrelyje. Gautų vaizdų vertinimą atliko du tyrėjai.

Reprezentatyvus normalaus "medaus korio" epidermio vaizdas prieš gydymą pavaizduotas 22A pav., o normalus dermos papilų vaizdas dermoepiderminės jungties (DEJ) lygyje – 22B pav. Visi sekantys KAM matavimai buvo lyginami su kontroliniu.



**22 pav.** Kontrolinis KAM matavimas prieš gydymą: (A) - normalus "medaus korio" epidermio vaizdas; (B) - normalus dermos papilų vaizdas dermo-epiderminės jungties lygyje. KAM – konfokalinė atspindžio mikroskopija; fx – frakcija.

Remiantis atlikta literatūros apžvalga [17] ir pilotiniame tyrime dalyvavusių dešimties tiriamųjų KAM vaizdų vertinimu [96], buvo identifikuoti šie JS sukeliamo odos pažeidimo požymiai: egzocitozė, spongiozė, uždegiminės ląstelės dermoje (ULD), epidermio struktūros pažeidimas (DE – *angl. disarrayed epidermis*) ir pažeistos dermos papilos (PDP).



**23 pav.** KAM matavimas po 5 fx: (A) – egzocitozė (baltas apskritimas) epidermio spinduliniame sluoksnyje; (B) - nepažeistos dermos papilos dermo-epiderminės jungties lygyje. KAM – konfokalinė atspindžio mikroskopija; fx – frakcija

Egzocitozė apibūdinama kaip pavienės apvalios ar daugiakampės ląstelės arba jų sankaupos epidermio spinduliniame sluoksnyje (stratum sponosum). Egzocitozės pavyzdys stebimas epidermyje po 5 fx pateiktas 23A paveikslėlyje. Tuo pat metu DEJ lygmenyje nėra jokių pažeidimų požymių (23B).

Spongiozė apibūdinama kaip epidermio spinduliniame sluoksnyje stebimas už aplinkinį epitelį tamsesnis plotas su padidėjusiais tarpais tarp keratinocitų. Spongiozės pavyzdys, stebimas epidermyje po 10 fx, pateiktas 24A paveikslėlyje. Tuo pat metu DEJ lygmenyje nėra jokių pažeidimų požymių (24B).



**24 pav.** KAM matavimas po 10 fx: (A) – spongiozė (balta linija apvestas plotas) epidermio spinduliniame sluoksnyje; (B) - nepažeistos dermos papilos dermo-epiderminės jungties lygyje. KAM – konfokalinė atspindžio mikroskopija; fx – frakcija.

Uždegiminės ląstelės dermoje (ULD) apibūdinamos kaip dermos lygmenyje stebimos pavienės ar grupinės ryškių ląstelių sankaupos. Spongiozė ir egzocitozė yra nespecifiniai JS sukelto odos pažeidimo požymiai, nes nustatomi ir sergant kitomis uždegiminėmis odos ligomis [52], tuo tarpu ULD yra specifinis ūminio SD požymis [5]. Minėti trys KAM požymiai (spongiozė, egzocitozė, ULD) yra ankstyvi ir nesukelia odos struktūros pažeidimo, todėl yra grįžtami. Tuo tarpu DE yra vienas iš negrįžtamų JS sukeltų odos pažeidimo požymių, kuris apibūdinamas kaip normalios "medaus korio" struktūros suardymas epidermio spinduliniame sluoksnyje. 25A paveikslėlyje pateiktas ankstyvo DE pavyzdys stebimas po 15 fx epidermyje, o tuo pat metu DEJ lygmenyje stebimos ULD (25B).



**25 pav.** KAM matavimas po 15 fx: (A) – DE (baltas apskritimas) epidermio spinduliniame sluoksnyje; (B) – ULD (baltos rodyklės) vaizdas dermo-epiderminės jungties lygyje. KAM – konfokalinė atspindžio mikroskopija; fx – frakcija; DE - epidermio struktūros pažeidimas (*angl. disarrayed epidermis*), ULD – uždegiminės ląstelės dermoje.

26A paveikslėlyje pateiktas labiau išreikšto DE pavyzdys, stebimas po 20 fx epidermyje, o tuo pat metu DEJ lygmenyje stebimos gausesnės ULD (26B).



**26 pav.** KAM matavimas po 20 fx: (A) – labiau išreikštas DE (baltai apskritimai) epidermio spinduliniame sluoksnyje; (B) – gausesnės ULD (baltos rodyklės) dermo-epiderminės jungties lygyje. KAM – konfokalinė atspindžio mikroskopija; fx – frakcija; DE - epidermio struktūros pažeidimas (*angl. disarrayed epidermis*), ULD – uždegiminės ląstelės dermoje.

Kitas negrįžtamas JS sukeltas odos pažeidimo požymis yra pažeistos dermos papilos (PDP). Šis požymis apibūdinamas kaip žiedinės papilų

struktūros suardymas stebimas DEJ lygmenyje. Tai buvo rečiausias požymis nustatomas šio tyrimo tiriamiesiems, dažniausiai stebėtas KAM atliekant ST pabaigoje. Po 25 fx DEJ lygmenyje stebimas PDP pavyzdys pateikiamas 27B paveikslėlyje, tuo pat metu (po 25 fx) stebimas ryškaus DE vaizdas epidermyje pavaizduotas 27A paveikslėlyje.



**27 pav.** KAM matavimas po 25 fx: (A) – ryškus DE (baltas ovalas) epidermio spinduliniame sluoksnyje; (B) – PDP (balti apskritimai) dermo-epiderminės jungties lygyje. KAM – konfokalinė atspindžio mikroskopija; fx – frakcija; DE - epidermio struktūros pažeidimas (*angl. disarrayed epidermis*), PDP – pažeistos dermos papilos.

Pilotiniame tyrime dalyvavusių tiriamųjų KAM požymių vertinimas pateikiamas 10 lentelėje. Pilotinio tyrimo metu buvo vertinama, ar požymis yra, ar ne, o išreikštumas nebuvo vertinamas. Pažymėtina, jog vienam tiriamajam to paties matavimo metu gali būti nustatomi iš karto keli požymiai.

		5	5 6	ι J	i i	
KAM	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
	N (proc.)					
S	0	3 (30)	5 (50)	9 (90)	10 (100)	10 (100)
Е	0	9 (90)	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)
ULD	0	5 (50)	3 (30)	7 (70)	9 (90)	10 (100)
DE	0	0	0	2 (20)	8 (80)	5 (50)
PDP	0	0	0	3 (30)	5 (50)	8 (80)

10 lentelė. Pilotinio tyrimo dalyvių KAM stebimų požymių vertinimas.

KAM - konfokalinė atspindžio mikroskopija, fx - frakcija, N - skaičius, proc. - procentai, S - spongiozė, E - egzocitozė, ULD - uždegiminės ląstelės dermoje, DE -

epidermio struktūros pažeidimas (angl. disarrayed epidermis), PDP – pažeistos dermos papilos, NA – neatlikta.

Šis mažos apimties tyrimas padėjo nustatyti, kokius JS sukeliamus odos pažeidimo požymius galima identifikuoti panaudojant KAM. Siekiant įvertinti šių požymių pasireiškimo eigą ir dažnį, buvo atliktas didelės imties tyrimas. Šio tyrimo metu taip pat buvo siekiama KAM požymius palyginti su klinikiniu ūminio SD pasireiškimu ir individualiomis pacientų charakteristikomis, bei įvertinti KAM predikcinę vertę prognozuojant ūminio SD sunkumo laipsnį.

#### 4.2. Tiriamųjų apibūdinimas

Viso IASF pasirašė 110 tiriamųjų, 108 tiriamieji biomedicininiame tyrime dalyvavo iki ST pabaigos. Atmetus tiriamuosius, kuriems dėl techninių kliūčių atlikti ne visi KAM matavimai (išskyrus tuos, kuriems ST pabaigoje KAM neatlikta dėl odos drėgnos deskvamacijos), į galutinę analizę įtraukti 103 tiriamieji.

Visi tiriamieji buvo moteriškos lyties nuo 28 iki 76 metų amžiaus (vidurkis 57,1 m  $\pm$ 9,0 (PI: 55.35-58.85)). Tiriamųjų charakteristikos pateikiamos 11 lentelėje.

Tiriamuju ah	aralttaristiltas	Rezultatas
i inaniųjų cii	alaktelistikos	N (proc.)
Tiriamieji		103 (100)
Lytis,	Moterys	103 (100)
	Vidurkis, SN	57,1 ± 9,0
Amžius, m	Mediana	56,6
	Min–maks	28–76
	0	26 (25,2)
Ligos stadija	Ι	52 (50,5)
	II	25 (24,3)
НТ	Taip	70 (68,0)
111	Ne	33 (32,0)
	DCIS	24 (23,3)
Histologija	IDC	63 (61,2)
Instologija	ILC	11 (10,7)
	kita	5 (4,8)
	50 Gy SŽD per 25 fx	103 (100)
	metodika (3D)	103 (100)
ST	D <sub>mean</sub> 95% CTV ± SN	48,8 ± 1,40
	HI(D2%– D98%)/D50% ± SN	$0,44 \pm 0,12$

11 lentelė. Biomedicininio tyrimo tiriamųjų charakteristikos.

m—metai, N—skaičius, proc. – procentai, SN—standartinis nuokrypis, min minimumas, maks—maksimumas, HT—hormonoterapija, DCIS—duktalinė karcinoma in situ, IDC—invazinė duktalinė karcinoma, ILC—invazinė lobulinė karcinoma, SŽD – suminė židininė dozė, Gy—grėjai, D<sub>mean</sub>— vidutinė dozė, tenkanti 95 proc. CTV, CTV—klinikinis taikinio tūris, HI homogeniškumo indeksas

#### 4.3. Klinikinis ūminio spindulinio dermatito pasireiškimas

Klinikinis ūminio spindulinio dermatito vertinimas buvo atliekamas prieš ST ir vėliau, kartą per savaitę iki gydymo pabaigos. Remdamiesi CTCAE skale (5 lentelė) vertinimus nepriklausomai vienas nuo kito atlikdavo trys gydytojai onkologai radioterapeutai.

Visų biomedicininiame tyrime dalyvavusių tiriamųjų klinikinis SD vertinimas pateikiamas 12 lentelėje.

-		2	- 5	<i>J i i i</i>		r ····	
ŪSD	Laip.	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
		N (proc.)	N (proc.)	N (proc.)	N (proc.)	N (proc.)	N (proc.)
	0	103 (100)	90 (87,4)	61 (59,2)	21 (20,4)	7 (6,8)	0
CTCAE	Ι	0	13 (12,6)	41 (39,8)	80 (77,8)	68 (66,0)	43 (41,7)
CICAL	II	0	0	1 (1,0)	2 (1,9)	28 (27,2)	58 (56,3)
	III	0	0	0	0	0	2 (1,9)

12 lentelė. Visų biomedicininio tyrimo dalyvių klinikinis SD pasireiškimas.

 $\overline{USD} - \overline{u}$ minis spindulinis dermatitas, laip. – laipsnis, fx – frakcija, N – skaičius, proc. – procentai, CTCAE - Common Terminology Criteria for Adverse Events skalė.

Šio biomedicininio tyrimo dalyviams nustatytas panašus ūminio SD pasireiškimas kaip ir kitiems pacientams taikant visos krūties 3D ST [97]

# 4.4. Jonizuojančiosios spinduliuotės sukeltų odos pažeidimų vertinimas KAM

Prieš ST visiems tiriamiesiems buvo atlikti kontroliniai KAM matavimai. Gydymo metu KAM kartota kas 5 fx, t. y. kartą per savaitę. KAM buvo atliekama, kaip aprašyta 2.7 skyriuje.

KAM metu buvo vertinami pilotinio tyrimo metu (3.1 skyrius) identifikuoti JS sukeliami odos pažeidimo požymiai. Priešingai nei pilotinio tyrimo metu, buvo ne tik identifikuojami KAM stebimi požymiai, bet ir nustatomas šių požymių išreikštumas, JS sukelti odos pažeidimai buvo vertinami pagal skalę nuo 0 iki 2, kur 0 reiškia "pažeidimo nėra", 1 – pažeidimas apima <50

proc. paveikslėlio, 2 - pažeidimas apima >50 proc. paveikslėlio. Visus vertinimus atliko 2 tyrėjai.

Visų biomedicininiame tyrime dalyvavusių tiriamųjų KAM požymių vertinimas pateikiamas 13 lentelėje.

KAM	Laip.	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
		N (proc.)	N (proc.)	N (proc.)	N (proc.)	N (proc.)	N (proc.)
	0	103 (100)	75 (72,8)	28 (27,2)	9 (8,7)	3 (3,0)	1 (1,1)
S	1	0	28 (27,2)	73 (70,9)	80 (77,7)	63 (62,4)	50 (54,3)
3	2	0	0	2 (1,9)	14 (13,6)	35 (34,7)	41 (44,6)
	NA	0	0	0	0	2 (1,9)	11 (10,7)
	0	103 (100)	46 (44,7)	8 (7,8)	0	0	0
Б	1	0	57 (55,3)	88 (85,4)	59 (57,3)	18 (17,8)	7 (7,6)
E	2	0	0	7 (6,8)	44 (42,7)	83 (82,2)	85 (92,4)
	NA	0	0	0	0	2 (1,9)	11 (10,7)
	0	103 (100)	99 (96,1)	86 (83,8)	54 (52,4)	17 (16,8)	2 (2,2)
	1	0	4 (3,9)	17 (16,5)	47 (45,6)	77 (76,2)	65 (70,7)
ULD	2	0	0	0	2 (1,9)	7 (6,9)	25 (27,2)
	NA	0	0	0	0	2 (1,9)	11 (10,7)
	0	103 (100)	103 (100)	102 (99,0)	78 (75,7)	34 (33,7)	4 (4,3)
DE	1	0	0	1 (1,0)	24 (23,3)	57 (56,4)	43 (46,7)
DE	2	0	0	0	1 (1,0)	10 (9,9)	45 (48,9)
	NA	0	0	0	0	2 (1,9)	11 (10,7)
	0	103 (100)	103 (100)	103 (100)	102 (99,0)	82 (81,2)	29 (31,5)
DDD	1	0	0	0	1 (1,0)	19 (18,8)	58 (63,0)
PDP	2	0	0	0	0	0	5 (5,4)
	NA	0	0	0	0	2 (1,9%)	11 (10,7)

13 Lentelė. Visų biomedicinino tyrimo dalyvių KAM stebimų požymių vertinimas.

KAM - konfokalinė atspindžio mikroskopija, laip. – laipsnis, fx – frakcija, N – skaičius, proc. – procentai, S – spongiozė, E – egzocitozė, ULD – uždegiminės ląstelės dermoje, DE - epidermio struktūros pažeidimas (angl. disarrayed epidermis), PDP – pažeistos dermos papilos, NA – ne atlikta.

Šiuos rezultatus lygindami su klinikiniu KAM vertinimu (12 lentelė), aiškiai matome, jog KAM požymiai nustatomi anksčiau, nei atsiranda klinikiniai simptomai.

# 4.5. Jonizuojančiosios spinduliuotės sukelto odos pažeidimo vertinimas dermoskopu

Prieš ST visiems tiriamiesiems buvo atlikti kontroliniai matavimai dermoskopu. Gydymo metu skaitmeninė dermoskopija kartota kas 5 fx, t. y. kartą per savaitę. Skaitmeninės dermoskopijos atlikimo eiga aprašyta 2.7 skyriuje. Atliekant kartotinius matavimus dermoskopu stebimas ST metu progresuojantis odos paraudimas (eritema - ERY) pavaizduotas 28 paveikslėlyje.



**28 pav.** Vieno tiriamojo odos pokyčiai stebimi dermoskopu, rodantys, kaip gydymo metu progresuoja eritema (ERY); fx – frakcija.

ERY vertinimą dermoskopijos vaizduose nepriklausomai vienas nuo kito atliko trys gydytojai onkologai radioterapeutai pagal skalę nuo 0 iki 2, kai 0 reiškia "ERY nėra", 1 – "silpna ERY", 2 – "ryški ERY". 28 pav. viršutiniame kairiajame kampe pateiktas odos dermoskopijos vaizdas prieš ST (0 fx), kuriame nėra ERY požymių. Visi sekantys matavimai buvo lyginami su kontroliniu matavimu prieš gydymą. Dermoskopu stebimos silpnos ERY pavyzdys po 5 fx ir 10 fx pateiktas 28 pav. viršutinėje vidurinėje ir dešinėje srityje. Ryškios ERY dermoskopinis vaizdas pateiktas 28 pav. apatinėje dalyje po 15 fx, 20 fx ir 25 fx.

Visų biomedicininiame tyrime dalyvavusių tiriamųjų ERY vertinimas dermoskopu pateikiamas 14 lentelėje.

		•	5	5 (			1
Pož.	Laip.	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
		N (proc.)	N (proc.)				
	0	103 (100)	71 (68,9)	37 (35,9)	16 (15,5)	3 (2,9)	2 (1,9)
EDV	1	0	31 (30,1)	61 (59,2)	78 (75,7)	59 (57,3)	28 (27,2)
EK I	2	0	0	3 (2,9)	9 (8,7)	39 (37,.9)	62 (60,2)
	NA	0	1 (1,0)	2 (1,9)	0	2 (1,9)	11 (10,7)

14 lentelė. Visų biomedicininio tyrimo dalyvių ERY vertinimas dermoskopu.

Pož. - požymis, laip. – laipsnis, fx – frakcija, N – skaičius, proc. – procentai, ERY – eritema, NA – neatlikta.

Logistinė regresija parodė, jog didesnis ERY laipsnis nustatomas dermoskopijos metu yra susijęs (p < 0.0001) su didesniu ūminio SD laipsniu nustatytu remiantis CTCAE skale.

Po 5 fx dermoskopu ERY nustatyta 30 proc. tiriamųjų, o po 10 fx - 62,1 proc., tuo tarpu odos paraudimas klinikinio vertinimo metu atitinkamai nustatytas 12,6 proc. ir 41,8 proc. tiriamųjų (12 lentelė).

# 4.6. Ūminio spindulinio dermatito klinikinio vertinimo palyginimas su KAM ir skaitmenine dermoskopija

Siekiant mikroskopiškai nustatomus JS sukeliamo odos pažeidimo požymius (spongiozė, egzocitozė, DE, ULD ir PDP) palyginti su klinikiniu ūminio SD vertinimu (CTCAE skalė), buvo suskaičiuotas KAM požymių koeficientas (KAM<sub>koef</sub>). Visų pirma, remiantis formule (1), buvo suskaičiuota KAM požymių suma (KAM<sub>sum</sub>):

$$KAM_{sum} = S_{,E_{maks}} + UDL + DE + PDP$$
(1)

Formulėje spongiozė ir egzocitozė buvo skaičiuojamos kaip vienas požymis ir tik vieno iš jų maksimali vertė buvo įtraukiama į skaičiavimus (S,E<sub>maks</sub>). Kitų požymių (ULD, DE ir PDP) vertės paimtos iš 13 lentelės.

Remiantis KAM požymių svarba, KAM<sub>sum</sub> vertės buvo priskiriamos KAM<sub>koef</sub> vertėms. Nespecifiniai uždegiminiai požymiai kaip žemo laipsnio spongiozė ar egzocitozė buvo prilyginami KAM<sub>koef</sub> 0 vertei. Grįžtami KAM požymiai, kurie nepažeidžia odos struktūros (didesnio laipsnio spongiozė, egzocitozė ir UMD), buvo prilyginami KAM<sub>koef</sub> 1 vertei. Aukšto laipsnio KAM požymiai sukeliantys odos pažeidimą buvo prilyginami KAM<sub>koef</sub> 2 vertei. KAM<sub>koef</sub> verčių priklausomybė nuo KAM<sub>sum</sub> pateikiama 15 lentelėje.

KAM <sub>sum</sub>	KAM <sub>koef</sub>
0 - 1	0
2-5	1
6-8	2

15 lentelė. KAM<sub>koef</sub> apskaičiavimas pagal KAM<sub>sum</sub> vertes.

KAM<sub>sum</sub> - konfokalinės atspindžio mikroskopijos požymių suma pagal formulę (1); KAM<sub>koef</sub> - konfokalinės atspindžio mikroskopijos koeficientas.

Visų biomedicininiame tyrime dalyvavusių tiriamųjų KAM<sub>koef</sub> vertės pateikiamos 16 lentelėje.

Pož.	Ver.	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
		N (proc.)					
	0	103 (100)	97 (96,0)	80 (77,7)	41 (39,8)	0	0
KAM	1	0	4 (4,0)	23 (22,3)	60 (58,3)	91 (90,1)	46 (50,0)
KAWkoef	2	0	0	0	2 (1,9)	10 (9,9)	46 (50,0)
	NA	0	2 (1,9)	0	0	2 (1,9)	11 (10,7)

16 lentelė. Visų biomedicininio tyrimo dalyvių KAM<sub>koef</sub> vertės.

Pož. - požymis, laip. – laipsnis, fx – frakcija, N – skaičius, proc. – procentai, KAM<sub>koef</sub> - konfokalinės atspindžio mikroskopijos koeficientas, NA – neatlikta.

Logistinė regresija parodė, jog didesnė  $KAM_{koef}$  vertė yra susijusi (p < 0.0001) su didesniu ūminio SD laipsniu, nustatytu remiantis CTCAE skale.

Siekiant palyginti mikroskopiškai (spongiozė, egzocitozė, DE, ULD ir PDP) ir dermoskopiškai (ERY) nustatomus JS sukeliamo odos pažeidimo požymius su klinikiniu ūminio SD vertinimu (CTCAE skalė), buvo suskaičiuotas KAM ir dermoskopijos požymių koeficientas (KAM-ERY<sub>koef</sub>). Visų pirma, remiantis formule (2), buvo suskaičiuota KAM ir dermoskopijos požymių suma (KAM-ERY<sub>sum</sub>):

$$KAM-ERY_{sum} = KAM_{sum} + ERY$$
(2)

Šioje formulėje KAM<sub>sum</sub> apskaičiuojamas remiantis formule (1), o ERY yra dermoskopiškai stebima odos eritema iš 14 lentelės.

Priklausomai nuo KAM-ERY<sub>sum</sub> yra nustatoma KAM-ERY<sub>koef</sub> vertė, kuri gali būti nuo 0 iki 2 (17 lentelė).

KOCI I	r o sun
KAM-ERY <sub>sum</sub>	KAM-ERY <sub>koef</sub>
0 - 1	0
2-5	1
6-10	2

17 lentelė. KAM-ERY<sub>koef</sub> apskaičiavimas pagal KAM-ERY<sub>sum</sub> vertes.

KAM-ERY<sub>sum</sub> - konfokalinės atspindžio mikroskopijos ir dermoskopijos požymių suma pagal formulę (2); KAM-ERY<sub>koef</sub> - konfokalinės atspindžio mikroskopijos ir dermoskopijos koeficientas.

Visų biomedicininio tyrimo dalyvių KAM-ERY<sub>koef</sub> vertės pateikiamos 18 lentelėje.

Pož.	Ver.	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
		N (proc.)					
	0	103 (100)	79 (78,2)	32 (31,1)	13 (12,6)	0	0
KAM-	1	0	22 (21,8)	70 (68,0)	88 (85,4)	66 (65,3)	16 (17,4)
$\text{ERY}_{\text{koef}}$	2	0	0	1 (1,0)	2 (1,9)	35 (34,8)	76 (82,6)
	NA	0	2 (1.9)	0	0	2 (1,9)	11 (10,7)

18 lentelė. Visų biomedicininio tyrimo dalyvių KAM-ERY<sub>koef</sub> vertės.

Pož. - požymis, laip. – laipsnis, fx – frakcija, N – skaičius, proc. – procentai, KAM-ERY<sub>koef</sub> - konfokalinės atspindžio mikroskopijos ir dermoskopijos koeficientas, NA – neatlikta.

Logistinė regresija parodė, jog didesnė KAM-ERY<sub>koef</sub> vertė yra susijusi (p < 0.0001) su didesniu ūminio SD laipsniu nustatytu remiantis CTCAE skale.

Siekiant klinikinį ūminio SD pasireiškimą (CTCAE skalė) palyginti su ERY,  $KAM_{koef}$  ir KAM-ERY<sub>koef</sub> (kai matavimai atlikti tuo pačiu metu), buvo panaudotas Chi kvadrato testas (19 lentelė).

					10 fx	, N (pro	c.)					
CTCAE		ERY			]	KAM <sub>koe</sub>	f	n	KA	M-ERY	koef	
CICAE	0	1	2	p	0	1	2	p	0	1	2	p
0	26	34	0		46	15	0		24	37	0	
0	(52,7)	(33,7)	°		(44,7)	(14,6)	•		(23,3)	(35,9)	ů	
Ι	10 (9.9)	(26.7)	(3.0)	0.06	33 (32.0)	8 (7.8)	0	0.72	(6.8)	33 (32.0)		0.06
	1	(20,7)	(3,0)	0,00	1	(7,0)	0	0,72	1	(52,0)	0	0,00
11	(1,0)	0	0		(1,0)	0	0		(1,0)	0	0	
III	0	0	0		0	0	0		0	0	0	
					15 fx	, N (pro	c.)					
CTCAE	ERY ERY KAM <sub>koef</sub>						n	KA	M-ERY	koef	n	
CICAL	0	1	2	P	0	1	2	P	0	1	2	p
0	3	18	0		8	13	0		4	17	0	
	(2,9)	(17,5)	0		(7,8)	(12,6)	2		(3,9)	(16,5)	2	
Ι	(12.6)	(57.3)	8 (7.8)	0.15	32 (31.1)	40 (44.7)	(2.5)	0.95	9 (8.7)	69 (67.0)	2 (1.9)	0.78
п	0	1	1	0,15	1	1	0	0,75	0	2	0	0,70
11	0	(1,0)	(1,0)		(1,0)	(1,0)	0		0	(1,9)	0	
III	0	0	0		0	0	0		0	0	0	
					20 fx	, N (prod	c.)					
CTCAE		ERY		n	]	KAM <sub>koe</sub>	f	n	KA	M-ERY	koef	n
CICAL	0	1	2	P	0	1	2	P	0	1	2	P
	1										2	
0	1	5	1		0	7	0		0	7	0	
0	(1,0)	5 (5,0)	1 (1,0) 23		0	7 (6,9)	0		0	7 (6,9)	2 0 20	
0 I	(1,0) 1 (1,0)	5 (5,0) 43 (42,6)	1     (1,0)     23     (22,8)	0.06	0	7 (6,9) 63 (62,4)	0 4 (4,0)	0.04	0	7 (6,9) 47 (46,5)	2 0 20 (19,8)	0.01
0 I II	(1,0) (1,0) (1,0) 1	5 (5,0) 43 (42,6) 11	1 (1,0) 23 (22,8) 15	0,06	0	7 (6,9) 63 (62,4) 21	0 4 (4,0) 6	0,04	0	7 (6,9) 47 (46,5) 12	2 0 (19,8) 15	0,01
0 I II	$ \begin{array}{c} 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \end{array} $	5 (5,0) 43 (42,6) 11 (10,9)	1 (1,0) 23 (22,8) 15 (14,9)	0,06	0 0 0	7 (6,9) 63 (62,4) 21 (20,8)	0 4 (4,0) 6 (5,.9)	0,04	0 0 0	7 (6,9) 47 (46,5) 12 (11,9)	2 0 (19,8) 15 (14,9)	0,01
0 I II III	$ \begin{array}{c} 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 0 \\ \end{array} $	5 (5,0) 43 (42,6) 11 (10,9) 0	1 (1,0) 23 (22,8) 15 (14,9) 0	0,06	0 0 0 0	7 (6,9) 63 (62,4) 21 (20,8) 0	0 4 (4,0) 6 (5,.9) 0	0,04	0 0 0 0	7 (6,9) 47 (46,5) 12 (11,9) 0	2 0 (19,8) 15 (14,9) 0	0,01
0 I II III	$ \begin{array}{c} 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 0 \\ \end{array} $	5 (5,0) 43 (42,6) 11 (10,9) 0	1 (1,0) 23 (22,8) 15 (14,9) 0	0,06	0 0 0 25 fx	7 (6,9) 63 (62,4) 21 (20,8) 0	0 4 (4,0) 6 (5,.9) 0 2.)	0,04	0 0 0 0	7 (6,9) 47 (46,5) 12 (11,9) 0	2 0 (19,8) 15 (14,9) 0	0,01
0 I II III CTCAE	$ \begin{array}{c} 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 0 \\ \end{array} $	5 (5,0) 43 (42,6) 11 (10,9) 0 ERY	1 (1,0) 23 (22,8) 15 (14,9) 0	0,06	0 0 0 25 fx	7 (6,9) 63 (62,4) 21 (20,8) 0 x, N (proo KAM <sub>koe</sub>	0 4 (4,0) 6 (5,.9) 0 c.) f	0,04	0 0 0 KA	7 (6,9) 47 (46,5) 12 (11,9) 0 M-ERY	2 0 (19,8) 15 (14,9) 0	0,01
0 I II III CTCAE	$ \begin{array}{c} 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 0 \\ \end{array} $ 0	5 (5,0) 43 (42,6) 11 (10,9) 0 ERY 1	1 (1,0) 23 (22,8) 15 (14,9) 0 2	0,06	0 0 0 25 fx 0	7 (6,9) 63 (62,4) 21 (20,8) 0 x, N (proo KAM <sub>koe</sub> 1	0 4 (4,0) 6 (5,9) 0 2.) f 2	0,04	0 0 0 KA 0	7 (6,9) 47 (46,5) 12 (11,9) 0 M-ERY 1	2 0 (19,8) 15 (14,9) 0 koef 2	0,01
0 I III III CTCAE 0	1 (1,0) 1 (1,0) 1 (1,0) 0 0	5 (5,0) 43 (42,6) 11 (10,9) 0 ERY 1 0	1 (1,0) 23 (22,8) 15 (14,9) 0 2 0	0,06	0 0 0 25 fx 0 0	7 (6,9) 63 (62,4) 21 (20,8) 0 3, N (proo KAM <sub>koe</sub> 1 0	$ \begin{array}{c} 0 \\ 4 \\ (4,0) \\ 6 \\ (5,9) \\ 0 \\ c.) \\ f \\ 2 \\ 0 \\ \end{array} $	0,04	0 0 0 KA 0 0	7 (6,9) 47 (46,5) 12 (11,9) 0 M-ERY 1 0	2 0 (19,8) 15 (14,9) 0 	0,01
0 I III CTCAE 0 I	1 (1,0) 1 (1,0) 1 (1,0) 0 0 0 0 1	5 (5,0) 43 (42,6) 11 (10,9) 0 ERY 1 0 19	1 (1,0) 23 (22,8) 15 (14,9) 0 2 2 0 20	0,06	0 0 0 25 fx 0 0 0	7 (6,9) 63 (62,4) 21 (20,8) 0 ., N (prod KAM <sub>koe</sub> 1 0 27	$ \begin{array}{r} 0 \\ 4 \\ (4,0) \\ 6 \\ (5,.9) \\ 0 \\ 2.) \\ f \\ 2 \\ 0 \\ 13 \\ \end{array} $	0,04	0 0 0 KA 0 0 0	7 (6,9) 47 (46,5) 12 (11,9) 0 M-ERY 1 0 11	2 0 (19,8) 15 (14,9) 0 koef 2 0 29	0,01
0 I II III CTCAE 0 I	$ \begin{array}{c} 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 0 \\ \hline \\ 0 \\ \hline \\ 0 \\ 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ \end{array} $	5 (5,0) 43 (42,6) 11 (10,9) 0 ERY 1 0 19 (20,7) 9	$ \begin{array}{c} 1\\ (1,0)\\ 23\\ (22,8)\\ 15\\ (14,9)\\ 0\\ \hline 2\\ 0\\ 20\\ (21,7)\\ 41\\ \end{array} $	0,06	0 0 0 25 fx 0 0 0	7 (6,9) 63 (62,4) 21 (20,8) 0 ., N (proo KAM <sub>koe</sub> 1 0 27 (29,3) 19	$ \begin{array}{c} 0 \\ 4 \\ (4,0) \\ 6 \\ (5,9) \\ 0 \\ \hline 0 \\ c.) \\ f \\ \hline 2 \\ 0 \\ \hline 13 \\ (14,1) \\ 32 \\ \end{array} $	0,04	0 0 0 0 KA 0 0 0	7 (6,9) 47 (46,5) 12 (11,9) 0 M-ERY 1 0 11 (12,0) 5	2 0 (19,8) 15 (14,9) 0 koef 2 0 (31,5) 46	0,01
0 I III CTCAE 0 I II	$ \begin{array}{c} 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 0 \\ \hline \\ 0 \\ \hline \\ 0 \\ 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ \end{array} $	$5 \\ (5,0) \\ 43 \\ (42,6) \\ 11 \\ (10,9) \\ 0 \\ \hline \\ BRY \\ 1 \\ 0 \\ 19 \\ (20,7) \\ 9 \\ (9,8) \\ \hline $	1 (1,0) 23 (22,8) 15 (14,9) 0 20 (21,7) 41 (44,6)	0,06 <i>p</i> 0,04	0 0 0 25 fx 0 0 0 0	7 (6,9) 63 (62,4) 21 (20,8) 0	0 4 (4,0) 6 (5,9) 0 c.) f 2 0 13 (14,1) 32 (34,8)	0,04 <i>p</i> 0,01	0 0 0 0 KA 0 0 0 0 0	$7 \\ (6,9) \\ 47 \\ (46,5) \\ 12 \\ (11,9) \\ 0 \\ 0 \\ M-ERY \\ 1 \\ 0 \\ 11 \\ (12,0) \\ 5 \\ (5,4) \\ 0 \\ 1 \\ 0 \\ 11 \\ (12,0) \\ 5 \\ (5,4) \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ $	2 0 (19,8) 15 (14,9) 0 2 (14,9) 0 2 9 (31,5) 46 (5,0)	0,01 <i>p</i> 0,08
0 I III CTCAE 0 I I III	$ \begin{array}{c} 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 0 \\ \hline 0 \\ 1 \\ (1,0) \\ 1 \\ (1,0) \\ 0 \\ \end{array} $	5 (5,0) 43 (42,6) 11 (10,9) 0 ERY 1 0 (20,7) 9 (9,8) 0	$ \begin{array}{c} 1\\(1,0)\\23\\(22,8)\\15\\(14,9)\\0\\\end{array} $ $ \begin{array}{c} 2\\0\\(21,7)\\41\\(44,6)\\1\\\end{array} $	0,06	0 0 0 25 fx 0 0 0 0 0	7 (6,9) 63 (62,4) 21 (20,8) 0 ., N (proc KAM <sub>koe</sub> 1 0 27 (29,3) 19 (20,7) 0	$\begin{array}{c} 0 \\ \hline 4 \\ (4,0) \\ \hline 6 \\ (5,9) \\ \hline 0 \\ \hline 2.) \\ \hline f \\ \hline 2 \\ \hline 0 \\ \hline 13 \\ (14,1) \\ \hline 32 \\ (34,8) \\ \hline 1 \\ \end{array}$	0,04 <i>p</i>	0 0 0 0 KA 0 0 0 0 0	7 (6,9) 47 (46,5) 12 (11,9) 0 M-ERY 1 0 11 (12,0) 5 (5,4) 0	2 0 (19,8) 15 (14,9) 0 koef 2 0 (31,5) 46 (5,0) 1	0,01

19 lentelė. Remiantis CTCAE skale nustatomo ūminio SD laipsnio sąsaja su dermoskopijos ir KAM matavimais pagal Chi kvadrato testą.

fx - frakcija, CTCAE - Common Terminology Criteria for Adverse Events skalė, $<math>\overline{USD} - \overline{u}$ minis spindulinis dermatitas, ERY – dermoskopu nustatoma eritema,  $KAM_{koef}$  - konfokalinės atspindžio mikroskopijos koeficientas, KAM-ERY<sub>koef</sub> konfokalinės atspindžio mikroskopijos ir dermoskopijos koeficientas, N – skaičius, proc. – procentai, p – reikšmingumo lygmuo. Po 20 fx ūminio SD laipsnis (CTCAE skalė) buvo statistiškai reikšmingai susijęs su KAM<sub>koef</sub> (p=0,04) ir KAM-ERY<sub>koef</sub> (p=0,01) vertėmis: didėjant CTCAE laipsnio dažniui, didėja ir KAM<sub>koef</sub> ir KAM-ERY<sub>koef</sub> vertės. Tuo tarpu po 25 fx ūminio SD laipsnis (CTCAE skalė) buvo statistiškai reikšmingai susijęs su KAM<sub>koef</sub> (p=0,01) ir ERY (p=0,04) vertėmis.

#### 4.7. KAM predikcinės reikšmės vertinimas

Kitas svarbus klausimas yra, ar KAM ir dermoskopiškai gydymo pradžioje (po 10 fx ir 15 fx) nustatomi požymiai gali statistiškai reikšmingai atskirti I ir II ūminio SD laipsnį (CTCAE skalė), nustatomą gydymo pabaigoje (po 20 fx ir 25n fx). Vertinant tą patį tiriamąjį, KAM<sub>koef</sub> 1 vertė nustatyta po 10 fx ir 15 fx lemia statistiškai reikšmingai didesnę tikimybę, jog po 20 fx bus nustatomas II ūminio SD laipsnis pagal CTCAE skalę, lyginant su I laipsniu (20 lentelė).

	Binarinė logistinė regresija		AUC	
Kintamasis	TS (95 proc. PI)	р	Plotas (95 proc.	р
			PI)	
KAM <sub>koef</sub> 10 fx:			0,64	
1	4,83 (1,78–13,2)	0,002	(0,52–0,76)	0.022
0	-	Ref.		0,022
KAM <sub>koef</sub> 15 fx:			0.75	
1	14,5 (4,0–52,1)	<0,001	(0.65-0.84)	<0,0001
0	-	Ref.	(0,05 0,01)	

20 lentelė. Po 20 fx nustatomo CTCAE laipsnio diagnostinių faktorių binarinė logistinė regresija.

fx - frakcija, CTCAE - Common Terminology Criteria for Adverse Events skalė, KAM<sub>koef</sub> - konfokalinės atspindžio mikroskopijos koeficientas, KAM-ERY<sub>koef</sub> konfokalinės atspindžio mikroskopijos ir dermoskopijos koeficientas, p – reikšmingumo lygmuo, AUC – plotas po kreive (angl. area under the curve), TS – tikimybių santykis, PI – pasikliautinasis intervalas, Ref. – referentinė grupė.

Lygiai taip pat, vertinant tą patį tiriamąjį,  $KAM_{koef}$  l vertė nustatyta po 15 fx lemia statistiškai reikšmingai didesnę tikimybę, jog po 25 fx bus nustatomas II ūminio SD laipsnis pagal CTCAE skalę, lyginant su I laipsniu (21 lentelė).
	Binarinė logistinė r	egresija	AUC	
Kintamasis	TS (95 proc. PI)	р	Plotas (95 proc.	р
			PI)	
KAM <sub>koef</sub> 10 fx:			0.59	
1	5,0 (0,6–40,4)	0,131	(0.45 - 0.73)	0,24
0	-	Ref.	$(0, +5^{-0}, 75)$	
KAM <sub>koef</sub> 15 fx:			0.74	
1	8,8 (2,3–33,8)	0,001	(0.61 - 0.87)	0,002
0	-	Ref.	(0,01-0,07)	

21 lentelė. Po 25 fx nustatomo CTCAE laipsnio diagnostinių faktorių binarinė logistinė regresija.

fx - frakcija, CTCAE - Common Terminology Criteria for Adverse Events skalė,KAM<sub>koef</sub> - konfokalinės atspindžio mikroskopijos koeficientas, KAM-ERY<sub>koef</sub> konfokalinės atspindžio mikroskopijos ir dermoskopijos koeficientas, p –reikšmingumo lygmuo, AUC – plotas po kreive (angl. area under the curve), TS –tikimybių santykis, PI – pasikliautinasis intervalas, Ref. – referentinė grupė.

Po 10 fx ir po 15 fx nustatomo RCM<sub>koef</sub> koeficiento AUC įverčiai taip pat buvo statistiškai reikšmingi prognozuojant didesnį ūminio SD laipsnį pagal CTCAE skalę po 20 fx ir 25 fx. Statistinės analizės rezultatai parodė, kad ST pradžioje nustatomas KAM<sub>koef</sub> reikšmingai atskiria I ir II CTCAE laipsnį gydymo pabaigoje, todėl gali būti vertingas predikcinis faktorius.

## 4.8. Odos priežiūros įtaka klinikiniam ūminio spindulinio dermatito pasireiškimui

Prieš ST visi tiriamieji buvo atsitiktinai suskirstyti į dvi grupes pagal odos priežiūrą. Geriausios palaikomosios priežiūros (GPP) grupės tiriamiesiems skirtas kasdienis odos prausimas duše ir laisvų natūralaus audinio rūbų dėvėjimas. Jei šios grupės tiriamiesiems ūminis SD pasiekia II laipsnį pagal CTCAE skalę, skiriamas kremas ("Medetkų kremas", Sanitas) odai tepti 2 kartus per dieną. Papildomos odos priežiūros (POP) grupės tiriamiesiems taip pat taikoma geriausia palaikomoji odos priežiūra ir papildomai nuo gydymo pradžios skirtas paprastas, bekvapis, drėkinamasis kremas.

Lyginant tiriamųjų charakteristikas nebuvo nustatyta statistiškai reikšmingo skirtumo tarp tiriamųjų skirtingos odos priežiūros grupių pagal amžių, ligos stadiją, hormonų terapiją, krūties tūrį, odos priežiūrą ir ST dozę (22 lentelė).

Tiriamų	jų charakteristikos	GPP	РОР	р
Tiriamieji	N (proc.)	44 (48,8)	47 (51,6)	
	Vidurkis, SN	58,6 ±7,5	56,0 ±10,1	
Amžius, m	mediana	59,0	56,0	0,17
	Min - maks	40,6 - 75,7	28,3 - 75,2	
Ligos	0, N (%)	9 (9,9)	14 (15,4)	
stadija	I, N (%)	28 (30,8)	19 (20,9)	0,08
j-:	II, N (%)	7 (7,7)	14 (15,4)	
НТ	Ne, N (%)	12 (13,2)	15 (16,5)	0.63
	Taip, N (%)	32 (35,2)	32 (35,2)	- ,
Krūties	Vidurkis, SN	864 ±441	837 ±444	0.99
tūris (ml)				
IRJ, %	Vidurkis, SN	64,6 ±11,9	65,8 ±10,6	0,70
	D <sub>mean</sub> CTV95%, SN	48,6 ±1,55	48,8 ±1,28	0,51
Dozė, Gy	HI	0,44 ±0,11	0,46±0,12	0,61
	CTV D <sub>max</sub> , SN	54,1 ±1,29	54,2 ±1,11	0,85

22 Lentelė. Biomedicininio tyrimo tiriamųjų charakteristikų palyginimas tarp skirtingos odos priežiūros grupių.

IRJ – individualus radiojautrumas, m—metai, N—skaičius, proc. – procentai, SN standartinis nuokrypis, min—minimumas, maks—maksimumas, p – reikšmingumo lygmuo, HT—hormonų terapija, GPP – geriausia palaikomoji priežiūra, POP – papildoma odos priežiūra, Gy—grėjai, D<sub>mean</sub>—vidutinė dozė, CTV—klinikinis taikinio tūris, D<sub>max</sub> – didžiausia dozė, HI—homogeniškumo indeksas.

Klinikinio ūminio SD vertinimo metu pagal CTCAE skalę taip pat kaip atskiras požymis buvo vertinama (ST metu ir iki 4 sav. po gydymo) ir odos drėgna deskvamacija (DD).

ŪSD	-	GPP, N (proc,)	POP, N (proc.)	р
CTCAE 5 fx	0	37 (40,7)	42 (46,2)	0.33
	Ι	7 (7,7)	5 (5,5)	
	0	27 (29,7)	28 (30,8)	0.56
CTCAE 10 fx	Ι	16 (17,6)	19 (20,9)	
	II	1 (1,1)	0	-
	0	9 (9,9)	9 (9,9)	
CTCAE 15 fx	Ι	33 (36,3)	38 (41,8)	0,32
	II	2 (2,2)	0	-
	0	4 (4,4)	1 (1,1)	
CTCAE 20 fx	Ι	30 (33,0)	35 (38,5)	0,34
	II	10 (11,0)	11 (12,1)	-
	Ι	21 (23,1)	20 (22,0)	
CTCAE 25 fx	II	23 (25,3)	25 (27,5)	0,37
	III	0	2 (2,2)	
DD	Ne	33 (36,3)	39 (42,9)	0.25
	Taip	11 (12,1)	8 (8,8)	

23 lentelė. Biomedicininio tyrimo dalyvių klinikinio ūminio SD pasireiškimo palyginimas tarp skirtingos odos priežiūros grupių.

ŪSD – ūminis spindulinis dermatitas, GPP – geriausia palaikomoji priežiūra, POP – papildoma odos priežiūra, fx – frakcija, N — skaičius, proc. – procentai, CTCAE -Common Terminology Criteria for Adverse Events skalė, p – reikšmingumo lygmuo, DD – drėgna deskvamacija.

Lyginant skirtingos odos priežiūros tiriamųjų grupes nebuvo nustatyta statistiškai reikšmingo skirtumo pagal klinikinį (CTCAE skalė) ūminio SD pasireiškimą ar DD atsiradimą (23 lentelė).

### 4.9. IRJ įtaka klinikiniam ūminio spindulinio dermatito pasireiškimui

Iš 108 biomedicininio tyrimo dalyvių IRJ nustatytas 91 tiriamajam. Nei vienam tiriamajam nebuvo nustatytas atsparumas JS, 10 (11 proc.) turėjo normalų IRJ, 47 (52 proc.) buvo jautrūs JS ir 34 (37 proc.labai jautrūs JS.

24 lentelė. Biomedicininio tyrimo tiriamųjų charakteristikų palyginimas tarp skirtingo IRJ grupių.

Tiriamųjų	charakteristikos	II IRJ kat.	III IRJ kat.	IV IRJ kat.	р
Tiriamieji	N (proc.)	10 (11)	47 (52)	34 (37)	
	Vidurkis, SN	60,62 ±10,54	58,01 ±8,48	55,08 ±8,88	
Amžius, m	mediana	59,85	57,5	55,2	0,18
	Min - maks	39,6 - 75,5	31,0-75,7	28,3 - 71,5	1
Ligos	0, N (proc.)	3 (3,3)	15 (16,5)	5 (5,5)	
stadija	I, N (proc.)	3 (3,3)	22 (24,2)	22 (24,2)	0,18
	II, N (proc.)	4 (4,4)	10 (11,0)	7 (7,7)	-
НТ	Ne, N (proc.)	2 (2,2)	16 (17,6)	9 (9,9)	0.68
	Taip, N (proc.)	8 (8,8)	31 (34,1)	25 (27,5)	
Krūties tūris (ml)	Vidurkis, SN	951 ±481	866 ±477	800 ±379	0,68
Odos	GPP, N (proc.)	5 (5,5)	26 (28,6)	13 (14,3)	0.31
priežiūra	POP, N (proc.)	5 (5,5)	21(23,1)	21(23,1)	
Dozė, Gy	D <sub>mean</sub> CTV95%, SN	48,93 ±0,96	48,37 ±1,24	49,11 ±1,64	0,20
	HI	0,43 ±0,13	0,46±0,10	0,45 ±0,12	0,74
	CTV D <sub>max</sub> , SN	54,1 ±0,15	53,8 ±0,98	54,6±1,45	0,29

*II IRJ kat.* – 30 proc.≤*IRJ*≤50 proc., *III IRJ kat.* – 50 proc.≤*IRJ*≤70 proc., *IV IRJ kat.* – *IRJ*>70 proc., *IRJ* – *individualus radiojautrumas*, *m*−*metai*, *N*−*skaičius*, proc. –

procentai, SN—standartinis nuokrypis, min—minimumas, maks—maksimumas, p – reikšmingumo lygmuo, HT—hormonoterapija, GPP – geriausia palaikomoji priežiūra, POP – papildoma odos priežiūra, Gy—grėjai, D<sub>mean</sub>—vidutinė dozė, CTV—klinikinis taikinio tūris, D<sub>max</sub> – didžiausia dozė, HI—homogeniškumo indeksas

Lyginant tiriamųjų charakteristikas nebuvo nustatyta statistiškai reikšmingo skirtumo tarp tiriamųjų IRJ grupių pagal amžių, ligos stadiją, hormonoterapiją, krūties tūrį, odos priežiūrą ir ST dozę (24 lentelė).

25 lentelė. Biomedicininio tyrimo dalyvių klinikinio ūminio SD pasireiškimo palyginimas tarp skirtingo IRJ grupių.

ŪSD		II IRJ kat.	III IRJ kat.	IV IRJ kat.	
USD		N (proc.)	N (proc.)	N (proc.)	p
CTCAE 5 fv	0	9 (9,9)	40 (44,0)	30 (33,0)	0.01
CICAE J IX	Ι	1 (1,1)	7 (7,7)	4 (4,4)	0,91
	0	3 (3,3)	28 (30,8)	24 (26,4)	0.15
CTCAE 10 fx	Ι	7 (7,7)	19 (20,9)	9 (9,9)	0,15
	II	0	0	1 (1,1)	-
	0	0	9 (9,9)	9 (9,9)	
CTCAE 15 fx	Ι	10 (11,0)	37 (40,7)	24 (26,4)	0,38
	II		1 (1,1)	1 (1,1)	
	0		2 (2,2)	3 (3,3)	
CTCAE 20 fx	Ι	6 (6,6)	38 (41,8)	21 (23,1)	0,91
	II	4 (4,4)	7 (7,7)	10 (11,0)	
	Ι	3 (3,3)	22 (24,2)	16 (17,6)	
CTCAE 25 fx	II	7 (7,7)	24 (26,4)	17 (18,7)	0,88
	III	0 (0)	1 (1,1)	1 (1,1)	

מח	Ne	9 (9.9)	37 (40.7)	26 (28.6)	0.81
DD	Taip	1 (1.1)	10 (11.0)	8 (8.8)	0.81

 $\overline{U}SD - \overline{u}minis spindulinis dermatitas, II IRJ kat. - 30proc. <math>\leq IRJ \leq 50proc., III IRJ$ kat. - 50proc.  $\leq IRJ \leq 70proc., IV$  IRJ kat. - IRJ>70proc., IRJ - individualus radiojautrumas, fx - frakcija, N — skaičius, proc. - procentai, CTCAE - Common Terminology Criteria for Adverse Events skalė, p - reikšmingumo lygmuo, DD drėgna deskvamacija.

Lyginant skirtingo IRJ tiriamųjų grupes pagal klinikinį (CTCAE skalė) ūminio SD pasireiškimą ar DD atsiradimą, statistiškai reikšmingo skirtumo taip pat nebuvo nustatyta (25 lentelė).

# 4.10. Įvairių rizikos veiksnių įtaka klinikiniam ūminio spindulinio dermatito pasireiškimui

Siekiant nustatyti skirtingų rizikos veiksnių įtaką kartotiniam ūminio SD vertinimui, buvo pritaikyta logistinė regresija. Šiame logistinės regresijos modelyje kaip atsakas buvo pasirinktas ūminio SD laipsnis vertinamas pagal CTCAE skalę nuo 10 fx (kai 41 proc. tiriamųjų buvo stebimi JS poveikio sukelti odos pažeidimo simptomai) iki 25 fx.Vienfaktorinė logistinė regresija parodė, jog statistiškai reikšmingą įtaką ūminio SD pasireiškimui turi amžius, krūties dydis ir ligos stadija (26 lentelė).

	Aiškinamieji					
Atsakas	kintamieii	TS (95 proc. PI)	р			
	initiatio					
	Skaitiniai kintamieji					
	Amžius, m	0,97 (0,95 – 1,00)	0,046			
	Krūties tūris, ml	0,99 (0,99 – 0,99)	<0,001			
	IRJ, proc.	1,02 (0,99 – 1,04)	0,14			
	Krūties D <sub>mean</sub> , Gy	0,94 (0,82 - 1,08)	0,39			
ŪSD vertinimas	Krūties D <sub>max</sub> , Gy	0,93 (0,79 – 1,09)	0,38			
	Krūties dozės HI	2,66 (0,41 – 17,38)	0,31			
pagal CTCAE skalę	Odos D <sub>mean</sub> , Gy	1,07 (0,95 – 1,21)	0,29			
nuo 10 fx iki 25 fx	Odos D <sub>max</sub> , Gy	1,04 (0,89 – 1,21)	0,61			
	Odos dozės HI	3,58 (0,37 - 34,47)	0,29			
	ER, proc.	0.99 (0,99 – 1,00)	0,17			
	PR, proc.	0,99 (0,99 – 1,00)	0,48			
	Kategoi	riniai kintamieji				
	Ligos stadija	0,59 (0,36 – 0,96)	0,04			
	HT	0,85 (0,53 – 1,37)	0,52			
	РОР	0,93 (0,59 – 1,46)	0,74			

26 lentelė. Atskirų rizikos veiksnių įtaka kartotiniam ūminio SD vertinimui.

 $\overline{USD}$  – ūminis spindulinis dermatitas, POP – papildoma odos priežiūra, fx – frakcija, CTCAE - Common Terminology Criteria for Adverse Events skalė, p – reikšmingumo lygmuo, ), TS – tikimybių santykis, PI – pasikliautinasis intervalas, Gy—grėjai, D<sub>mean</sub>—vidutinė dozė, CTV—klinikinis taikinio tūris, D<sub>max</sub> – didžiausia dozė, HI—homogeniškumo indeksas, ER – estrogenų receptoriai, PR – progesterono receptoriai. Daugiafaktorinė logistinė regresija parodė, jog tik krūties dydis turi reikšmingą įtaką ūminio SD pasireiškimui (27 lentelė)

A 400 loop	Aiškinamieji	TS (05 mm a DI)				
Atsakas	kintamieji	15 (95 proc. PI)	р			
	Skaitiniai kintamieji					
	Amžius, m	1,01 (0,98 – 1,04)	0,64			
	Krūties tūris, ml	0,99 (0,99 – 1,00)	0,002			
	IRJ, proc.	1,02 (0,99 – 1,04)	0,18			
	Krūties D <sub>mean</sub> , Gy	1,28 (0,79 – 2,05)	0,31			
ŪSD vertinimes pagel	Krūties D <sub>max</sub> , Gy	0,67 (0,44 - 1,02)	0,06			
	Krūties dozės HI	4,22 (0,07 - 238,9)	0,49			
CTCAE skalę nuo 10	Odos D <sub>mean</sub> , Gy	1,12 (0,83 – 1,50)	0,46			
fx iki 25 fx	Odos D <sub>max</sub> , Gy	0,97 (0,74 – 1,28)	0,84			
	Odos dozės HI	10,52 (0.07 – 1591,52)	0,36			
	ER, proc.	1,1 (0,9913 – 1,0113)	0,62			
	PR, proc.	1,01 (0,9915 – 1,01)	0,78			
-	Kateg	oriniai kintamieji				
	Ligos stadija > 0	0,55 (0,29 – 1,04)	0,07			
	HT	1,44 (0,88 – 2,36)	0,15			
	POP	0,80 (0,51 - 1,24)	0,0			

27 lentelė. Rizikos veiksnių įtaka kartotiniam ūminio SD vertinimui.

 $\overline{USD} - \overline{u}minis spindulinis dermatitas}, POP - papildoma odos priežiūra, fx - frakcija, CTCAE - Common Terminology Criteria for Adverse Events skalė, p - reikšmingumo lygmuo, ), TS - tikimybių santykis, PI - pasikliautinasis intervalas, Gy—grėjai, D<sub>mean</sub>—vidutinė dozė, CTV—klinikinis taikinio tūris, D<sub>max</sub> - didžiausia dozė, HI—homogeniškumo indeksas, ER - estrogenų receptoriai, PR - progesterono receptoriai.$ 

### 4.11. Gyvenimo kokybės pokyčiai spindulinio gydymo metu

Tiriamieji prieš spindulinį gydymą, po 15 fx ir po 25 fx pildė dermatologinį gyvenimo kokybės indekso (DLQI) klausimyną (6 priedas). DLQI interpretacija pateikiama 8 lentelėje.

Visų biomedicininiame tyrime dalyvavusių tiriamųjų gyvenimo kokybės vertinimas pagal DLQI pateikiamas 28 lentelėje.

28 lentelė. Visų biomedicininio tyrimo dalyvių gyvenimo kokybės vertinimas pagal DLQI.

DLQI kategorija	Prieš ST, N (proc.)	15 fx, N (proc.)	25 fx, N (proc.)
DLQI 0	74 (68,5)	40 (37,0)	15 (13,9)
DLQI I	27 (25,0)	32 (29,6)	32 (29,6)
DLQI II	3 (2,8)	27 (25,0)	33 (30,6)
DLQI III	3 (2,8)	5 (4,6)	16 (14,8)
DLQI IV	0	0	1 (0,9)
NA	1 (0,9)	4 (3,6)	11 (10,2)

DLQI - dermatologinis gyvenimo kokybės indekso klausimynas, ST – spindulinė terapija, fx – frakcija, N — skaičius, proc. – procentai, NA – neatlikta

Iš 28 lentelėje pateiktų duomenų matome, jog prieš ST 93,5proc. tiriamųjų odos būklė neturėjo įtakos jų gyvenimo kokybei arba ši įtaka buvo maža. Tuo tarpu gydymo pabaigoje tokių tiriamųjų sumažėjo per pusę (43,5%), 30,6 proc. tiriamųjų įvertino, jog odos būklė turėjo vidutinę įtaką gyvenimo kokybei, o 15,7 proc.- didelę arba labai didelę.

		DLQI kategorija					
ŪSD		0	Ι	II	III	IV	р
		N (proc.)	N (proc.)	N (proc.)	N (proc.)	N (proc.)	
CTCAE 0 fx	0	74 (69,2)	27 (25,2)	3 (2,8)	3 (2,8)	0	-
	0	9 (8,7)	7 (6,7)	4 (3,8)	0	0	
CTCAE 15 fx	Ι	30 (28,8)	24 (23,1)	22 (21,2)	5 (4,8)	0	0,896
	II	1 (1,0)	1 (1,0)	1 (1,0)	0	0	

29 Lentelė. ūminio SD klinikinio pasireiškimo įtaka gyvenimo kokybei.

	Ι	5 (5,2)	17 (15,5)	15 (15,5)	6 (6,2)	0	
CTCAE 25 fx	II	10 (10,3)	14 (14,4)	18 (18,6)	10 (10,3)	1(1,0)	0,728
	III	0	1 (1,0)	0	0	0	

 $\overline{USD} - \overline{u}$ minis spindulinis dermatitas, DLQI - dermatologinis gyvenimo kokybės indekso klausimynas, (angl. dermatology life quality index), N — skaičius, proc. – procentai, , fx – frakcija

Atlikus statistinę analizę statistiškai reikšmingo ryšio tarp ūminio SD pasireiškimo ir gyvenimo kokybės nenustatyta (29 lentelė).

## 5. REZULTATŲ APTARIMAS

ūminis SD yra aktuali klinikinė problema, tačiau iki dabar nei vienos gydomosios priemonės efektyvumas nebuvo įvertintas didelės apimties klinikiniame tyrime [98]. Vis dar trūksta naujų tyrimų metodų, kurie pagerintų ūminio SD diagnostiką ir pagreitintų naujų šio JS sukeliamo šalutinio efekto prevencijai ir gydymui naudojamų priemonių kūrimą. Kai kurių ekspertų nuomone, papildomas odos drėkinimas ST metu galėtų sumažinti JS sukeliamą odos spindulinę reakciją [5, 18]. Taip pat manoma, kad iš kraujo limfocitų nustatomas IRJ gali padėti prognozuojant SD pasireiškimą [8, 9, 99]. Remiantis šiais teiginiais buvo suplanuotas biomedicininis tyrimas ir gautas leidimas jį atlikti.

Į galutinę šio darbo rezultatų analizę įtraukti 103 tiriamieji, visi tiriamieji buvo moteriškos lyties ir sirgo ankstyvos stadijos (I ir II) krūties vėžiu, dėl kurio buvo atlikta krūtį tausojanti operacija ir planuojamas visos krūties spindulinis gydymas.

Viso biomedicininio tyrimo tikslas buvo: nustatyti dėl JS poveikio atsirandančių KAM stebimų odos pažeidimo požymių sąsajas su klinikine ūminio SD eiga ir individualiomis pacientų charakteristikomis, bei įvertinti KAM predikcinę vertę.

Iš individualių pacientų charakteristikų, kurios galėtų turėti įtakos ūminio SD eigai ir KAM metu stebimiems požymiams, buvo pasirinktos šios: individualus radiojautrumas, odos priežiūra spindulinio gydymo metu ir gyvenimo kokybė.

Visi tiriamieji susipažino su IASF, pasirašė sutikimą dalyvauti tyrime ir buvo atsitiktinai suskirstyti į dvi grupes pagal ST metu taikomą odos priežiūrą. Po to iš venos buvo paimtas kraujas IRJ nustatymui, atlikti kontroliniai odos matavimai dermoskopu bei KAM, kliniškai įvertinta odos būklė pagal CTCAE skalę, taip pat buvo prašoma užpildyti dermatologinį gyvenimo kokybės indekso klausimyną (DLQI). ST metu kartą per savaitę (kas 5 fx) buvo pakartotinai vertinama odos būklė pagal CTCA skalę, bei atliekami matavimai dermoskopu ir KAM. Po 15 fx ir 25 fx buvo prašoma pakartotinai užpildyti dermatologinį gyvenimo kokybės indekso klausimyną (DLQI).

### 5.1. Pilotinis tyrimas

Visų pirma buvo atliktas pilotinis tyrimas su 10 tiriamųjų. Šio tyrimo metu buvo siekiama identifikuoti dėl JS poveikio atsirandančius odos pažeidimo požymius stebimus atliekant KAM, taip pat palyginti juos su klinikine ūminio SD eiga.

Iš 3.2 skyriuje pateiktų rezultatų matome, jog pilotinio tyrimo metu buvo identifikuoti šie KAM stebimi dėl JS poveikio atsirandantys odos pažeidimo požymiai: egzocitozė (E), spongiozė (S), uždegiminės ląstelės dermoje (UDP), epidermio struktūros pažeidimas (*angl. disarrayed epidermis* – DE), pažeistos dermos papilos (PDP).

Anksčiausiai (nuo 5 fx iki 15 fx) nustatomi odos struktūros pažeidimo nesukeliantys KAM požymiai: egzocitozė (23a pav.), spongiozė (24a pav.) ir uždegiminės ląstelės dermoje (25b pav.). Tuo tarpu struktūriniai odos pakitimai pasireiškia vėliau (nuo 20 fx iki 25 fx): epidermio struktūros pažeidimas (26a pav.) ir pažeistos dermos papilos (27b pav.).

Jau pilotinio tyrimo metu pastebėta, jog KAM stebimi dėl JS poveikio atsirandantys odos pažeidimo požymiai (10 lentelė) identifikuojami anksčiau, nei pasireiškia klinikiniai ūminio SD simptomai (9 lentelė).

Remiantis pilotinio tyrimo metu gautais duomenimis buvo atliekamas didelės apimties biomedicininis tyrimas, įtraukiant 103 tiriamuosius. Šio tyrimo metu buvo siekiama ne tik nustatyti KAM požymių pasireiškimo eigą ir dažnį, bet ir palyginti juos su klinikiniu ūminio SD pasireiškimu ir individualiomis pacientų charakteristikomis, taip pat įvertinti KAM predikcinę vertę.

### 5.2. ST ir klinikinis ūminio soindulinio dermatito pasireiškimas

Visiems tiriamiesiems ST buvo įgyvendinta pritaikius vienodą tradicinės visos krūties 3D-ST metodiką (17 pav.). JS dozė tenkanti krūties planavimo taikinio tūriui (planning target volume – PTV) siekė 50 Gy, kasdien skiriant po 2 Gy per fx, penkis kartus per savaitę. Taigi visas gydymas truko 25 darbo dienas.

Vidutinės dozės tenkančios 95 proc. CTV ( $D_{mean}$  CTV95 proc.) vidurkis buvo 48.8 Gy ±1.40, o homogeniškumo indekso vidurkis (HI) – 0.44 ±0.12 (11 lentelė). Vertinant ST parametrus ( $D_{mean}$  CTV95 proc., HI ir CTV  $D_{max}$ ) tarp tiriamųjų grupių, nebuvo nustatyta statistiškai reikšmingo skirtumo nei skirtingos odos priežiūros (22 lentelė), nei skirtingo IRJ (24 lentelė) grupėse. Todėl galima daryti prielaidą, jog visiems tiriamiesiems ST turėjo vienodą įtaką ūminio SD pasireiškimui. Visų tiriamųjų klinikinis ūminio SD pasireiškimas pagal CTCAE skalę pateikiamas 12 lentelėje. Kontrolinio odos vertinimo metu nustatyta, jog prieš pradedant ST visų tiriamųjų oda buvo sveika (CTCAE 0).

Po 5 fx (realizavus 10 Gy JS dozę) I laipsnio ūminis SD (CTCAE I) buvo nustatytas 13 tiriamųjų (12,6 proc.), o likusiems (90 (87,4 proc.)) pakitimų nestebėta.

Po 10 fx (realizavus 20 Gy JS dozę) I laipsnio ūminis SD (CTCAE I) buvo nustatytas 41 tiriamajam (39,8 proc.), vienam (1,0 proc.) - II laipsnio ūminis SD (CTCAE II), o likusiems (61 (59,2 proc.)) pakitimų nestebėta.

Po 15 fx (realizavus 30 Gy JS dozę) I laipsnio ūminis SD (CTCAE I) buvo nustatytas 80 tiriamųjų (77,8 proc.), dviem (1,9 proc.) - II laipsnio ūminis SD (CTCAE II), o likusiems (21 (20,4 proc.)) pakitimų nestebėta.

Po 20 fx (realizavus 40 Gy JS dozę) I laipsnio ūminis SD (CTCAE I) buvo nustatytas 68 tiriamajam (66,0 proc.), 28 (27,2 proc.) - II laipsnio ūminis SD (CTCAE II), o septyniems (6,8 proc.) pakitimų nestebėta.

Po 25 fx (realizavus 50 Gy JS dozę) nebuvo nei vieno tiriamojo be ūminio SD simptomų, I laipsnio ūminis SD (CTCAE I) buvo nustatytas 43 tiriamiesiems (41,7 proc.), 58 (56,3 proc.) - II laipsnio ūminis SD (CTCAE II), o dviems (1,3 proc.) - III laipsnio ūminis SD (CTCAE III).

Šio biomedicininio tyrimo dalyviams nustatytas klinikinis ūminio SD pasireiškimas buvo panašus kaip ir kitiems pacientams skiriant visos krūties 3D ST [97].

# 5.3. Mikroskopinis jonizuojančiosios spinduliuotės sukelto odos pažeidimo vertinimas

Mūsų žiniomis, tai pirmas prospektyvinis klinikinis tyrimas, kurio metu JS sukeliami odos pakitimai buvo analizuojami panaudojant KAM, ir į kurį įtraukta daugiau nei šimtas tiriamųjų.

Pirmasis ir iki šiol vienintelis panašus tyrimas buvo atliktas Vano-Galvan ir bendraautorių [17], kuriame, panaudojus KAM, buvo nagrinėjami visos krūties ST metu atsirandantys odos pažeidimai. Į minėtą tyrimą buvo įtrauktos šešios dėl krūties vėžio švitinamos pacientės, o KAM atlikta ST pradžioje ir vėliau, kas 3 savaites. Mūsų tyrime dalyvavo 103 tiriamieji, o matavimai KAM buvo atliekami kas savaitę. Viso buvo atlikta daugiau nei 600 matavimų panaudojant KAM ir tiek pat dermoskopijų.

Išanalizavus visų tiriamųjų KAM vaizdus (23-27 paveikslėliai ir 12 lentelė) nustatyta, kad JS sukeliami odos pažeidimai nustatomi labai anksti:

realizavus 10 Gy dozę (po 5 fx) spongiozė ar egzocitozė nustatyta 65 proc. tiriamųjų, o realizavus 20 Gy (po 10 fx) net 94 proc. tiriamųjų nustatyti ankstyvi JS sukelti odos pažeidimo požymiai (13 lentelė). Tuo tarpu klinikinio vertinimo metu realizavus 10 Gy dozę (po 5 fx) I laipsnio ūminis SD nustatytas 13 proc. tiriamųjų, o realizavus 20 Gy (po 10 fx) - tik 40 proc. (12 lentelė).

KAM vaizdų analizė taip pat atskleidė, jog JS sukeliami odos pažeidimai turi tipinę eigą: realizavus 20 Gy dozę (po 10 fx) spongiozė ar egzocitozė nustatyta 94 proc. tiriamųjų; realizavus 30 Gy (po 15 fx) uždegiminės ląstelės dermoje (ULD) aptiktos 45 proc. tiriamųjų ir ši proporcija didėja iki gydymo pabaigos; realizavus 40 Gy (po 20 fx) epidermio struktūros pažeidimas (DE) nustatytas 66 proc. tiriamųjų, o gydymo pabaigoje – 93 proc.; realizavus 50 Gy (po 25 fx) pažeistos dermos papilos (PDP) nustatytos 68 proc. tiriamųjų.

KAM panaudojus tiriant atsaką į bazolastelinės karcinomos spindulinį gydymą, buvo nustatyta, jog pagrindinis KAM stebimas požymis yra JS sukelta epidermio atipija [100]. Šio tyrimo autorių nuomone, epidermio atipija yra ūminio SD požymis, ir tai puikiai sutampa su mūsų atlikto tyrimo rezultatais, nes ST pabaigoje daugumai tiriamųjų nustatytas išreikštas epidermio struktūros pažeidimas (DE).

Mokslinėje literatūroje nėra kitų klinikinių tyrimų, kurie nagrinėtų ST atsirandančius odos pakitimus, tačiau galima rasti ikiklinikinių tyrimų su laboratoriniais gyvūnais. MFM tiriant ankstyvus JS sukeltus odos pakitimus laboratorinių pelių modelyje nustatyta, kad paveikus JS epidermio ląstelės ir tarpląsteliniai tarpai tampa didesni ir netaisyklingi [86]. Šie požymiai sutampa su mūsų atliktame tyrime stebima spongioze ir egzocitoze.

Atliktas tyrimas parodė, jog KAM yra vertingas neinvazinis tyrimo metodas, kuriuo galima nustatyti dėl JS poveikio vykstančius odos pakitimus. Todėl galimas platus KAM pritaikymas tiek kasdienėje klinikinėje praktikoje, tiek klinikinių tyrimų metu.

Kasdienėje praktikoje KAM gali būti naudojamas ankstyvai ūminio SD diagnostikai, nes odoje vykstančius pakitimus nustato anksčiau, nei atsiranda akimi stebimi odos pažeidimo simptomai. Šio metodo naudojimas pagelbėtų gydytojui lengviau priimti sprendimus dėl taikomos odos priežiūros gydymo metu, suteiktų informacijos apie ūminio SD prevencijai skiriamų odos priežiūros priemonių veiksmingumą, bei leistų laiku priimti sprendimą dėl ūminio SD gydymui taikomų priemonių paskyrimo. ST metu reguliariai atliekant KAM ir stebint tik odos struktūros nepažeidžiančius požymius (kaip spongiozė ir egzocitozė) galima taikyti ūminio SD prevencijai naudojamas priemones, pastebėjus JS poveikiui specifinius požymius (uždegiminės ląstelės dermoje) reikėtų pagalvoti apie ūminio SD gydymui naudojamų priemonių skyrimą, o nustatyti struktūriniai odos pažeidimai (epidermio struktūros pažeidimas ar pažeistos dermos papilos) turėtų būti rimtas signalas, rodantis jog per 1-2 sav. galima tikėtis ženklaus odos būklės pablogėjimo.

KAM panaudojimas klinikinių tyrimų metu taip pat labai platus. Šis didelės apimties prospektyvinis tyrimas parodė, jog atliekant KAM galima gauti daug papildomos informacijos apie odoje ląstelių lygmenyje vykstančius pokyčius, kuriuos sukelia JS poveikis. Iki šiol labai trūko neinvazinių odos tyrimo metodų, kurie paspartintų ūminio SD prevencijai ir gydymui naudojamų odos priežiūros priemonių tyrimus. Šio tyrimo metu buvo nustatyta, kada ir kokie dėl JS poveikio atsirandantys odos pažeidimo požymiai atsiranda ST metu. Ši informacija nesunkiai pritaikoma klinikinių tyrimų metu lyginant tiriamųjų grupes, kurioms skiriamos skirtingos odos priežiūros priemonės.

Paskutiniu metu spindulinėje terapijoje populiarėja hipofrakcionuotų režimų taikymas, kurių metu klinikinis ūminio SD pasireiškimas yra mažiau išreikštas, todėl gali būti sunkiau vertinamas vizualiai. Šioje srityje taip pat galėtų pasitarnauti KAM panaudojimas, kuris leistų vykstančius odos pokyčius stebėti ląstelių lygmenyje

# 5.4. Dermoskopinis jonizuojančiosios spinduliuotės sukelto odos pažeidimo vertinimas

Mūsų žiniomis, tai pirmas prospektyvinis klinikinis tyrimas, kurio metu JS sukeliami odos pakitimai buvo analizuojami panaudojant skaitmeninę dermoskopiją, į kurį įtraukta daugiau nei šimtas tiriamųjų. Šiame tyrime naudotas medicininis KAM prietaisas VivaScope® 1500 (18 pav.), kuris turi integruotą skaitmeninį dermoskopą (VivaCam® - 20.4 pav.), todėl prieš kiekvieną odos konfokalinę mikroskopiją buvo nufotografuojamas ir išsaugomas aukštos kokybės dermoskopinis vaizdas. Kiekvienam tiriamajam buvo atliktas kontrolinis vaizdinimas prieš ST ir 1 kartą per savaitę gydymo metu, viso šeši vaizdinimai kiekvienam tiriamajam.

Dermoskopu yra apšviečiamas ir nufotografuojamas 1cm skersmens odos plotas. Gauti vaizdai buvo panaudoti vertinant ST metu atsirandantį odos paraudimą – eritemą (ERY). 28 paveiksle pavaizduota, kaip ST metu kinta odos eritema: prieš ST (0 fx) matomas sveikos odos vaizdas, po 5 fx ir 10 fx atsiranda silpna eritema (ERY 1), o nuo 15 fx stebimas ryškus odos paraudimas (ERY 2).

ERY vertinimą dermoskopijos vaizduose nepriklausomai vienas nuo kito atliko trys gydytojai onkologai radioterapeutai, visų tiriamųjų ERY vertinimas dermoskopu pateikiamas 14 lentelėje.

Kontrolinio matavimo metu nustatyta, jog visų tiriamųjų oda buvo sveika (ERY 0). Po 5 fx (realizavus 10 Gy JS dozę) silpna eritema (ERY 1) buvo nustatyta 31 tiriamajam (30,1 proc.), o 71 (68,9 proc.) pakitimų nestebėta.

Po 10 fx (realizavus 20 Gy JS dozę) silpna eritema (ERY 1) nustatyta 61 tiriamajam (59,2 proc.), trim (2,9 proc.) – ryški eritema (ERY 2), o 37 (35,9 proc.) pakitimų nestebėta. Tuo pat metu vertinant kliniškai I/II laipsnio ūminis SD pagal CTCAE skalę nustatytas 40,9 proc. tiriamųjų.

Po 15 fx (realizavus 30 Gy JS dozę) silpna eritema (ERY 1) nustatyta 78 tiriamiesiems (75,7 proc.), devyniems (8,7 proc.) - ryški eritema (ERY 2), o 16 (15,5 proc.) pakitimų nestebėta.

Po 20 fx (realizavus 40 Gy JS dozę) silpna eritema (ERY 1) nustatyta 59 tiriamiesiems (57,3 proc.), 39 (37,9 proc.) - ryški eritema (ERY 2), o trims (2,9 proc.) pakitimų nestebėta.

Po 25 fx (realizavus 50 Gy JS dozę) dviems tiriamiesiems (1,9 proc.) pakitimų nestebėta, ERY 1 nustatyta 28 (27,2 proc.), o ERY 2 - 62 (60,2 proc.).

ERY pasireiškimą lyginant su klinikiniu ūminio SD vertinimu pagal CTCAE skalę (12 lentelė), matome, jog gydymo pradžioje (po 5 fx ir 10 fx) atsirandantys odos pažeidimai dermoskopu pastebimi anksčiau, nei akimi. Šie rezultatai sutampa su literatūros duomenimis [5].

Vertinant dermoskopiškai ir kliniškai stebimų JS sukeliamų odos pažeidimų sąsają, atlikta logistinės regresijos analizė atskleidė, jog didesnis ERY laipsnis yra susijęs (p < 0.0001) su didesniu CTCAE skalės laipsniu. Šis rezultatas svarbus praktiniu aspektu, nes parodo, jog dermoskopu stebimi pakitimai yra susiję su klinikiniais simptomais, tačiau dermoskopu juos galima identifikuoti anksčiau. Taip pat šie rezultatai neprieštarauja kitiems klinikiniams tyrimams, kurių metu nustatyta, jog atliekant švitinamos odos dermoskopiją gaunama papildomos informacijos apie JS sukeliamą odos pažeidimą [89].

Norint palyginti tuo pačiu ST metu atliekamos dermoskopijos ir klinikinio ūminio SD vertinimo rezultatus, buvo panaudotas Chi kvadrato testas (19 lentelė). Nustatyta, kad matavimus atliekant po 10 fx ir 20 fx stebimas ryšys tarp ERY ir CTCAE laipsnio, tačiau jis nėra statistiškai reikšmingas (p=0,06), o gydymo pabaigoje (po 25 fx) ši sąsaja tampa statistiškai reikšminga (p=0,04).

Dermoskopija yra paprastai ir greitai atliekamas odos ištyrimo metodas, kurio rezultatai gali būti nesunkiai interpretuojami. Mūsų atliktas tyrimas parodė, jog lyginant su klinikiniu vertinimu, ST metu atliekama dermoskopija JS sukeliamus odos pažeidimus atskleidžia anksčiau. Todėl dermoskopija gali būti integruojama į kasdienę praktiką ar klinikinius tyrimus, ypač siekiant kuo anksčiau nustatyti spindulinio gydymo metu atsirandančius odos pakitimus.

### 5.5. KAM predikcinė vertė

Siekiant palyginti KAM metu nustatomus JS sukeliamo odos pažeidimo požymius su klinikiniu ūminio SD vertinimu buvo sukurtas KAM požymių koeficientas (KAM<sub>koef</sub>). Į šį koeficientą įtraukti visi KAM metu stebimi pakitimai, atsižvelgiant į jų svarbą. Norint palyginti tuo pačiu ST metu atliekamos KAM ir klinikinio ūminio SD vertinimo rezultatus, buvo panaudotas Chi kvadrato testas (19 lentelė). Nustatyta, kad stebimas statistiškai reikšmingas ryšys tarp KAM<sub>koef</sub> ir CTCAE laipsnio matavimus atliekant po 20 fx (p=0,04) ir 25 fx (p=0,01).

Statistinės analizės metu buvo įvertinta  $KAM_{koef}$  predikcinė vertė, tam panaudojant binarinę logistinę regresiją. Nustatyta, jog gydymo pradžioje (po 10 fx ir 15 fx) nustatytas  $KAM_{koef}$  turi predikcinę vertę gydymo pabaigoje (po 20 fx ir 25 fx) atskiriant I ir II ūminio SD laipsnį pagal CTCAE (20 ir 21 lentelės).

Mūsų atliktas tyrimas parodė, jog atliekant KAM, JS sukeliamus odos pažeidimus galima nustatyti anksčiau, nei atsiranda klinikiniai simptomai, o gydymo pradžioje nustatomas KAM<sub>koef</sub> leidžia prognozuoti ūminio SD sunkumą ST pabaigoje. Todėl KAM gali būti labai naudingas metodas siekiant anksti diagnozuoti ir prognozuoti ūminio SD eigą ST metu.

Taip pat buvo sukurtas KAM ir dermoskopijos koeficientas (KAM-ERY<sub>koef</sub>), kuris leidžia palyginti KAM ir dermoskopijos metu nustatomus JS sukeliamo odos pažeidimo požymius su klinikiniu ūminio SD vertinimu (17 lentelė). Nustatytas statistiškai reikšmingas ryšys tarp KAM-ERY<sub>koef</sub> ir CTCAE laipsnio matavimus atliekant po 20 fx (p=0,01).

Kasdienėje praktikoje atliekama KAM būtų ypač naudinga prognozuojant ūminio SD eigą, mat užtektų po 10 fx ir po 15 fx atlikti KAM, apskaičiuoti KAM<sub>koef</sub> ir būtų galima prognozuoti ūminio SD laipsnį pagal CTCAE skalę gydymo pabaigoje. Tai labai pasitarnautų gydytojui teikiant rekomendacijas pacientui dėl taikomų odos priežiūros priemonių

# 5.6. Ūminio spindulinio dermatito klinikinio pasireiškimo priklausomybė nuo odos priežiūros

Prieš ST tiriamieji buvo atsitiktinai suskirstyti į dvi grupes pagal odos priežiūrą: I grupė – tik geriausios palaikomosios priežiūros (GPP), II grupė – papildomos odos priežiūros (POP). Geriausia palaikomoji odos priežiūra buvo skirta visiems tiriamiesiems. Po randomizacijos, POP grupės tiriamiesiems papildomai odai drėkinti 2 kartus per dieną buvo skiriamas paprastas, bekvapis drėkinamasis kremas turintis 40 proc. vandens. Tokio paskyrimo tikslas buvo patikrinti hipotezę, kuri teigia, kad papildomas odos drėkinimas gali sumažinti JS sukeliamą ūminę odos reakciją [18].

Lyginant tiriamųjų charakteristikas, tarp skirtingų odos priežiūros grupių statistiškai reikšmingo skirtumo nenustatyta (22 lentelė). Tai rodo, jog skirtingos odos priežiūros tiriamieji tarp grupių buvo pasiskirstę vienodai vertinant pagal amžių, ligos stadiją, taikytą gydymą, krūties dydį ir IRJ.

Įvertinus klinikinį ūminio SD pasireiškimą, nebuvo nustatyta statistiškai reikšmingo skirtumo tarp tiriamųjų grupių pagal odos priežiūrą (23 lentelė). Todėl galima teikti, jog papildomas odos drėkinimas neturėjo įtakos klinikiniam ūminio SD pasireiškimui ir minėta hipotezė atmetama.

Šis tyrimas parodė, jog papildomas odos drėkinimas "*Kremu Basalis Clinic*" neturėjo įtakos ūminio SD pasireiškimui. Skiriamas kremas odos būklės nepablogino, tačiau prevencinis poveikis turėtų būti tiriamas didesnės apimties klinikiniuose tyrimuose. Todėl kasdienėje praktikoje šio kremo skyrimas ūminio SD prevencijai nerekomenduojamas.

# 5.7. Ūminio spindulinio dermatito klinikinio pasireiškimo priklausomybė nuo IRJ

Pasirašius IASF, tiriamiesiems buvo paimtas kraujas IRJ nustatymui. Tam buvo naudojamas standartizuotas G2 chromosominio radiojautrumo metodas. Net 89 proc. iš visų tiriamųjų buvo nustatytas didelis arba labai didelis IRJ, 11 proc. turėjo normalų IRJ, ir nei vienas nebuvo atsparus JS (24 lentelė). Mūsų tyrimo dalyvių proporcija, kuriems nustatytas padidintas IRJ, yra didesnė, nei skelbia kiti autoriai [40, 101, 102]. Tokį rezultatą galima paaiškinti tuo, kad krūties vėžys yra susijęs su genų (*ATM, BRCA1 ir*  *BRCA2*) mutacijomis, kurios taip pat būdingos ir padidėjusiam IRJ [103-105].

Lyginant tiriamųjų charakteristikas, tarp skirtingų IRJ grupių statistiškai reikšmingo skirtumo nenustatyta (24 lentelė). Tai rodo, jog skirtingo IRJ tiriamieji tarp grupių buvo pasiskirstę vienodai vertinant pagal amžių, ligos stadiją, taikytą gydymą, krūties dydį ir odos priežiūrą.

Įvertinus klinikinį ūminio SD pasireiškimą, nebuvo nustatyta statistiškai reikšmingo skirtumo tarp tiriamųjų grupių pagal IRJ (25 lentelė). Todėl galima teigti, jog prieš ST G2 metodu nustatomas padidėjęs IRJ neturi įtakos klinikiniam ūminio SD pasireiškimui. Šiuo metodu nustatomo IRJ reikšmė ūminio SD pasireiškimui turėtų būti tiriama klinikiniuose tyrimuose su didesne imtimi, įtraukiant ir kitus IRJ nustatymo metodus.

# 5.8. Ūminio spindulinio dermatito klinikinio pasireiškimo priklausomybė nuo kitų rizikos veiksnių

Siekiant nustatyti skirtingų rizikos veiksnių įtaką kartotiniams ūminio SD vertinimams, buvo pritaikyta logistinė regresija. Viena vertus, vienfaktorinė analizė atskleidė, jog amžius, krūties dydis ir ligos stadija turi reikšmingą įtaką klinikiniam ūminio SD pasireiškimui (26 lentelė). Antra vertus, daugiafaktorinė analizė parodė, jog tik krūties dydis turi reikšmingą įtaką ūminio SD pasireiškimui (27 lentelė). Šie rezultatai sutampa su literatūros duomenimis, kurie teigia, kad krūties dydis ir KMI yra ūminio SD rizikos veiksniai [106-108]. Šie rezultatai rodo, jog kai kuriems pacientams reikėtų skirti kitus ST metodus. Pavyzdžiui, pacientės su didelėmis krūtimis galėtų būti švitinami renkantis hipofrakcionuotos ar intraoperacinės ST metodikas. Hipofrakcionuota ST, skiriama gydant ankstyvą krūties vėžį, yra susijusi su mažiau išreikštu ūminiu SD [109] ir nesumažina ligos kontrolės [110]. Intraoperacinė krūties ST reikšmingai sumažina sveikiems audiniams tenkančią JS dozę [111], ir yra tinkamas metodas gydant mažos rizikos krūties vėžio pacientus [112].

## 5.9. Gyvenimo kokybės įtaka klinikiniam ūminio spindulinio dermatito pasireiškimui

Dermatologinį gyvenimo kokybės klausimyną tiriamieji pildė prieš ST, po 3 savaičių gydymo (15 fx) ir gydymo pabaigoje (25 fx). Prieš ST mažiau nei 6 proc. tiriamųjų teigė, jog jų odos būklė turėjo vidutinę ar didelę įtaką gyvenimo kokybei, po 3 gydymo savaičių tokių tiriamųjų jau buvo apie 30 proc., o gydymo pabaigoje ~46 proc. (28 lentelė).

Nors ST metu odos būklė turėjo vis didesnę įtaką tiriamųjų gyvenimo kokybei, visgi nebuvo statistiškai reikšmingo ryšio tarp ūminio SD klinikinio pasireiškimo ir gyvenimo kokybės (29 lentelė). Šie rezultatai sutampa su kitų autorių duomenimis, kurie teigia, jog dažnai pacientų patiriami simptomai nesutampa su kliniškai stebimais odos pažeidimo požymiais [113].

## IŠVADOS

- Spindulinio gydymo metu atliekant KAM odos pakitimai aptinkami anksčiau nei atsiranda klinikiniai simptomai, ir yra stebima tipinė šių požymių eiga. Realizavus 20 Gy dozę KAM metodu S/E nustatoma 94 proc. tiriamųjų; po 30 Gy ULD – 45 proc., po 40 Gy DE – 66 proc., o po 50 Gy PDP – 68 proc. tiriamųjų. Lyginant su klinikiniu ūminio SD pasireiškimu po 20 Gy ankstyvieji požymiai KAM nustatomi 94 proc. tiriamųjų, tuo tarpu I laipsnio ūminis SD pagal CTCAE skalę stebimas tik 40 proc. tiriamųjų.
- ST kurso metu atliekant skaitmeninę dermoskopiją eritema nustatoma anksčiau nei atsiranda klinikiniai ūminis SD simptomai: po 20 Gy 1/2 laipsnio ERY nustatoma 62,1 proc. tiriamųjų, o I/II laipsnio ūminis SD pagal CTCAE skalę – 41 proc.
- KAM<sub>koef</sub> vertė "1" nustatyta po 20 30 Gy lemia statistiškai reikšmingai didesnę tikimybę, jog po 40 – 50 Gy bus nustatomas II ūminis SD laipsnis pagal CTCAE skalę.
- 4. G2 metodu prieš ST nustatomas padidėjęs IRJ neturi įtakos klinikiniam ūminio SD pasireiškimui.

## PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

- Ūminio SD prognozavimui ST pabaigoje rekomenduojama realizavus 20-30 Gy dozę atlikti KAM ir apskaičiuoti KAM<sub>koef</sub>.
- 2. KAM naudojant dinamiškai sekti JS sukeliamus odos pakitimus rekomenduojama:

• stebint nespecifinius požymius – taikyti ŪSD prevencines priemones;

- nustačius specifinius požymius skirti gydomąsias priemones;
- nustačius struktūrinius pakitimus skirti gydomąsias priemones ir kontrolinį vizitą po 2 sav.
- Dėl unikalių KAM savybių vaizdinti odoje vykstančius pokyčius ląstelių lygmenyje, šį metodą rekomenduojame naudoti klinikiniuose tyrimuose siekiant objektyviau ir efektyviau įvertinti tiriamų odos priežiūros priemonių poveikį.
- 4. Kasdieninėje klinikinėje praktikoje ankstyvam odos paraudimo nustatymui rekomenduojama naudoti skaitmeninę dermoskopiją.

# LITERATŪROS SĄRAŠAS

- 1. Delaney, G., et al., *The role of radiotherapy in cancer treatment: estimating optimal utilization from a review of evidence-based clinical guidelines.* Cancer, 2005. **104**(6): p. 1129-37.
- 2. Calais, G., et al., *Randomized trial of radiation therapy versus concomitant chemotherapy and radiation therapy for advanced-stage oropharynx carcinoma.* J Natl Cancer Inst, 1999. **91**(24): p. 2081-6.
- Chitapanarux, I., et al., *Randomized phase III trial of concurrent chemoradiotherapy vs accelerated hyperfractionation radiotherapy in locally advanced head and neck cancer.* J Radiat Res, 2013. 54(6): p. 1110-7.
- 4. Karasawa, K., et al., *Hyperfractionated radiotherapy with concurrent docetaxel for advanced head and neck cancer: a phase II study.* Anticancer Res, 2012. **32**(9): p. 4013-8.
- 5. Ryan, J.L., *Ionizing radiation: the good, the bad, and the ugly.* J Invest Dermatol, 2012. **132**(3 Pt 2): p. 985-93.
- 6. Hymes, S.R., E.A. Strom, and C. Fife, *Radiation dermatitis: clinical presentation, pathophysiology, and treatment 2006.* J Am Acad Dermatol, 2006. **54**(1): p. 28-46.
- 7. Meyer, F., et al., *Predictors of severe acute and late toxicities in patients with localized head-and-neck cancer treated with radiation therapy.* Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2012. **82**(4): p. 1454-62.
- 8. Borgmann, K., et al., *Individual radiosensitivity measured with lymphocytes may predict the risk of acute reaction after radiotherapy*. International Journal of Radiation Oncology Biology Physics, 2008. **71**(1): p. 256-264.
- 9. Huber, R., et al., *Chromosomal radiosensitivity and acute radiation* side effects after radiotherapy in tumour patients - a follow-up study. Radiation Oncology, 2011. **6**.
- 10. Norman, A., A.R. Kagan, and S.L. Chan, *The importance of genetics* for the optimization of radiation therapy. A hypothesis. Am J Clin Oncol, 1988. **11**(1): p. 84-8.
- 11. Hoeller, U., et al., *Individual radiosensitivity measured with lymphocytes may be used to predict the risk of fibrosis after radiotherapy for breast cancer*. Radiother Oncol, 2003. **69**(2): p. 137-44.
- 12. Neben-Wittich, M.A., et al., *Comparison of provider-assessed and patient-reported outcome measures of acute skin toxicity during a Phase III trial of mometasone cream versus placebo during breast radiotherapy: the North Central Cancer Treatment Group (N06C4).* Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2011. **81**(2): p. 397-402.

- 13. Huzaira, M., et al., *Topographic variations in normal skin, as viewed by in vivo reflectance confocal microscopy*. J Invest Dermatol, 2001. **116**(6): p. 846-52.
- 14. Calzavara-Pinton, P., et al., *Reflectance confocal microscopy for in vivo skin imaging*. Photochem Photobiol, 2008. **84**(6): p. 1421-30.
- Gonzalez, S., et al., Allergic contact dermatitis: correlation of in vivo confocal imaging to routine histology. J Am Acad Dermatol, 1999. 40(5 Pt 1): p. 708-13.
- 16. Astner, S., et al., *Pilot study on the sensitivity and specificity of in vivo reflectance confocal microscopy in the diagnosis of allergic contact dermatitis.* J Am Acad Dermatol, 2005. **53**(6): p. 986-92.
- 17. Vano-Galvan, S., et al., *Dynamic skin changes of acute radiation dermatitis revealed by in vivo reflectance confocal microscopy*. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2013. 27(9): p. 1143-1150.
- 18. Bolderston, A., et al., *The prevention and management of acute skin reactions related to radiation therapy: a systematic review and practice guideline.* Supportive Care in Cancer, 2006. **14**(8): p. 802-817.
- Zhang, Y.J., S.D. Zhang, and X.L. Shao, *Topical agent therapy for prevention and treatment of radiodermatitis: a meta-analysis*. Supportive Care in Cancer, 2013. 21(4): p. 1025-1031.
- 20. Chan, R.J., et al., *Prevention and treatment of acute radiationinduced skin reactions: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials.* BMC Cancer, 2014. **14**: p. 53.
- 21. Planas, O., What Is Radioactivity? 2009.
- 22. *Radiation and its Risks*. Available from: <u>http://www.radcommgb.com/radiationrisks.html</u>.
- 23. *Collisions Of Electrons With Atoms*. Available from: https://alevelphysics.co.uk/notes/collisions-of-electrons-with-atoms/.
- 24. *Dvifotonė sensibilizacija*. 2008; Available from: <u>http://www.biofotonika.ff.vu.lt/wp-</u> content/uploads/2012/09/LD\_Dvifoton%C4%97-sensibilizacija.pdf.
- 25. *Pair Production and Annihilation*. Available from: http://electrons.wikidot.com/pair-production-and-annihilation.
- 26. *Rentgeno spinduliuotės sąveika su medžiaga*. Available from: <u>http://web.vu.lt/ff/a.poskus/files/2012/11/Rentg\_pav2.pdf</u>.
- 27. Burkhard, N. *Water-Based Nuclear Batteries*. 2015; Available from: <u>http://large.stanford.edu/courses/2015/ph241/burkhard1/</u>.
- 28. Kavanagh, J.N., et al., *DNA double strand break repair: a radiation perspective*. Antioxid Redox Signal, 2013. **18**(18): p. 2458-72.
- 29. *Ląstelių ciklas*. Available from: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e0/Cell\_ Cycle\_2-2.svg/1280px-Cell\_Cycle\_2-2.svg.png.

- 30. *Tumor and Normal Tissue Response to Radiotherapy* Available from: https://oncohemakey.com/wp-content/uploads/2016/12/image01229.gif.
- Liu, W., et al., Interleukin Ibeta (IL1B) signaling is a critical component of radiation-induced skin fibrosis. Radiat Res, 2006. 165(2): p. 181-91.
- 32. Petit-Frere, C., et al., *Apoptosis and cytokine release induced by ionizing or ultraviolet B radiation in primary and immortalized human keratinocytes.* Carcinogenesis, 2000. **21**(6): p. 1087-95.
- 33. Kang, J.S., et al., *Regulation of UVB-induced IL-8 and MCP-1* production in skin keratinocytes by increasing vitamin C uptake via the redistribution of SVCT-1 from the cytosol to the membrane. J Invest Dermatol, 2007. **127**(3): p. 698-706.
- Calderwood, D.A., S.J. Shattil, and M.H. Ginsberg, *Integrins and actin filaments: reciprocal regulation of cell adhesion and signaling*. J Biol Chem, 2000. 275(30): p. 22607-10.
- 35. Yuan, H., et al., *Radiation-induced permeability and leukocyte adhesion in the rat blood-brain barrier: modulation with anti-ICAM-1 antibodies.* Brain Res, 2003. **969**(1-2): p. 59-69.
- 36. Cummings, R.J., et al., *Migration of skin dendritic cells in response* to ionizing radiation exposure. Radiat Res, 2009. **171**(6): p. 687-97.
- 37. I N Fernando, H.T.F., T J Powles, S Ashley, J P Glees, M Torr, D Grafton, C L Harmer, Factors affecting acute skin toxicity in patients having breast irradiation after conservative surgery: a prospective study of treatment practice at the Royal Marsden Hospital. Clinical Oncology, 1996. 8(4): p. 226-233.
- McQuestion, M., Evidence-based skin care management in radiation therapy: clinical update. Semin Oncol Nurs, 2011. 27(2): p. e1-17.
- Bonomo, P., et al., *Incidence of skin toxicity in squamous cell carcinoma of the head and neck treated with radiotherapy and cetuximab: A systematic review*. Crit Rev Oncol Hematol, 2017.
  120: p. 98-110.
- 40. Howe, O.L., et al., *Elevated G2 chromosomal radiosensitivity in Irish breast cancer patients: a comparison with other studies.* Int J Radiat Biol, 2005. **81**(5): p. 373-8.
- 41. Padjas, A., et al., *Comparative analysis of three functional predictive assays in lymphocytes of patients with breast and gynaecological cancer treated by radiotherapy*. Journal of Contemporary Brachytherapy, 2012. **4**(4): p. 219-226.
- 42. Kim, J.H., K.A. Jenrow, and S.L. Brown, *Mechanisms of radiationinduced normal tissue toxicity and implications for future clinical trials.* Radiat Oncol J, 2014. **32**(3): p. 103-15.
- 43. Bernstein, E.F., et al., *Collagen Gene-Expression and Wound* Strength in Normal and Radiation-Impaired Wounds - a Model of

*Radiation-Impaired Wound-Healing*. Journal of Dermatologic Surgery and Oncology, 1993. **19**(6): p. 564-570.

- 44. Tibbs, M.K., *Wound healing following radiation therapy: a review.* Radiother Oncol, 1997. **42**(2): p. 99-106.
- 45. Arbeit, J.M., B.S. Hilaris, and M.F. Brennan, *Wound complications in the multimodality treatment of extremity and superficial truncal sarcomas.* J Clin Oncol, 1987. **5**(3): p. 480-8.
- 46. Brown, A.P., et al., *Performing nondiagnostic research biopsies in irradiated tissue: a review of scientific, clinical, and ethical considerations.* J Clin Oncol, 2008. **26**(24): p. 3987-94.
- 47. Schmuth, M., et al., *Permeability barrier function of skin exposed to ionizing radiation*. Arch Dermatol, 2001. **137**(8): p. 1019-23.
- 48. LeBoit, P.E., *Subacute radiation dermatitis: a histologic imitator of acute cutaneous graft-versus-host disease.* J Am Acad Dermatol, 1989. **20**(2 Pt 1): p. 236-41.
- 49. Fujimoto, J.G., *Optical coherence tomography for ultrahigh resolution in vivo imaging*. Nat Biotechnol, 2003. **21**(11): p. 1361-7.
- 50. Dunn, K.W. and P.A. Young, *Principles of multiphoton microscopy*. Nephron Exp Nephrol, 2006. **103**(2): p. e33-40.
- 51. Edwards, S.J., et al., *Diagnostic accuracy of reflectance confocal microscopy using VivaScope for detecting and monitoring skin lesions: a systematic review.* Clinical and Experimental Dermatology, 2017. **42**(3): p. 266-275.
- 52. Hofmann-Wellenhof, R., *Reflectance Confocal Microscopy for Skin Diseases*. Rainer Hofmann-Wellenhof, Giovanni Pellacani, Joseph Malvehy, Hans Peter Soyer ed. 2012, Berlin: Springer-Verlag. 484.
- 53. Gerger, A., et al., *Sensitivity and specificity of confocal laser-scanning microscopy for in vivo diagnosis of malignant skin tumors*. Cancer, 2006. **107**(1): p. 193-200.
- 54. Langley, R.G., et al., *Confocal scanning laser microscopy of benign and malignant melanocytic skin lesions in vivo.* J Am Acad Dermatol, 2001. **45**(3): p. 365-76.
- 55. Gerger, A., et al., *Diagnostic applicability of in vivo confocal laser* scanning microscopy in melanocytic skin tumors. J Invest Dermatol, 2005. **124**(3): p. 493-8.
- 56. Peppelman, M., et al., *In vivo diagnosis of basal cell carcinoma subtype by reflectance confocal microscopy*. Dermatology, 2013. 227(3): p. 255-62.
- 57. Guitera, P., et al., *In vivo reflectance confocal microscopy enhances secondary evaluation of melanocytic lesions*. J Invest Dermatol, 2009. **129**(1): p. 131-8.
- 58. Edwards, S.J., et al., *VivaScope (R) 1500 and 3000 systems for detecting and monitoring skin lesions: a systematic review and economic evaluation.* Health Technology Assessment, 2016. 20(58): p. 1-+.

- 59. Edwards, S.J., et al., *VivaScope(R) 1500 and 3000 systems for detecting and monitoring skin lesions: a systematic review and economic evaluation.* Health Technol Assess, 2016. **20**(58): p. 1-260.
- 60. Rajadhyaksha, M., et al., *Reflectance confocal microscopy of skin in vivo: From bench to bedside.* Lasers Surg Med, 2017. **49**(1): p. 7-19.
- 61. Cheng, H.M., et al., Accuracy of optical coherence tomography for the diagnosis of superficial basal cell carcinoma: a prospective, consecutive, cohort study of 168 cases. Br J Dermatol, 2016. **175**(6): p. 1290-1300.
- 62. Cheng, H.M. and P. Guitera, *Systematic review of optical coherence* tomography usage in the diagnosis and management of basal cell carcinoma. Br J Dermatol, 2015. **173**(6): p. 1371-80.
- 63. Ulrich, M., et al., *Dynamic Optical Coherence Tomography in Dermatology*. Dermatology, 2016. **232**(3): p. 298-311.
- 64. Boone, M.A., et al., *High-definition optical coherence tomography algorithm for discrimination of basal cell carcinoma from clinical BCC imitators and differentiation between common subtypes.* J Eur Acad Dermatol Venereol, 2015. **29**(9): p. 1771-80.
- 65. Friis, K.B.E., L. Themstrup, and G.B.E. Jemec, *Optical coherence* tomography in the diagnosis of actinic keratosis-A systematic review. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2017. **18**: p. 98-104.
- 66. Boone, M.A., et al., *High-definition optical coherence tomography imaging of melanocytic lesions: a pilot study.* Arch Dermatol Res, 2014. **306**(1): p. 11-26.
- 67. Rajabi-Estarabadi, A., et al., *Optical coherence tomography imaging* of melanoma skin cancer. Lasers Med Sci, 2019. **34**(2): p. 411-420.
- 68. Huck, V., et al., *From morphology to biochemical state intravital multiphoton fluorescence lifetime imaging of inflamed human skin.* Sci Rep, 2016. **6**: p. 22789.
- 69. Yew, E., C. Rowlands, and P.T. So, *Application of Multiphoton Microscopy in Dermatological Studies: a Mini-Review.* J Innov Opt Health Sci, 2014. **7**(5): p. 1330010.
- 70. Teuchner, K., et al., *Femtosecond two-photon excited fluorescence of melanin.* Photochem Photobiol, 1999. **70**(2): p. 146-51.
- 71. Balu, M., et al., *In Vivo Multiphoton Microscopy of Basal Cell Carcinoma*. JAMA Dermatol, 2015. **151**(10): p. 1068-74.
- 72. Dimitrow, E., et al., *Sensitivity and specificity of multiphoton laser tomography for in vivo and ex vivo diagnosis of malignant melanoma.* J Invest Dermatol, 2009. **129**(7): p. 1752-8.
- 73. Klemp, M., et al., *Comparison of morphologic criteria for actinic keratosis and squamous cell carcinoma using in vivo multiphoton tomography.* Exp Dermatol, 2016. **25**(3): p. 218-22.

- 74. Sauermann, K., et al., *Histometric data obtained by in vivo confocal laser scanning microscopy in patients with systemic sclerosis.* BMC Dermatol, 2002. **2**: p. 8.
- 75. Corcuff, P., et al., Skin optics revisited by in vivo confocal microscopy: melanin and sun exposure. J Cosmet Sci, 2001. 52(2): p. 91-102.
- 76. Middelkamp-Hup, M.A., et al., *Detection of UV-induced pigmentary and epidermal changes over time using in vivo reflectance confocal microscopy*. J Invest Dermatol, 2006. **126**(2): p. 402-7.
- Gambichler, T., et al., *Effects of repeated sunbed exposures on the human skin. In vivo measurements with confocal microscopy.*Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2004. 20(1): p. 27-32.
- 78. Gambichler, T., et al., *Acute effect of solar-simulated radiation on epidermal thickness assessed by confocal laser scanning microscopy in vivo.* J Eur Acad Dermatol Venereol, 2004. **18**(5): p. 638-9.
- 79. Yamashita, T., et al., *In vivo assessment of pigmentary and vascular compartments changes in UVA exposed skin by reflectance-mode confocal microscopy*. Exp Dermatol, 2007. **16**(11): p. 905-11.
- 80. Gambichler, T., et al., *A comparative pilot study on ultravioletinduced skin changes assessed by noninvasive imaging techniques in vivo.* Photochem Photobiol, 2006. **82**(4): p. 1103-7.
- 81. Ulrich, M., et al., *Comparison of UV-induced skin changes in sunexposed vs. sun-protected skin- preliminary evaluation by reflectance confocal microscopy.* Br J Dermatol, 2009. **161 Suppl 3**: p. 46-53.
- Wolberink, E.A., et al., *Reflectance confocal microscopy: an effective tool for monitoring ultraviolet B phototherapy in psoriasis.*Br J Dermatol, 2012. 167(2): p. 396-403.
- 83. Ulrich, M., S. Lange-Asschenfeldt, and S. Gonzalez, *The use of reflectance confocal microscopy for monitoring response to therapy of skin malignancies*. Dermatol Pract Concept, 2012. **2**(2): p. 202a10.
- Koller, S., et al., UV-induced alterations of the skin evaluated over time by reflectance confocal microscopy. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2014. 28(8): p. 1061-8.
- 85. Richtig, E., et al., *Assessment of changes in lentigo maligna during radiotherapy by in-vivo reflectance confocal microscopy: a pilot study.* Br J Dermatol, 2015. **172**(1): p. 81-7.
- 86. Jang, W.H., et al., *In vivo characterization of early-stage radiation skin injury in a mouse model by two-photon microscopy.* Sci Rep, 2016. **6**: p. 19216.
- 87. Lee, J., et al., *Characterization of early-stage cutaneous radiation injury by using optical coherence tomography angiography.*Biomedical Optics Express, 2020. 11(5): p. 2652-2664.

- 88. Cook, L.C., et al., *Dermoscopy in the Diagnosis of Inflammatory Dermatoses: Systematic Review Findings Reported for Psoriasis, Lupus, and Lichen Planus.* J Clin Aesthet Dermatol, 2018. **11**(4): p. 41-42.
- 89. Nazik, H. and N. Kurtul, *Dermoscopy: as a new method for evaluation of radiation dermatitis in patients with breast cancer*. Egyptian Journal of Dermatology and Venereology, 2019. **39**(1): p. 25-30.
- 90. de Carvalho, N., et al., *Reflectance confocal microscopy correlates* of dermoscopic patterns of facial lesions help to discriminate lentigo maligna from pigmented nonmelanocytic macules. British Journal of Dermatology, 2015. **173**(1): p. 128-133.
- 91. Navarrete-Dechent, C., et al., *Reflectance confocal microscopy and dermoscopy aid in evaluating repigmentation within or adjacent to lentigo maligna melanoma surgical scars.* Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2020. **34**(1): p. 74-81.
- 92. Oken, M.M., et al., *Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group.* Am J Clin Oncol, 1982. **5**(6): p. 649-55.
- 93. K Guogytė, A.P., O Sevriukova, R Ladygienė, J Žiliukas, V Janušonis, Micronuclei And G2 Assays For Assessment Of Chromosomal Radiosensitivity As Assistant Tool In Radiotherapy: Method-Comparison Study. Health Sciences is Eastern Europe, 2016. 26(5): p. 63-68.
- 94. Pantelias, G.E. and G.I. Terzoudi, *A standardized G2-assay for the prediction of individual radiosensitivity*. Radiotherapy and Oncology, 2011. **101**(1): p. 28-34.
- 95. Finlay, A.Y. and G.K. Khan, *Dermatology Life Quality Index* (*DLQI*)--a simple practical measure for routine clinical use. Clin Exp Dermatol, 1994. **19**(3): p. 210-6.
- 96. Juras KIŠONAS, J.V., Olga SEVRIUKOVA, Mindaugas GRYBAUSKAS, Arvydas BURNECKIS, Ričardas ROTOMSKIS, ACUTE RADIODERMATITIS CLINICAL MANIFESTATION IN COMPARISON WITH REFLECTANCE CONFOCAL MICROSCOPY, in MEDICAL PHYSICS IN THE BALTIC STATES 14 (2019), D. Adlienė, Editor. 2019, Kaunas University of Technology 2019: Kaunas, Lithuania. p. 66-70.
- 97. McDonald, M.W., et al., *Long-Term Outcomes of Imrt for Breast Cancer: A Single-Institution Cohort Analysis.* International Journal of Radiation Oncology Biology Physics, 2008. **72**(4): p. 1031-1040.
- 98. Yee, C., et al., *Radiation-induced Skin Toxicity in Breast Cancer Patients: A Systematic Review of Randomized Trials.* Clinical Breast Cancer, 2018. **18**(5): p. E825-E840.

- 99. Palumbo, E., et al., *Individual Radiosensitivity in Oncological Patients: Linking Adverse Normal Tissue Reactions and Genetic Features.* Frontiers in Oncology, 2019. **9**.
- 100. Navarrete-Dechent, C., et al., *In vivo imaging characterization of basal cell carcinoma and cutaneous response to high-dose ionizing radiation therapy: A prospective study of reflectance confocal microscopy, dermoscopy, and ultrasonography.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2021. **84**(6): p. 1575-1584.
- 101. Poggioli, T., et al., *G0 and G2 chromosomal assays in the evaluation of radiosensitivity in a cohort of Italian breast cancer patients.* J Radiat Res, 2010. **51**(5): p. 615-9.
- 102. Ryabchenko, N.M., et al., *Chromosomal radiosensitivity in Ukrainian breast cancer patients and healthy individuals.* Exp Oncol, 2012. **34**(2): p. 121-4.
- 103. Ernestos, B., et al., Increased Chromosomal Radiosensitivity in Women Carrying Brca1/Brca2 Mutations Assessed with the G2 Assay. International Journal of Radiation Oncology Biology Physics, 2010. 76(4): p. 1199-1205.
- 104. Jerzak, K.J., T. Mancuso, and A. Eisen, *Ataxia-telangiectasia gene* (*ATM*) mutation heterozygosity in breast cancer: a narrative review. Current Oncology, 2018. **25**(2): p. E176-E180.
- Reiman, A., et al., Lymphoid tumours and breast cancer in ataxia telangiectasia; substantial protective effect of residual ATM kinase activity against childhood tumours. British Journal of Cancer, 2011. 105(4): p. 586-591.
- 106. Kraus-Tiefenbacher, U., et al., Factors of influence on acute skin toxicity of breast cancer patients treated with standard threedimensional conformal radiotherapy (3D-CRT) after breast conserving surgery (BCS). Radiation Oncology, 2012. 7.
- 107. Southworth, A., H. Clough, and N. Roberts, *An audit of radiationinduced skin reactions in the inframammary fold; does breast size impact on the severity of the reaction?* Radiography, 2020. **26**(3): p. 192-197.
- 108. Yamazaki, H., et al., Assessment of radiation dermatitis using objective analysis for patients with breast cancer treated with breast-conserving therapy: influence of body weight. Japanese Journal of Radiology, 2012. **30**(6): p. 486-491.
- Zhou, Z.R., et al., Systematic review and meta-analysis comparing hypofractionated with conventional fraction radiotherapy in treatment of early breast cancer. Surgical Oncology-Oxford, 2015.
   24(3): p. 200-211.
- 110. Valle, L.F., et al., *Hypofractionated whole breast radiotherapy in breast conservation for early-stage breast cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized trials.* Breast Cancer Res Treat, 2017. **162**(3): p. 409-417.

- 111. Correa, C., et al., *Accelerated Partial Breast Irradiation: Executive summary for the update of an ASTRO Evidence-Based Consensus Statement.* Practical Radiation Oncology, 2017. **7**(2): p. 73-79.
- 112. Harness, J.K., et al., *Meta-Analysis of Local Invasive Breast Cancer Recurrence After Electron Intraoperative Radiotherapy*. Annals of Surgical Oncology, 2018. **25**(1): p. 137-147.
- 113. Ryan, J.L., et al., *Post-treatment skin reactions reported by cancer patients differ by race, not by treatment or expectations.* British Journal of Cancer, 2007. **97**(1): p. 14-21.

## PRIEDAI

1 priedas. Vilniaus regioninio biomedicininių tyrimų komiteto leidimas atlikti biomedicinini tyrimą.



2 priedas. Valstybinės duomenų apsaugos inspekcijos leidimas atlikti asmens duomenų tvarkymo veiksmus.



3 priedas. Leidimas naudoti dermatologinį gyvenimo kokybės klausimyną.

Your DLQI licence has been approved - Licence ID CUQoL1639

Dermatology Quality of Life - Licensing <info@licensing.dermy.org> 2018 m. kovo 26 d. 15:52 Atsakyti - kam: technologytransfer@cardiff.ac.uk Kam: juras.kisonas@gmail.com

# **Dermatology Quality of Life - Licensing**

Dear Dr Juras Kisonas,

This e-mail confirms a free licence (License ID CUQoL1639) has been granted to you to use the DLQI for the purposes of your study (II-2016-4 - EVALUATION OF RADIATION INDUCED ACUTE DERMATITIS ACCORDING TO INDIVIDUAL RADIOSENSITIVITY AND IN VIVO REFLECTANCE CONFOCAL MICROSCOPY) in accordance with the terms and conditions of the licence.

Languages selected: Lithuanian

You can download the questionnaire from our website.

Please note: You must include the appropriate copyright statement at the end of every copy of the questionnaire. For the DLQI this is: '© Dermatology Life Quality Index. AY Finlay, GK Khan, April 1992'.

If you require further information, please contact: dermgol@cardiff.ac.uk

Regards,

**Hillary Barton** 

4 priedas. Informuoto asmens sutikimo forma.

PATVIRTINTA Lietuvos bioetikos komiteto biomedicininių tyrimų ekspertų grupės 2016 m. lapkričio 15 d. sprendimu

Informuoto asmens sutikimo forma, versija Nr. 3, data: 2017-04-10

#### INFORMUOTO ASMENS SUTIKIMO FORMA

Biomedicininio tyrimo pavadinimas:

Jonizuojančiosios spinduliuotės sukelto ūminio odos pažeidimo vertinimas remiantis individualiu radiojautrumu ir *in vivo* konfokalia atspindžio mikroskopija

Protokolo Nr.: II-2016-4

Užsakovas: Nacionalinis Vėžio Institutas

Adresas: Santariškių g. 1, Vilnius Tel.: 852786700 El. paštas: administracija@nvi.lt

Užsakovo atstovas: prof. Sonata Jarmalaitė, NVI direktoriaus pavaduotoja mokymui ir mokslui

Atsakingas tyrėjas<sup>1</sup>: Juras Kišonas

#### 1. Kokia šio dokumento paskirtis?

Šioje formoje pateikiama Jums skirta informacija apie biomedicininį tyrimą, aptariamos tyrimo atlikimo priežastys, mokslinio tyrimo procedūros, nauda, rizika, galimi nepatogumai ir kita svarbi informacija. Jei nuspręsite dalyvauti, prašysime Jūsų pasirašyti šią sutikimo formą, kuria sutinkate tyrimo metu vykdyti gydytojo tyrėjo ir tyrimo komandos nurodymus. Pasirašydami šį dokumentą, sutinkate dalyvauti moksliniame tyrime. Neskubėkite ir atidžiai perskaitykite šį dokumentą, jei nesupratote kokio nors žodžio ar teiginio, visus iškilusius klausimus būtinai užduokite tyrimo gydytojui ar kitiems tyrimo komandos nariams. Prieš priimdami sprendimą, galite pasitarti su šeimos nariais, draugais ar savo gydytoju.

2. Kodėl atliekami biomedicininiai tyrimai?

Svarbu suprasti, kad nors biomedicininio tyrimo metu Jums bus atliekami sveikatos patikrinimai ar medicininės procedūros, biomedicininis tyrimas iš esmės skiriasi nuo įprastos (kasdienės) klinikinės praktikos. Įprastos (kasdienės) klinikinės praktikos tikslas yra Jus (t. y. konkretų asmenį, pacientą)

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Jeigu tyrėjo adresas nesutampa su tyrimo centro adresu – nurodykite abu

išgydyti ir/ar pagerinti Jūsų sveikatos būklę. Pagrindinis biomedicininio (mokslinio) tyrimo tikslas – gauti naujų medicinos mokslo žinių, kurios ateityje padėtų kitų šia liga sergančių pacientų sveikatai. Kitaip tariant, pagrindinis šio tyrimo tikslas nėra tiesioginė nauda Jūsų sveikatai.

#### 3. Kodėl atliekamas šis tyrimas?

Šio tyrimo tikslas – įvertinti tiriamų metodų veiksmingumą siekiant kuo anksčiau nustatyti jonizuojančiosios spinduliuotės sukeliamą odos pažeidimą (spindulinį dermatitą). Šiuo metu gydytojas spindulinį dermatitą diagnozuoja vizualiai vertindamas odos pažeidimo simptomus (paraudimą, patinimą, šlapiavimą ir pan.). Tačiau šis metodas nėra pakankamai objektyvus. Šis tyrimas leis nustatyti, kuris iš tiriamų metodų ar jų derinys leidžia anksčiausiai nustatyti spindulinį dermatitą.

### 4. Kokie asmenys pasirenkami dalyvauti šiame tyrime?

Kviečiame Jus dalyvauti biomedicininiame tyrime, nes Jums bus taikomas spindulinis gydymas ir atitinkate pagrindinius išvardintus įtraukimo į tyrimą kriterijus. Pagrindiniai įtraukimo į šį tyrimą kriterijai yra šie: gebėjimas savarankiškai rašytiniu būdu patvirtinti savo apsisprendimą dalyvauti tyrime; amžius >18 metų; planuojamas spindulinis gydymas; gera funkcinė būklė.

#### 5. Kas atlieka / užsako šį biomedicininį / klinikinį vaistinio preparato tyrimą?

Šio biomedicininio tyrimo užsakovas yra Nacionalinis Vėžio Institutas. Šiam tyrimui atlikti reikalingas lėšas skirs Nacionalinis Vėžio Institutas.

#### 6. Tikimybė patekti į skirtingas tiriamųjų grupes ir dalyvavimo šiose grupėse ypatybės.

Šiame tyrime dalyvaujantys asmenys atsitiktinai paskyrus (lyg metus monetą) bus suskirstyti į dvi grupes. Vienai grupei bus skiriama įprasta spindulinio gydymo metu taikoma odos priežiūra, t.y. "Medetkų kremas", odai tepti du kartus per dieną skiriamas kai spindulinis dermatitas pasiekia II laipsnį. Kitai grupei odos priežiūra bus skiriama profilaktiškai nuo spindulinio gydymo pradžios, t.y. du kartus per dieną švitinamo lauko odą reikės tepti kremu "Basalis Clinic". Odos priežiūros priemones tiriamiesiems skirs tyrimo užsakovas – Nacionalinis Vėžio Institutas.

Atsitiktinis skyrimo būdas reiškia, kad ne gydytojas-tyrėjas nusprendžia, o kompiuterinė programa nurodo, į kurią grupę Jūs būsite paskirtas. Kiekvienas tyrimo dalyvis turi vienodą galimybę (50 proc.) patekti į vieną iš grupių.

7. Kiek truks Jūsų dalyvavimas šiame tyrime?

Bendra tyrimo trukmė – aštuoni metai. Jūs dalyvausite du mėnesius, t. y., nuo pirmo vizito, kai pasirašysite informuoto asmens sutikimo formą, turėsite apsilankyti pas gydytoją tyrėją dar 8 kartus, sykį per savaitę gydymo metu (7 kartai) ir vieną kartą praėjus 30 dienų nuo gydymo pabaigos.

8. Kokiose šalyse bus vykdomas šis tyrimas?

Tyrimas bus atliekamas Nacionaliniame Vėžio Institute, Lietuvoje.

2
#### 9. Kiek tiriamųjų dalyvaus šiame tyrime?

Tikimasi, kad šiame biomedicininiame tyrime dalyvaus 100 žmonių, kuriems taikomas spindulinis gydymas.

### 10. Ką Jums reikės daryti?

Prašysime Jūsų leisti šio tyrimo tikslais iš venos paimti nedidelį kiekį kraujo (8 ml) individualaus jautrumo jonizuojančiajai spinduliuotei (radiojautrumui) nustatyti. Taip pat prašysime atsakyti į keletą tyrimo klausimyno klausimų apie Jūsų odos būklę prieš, per ir po gydymo. Klausimyne užrašyta informacija bus anoniminė, remiantis ja nebus įmanoma nustatyti Jūsų tapatybės.

Prašome leisti naudotis Jūsų medicininiais dokumentais (ligos istorija), kuriais remiantis bus renkami duomenys apie ligos išplitima ir spindulini gydyma.

Jei sutiksite dalyvauti tyrime, Jums reikės atvykti į NVI Mokslinių Tyrimų Centrą vieną kartą per savaitę gydymo metu ir vieną kartą praėjus 30d po gydymo. Šio vizito metu tyrimo gydytojas Jums atliks Konfokalinę odos mikroskopiją. Konfokalinė odos mikroskopija atliekama odos nepažeidžiančiu lazeriu, kuris leidžia tirti gilesnius odos sluoksnius neatliekant pjūvio. Atliekant šią procedūrą, nepatirsite jokių nemalonių pojūčių. Įprastai ši procedūra trunka iki 15min.

Tyrėjams reikės naudotis Jūsų medicininiais dokumentais (ligos istorija), iš kurių bus renkami duomenys apie Jūsų lytį, amžių, ligos diagnozę, stadiją, histologinį naviko tipą, spindulinės terapijos metu į naviką skiriamą vienkartinę ir suminę dozę, vienkartinę ir suminę dozę tenkančią odai.

Tyrimo metu bus atliekamos šios procedūros: nustatomas Jūsų individualus radiojautrumas, odos tipas, pagal specialią skalę bus vertinimas spindulinis odos pažeidimas ir atliekama Konfokalinė odos mikroskopija. Kai kurios nurodytos procedūros – individualus radiojautrumo nustatymas, odos tipo nustatymas ir Konfokalinė odos mikroskopija – įprastinio vizito pas gydytoją metu nebūtų atliekamos.

### 11. Ar dalyvavimas biomedicininiame tyrime Jums bus naudingas?

Dalyvaujant šiame tyrime Jums bus nustatytas individualus radiojautrumas, odos tipas ir atliekama Konfokalinė odos mikroskopija. Įprastai šios procedūros nėra atliekamos, todėl Jūs sužinosite papildomos informacijos apie savo jautrumą jonizuojančiajai spinduliuotei.

### 12. Kokia su dalyvavimu šiame tyrime susijusi rizika ir nepatogumai?

Dalyvaudami šiame tyrime galite patirti nepatogumų, tokių kaip sugaištas laikas vykstant į tyrimo vietą ar pildant tyrimo klausimynus. Be to, bus atliekamos tyrimo procedūros, kurios gali sukelti nemalonių pojūčių: paėmus kraują gali būti juntamas skausmas arba susiformuoti kraujosrūvos, retais atvejais kilti infekcijų; Konfokalinė odos mikroskopija yra visiškai neskausminga, bet lipnaus laikiklio tvirtinimo vietoje gali šiek tiek sudirgti ir parausti oda.

Dalyvaudami tyrime Jūs prieš gydymą, gydymo viduryje ir pabaigoje turėsite pildyti klausimyną (sugaišite maždaug 15 min), taip pat kartą per savaitę vyksite į Mokslinių Tyrimų Centrą.

13. Jei atsitiktų kas nors negero? (Informacija apie draudimą)

Jūs turite teisę į žalos sveikatai ir su tuo susijusios neturtinės žalos, patirtos dalyvaujant šiame tyrime, atlyginimą. Sveikatos priežiūros įstaiga yra sudariusi draudimo sutartį, kurioje numatytas žalos, galinčios atsirasti šio biomedicininio tyrimo metu, atlyginimas.

Tyrimo metu atliekami veiksmai yra arba medicininio personalo profesinės civilinės atsakomybės, arba pačios gydymo įstaigos civilinės atsakomybės draudimo objektas, bet ne pagrindinių tyrėjų ir biomedicininių tyrimų užsakovų privalomojo civilinės atsakomybės draudimo objektas.

Su civilinės atsakomybės draudimo sutartimi ir taisyklėmis galite susipažinti tyrimo vietoje (Nacionaliniame vėžio institute), kreipdamiesi į pagrindinį tyrėją. Jei manote, kad tyrimo metu patyrėte žalą, kreipkitės į pagrindinį tyrėją (Juras Kišonas tel. 861236796).

14. Ar galėsite nutraukti dalyvavimą tyrime?

Jei nuspręsite pasitraukti iš tyrimo šiam nepasibaigus, tyrėjas pateiks ir paprašys parašyti laisvos formos atsisakymo prašyma arba užpildyti atsisakymo forma.

Jei Jūs nebenorėsite dalyvauti tyrime, galėsite pasitraukti iš tyrimo bet kuriuo metu.

15. Jūsų dalyvavimo tyrime nutraukimo aplinkybės ir kriterijai.

Tyrimo gydytojas ar užsakovas turi teisę bet kuriuo metu sustabdyti tyrimą ar Jūsų dalyvavimą jame. Jūs nebegalėsite dalyvauti tyrime, jei neatvyksite į suplanuotus vizitus, ar nesilaikysite kitų tyrėjų nurodymų.

16. Kokias pasirinkimo galimybes turėsite, jeigu nesutiksite dalyvauti šiame tyrime arba atšauksite sutikima jame dalyvauti?

Tyrime dalyvaujate savanoriškai, todėl turite teisę atsisakyti, o pradėjęs galite bet kada iš jo pasitraukti. Jūsų sprendimas atsisakyti dalyvauti ar nutraukti dalyvavimą tyrime nedarys jokios įtakos teikiamai įprastinei sveikatos priežiūrai.

17. Ar dalyvaudami šiame tyrime patirsite kokių nors išlaidų?

Už dalyvavimą biomedicininiuose tyrimuose atlygis nėra mokamas. Kompensacija už sugaištą laiką bei kelionės išlaidas nebus skiriama.

18. Ar Jūsų asmens duomenys bus konfidencialūs?

Atliekant biomedicininį tyrimą gauta sveikatos informacija, leidžianti nustatyti asmens tapatybę, yra konfidenciali ir gali būti teikiama tik pacientų teises ir asmens duomenų apsaugą reglamentuojančių įstatymų nustatyta tvarka.

Jūsų konfidencialumas garantuojamas. Visi medicininiai dokumentai, gauti dalyvaujant šiame tyrime, liks slapti. Jokiuose biomedicininio tyrimo dokumentuose (išskyrus Informuoto asmens

sutikimo formą) Jūsų vardas ir pavardė nebus nurodomi. Jūs būsite identifikuojamas tik specialiu numeriu, pagal kurį asmens tapatybę galės nustatyti tik tyrimo pagrindinis tyrėjas. Iš mokslinių publikacijų nebus galima identifikuoti tiriamųjų asmenų. Tyrimo dokumentai bus saugomi 10 metų, už jų saugojimą atsakingas pagrindinis tyrėjas Juras Kišonas.

Nacionalinio vėžio instituto (NVI) Mokslinė taryba davė leidimą atlikti šį tyrimą. Biomedicininio tyrimo vykdymo kokybės kontrolę organizuoja ir kontroliuoja NVI direktoriaus pavaduotojas mokslui ir mokymui bei mokslinis sekretorius. Pagrindinis tyrėjas sudarys sąlygas kontroliuoti biomedicininį tyrimą, atlikti auditą, etinę priežiūrą ir inspekciją, suteikiant galimybę tiesiogiai prieiti prie pradinių dokumentų.

### 19. Kas ir kokiu tikslu galės susipažinti su Jūsų asmens duomenimis?

Pasirašydami šią formą sutinkate, kad tyrimo tyrėjai ir tyrimus kontroliuojančios institucijos (tokios kaip Valstybinė vaistų kontrolės tarnyba, etikos komitetai) galės susipažinti su visa šio tyrimo tikslais apie Jus surinkta informacija. Kitiems asmenims ar įmonėms bus teikiami tik užkoduoti sveikatos duomenys, neleidžiantys tiesiogiai nustatyti Jūsų tapatybės. ("Užkoduoti" reiškia, kad dokumentuose bus nurodomas ne Jūsų vardas ir pavardė, o specialus numeris, kurį susieti su Jūsų asmeniu galės tik gydytojas tyrėjas).

Surinktus duomenis tyrimo gydytojai naudos tik šio klinikinio tyrimo tikslais.

Užkoduoti Jūsų kraujo mėginiai bus siunčiami į Lietuvos Radiacinės Saugos Centro Ekspertizės ir apšvitos stebėsenos departamento Gyventojų apšvitos stebėsenos skyriaus laboratoriją. Jūsų tyrėjas turi laboratorijos kontaktinę informaciją – jei norėtumėte susipažinti su šia informacija kreipkitės į savo tyrėją.

Jūs turite teisę sužinoti, kokie duomenys buvo surinkti, taip pat galite reikalauti ištaisyti, sunaikinti ar sustabdyti savo asmens duomenų tvarkymo veiksmus, jei nuspręsite pasitraukti iš tyrimo anksčiau numatyto laiko. Tada tyrėjai apie Jus neberinks naujos informacijos, bet negalės sunaikinti iki tol surinktų duomenų.

20. Kiek laiko bus saugomi tyrimo metu surinkti duomenys ir kas už tai bus atsakingas?

Visa informacija bus užrašoma specialiai klinikiniam tyrimui sudaromuose elektroniniuose ir popieriniuose dokumentuose ir tyrimo centre saugoma užsakovo duomenų bazėje 10 metų, laikantis galiojančių archyvavimo normų ir LR įstatymų. Už duomenų saugojimą atsakingas pagrindinis tyrėjas.

21. Kas įvertino šį biomedicininį / klinikinį vaistinio preparato tyrimą? / Į ką kreiptis, jeigu iškiltų klausimų?

Norėdami išsiaiškinti klausimus, susijusius su Jūsų dalyvavimu šiame tyrime, nedelsdami kreipkitės į pagrindinį tyrėją Jurą Kišonas (tel.861237696).

Informuoto asmens sutikimo forma, versija Nr. 3, data: 2017-04-10

Dėl savo, kaip tyrimo dalyvio, teisių galite kreiptis į leidimą atlikti šį biomedicininį tyrimą išdavusį Vilniaus regioninį biomedicininių tyrimų etikos komitetą, M. K. Čiurlionio g. 21/27 (231 kab.), LT-03101, Vilnius, tel. (8-5) 2686998, el. paštas: <u>rbtek@mf.vu.lt</u> bei

Valstybinę duomenų apsaugos inspekciją, A.Juozapavičiaus g.6/Slucko g. 2, Vilnius, tel. (85) 279 1445.

### SUTIKIMAS DALYVAUTI BIOMEDICININIAME TYRIME

Aš perskaičiau šią Informuoto asmens sutikimo formą ir supratau man pateiktą informaciją.

Man buvo suteikta galimybė užduoti klausimus ir gavau mane tenkinančius atsakymus.

Supratau, kad galiu bet kada pasitraukti iš tyrimo, nenurodydama(s) priežasčių<sup>2</sup>.

Supratau, kad asmuo, dėl kurio dalyvavimo biomedicininiame tyrime aš duodu sutikimą, gali bet kada pasitraukti iš tyrimo, nenurodydamas priežasčiu.<sup>3</sup>

Supratau, kad norėdama(s) atšaukti sutikimą dalyvauti biomedicininiame tyrime, raštu turiu apie tai informuoti tyrėją / kitą jo įgaliotą biomedicininį tyrimą atliekantį asmenį.

Patvirtinu, kad turėjau užtektinai laiko apsvarstyti man suteiktą informaciją apie biomedicininį tyrimą.

Supratau, kad dalyvavimas šiame tyrime yra savanoriškas.

Patvirtinu, kad sutikimą dalyvauti šiame biomedicininiame tyrime duodu laisva valia.

Leidžiu naudoti asmens duomenis ta apimtimi ir būdu, kaip nurodyta Informuoto asmens sutikimo formoje.

Patvirtinu, kad gavau Informuoto asmens sutikimo formos egzempliorių, pasirašytą tyrėjo / kito jo igalioto biomedicininį tyrimą atliekančio asmens.

Asmuo (ar kitas sutikimą turintis teisę duoti asmuo)

vardas	pavardė	atstovavimo	parašas	pasirašymo	pasirašymo
		pagrindas		data	laikas

Patvirtinu, kad suteikiau informaciją apie biomedicininį tyrimą aukščiau nurodytam asmeniui. Patvirtinu, kad asmeniui (ar kitam sutikimą duoti turinčiam teisę asmeniui) buvo skirta pakankamai laiko apsispręsti dalyvauti biomedicininiame tyrime, atsižvelgiant į biomedicininio tyrimo pobūdį, taip pat įvertinus kitas aplinkybes, galinčias daryti įtaką priimamam sprendimui.

Aš skatinau asmenį (ar kitą sutikimą turintį teisę duoti asmenį) užduoti klausimus ir į juos atsakiau.

Tyrėjas ar kitas jo įgaliotą biomedicininį tyrimą atliekantis asmuo

					-'-
vardas	pavardė	pareigos tyrime	parašas	pasirašymo data	pasirašymo laikas
vardas	pavardė	pareigos tyrime	parašas	pasirašymo data	pasirašyı laikas

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Jei sutikimą dalyvauti tyrime duoda pats asmuo

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Jei sutikimą dalyvauti tyrime duoda kitas asmuo

5 priedas. ECOG (angl. *Eastern Cooperative Oncology Group*) skalė pagal [92].

Laipsnis	Funkcinė būklė pagal ECOG
0	Pilnai aktyvus, be apribojimų gali atlikti visus veiksmus kaip ir
	prieš ligą
1	Ribotas atliekant fiziškai sunkius darbus, tačiau gali dirbti lengvą
	ar sėdimą darbą, pvz., lengvi namų ruošos darbai ar darbas biure
2	Gali save apsitarnauti, tačiau negali dirbti jokio darbo; iki
	maždaug 50 proc. aktyvaus laiko
3	Gali iš dalies save apsitarnauti; daugiau nei 50 proc. aktyvaus
	laiko praleidžia lovoje ar sėdint
4	Visiškai neįgalus; visiškai negali savęs apsitarnauti, nuolat guli
	ar sėdi
5	Miręs

6 priedas. Dermatologinis gyvenimo kokybės indeksas.

					1	DLQI	
Ligo	ninės Nr.:	Data:			ſ		
Adre	animas:	Diagnozé		Rezultatas:			
		Diagaone.					
Šio k klau	dausimyno tikslas – nustatyti, kaip od simo varnele 🗹 pažymėti vieną atsaky	os problema paveikė jūsų gyver mą.	iimą PASTARĄ	JĄ SAVAI	ITĘ. P	rašome p	rie kiekvieno
1.	Kiek pastarają savaitę jūsų oda buvo n skausminga ar dilginti?	iežtinti, opi,	Labai stipriai Stipriai Šiek tiek Visai ne				
2.	Kiek pastarają savaitę dėl savo odos va drovėjotės?	uržėtės ar	Labai stipriai Stipriai Šiek tiek Visai ne				
3.	Kaip stipriai pastarają savaitę dėl jūsų kilo sunkumų apsiperkant, tvarkanti dirbant sode?	odos būklės jums s <b>namuose</b> ar	Labai stipriai Stipriai Šiek tiek Visai ne		Neta	ikoma 🗖	
4.	Kaip stipriai pastarąją savaitę jūsų odo įtakos pasirenkant dėvinnus <b>drabužiu</b> s	s būklė turėjo ?	Labai stipriai Stipriai Šiek tiek Visai ne		Neta	iikoma 🗌	
5.	Kaip stipriai pastarąją savaitę jūsų odo įtakos jūsų <b>visuomeninei</b> veiklai ar <b>lai</b> užsiėmimams?	s būklė turėjo svalaikio	Labai stipriai Stipriai Šiek tiek Visai ne		Neta	ikoma 🗖	
б.	Kaip stipriai pastarąją savaitę patyrėte savo odos būklės s <b>portuodami</b> ?	sunkumų dėl	Labai stipriai Stipriai Šiek tiek Visai ne		Neta	iikoma 🗌	
7.	Ar pastarąją savaitę dėl savo odos būki dirbti ar mokytis?	lės negalėjote	Taip Ne Dava	B	Neta	ikoma 🗌	
	Jei atsakėte "Ne", kaip stipriai pastarąj odos būklės jums kilo problemų <b>dirba</b>	ą savaitę dėl jūsų nt ar mokantis?	Nedaug Visai ne	Η			
8.	Kaip stipriai pastarają savaitę dėl jūsų kilo problemų bendraujant su <b>partneri</b> artimais draugais ar giminaičiais?	odos būklės jums iu ar jūsų	Labai stipriai Stipriai Šiek tiek Visai ne		Neta	iikoma 🗖	
9.	Kaip stipriai pastarąją savaitę dėl jūsų kilo <b>lytinio gyvenimo</b> problemų?	odos büklés jums	Labai stipriai Stipriai Šiek tiek Visai ne		Neta	iikoma 🗖	
10.	Kaip stipriai pastarają savaitę jūsų odo kėlė problemų, pvz., dėl jo kilo netvan jis užėmė daug laiko?	s <b>gydyma</b> s jums (a nanmose arba	Labai stipriai Stipriai Šiek tiek Visai ne		Neta	ikoma 🗌	

### DERMATOLOGINIS GYVENIMO KOKYBĖS INDEKSAS

Prašome patikrinti, ar atsakėte į VISUS klausimus. Dėkojame.

A.Y. Finlay, G.K. Khan, 1992 m. balandis, www.darmatology.org.uk, \$i klausimyna be autoriu leidimo kopijuoti draudžiama.

Lithuanian for Lithuania

# SUMMARY OF DOCTORAL DISSERTATION

## LIST OF ABBREVIATIONS

- ADP abnormal dermal papillae
- ANOVA analysis of variance

ARD - acute radiation dermatitis

ASC - additional skin care

BSC – best supportive care

CCD - charge coupled device

CT – computed tomography

CTV - clinical target volume

CTCAE - Common Terminology Criteria for Adverse Events

DD – digital dermoscopy

DE – disarrayed epidermis

DLQI – dermatological life quality index

DNA - Deoxyribonucleic acid

ECOG - Eastern Cooperative Oncology Group

ERY – erythema

fx – fractions

Gy – grays

IDC – inflammatory cells in the dermis

IR - Ionizing radiation

IRS – individual radiosensitivity

OAR - organs at risk

PTV – planning target volume

RCM – reflectance confocal microscopy

RD – radiation dermatitis

RT – radiotherapy

RTOG - Radiation Therapy Oncology Group

SCGG – Canadian Supportive Care Guidelines Group

## **INTRODUCTION**

About 17,800 new cancer cases are diagnosed in Lithuania annually (data from the Cancer Registry). According to the cancer treatment guidelines up to 52% of newly diagnosed cancer patients should be treated with external beam radiotherapy [1]. Ionizing radiation (IR) induced skin injury (radiation dermatitis – RD) occurs in up to 95% of radiotherapy patients [2-4].

The skin belongs to the group of rapidly proliferating tissues and is therefore sensitive to the effects of IR. Nuclear and mitochondrial DNA damage occurs during the interaction of ionizing radiation with biological structures, free oxygen radicals are formed, all of which cause damage to the basal cell keratinocytes and hair follicle stem cells and an inflammatory reaction [5].

Skin damage begins a few hours after exposure to IR and can last up to 90 days - this is an acute RD (ARD).

The onset of ARD can be divided into several phases. During the first phase, generalized erythema develops due to intensified capillary circulation, which occurs a few hours after exposure to IR and lasts for up to several days. Often, this redness of the skin is noticeable only on special examination of the skin (such as with a dermoscope). From 2 days to 6 weeks, a second phase of cutaneous radiation damage occurs due to cytokine exposure, the clinical manifestation of which depends on the dose of IR. At the beginning, redness intensifies, the skin acquires a pale pink tinge, epilation may occur, but other epidermal lesions are not observed. After reaching a dose of 40 Gy of ionizing radiation to the skin (approximately 4 to 5 weeks of RT), reddening and swelling of the skin may occur, with foci of epidermal damage leading to dry desquamation. Higher doses of IR will cause wet desquamation or skin necrosis and ulceration. During the third phase, skin healing and hyperpigmentation occur 5 weeks after the end of RT [6].

In clinical trials, the occurrence of RD has been determined not only by the required sex, physical activity, stage of the disease [7], but also by individual radio sensitivity [8, 9]. Genetic factors are thought to increase patients' sensitivity to IR by 15% [10]. The researchers seek to identify individuals more sensitive to IR and to individualize their radiation treatment. It has been found that IRS can be determined and early and late skin radiation reactions can be predicted during the study of chromosome damage in irradiated lymphocytes before RT [8, 11]. In everyday practice, the severity of ARD is determined by a physician according to Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) or Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) scales [6]. According to this scale, ARD is divided into five degrees (table 1)

٨E			Grade		
AE	1	2	3	4	5
	Faint erythema	Moderate to brisk	Moist desquamation	Life-threatening	Death
	or dry	erythema; patchy	in areas other than	consequences; skin	
	desquamation	moist desquamation,	skin folds and	necrosis or ulceration of	
ARD		mostly confined to	creases; bleeding	full thickness dermis;	
		skin folds and	induced by minor	spontaneous bleeding	
		creases; moderate	trauma or abrasion	from involved site; skin	
		edema		graft indicated	

**Table 1.** Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) grading scale for acute radiation dermatitis.

AE - adverse event; ARD – acute radiation dermatitis

Clinical significance is grade 3 or higher ARD, in which case adjunctive treatment of skin reaction should be instituted and sometimes the main treatment (RT) should be discontinued until the skin lesion has resolved to grade 2. Grade 3 and/or 4 ARD is set for 25% of patients receiving chemoradiation therapy [3].

ARD is assessed not only by CTCAE but also by other scales: RTOG (Radiation Therapy Oncology Group), Oncology Nursing Society, Douglas and Fowler, Radiation Dermatitis Severity Scale [5].

The CTCAE and RTOG scales are commonly used, but there is no consensus on which method is best for the assessment of IR-induced skin damage. All of the mentioned scales are based on a subjective, visual description of the skin lesions. According to two main scales (CTCAE and RTOG), ARD is divided into four levels (0 - no symptoms, 5 - death). This description of ARD symptoms is insufficient, resulting in other scales using 6 to 14 levels of skin damage.

It should be noted that even on extended scales, the patient's subjective feelings of skin damage (sensitivity, itching, burning, pain, emotional and physical discomfort) are not assessed. Therefore, questionnaires are developed to help the patient feel the signs of skin damage. Often the patient reports a wider range of symptoms than the physician can estimate based on the CTCAE or RTOG scales. Also, the assessment of patients' perceived symptoms does not necessarily correlate with the clinician's assessment of skin damage [12].

Thus, ARD is a common and serious clinical problem that influences the choice of treatment and its course in many patients treated with RT. Difficult assessment of skin lesions and discrepancies between clinically observable and patient-experienced symptoms encourage the search for additional and safe methods for assessing skin lesions that can objectively assess these symptoms before they occur, thus facilitating physician care and improving patient comfort during treatment.

Non-invasive skin microscopy devices based on various methodologies have already been developed: dermoscopy, high-frequency ultrasonography, optical coherence tomography, multiphoton tomography, confocal reflection microscopy.

Reflectance confocal microscopy (RCM) allows non-invasive examination of the skin in vivo. During RCM, the tissue is illuminated with light of a wavelength close to infrared and single reflected photons are collected with the help of a detector. This result in a high quality and contrasting image from different layers of tissue, i.e., in vivo images are obtained in real time non invasively [13, 14].

Recently, the benefits of RCM in the diagnosis of malignant and non malignant skin diseases have been studied intensively [14]. RCM is used to study the incidence of inflammatory skin diseases [15, 16]. Inflammation of the skin caused by ionizing radiation (radiation dermatitis) is also assessed by this method. S. Vano-Galvan and co-authors using RCM examined the course of ARD in six breast cancer patients during RT. The study found that this method can be used to safely investigate the biological changes in the skin caused by IR before their clinical onset [17].

A conventional RCM device is equipped with a dermoscope, which can provide more information regarding skin toxicity associated with RT.

Clinical trials are actively investigating which skin care products used for the prevention and treatment of RD are most effective. Canadian Supportive Care Guidelines Group (SCGG) 2005 conducted a systematic review to determine the optimal prevention and treatment for RD. Experts analyzed 28 clinical trials and found that only washing the skin during ST significantly prevents the development of RD. Meanwhile, none of the skin care products used to treat RD has been effective [18]. Experts in this group believe that the use of a simple, odorless, lanolin-free, hydrophilic ointment could reduce the likelihood of developing RD.

A meta-analysis with more than 3,000 patients performed in 2013 did not show that at least one of the skin care products used to prevent or treat RD was effective [19]. Another meta-analysis of 47 clinical trials was performed by Raymond and co-authors in 2014. The authors state that the use of papain/trypsin/chymotrypsin proteolytic enzymes reduces the incidence of RD and the development of severe RD. However, the main conclusion of this analysis is that there is a significant lack of good comparative studies examining the impact of individual interventions on RD occurrence [20].

The aim of the dissertation: to determine the correlations between the signs of skin damage observed by RCM and the clinical course of ARD and individual patient parameters, as well as to evaluate the predictive value of RCM.

Towards this aim, the following main tasks of the dissertation have been formulated:

1. To identify the signs of skin damage resulting from IR exposure observed with RCM, to determine the course and frequency of the onset of IR-induced skin lesions, and to compare them with the clinical manifestations of ARD.

2. To evaluate the significance of digital dermoscopy for early detection of ARD.

3. To evaluate the RCM predictive value for the occurrence of ARD.

4. To determine the individual radiosensitivity of patients and evaluate the association with the occurrence of ARD.

## STATEMENTS TO BE DEFENDED

1. The signs of IR-induced skin damage revealed by RCM are observed before the onset of clinical symptoms of the ARD and have typical course: firstly the RCM features that do not indicate damage to the skin structure (exocytosis, spongiosis, and inflammatory cells) are determined, while structural changes in the skin (disarrayed epidermis and abnormal dermal papillae) occur later.

2. Digital dermoscopy performed during RT allows to detecting the IRinduced skin lesions before the onset of clinical ARD symptoms.

3. RCM features detected at the beginning of RT allow the prediction of ARD severity at the end of treatment.

4. IRS determined by the G2 method prior to RT does not correlate with clinical manifestations of ARD.

## SCIENTIFIC NOVELTY

RCM is a widely used non-invasive skin investigation technique in order to diagnose malignant and benign diseases and evaluate the effectiveness of treatment. RCM was also used to assess ARD, but only in six patients. This is the first prospective clinical trial to analyze IR-induced skin lesions using RCM and dermoscopy involving more than a hundred patients. During this study, more than 600 measurements using RCM and the same number of DD were performed, so this is the largest study examining the use of noninvasive skin examination methods during RT. This is the first large-scale clinical trial to show that using RCM and DD the IR-induced skin lesions can be detected before the onset of clinical ARD symptoms. This is the first study to show that IR-induced skin lesions revealed by RCM have a typical course. This is the first study to show that the severity of ARD at the end RT of can be predicted by RCM at the beginning of treatment. This is the first clinical study of this magnitude to reveal that IRS determined by the G2 method before the RT has no predictive value for the development of ARD.

## MATERIALS AND METHODS

**Biomedical research:** In order to reach the aim and achieve the set goals, a biomedical study "Evaluation of acute skin damage caused by ionizing radiation based on individual radio sensitivity and in vivo reflectance confocal microscopy" was planned. A study protocol (No. II-2016-4) was prepared and discussed at the National Cancer Institute of Lithuania. The permission of the Vilnius Regional Biomedical Research Committee (No.:158200-17-908-418) to perform this research was obtained (appendix 1). The permission to process personal data has been obtained from the State Data Protection Inspectorate (No. 2R-3005 (2.6-1)) (appendix 2). The study was conducted in 2017-2020 at the National Cancer Institute of Lithuania. Permission to use the dermatological life quality questionnaire was obtained (appendix 3).

Selection of patients: patients who were determined to receive RT by the multidisciplinary team were invited to participate in this study. All patients became acquainted with the Informed Consent Form and signed a consent to participate in the biomedical study (appendix 4).

Patients who met the following inclusion criteria were enrolled in the study:

• patients who can independently confirm in writing their decision to participate in the study;

• age> 18 at the time of signing the informed consent form;

• patients who were determined to receive RT by the multidisciplinary team;

• The ECOG score [82] (Annex 5) ranges from 0 to 2 points.

Subjects were excluded from the study based on the following exclusion criteria:

• ECOG status> 3 points (Annex 5);

• Previous chemotherapy or radiation therapy.

The study included a total of 110 patients with stage I-II breast cancer who underwent breast-preserving surgery and were scheduled for RT.

**Randomization:** all patients were randomly divided into two groups according to the skin care type given during TR. The first (best supportive care (BSC)) group of subjects received routine skin care during radiotherapy i. e. daily showering of the skin and wearing loose-fitting natural fabric clothing. If in this group the ARD according to CTCAE scale reaches grade II, a cream (Marigold Cream, Sanitas) was prescribed twice a day. The second (additional skin care (ASC)) group also receives the best supportive skin care and is supplemented with a plain, odorless, moisturizing cream (Kremas Basalis Clinic, Lithuanian University of Health Sciences Pharmacy). Skin care Institute.

**Radiosensitivity test**: The assessment of individual radiosensitivity (IRS) to IR was performed employing modified G2 assay when the radiosensitivity of chromosomes is tested by G2 checkpoint arrest under conventional and caffeine-containing environment. The peripheral blood was collected into the Li-heparin vacutainers before RT. Setting up of lymphocytes cultures, consisted of the addition of heparinized whole blood to enriched F-10 medium. Lymphocytes were cultured in the incubator for 72 hours in a humidified air atmosphere of  $37^{\circ}$ C in 5% CO2 [32]. In vitro irradiation of lymphocytes cultures to 1 Gy at followed by the end of the incubation period (RT unit T-105 X-ray; 2.3 Gy/min dose rate  $23 \pm 2^{\circ}$ C). After the irradiation, half the lymphocytes culture was supplemented with caffeine solution (4 mM) and incubated together with caffeine-free part for 20 min to initiate cell division. After additional incubation, the arrest of

lymphocytes at metaphase in both cultures was initiated by incubation with colcemid for 1 h. Peripheral lymphocytes then were harvested, spread, and stained as described in [83]. Two chromosome aberration yields were set for each individual: standard G2 yield (caffeine-free) and next AT imitating high radiosensitivity level yield based on a caffeine-induced G2-M checkpoint arrest. IRS was considered as the ratio of standard G2 yield to imitated high radiosensitivity level in case of AT in each patient expressed in percentage (1)

IRS=G2/G2caffeine×100% (1)

Patients were categorized based on the IRS values (<30% - radioresistant,  $30\% \leq IRS \leq 50\%$  - normal,  $50\% \leq IRS \leq 70$  - radiosensitive, >70% - highly radiosensitive) [84].

**Radiotherapy**: RT to whole breast was prescribed to the patient according to the breast cancer treatment guidelines. The patient was treated using conventional fractionation. Chest computed tomography (CT) scan was performed in a supine position with hands above the head after patient immobilization. CT images were sent to Eclipse® radiotherapy planning system. Clinical target volume (CTV) and organs at risk (OAR) were delineated according to RTOG recommendations. The prescribed dose to the breast planning target volume (PTV) was 50 Gy delivered in 2 Gy per fraction (fx), 5 fx/week.

**Clinical ARD assessment**: assessment of ARD symptoms according to the Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) grading scale (Table 1) was performed before RT and once a week (every 5 fx). Three radiation oncologists separately evaluated radiation-induced skin reactions. The evaluations were combined, and the final degree of ARD was determined when at least two evaluators agreed.

Assessment of skin lesions with RCM and DD: Dermoscopic images were taken before every RCM imaging with a VivaCam® digital dermoscope that uses a 2 MP CCD camera. These full HD resolution images were used to assess the erythema (ERY) of the skin. Three radiation oncologists separately evaluated skin ERY according to a scale from 0 to 2, where 0 means "no erythema", 1 means "faint erythema", and 2 means "severe erythema". The evaluations were combined, and the final grade was determined when at least two evaluators agreed.

RCM images were taken with the commercially available VivaScope® 1500 (MAVIG GmbH, Munich, Germany) medical device, which uses 830 nm wavelength, a 20 mW (max power) laser diode for tissue illumination, and a 30x magnification 0.9 NA water immersion objective for laser beam

focusing onto the tissue and reflected light collection. The VivaScope® 1500 provides a lateral resolution of 1.25  $\mu$ m and an axial resolution of 5.0  $\mu$ m. The size of individual images is 500 x 500  $\mu$ m, with a frame rate of 9 images per second. The maximum mapped field is 8 x 8 mm, the image resolution is 1024 x 1024 pixels, and the resultant magnification is 520x. In the beginning of the imaging session, firstly, mosaic confocal reflectance images of 4 mm by 4 mm in the spinose–granular skin layer were taken. After that, 500  $\mu$ m by 500  $\mu$ m images every 5  $\mu$ m up to 100  $\mu$ m of depth were taken in three selected points. All images were evaluated by two observers. A lesion was graded as 1 if it was present in less than 50% of images and 2 if in more than 50%.

**Quality of life assessment**: To assess the association between ARD and quality of life, subjects were asked to complete a dermatological life quality index (DLQI) questionnaire before RT, 15 fx, and 20 fx. The purpose of this questionnaire is to assess how strongly skin problems have affected quality of life in the last week [85]. The officially translated version of the questionnaire into Lithuanian (appendix 6) was used for this purpose. The DLQI estimate is determined by summing the values of all responses. The lowest possible score is 0 points and the highest is 30. A higher DLQI score indicates a greater impact on quality of life (Table 2).

	1 0	
Score	Influence to quality of life	Category
0 - 1	None	DLQI 0
2 - 5	Low	DLQI I
6 – 10	Medium	DLQI II
11 - 20	Large	DLQI III
21 - 30	Severely large	DLQI IV

Table 2. The interpretation of dermatological life quality index.

DLQI - dermatological life quality index.

**Statistical analysis:** To describe characteristics of patients, to compare different patient groups, and to determine the impact of various variables on the repeated measurements the statistical analysis was used. Scale variables were described by median and standard deviation. Categorical variables were described by frequency of distribution. Normality assumption was verified with the Shapiro-Wilk test. ANOVA or Kruskal-Wallis test was used to determine the differences between the means, and the Chi-square test was used to determine the association between variables. In order to determine the impact of different factors on the repeated measurements of ARD the logistic regression with sorted cases by subject and within-subject

variables was used. The sample size for studies with repeated measures was enough to determine the statistical significance of odds ratio  $\geq 2$  with an alpha value equal to 0.05 and power equal to 0.8. Differences were considered statistically significant if a p-value was less than 0.05. Statistical analysis was performed using IBM SPSS statistics 25 software (Armonk, NY: IBM Corp, USA).

## **RESULTS AND DISCUSSION**

A pilot study was performed with 10 patients to identify the signs of IRinduced skin damage revealed by RCM and to compare them with the clinical manifestations of ARD.

Clinical ARD assessment according to the CTCAE scale is presented in Table 3.

				L	21	1	
ARD	Deg.	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
	0	10 (100%)	7 (70%)	5 (50%)	2 (20%)	2 (20%)	0
CTCA	Ι	0	3 (30%)	5 (50%)	8 (80%)	6 (60%)	6 (60%)
E	II	0	0	0	0	2 (20%)	4 (40%)
	III	0	0	0	0	0	0

Table 3. Clinical manifestations of ARD in pilot study participants.

ARD – acute radiation dermatitis, Deg. - degree, fx – fraction, CTCAE - Common Terminology Criteria for Adverse Events scale.

Evaluation of RCM images obtained during the pilot study was performed by two investigators.

The representative view of the normal honeycomb pattern of epidermis before RT is shown in Figure 1a and the normal view of dermal papillae at the level of the dermo-epidermal junction (DEJ) in Figure 1b. All subsequent measurements were compared to the control.



**Figure 1.** Control measurement of RCM before treatment: (A) - normal honeycomb pattern of epidermis; (B) - normal view of dermal papillae at the level of the dermo-epidermal junction (DEJ); RCM – reflectance confocal microscopy; fx - fraction.

Based on a review of the literature [17] and an evaluation of RCM images from the pilot study [86], the following signs of IR-induced skin damage were identified: exocytosis, spongiosis, inflammatory cells in the dermis (IDC), disarrayed epidermis (DE). and abnormal dermal papillae (ADP).



**Figure 2.** RCM imaging after 5 fx: (A) – white line selection indicating exocytosis; (B) - normal view of dermal papillae in the DEJ. RCM – reflectance confocal microscopy; fx – fraction; DEJ - dermo-epidermal junction.

Exocytosis is characterized as single or aggregates of round-topolygonal, mildly refractive cells at the level of the stratum spinosum (figure 1A). The darker area relative to the surrounding epithelium of the stratum spinosum with intercellular spaces between keratinocytes larger than normal corresponding to spongiosis is demonstrated in figure 3A.



**Figure 3**. RCM imaging after 10 fx: (A) – white line selection indicating spongiosis – darker area relative to the surrounding epithelium of the stratum spinosum with intercellular spaces between keratinocytes larger than normal; (B) - normal view of dermal papillae in the DEJ. RCM – reflectance confocal microscopy; fx – fraction; DEJ - dermo-epidermal junction.

At the level of DEJ a single, aggregates or diffuse round-topolygonal, mildly refractive cells (figure 4B) corresponding to inflammatory cells were detected after 15 fx (30 Gy). Spongiosis and exocytosis are nonspecific signs of IR-induced skin damage, as they are also detected in other inflammatory skin diseases [43], while IDC (figure 4B) is a specific feature of ARD [5]. The above three RCM features (spongiosis, exocytosis, ULD) are early, do not cause damage to the skin structure and are therefore reversible. Meanwhile, DE (figure 4A) is one of the irreversible signs of IRinduced skin damage, which is described as the breakdown of the normal "honeycomb" structure in the stratum spinosum of epidermis.



**Figure 4.** RCM imaging after 15 fx: (A) – DE (white circle) in the stratum spinosum of epidermis; (B) – IDL (white arrows) in the DEJ. RCM – reflectance confocal microscopy; fx – fraction; DE - disarrayed epidermis; IDC – inflammatory cells in the dermis, DEJ – dermo-epidermal junction.

An example of a more pronounced DE (figure 5A) is observed after 20 fx (40 Gy) in the epidermis, while more abundant IDC are observed at the level of DEJ (figure 5B).



**Figure 5.** RCM imaging after 20 fx: (A) – DE (white circle) in the stratum spinosum of epidermis; (B) IDL (white arrows) in the DEJ. RCM – reflectance confocal microscopy; fx – fraction; DE - disarrayed epidermis; IDC – inflammatory cells in the dermis; DEJ – dermo-epidermal junction.

Another irreversible sign of IR-induced skin changes is abnormal damaged dermal papillae (figure 6B). This symptom is described as the absence of bright papillary rims at the level DEJ.



**Figure 6.** RCM imaging after 25 fx: (A) – large area of DE (white circle) in the stratum spinosum of epidermis; (B) – ADP (white circles) in the level of DEJ. RCM – reflectance confocal microscopy; fx – fraction; DE - disarrayed epidermis; ADP – abnormal damaged dermal papillae, DEJ – dermo-epidermal junction.

The evaluation of the RCM characteristics in the pilot study is presented in Table 4.

		-	• •			
RCM	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
S	0	3 (30%)	5 (50%)	9 (90%)	10 (100%)	10 (100%)
E	0	9 (90%)	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)
IDC	0	5 (50%)	3 (30%)	7 (70%)	9 (90%)	10 (100%)
DE	0	0	0	2 (20%)	8 (80%)	5 (50%)
ADP	0	0	0	3 (30%)	5 (50%)	8 (80%)

Table 4. RCM features of pilot study patients.

RCM – reflectance confocal microscopy; fx – fraction; S – spongiosis, E – exocytosis; IDC – inflammatory cells in the dermis; DE - disarrayed epidermis; ADP – abnormal damaged dermal papillae.

After 10–30 Gy dose (5 fx to 15 fx), the RCM features that did not cause damage to the skin structure were detected: exocytosis, spongiosis and inflammatory cells in the dermis. Meanwhile, after 30-50 Gy dose structural changes in the skin occur (20 fx to 25 fx): disarrayed epidermis and abnormal damaged dermal papillae.

Already in the pilot study, it was observed that RCM features of IRinduced skin changes (Table 4) are identified before the onset of clinical symptoms (Table 3).

Based on data from a pilot study, a large-scale biomedical study was performed involving 103 patients.

**Study patient characteristics**: after the exclusion of a patient with missing RCM imaging, a total of 103 subjects were included in the further analysis, except for a few cases when at the end of RT, moist desquamation appeared, and RCM was discontinued. All the patients were females from 28 to 76 years old, with an average age of 57.1 years  $\pm 8.97$  (CI: 55.35–58.85). Study patient characteristics are shown in table 5.

Charac	Result	
Patients	103 (100%)	
Sex, N (%)	Female	103 (100%)
	Mean, SD	$57.1 \pm 8.97$
Age, y	Median	56.6
	Min–max	28–76
	0	26 (25.2%)
Stage	Ι	52 (50.5%)
	II	25 (24.3%)
НТ	Yes	70 (68.0%)
111	No	33 (32.0%)
	DCIS	24 (23.3%)
Histology	IDC	63 (61.2%)
Instology	ILC	11 (10.7%)
	Other	5 (4.8%)
	Dose 50 Gy in 25 fx	103 (100%)
	Technique (3D)	103 (100%)
RT	Dmean in 95% of CTV ± SD	$48.8 \pm 1.40$
	HI(D2%–D98%)/D50% ± SD	$0.44 \pm 0.12$

Table 5. Study patient characteristics.

y — years, N — number, SD — standard deviation, min — minimum, max — maximum, HT — hormonotherapy, DCIS — ductal carcinoma in situ, IDC — invasive ductal carcinoma, ILC — invasive lobulal carcinoma, RT – radiotherapy, Gy — grays, Dmean — mean dose, CTV — clinical target volume, HI — homogeneity index, Dmax — maximum dose.

**Clinical ARD assessment**: all study patients clinical ARD assessment according to the CTCAE grading scale is presented in Table 6.

				U	U	U	
ARD	Deg.	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
	0	103 100%)	90 (87.4%)	61 (59.2%)	21 (20.4%)	7 (6.8%)	0
CTCAE	Ι	0	13 (12.6%)	41 (39.8%)	80 (77.8%)	68 (66.0%)	43 (41.7%)
erent	II	0	0	1 (1.0%)	2 (1.9%)	28 (27.2%)	58 (56.3%)
	III	0	0	0	0	0	2 (1.9%)

Table 6. Clinical evaluation of ARD according to CTCAE grading scale.

ARD – acute radiation dermatitis, Deg. - degree, fx – fraction, CTCAE - Common Terminology Criteria for Adverse Events scale.

The patients in this study experienced the same clinical manifestation of ARD as other patients during the whole breast 3D RT [87].

**IR-induced skin lesions assessment with RCM**: all RCM images were evaluated by two observers. A lesion was graded as 1 if it was present in less than 50% of images and 2 if in more than 50%. The manifestations of RCM features of all study patients are presented in table 7.

RCM	Deg.	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
	0	103 (100%)	75 (72.8%)	28 (27.2%)	9 (8.7%)	3 (3.0%)	1 (1.1%)
S	1	0	28 (27.2%)	73 (70.9%)	80 (77.7%)	63 (62.4%)	50 (54.3%)
3	2	0	0	2 (1.9%)	14 (13.6)	35 (34.7%)	41 (44.6%)
	NP	0	0	0	0	2 (1.9%)	11 (10.7%)
	0	103 100%)	46 (44.7%)	8 (7.8%)	0	0	0
Б	1	0	57 (55.3%)	88 (85.4%)	59 (57.3%)	18 (17.8%)	7 (7.6%)
E	2	0	0	7 (6.8)	44 (42.7%)	83 (82.2%)	85 (92.4%)
	NP	0	0	0	0	2 (1.9%)	11 (10.7%)
	0	103 (100%)	99 (96.1%)	86 (83.8%)	54 (52.4)	17 (16.8%)	2 (2.2%)
IDC	1	0	4 (3.9%)	17 (16.5%)	47 (45.6)	77 (76.2%)	65 (70.7%)
IDC	2	0	0	0	2 (1.9%)	7 (6.9%)	25 (27.2)
	NP	0	0	0	0	2 (1.9%)	11 (10.7%)
	0	103 (100%)	103 (100%)	102 (99.0%)	78 (75.7%)	34 (33.7%)	4 (4.3%)
DE	1	0	0	1 (1.0%)	24 (23.3%)	57 (56.4%)	43 (46.7)
DE	2	0	0	0	1 (1.0%)	10 (9.9%)	45 (48.9)
	NP	0	0	0	0	2 (1.9%)	11 (10.7%)
	0	103 (100%)	103 (100%)	103 (100%)	102 (99.0%)	82 (81.2%)	29 (31.5%)
ALF	1	0	0	0	1 (1.0%)	19 (18.8%)	58 (63.0%)

Table 7. RCM features of all study patients.

2	0	0	0	0	0	5 (5.4%)
NP	0	0	0	0	2 (1.9%)	11 (10.7%)

RCM – reflectance confocal microscopy; fx – fraction; S – spongiosis, E – exocytosis; IDC – inflammatory cells in the dermis; DE - disarrayed epidermis; ADP – abnormal damaged dermal papillae, NP—not performed.

Comparing these results with the clinical ARD manifestation (table 6), we can clearly see that RCM features appear earlier.

To our knowledge, this is the first prospective clinical study with more than 100 patients analyzing IR-induced skin injuries with RCM. The first and, so far, the only study analyzing dynamic skin changes during RT using RCM was performed by Vano-Galvan and colleagues [17]. In our study, we investigated 103 patients and performed RCM once a week, while the Vano-Galvan study was conducted with 6 patients and RCM imaging every three weeks.

The analysis of RCM images of all patients (figures 1-6 and table 7) showed that IR-induced skin lesions can be detected very early: after 10 Gy dose (5 fx) spongiosis or exocytosis was detected in 65% of all patients, and after 20 Gy (10 fx) as many as 94% of subjects had early signs of IR-induced skin changes (table 7). Meanwhile, during clinical evaluation (table 6), after 10 Gy dose (5 fx) 13 % of patients were diagnosed with grade I ARD and after 20 Gy (10 fx) – only 40%.

Analysis of RCM images revealed that IR-induced skin lesions have a typical course: spongiosis or exocytosis was detected in 94% of subjects after 20 Gy dose (10 fx); after 30 Gy (15 fx) inflammatory cells in the dermis (IDL) were detected in 45% of patients and this proportion increases until the end of treatment; after 40 Gy (20 fx) damage to the epidermal structure (DE) was observed in 66% of patients and in 93 % at the end of treatment; after 50 Gy (25 fx) abnormal dermal papillae (ADP) were detected in 68 % of patients.

Radiation-associated epidermal atypia was the main finding in RCM for basal cell carcinoma patients when the cutaneous response to RT was imaged in vivo [90]. The authors of this study suggested that epidermal atypia is likely a sign of ARD, which corresponds well with the findings of our study showing that at the end of RT, the majority of patients had pronounced DE.

There is a lack of clinical studies focusing on RCM application for skin changes during RT, but there are similar investigations with laboratory animals. For example, MPM used for early-stage radiation skin injury in a mouse model showed that after IR exposure, epidermal cells and intercellular spaces became large and irregular [76]. These symptoms correspond well with exocytosis and spongiosis in our study.

**Dermoscopic Skin Imaging:** before RT, the control measurement of DD was performed for all patients. During treatment, dermoscopic images were taken after every 5 fx. Consecutive DD images revealed the progression of skin ERY during RT, which is depicted in figure 7.



**Figure 7.** Dermascopic view of a single patient's skin changes indicating the progression of skin ERY during radiotherapy; fx—radiotherapy fractions.

The ERY in the DD images was evaluated by three radiation oncologists according to a scale from 0 to 2, where 0 means "no ERY", 1 means "faint ERY", and 2 means "severe ERY". In the left upper corner of Figure 1, the dermoscopic view of the patient's skin before RT (0 fx) is demonstrated with no visual signs of ERY. All subsequent measurements were compared to the control. The example of the dermoscopic view of the faint ERY in a patient's skin after 10 Gy dose (5 fx) and 20 Gy (10 fx) is demonstrated in the middle and right upper corner of figure f, and severe ERY after 30-40-50 Gy (15 fx, 20 fx, and 25 fx) in the bottom of figure 7. The results of skin ERY evaluations from all patients DD images are presented in Table 8.

		U	2	U	U	17	
DD	deg.	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
	0	103 100%)	71 (68.9%)	37 (35.9%)	16 (15.5%)	3 (2.9%)	2 (1.9%)
EDV	1	0	31 (30.1%)	61 (59.2%)	78 (75.7%)	59 (57.3%)	28 (27.2%)
LKI	2	0	0	3 (2.9%)	9 (8.7%)	39 (37.9%)	62 (60.2%)
	NP	0	1 (1.0%)	2 (1.9%)	0	2 (1.9%)	11 (10.7%)

Table 8. The degree of skin erythema according to digital dermoscopy.

DD — digital dermoscopy; ERY — erythema; deg. — degree of erythema in DD imaged, where 0 means "no erythema", 1 means "faint erythema", and 2 means "severe erythema"; fx — fractions; NP — not performed.

Ordinal logistic regression showed that higher degree of skin ERY determined with DD was associated (p < 0.0001) with higher ARD degree according to CTCAE scale.

In early fx (5 and 10), ERY using DD were diagnosed more frequently than according to the clinical evaluation (Table 6). After 20 Gy dose (10 fx) 62.1 % of patients were diagnosed with 1/2 degree of ERY according to DD, meanwhile, only 41 % had clinical symptoms corresponding to I/II degree of ARD according to the CTCAE scale.

To our knowledge, this is the first prospective clinical study with more than 100 patients analyzing IR-induced skin injuries with DD. Dermoscopy is a simple and quick method of the skin examination and results can be easily interpreted. Our study has shown that dermoscopy performed during RT reveals IR-induced skin lesions earlier than clinically evaluated. Therefore, dermoscopy can be integrated into daily practice or clinical trials, especially to detect skin changes that occur during RT as early as possible.

Clinical ARD association with RCM and DD: in order to compare microscopic signs of IR-induced skin injuries (spongiosis, exocytosis, IDC, DE, and ADP) with clinical ARD evaluation (CTCAE scale), the coefficient of RCM features was calculated ( $RCM_{coeff}$ ). Firstly, the sum of the RCM ( $RCM_{sum}$ ) features was calculated according to Formula (1) as follows:

$$RCM_{sum} = S_{,E_{max}} + IDL + DE + ADP$$
(1)

Here spongiosis and exocytosis were counted as one symptom when only the maximum value of one of these symptoms was included in further calculations ( $S,E_{max}$ ). The values of other symptoms (IDC, DE, and ADP) were taken from table 7. RCM<sub>sum</sub> was combined with RCM<sub>coeff</sub> according to symptom acuity. Nonspecific inflammatory changes such as low grade spongiosis or exocytosis were assigned an  $\text{RCM}_{\text{coeff}}$  value of 0. RCM symptoms that were reversible and corresponding to non-structural changes (such as higher grade spongiosis or exocytosis and IDC) were assigned an  $\text{RCM}_{\text{coeff}}$  value of 1. High grade symptoms causing damage to the skin structure were assigned an  $\text{RCM}_{\text{coeff}}$  value of 2.  $\text{RCM}_{\text{coeff}}$  values depending on  $\text{RCM}_{\text{sum}}$  are presented in table 9.

RCM <sub>sum</sub>	RCM <sub>koef</sub>
0 - 1	0
2-5	1
6 – 8	2

Table 9.  $\text{RCM}_{\text{coeff}}$  calculation from  $\text{RCM}_{\text{sum}}$ .

 $RCM_{sum}$ —the sum of the reflectance confocal microscopy features,  $RCM_{coeff}$ —the coefficient of reflectance confocal microscopy features.

RCM<sub>coef</sub> values of all study patients are presented in table 10.

RCM	Val.	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
	0	103 100%)	97 (96.0%)	80 (77.7%)	41 (39.8%)	0	0
PCM	1	0	4 (4.0%)	23 (22.3%)	60 (58.3%)	91 (90.1%)	46 (50.0%)
RCM <sub>koef</sub>	2	0	0	0	2 (1.9%)	10 (9.9%)	46 (50.0%)
	NA	0	2 (1.9%)	0	0	2 (1.9%)	11 (10.7%)

Table 10. The values of RCM<sub>coef</sub> of all study patients.

RCM — reflectance confocal microscopy,  $RCM_{coeff}$  — the coefficient of reflectance confocal microscopy features, val — value, fx — fractions, NP— not performed.

Ordinal logistic regression revealed that higher  $RCM_{coeff}$  is associated (p < 0.0001) with higher ARD degree according to the CTCAE scale.

In order to compare the combination of RCM (spongiosis, exocytosis, IDC, DE and ADP) and DD (ERY) with clinical ARD manifestation (CTCAE scale), the coefficient of RCM and DD features was calculated (RCM-ERY<sub>coeff</sub>). Firstly, the sum of the RCM and DD (RCM-ERY<sub>sum</sub>) features was calculated according to formula (2) as follows:

$$RCM-ERY_{sum} = RCM_{sum} + ERY$$
(2)

Here,  $RCM_{sum}$  is calculated as mentioned above (formula 1), and ERY is the degree of skin erythema according to DD from Table 8.

RCM-ERY<sub>coeff</sub> can have values from 0 to 2 depending on RCM-ERY<sub>sum</sub> (table 11).

coon	Sum
RCM-ERY <sub>sum</sub>	RCM-ERY <sub>coeff</sub>
0 - 1	0
2-5	1
6-10	2

Table 11. RCM-ERY<sub>coeff</sub> calculation from RCM<sub>sum</sub>+ERY.

RCM- $ERY_{sum}$  — the sum of the reflectance confocal microscopy and digital dermoscopy features, RCM- $ERY_{coeff}$  — the coefficient of reflectance confocal microscopy and digital dermoscopy features.

RCM-ERY<sub>coef</sub> values of all study patients are presented in table 12.

RCM	val	0 fx	5 fx	10 fx	15 fx	20 fx	25 fx
	0	103 100%)	79 (78.2%)	32 (31.1%)	13 (12.6%)	0	0
RCM-	1	0	22 (21.8%)	70 (68.0%)	22 (85.4%)	66 (65.3%)	16 (17.4%)
$\text{ERY}_{\text{koef}}$	2	0	0	1 (1.0%)	2 (1.9%)	35 (34.8%)	76 (82.6%)
	NA	0	2 (1.9%)	0	0	2 (1.9%)	11 (10.7%)

Table 12. The values of RCM-ERY $_{coeff}$  of all study patients.

RCM — reflectance confocal microscopy, RCM- $ERY_{coeff}$  — the coefficient of reflectance confocal microscopy and digital dermoscopy features, val — value, fx — fractions, NP — not per-formed.

Ordinal logistic regression showed that higher RCM-ERY<sub>coeff</sub> is associated (p < 0.0001) with higher ARD degree according to the CTCAE scale.

An  $X^2$  test was used in order to compare clinical ARD assessment (CTCAE scale) with ERY, RCM<sub>coeff</sub>, and RCM-ERY<sub>coeff</sub> when measurements were performed after the same number of fx (table 13).

						10 fx						
OTOLE		ERY			]	RCM <sub>coef</sub>	f		RC	M-ERY	coeff	
CICAE	0	1	2	p	0	1	2	p	0	1	2	p
0	26	34	0		46	15	0		24	37	0	
0	(52.7%)	(33.7%)	ő		(44.7%)	(14.6%)	0		(23.3%)	(35.9%)	0	
Ι	10	27 (26.7%)	3	0.06	33	8 (7.8%)	0	0.72	7 (6.8%)	33 (32.0%)		0.06
	1	(20.770)	(3.070)	0.00	1	(7.070)	0	0.72	1	(32.070)	0	0.00
11	(1.0%)	0	0		(1.0%)	0	0		(1.0%)	0	0	
III	0	0	0		0	0	0		0	0	0	
				-	-	15 fx		-				-
CTCAE		ERY		n	]	RCM <sub>coef</sub>	f	n	RC	M-ERY	coeff	n
CICAL	0	1	2	P	0	1	2	p	0	1	2	P
0	3	18	0		8	13	0		4	17	0	
	(2.9%)	(17.5%)	0		(7.8%)	(12.6%)	2		(3.9%)	(16.5%)	2	
Ι	13 (12.6%)	59 (57.3%)	8 (7.8%)	0.15	32 (31.1%)	40 (44.7%)	(2.5%)	0.95	9 (8.7%)	69 (67.0%)	2 (1.9%)	0.78
п	0	1	1	0,15	1	1	0	0,75	0	2	0	0,70
- 11	0	(1.0%)	(1.0%)		(1.0%)	(1.0%)	0		0	(1.9%)	0	
III	0	0	0		0	0	0		0	0	0	
20 fx												
						20 fx						
CTCAE		ERY		n	]	20 fx RCM <sub>coef</sub>	f	n	RC	M-ERY	coeff	n
CTCAE	0	ERY 1	2	p	0	20 fx RCM <sub>coef</sub> 1	f 2	p	RC 0	M-ERY	coeff	p
CTCAE	0	ERY 1 5	$\frac{2}{1}$	p	0	$\frac{20 \text{ fx}}{\text{RCM}_{\text{coef}}}$	f 2 0	p	RC 0 0	M-ERY	coeff 2 0	p
CTCAE 0	0 1 (1.0%)	ERY 1 5 (5.0%) 43	2 1 (1.0%) 23	p	0	20 fx RCM <sub>coef</sub> 1 7 (6.9%) 63	f 2 0 4	p	RC 0 0	M-ERY 1 (6.9%) 47	coeff 2 0 20	p
CTCAE 0 I	0 1 (1.0%) 1 (1.0%)	ERY 1 5 (5.0%) 43 (42.6%)	2 1 (1.0%) 23 (22.8%)	<i>p</i> 0.06	0 0 0	20 fx RCM <sub>coef</sub> 1 7 (6.9%) 63 (62.4%)	f 2 0 4 (4.0%)	<i>p</i> 0.04	RC 0 0	M-ERY 1 7 (6.9%) 47 (46.5%)	coeff 2 0 20 (19.8%)	<i>p</i> 0.01
CTCAE 0 I	0 1 (1.0%) 1 (1.0%) 1	ERY 1 5 (5.0%) 43 (42.6%) 11	2 1 (1.0%) 23 (22.8%) 15	р 0,06	0	20 fx RCM <sub>coef</sub> 1 7 (6.9%) 63 (62.4%) 21	f 2 0 4 (4.0%) 6	р 0,04	RC 0 0	M-ERY 1 7 (6.9%) 47 (46.5%) 12	coeff 2 0 (19.8%) 15	р 0,01
CTCAE 0 I II	0 1 (1.0%) 1 (1.0%) 1 (1.0%)	ERY 1 5 (5.0%) 43 (42.6%) 11 (10.9%)	2 1 (1.0%) 23 (22.8%) 15 (14.9%)	р 0,06	0 0 0 0	20 fx RCM <sub>coef</sub> 1 7 (6.9%) 63 (62.4%) 21 (20,8%)	f 2 0 (4.0%) 6 (5.9%)	<i>p</i> 0,04	RC 0 0 0	M-ERY 1 7 (6.9%) 47 (46.5%) 12 (11.9%)	coeff 2 0 (19.8%) 15 (14.9%)	<i>p</i> 0,01
CTCAE 0 I II III	0 1 (1.0%) 1 (1.0%) 1 (1.0%) 0	ERY 1 5 (5.0%) 43 (42.6%) 11 (10.9%) 0	2 1 (1.0%) 23 (22.8%) 15 (14.9%) 0	р 0,06	0 0 0 0 0	20 fx RCM <sub>coef</sub> 1 7 (6.9%) 63 (62.4%) 21 (20.8%) 0	f 2 0 4 (4.0%) 6 (5.9%) 0	р 0,04	RC 0 0 0 0	M-ERY 1 7 (6.9%) 47 (46.5%) 12 (11.9%) 0	coeff 2 0 (19.8%) 15 (14.9%) 0	р 0,01
CTCAE 0 I II III	0 1 (1.0%) 1 (1.0%) 1 (1.0%) 0	ERY 1 5 (5.0%) 43 (42.6%) 11 (10.9%) 0	2 1 (1.0%) 23 (22.8%) 15 (14.9%) 0	р 0,06	0 0 0 0 0	20 fx RCM <sub>coef</sub> 1 7 (6.9%) 63 (62.4%) 21 (20.8%) 0 25 fx	f 2 0 4 (4.0%) 6 (5.9%) 0	р 0,04	RC 0 0 0 0	M-ERY 1 7 (6.9%) 47 (46.5%) 12 (11.9%) 0	coeff 2 0 (19.8%) 15 (14.9%) 0	<i>p</i> 0,01
CTCAE 0 I II III CTCAE	0 1 (1.0%) 1 (1.0%) 0	ERY 1 5 (5.0%) 43 (42.6%) 11 (10.9%) 0 ERY	2 1 (1.0%) 23 (22.8%) 15 (14.9%) 0	р 0,06		20 fx RCM <sub>coef</sub> 1 7 (6.9%) 63 (62.4%) 21 (20.8%) 0 25 fx RCM <sub>coef</sub>	f 2 0 4 (4.0%) 6 (5.9%) 0 f	р 0,04	RC 0 0 0 0 0 RC	M-ERY 1 7 (6.9%) 47 (46.5%) 12 (11.9%) 0 M-ERY	coeff 2 0 (19.8%) 15 (14.9%) 0	<i>p</i> 0,01
CTCAE 0 I II III CTCAE	0 1 (1.0%) 1 (1.0%) 0 0	ERY 1 5 (5.0%) 43 (42.6%) 11 (10.9%) 0 ERY 1	2 1 (1.0%) 23 (22.8%) 15 (14.9%) 0	р 0,06 р		20 fx RCM <sub>coef</sub> 1 7 (6.9%) 63 (62.4%) 21 (20.8%) 0 25 fx RCM <sub>coef</sub> 1	f 2 0 4 (4.0%) 6 (5.9%) 0 f 2	р 0,04 р	RC 0 0 0 0 0 0 0 0 0	M-ERY 1 7 (6.9%) 47 (46.5%) 12 (11.9%) 0 M-ERY 1	coeff 2 0 (19.8%) 15 (14.9%) 0 coeff 2	р 0,01 р
CTCAE 0 I II III CTCAE 0	0 1 (1.0%) 1 (1.0%) 0 0	ERY 1 5 (5.0%) 43 (42.6%) 11 (10.9%) 0 ERY 1 0	2 1 (1.0%) 23 (22.8%) 15 (14.9%) 0 2 0	р 0,06 р		20 fx RCM <sub>coef</sub> 1 7 (6.9%) 63 (62.4%) 21 (20.8%) 0 25 fx RCM <sub>coef</sub> 1 0	f 2 0 4 (4.0%) 6 (5.9%) 0 f 2 0	р 0,04 р	RC           0           0           0           0           0           0           0           0           0           0           0           0           0           0	M-ERY 1 7 (6.9%) 47 (46.5%) 12 (11.9%) 0 M-ERY 1 0	coeff 2 0 (19.8%) 15 (14.9%) 0 coeff 2 0	р 0,01 р
CTCAE 0 I II III CTCAE 0 I	0 1 (1.0%) 1 (1.0%) 0 0 0 1 (1.0%)	ERY 1 5 (5.0%) 43 (42.6%) 11 (10.9%) 0 ERY 1 0 19 (20.7%)	2 1 (1.0%) 23 (22.8%) 15 (14.9%) 0 2 0 20 (21.7%)	р 0,06		20 fx RCM <sub>coef</sub> 1 7 (6.9%) 63 (62.4%) 21 (20.8%) 0 25 fx RCM <sub>coef</sub> 1 0 27 (20.2%)	f 2 0 4 (4.0%) 6 (5.9%) 0 f 2 0 13 (14.1%)	<i>p</i> 0,04	RC           0	M-ERY 1 7 (6.9%) 47 (46.5%) 12 (11.9%) 0 M-ERY 1 0 11 (12.0%)	coeff 2 0 (19.8%) 15 (14.9%) 0 coeff 2 0 29 (21.5%)	<i>p</i> 0,01 <i>p</i>
CTCAE 0 I II III CTCAE 0 I	0 1 (1.0%) 1 (1.0%) 0 0 0 1 (1.0%) 1	ERY 1 5 (5.0%) 43 (42.6%) 11 (10.9%) 0 ERY 1 0 19 (20.7%) 9	2 1 (1.0%) 23 (22.8%) 15 (14.9%) 0 2 0 20 (21.7%) 41	<i>p</i> 0,06 <i>p</i> 0,04		20 fx RCM <sub>coef</sub> 1 7 (6.9%) 63 (62.4%) 21 (20.8%) 0 25 fx RCM <sub>coef</sub> 1 0 27 (29.3%) 19	f 2 0 4 (4.0%) 6 (5.9%) 0 f 2 0 13 (14.1%) 32	<i>p</i> 0,04 <i>p</i>	RC 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	M-ERY 1 7 (6.9%) 47 (46.5%) 12 (11.9%) 0 M-ERY 1 0 11 (12.0%) 5	coeff 2 0 (19.8%) 15 (14.9%) 0 coeff 2 0 29 (31.5%) 46	<i>p</i> 0,01 <i>p</i> 0,08
CTCAE 0 I II III CTCAE 0 I I II	0 1 (1.0%) 1 (1.0%) 0 0 0 1 (1.0%) 1 (1.0%)	ERY 1 5 (5.0%) 43 (42.6%) 11 (10.9%) 0 ERY 1 0 19 (20.7%) 9 (9.8%)	2 1 (1.0%) 23 (22.8%) 15 (14.9%) 0 2 0 20 (21.7%) 41 (44.6%)	<i>p</i> 0,06 <i>p</i> 0,04	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	20 fx RCM <sub>coef</sub> 1 7 (6.9%) 63 (62.4%) 21 (20.8%) 0 25 fx RCM <sub>coef</sub> 1 0 27 (29.3%) 19 (20.7%)	f 2 0 4 (4.0%) 6 (5.9%) 0 f 2 0 13 (14.1%) 32 (34.8%)	<i>p</i> 0,04 <i>p</i> 0,01	RC           0	M-ERY 1 7 (6.9%) 47 (46.5%) 12 (11.9%) 0 M-ERY 1 0 11 (12.0%) 5 (5.4%)	coeff 2 0 (19.8%) 15 (14.9%) 0 coeff 2 0 29 (31.5%) 46 (5.0%)	<i>p</i> 0,01 <i>p</i> 0,08
CTCAE 0 I II III CTCAE 0 I II III	0 1 (1.0%) 1 (1.0%) 0 0 1 (1.0%) 1 (1.0%) 0 0	ERY 1 5 (5.0%) 43 (42.6%) 11 (10.9%) 0 ERY 1 0 19 (20.7%) 9 (9.8%) 0	2 1 (1.0%) 23 (22.8%) 15 (14.9%) 0 2 0 20 (21.7%) 41 (44.6%) 1	<i>p</i> 0,06 <i>p</i>		20 fx RCM <sub>coef</sub> 1 7 (6.9%) 63 (62.4%) 21 (20.8%) 0 25 fx RCM <sub>coef</sub> 1 0 27 (29.3%) 19 (20.7%) 0	f 2 0 4 (4.0%) 6 (5.9%) 0 f 2 0 13 (14.1%) 32 (34.8%) 1	<i>p</i> 0,04 <i>p</i>	RC           0	M-ERY 1 7 (6.9%) 47 (46.5%) 12 (11.9%) 0 M-ERY 1 0 11 (12.0%) 5 (5.4%) 0	coeff 2 0 (19.8%) 15 (14.9%) 0 coeff 2 0 29 (31.5%) 46 (5.0%) 1	<i>p</i> 0,01 <i>p</i> 0,08

Table 13. ARD degree according to CTCAE scales association with DD and RCM findings calculated by  $X^2$ .

ARD — acute radiation dermatitis, CTCAE — Common Terminology Criteria for Adverse Events grading scale, DD — digital dermoscopy, ERY — erythema, RCM— reflectance confocal microscopy,  $X^2$  — Chi-square test, fx — fractions, p — pvalue of significance,  $RCM_{coeff}$  — reflectance confocal microscopy coefficient, RCM- $ERY_{coeff}$  — reflectance confocal microscopy and digital dermoscopy coefficient. After 20 fx, the levels of ARD clinical grade (CTCAE scale) were significantly associated with the levels of both  $\text{RCM}_{\text{coeff}}$  (p = 0.038) and RCM-ERY<sub>coeff</sub> (p = 0.008), as the frequency of the higher subgroup of CTCAE increased with the higher subgroup of RCM<sub>coeff</sub> or RCM-ERY<sub>coeff</sub>, while after 25 fx, the ARD clinical grade (CTCAE scale) was significantly associated with the values of both RCM<sub>coeff</sub> (p = 0.01) and ERY (p = 0.038).

**RCM prediction value:** the next question was whether RCM and DD features determined in the beginning of RT (from 10 fx to 15 fx) could significantly distinguish CTCAE grade 1 from grade 2 determined at the end of RT (20 fx and 25 fx). For the same patient, an RCM<sub>coeff</sub> value of 1 after 10 fx and 15 fx had a significantly higher odds ratio of grade 2 in the CTCAE scale after 20 fx compared to grade 1 (table 14).

grades arter 20 m.					
Univariate	Binary logistic reg	ression	AUC		
analysis	OR (95% CI)	р	Area (95% PI)	р	
RCM <sub>koef</sub> 10 fx: 1 0	4.83 (1.78–13.2)	0.002 Ref.	0.64 (0.52–0.76)	0.022	
RCM <sub>koef</sub> 15 fx: 1 0	14.5 (4.0–52.1)	<0.001 Ref.	0.75 (0.65–0.84)	<0.0001	

Table 14. Binary logistic regression of the diagnostic factors for CTCAE scale grades after 20 fx.

OR — odds ratio; AUC — area under the receiver operating characteristics curve; C.I. — confidence interval; Ref. — reference group;  $RCM_{coeff}$  — reflectance confocal microscopy coefficient; fx — fractions.

Similarly, for the same patient, an  $\text{RCM}_{\text{coeff}}$  value of 1 determined after 15 fx had a significantly higher odds ratio of grade 2 according to the CTCAE scale after 25 fx compared to grade 1 (table 15).

-					
Univariate	Binarinė logistinė i	egresija	AUC		
analysis	OR (95% CI)	р	Area (95% PI)	р	
RCM <sub>koef</sub> 10 fx: 1 0	5.0 (0.6–40.4)	0.131 Ref.	0.59 (0.45–0.73)	0.24	
RCM <sub>koef</sub> 15 fx: 1 0	8.8 (2.3–33.8)	0.001 Ref.	0.74 (0.61–0.87)	0.002	

Table 14. Binary logistic regression of the diagnostic factors for CTCAE scale grades after 25 fx.

OR — odds ratio; AUC — area under the receiver operating characteristics curve; C.I. — confidence interval; Ref. — reference group;  $RCM_{coeff}$  — reflectance confocal microscopy coefficient; fx — fractions.

In addition, the AUC estimates for  $\text{RCM}_{\text{coeff}}$  after 10 fx and 15 fx were also significant regarding CTCAE after 20 fx and 25 fx (Tables 13, 14). Therefore, the results of this analysis showed that  $\text{RCM}_{\text{coeff}}$  determined in the beginning of RT significantly distinguished between grades 1 and 2 of the CTCAE scale at the end of RT and could be considered as a promising predictive factor.

Our study has shown that IR-induced skin lesions revealed by RCM can be detected earlier than the onset of clinical symptoms, and  $RCM_{koef}$  determined at the beginning of treatment allows predicting the severity of ARD at the end of RT. Therefore, RCM can be a very useful method for early diagnosis and prognosis of ARD during RT.

**Influence of skin care on clinical manifestations of ARD:** there were no significant differences among patient groups with different skincare according to age, disease stage, hormone therapy, breast volume, IRS and, RT dose (table 15).

Characteristics		BSC	ASC	р
Patients	N (%)	44 (48.8%)	47 (51.6%)	
	Mean, SD	58.6 ±7.5	56.0±10.1	
Age, y	median	59.0	56.0	0.17
	Min - max	40.6 - 75.7	28.3 - 75.2	

Table 15. Patient's characteristics in different skincare groups.

	0	9 (9.9%)	14 (15.4%)	
Stage	Ι	28 (30.8%)	19 (20.9%)	0.08
	II	7 (7.7%)	14 (15.4%)	
HT	No	12 (13.2%)	15 (16.5%)	0.63
	Yes	32 (35.2%)	32 (35.2%)	
BV (ml)	Mean, SD	864 ±441	837 ±444	0.99
IRS, %	Mean, SD	64.6±11.9	65.8±10.6	0.70
	Dmean CTV95%, SD	48.6±1.55	48.8±1.28	0.51
Dose, Gy	HI	$0.44 \pm 0.11$	0.46±0.12	0.61
	CTV Dmax, SN	54.1±1.29	54.2 ±1.11	0.85

BSC – best supportive care, ASC – additional skincare, y – years, N – number, SD – standard deviation, Min – minimum, max – maximum, HT – hormonotherapy, BV – breast volume, IRS - individual radiosensitivity, ml – milliliters, Gy – grays, Dmean – mean dose, HI – homogeneity index, Dmax – maximum dose.

During clinical evaluation of ARD, moist desquamation (MD) of the skin was also assessed as a separate symptom (during RT and up to 4 weeks after treatment). There were no significant differences in the manifestation of ARD between patient groups with different skincare (table 16).

ARD		BSC	ASC	р
CTCAE 5fx	0	37 (40.7%)	42 (46.2%)	0.33
	Ι	7 (7.7%)	5 (5.5%)	
	0	27 (29.7%)	28 (30.8%)	0.56
CTCAE 10fx	Ι	16 (17.6%)	19 (20.9%)	
	II	1 (1.1%)	0 (0%)	
CTCAE 15fx	0	9 (9.9%)	9 (9.9%)	0.32

Table 16. ARD manifestation in different scincare groups.

	Ι	33 (36.3%)	38 (41.8%)	
	II	2 (2.2%)	0 (0%)	
	0	4 (4.4%)	1 (1.1%)	
CTCAE 20fx	Ι	30 (33.0%)	35 (38.5%)	0.34
	II	10 (11.0%)	11 (12.1%)	
	Ι	21 (23.1%)	20 (22.0%)	
CTCAE 25fx	II	23 (25.3%)	25 (27.5%)	0.37
	III	0 (0%)	2 (2.2%)	
MD	No	33 (36.3%)	39 (42.9%)	0.25
	Yes	11 (12.1%)	8 (8.8%)	

ARD — acute radiation dermatitis, CTCAE – Common Terminology Criteria for Adverse Events, fx – fractions, MD – moist desquamation; BSC – best supportive care, ASC – additional skincare

These results showed that the additional skin hydration used for the prevention of ARD during RT did not affect the clinical presentation of ARD.

**IRS influence on clinical manifestations of ARD:** IRS was successfully determined for 91 out of 108 patients who signed the informed consent form. None of these patients were radioresistant, 10 patients (11%) had normal IRS, 47 patients (52%) were categorized as radiosensitive, and 34 (37%) as highly radiosensitive. There were no significant differences among IRS groups according to age, disease stage, hormone therapy, breast volume, skincare, and RT dose (table 17).

Characteristics		II IRS cat.	III IRS cat.	IV IRS cat.	р
Patients	N (%)	10 (11%)	47 (52%)	34 (37%)	
	Mean, SD	$60.62 \pm 10.54$	58.01 ±8.48	$55.08 \pm 8.88$	
Age, y	median	59.85	57.5	55.2	0.18
	Min - max	39.6 - 75.5	31.0 - 75.7	28.3 - 71.5	
	0	3 (3.3%)	15 (16.5%)	5 (5.5%)	
Stage	Ι	3 (3.3%)	22 (24.2%)	22 (24.2%)	0.18
	II	4 (4.4%)	10 (11.0%)	7 (7.7%)	
НТ	No	2 (2.2%)	16 (17.6%)	9 (9.9%)	0.68
	Yes	8 (8.8%)	31 (34.1%)	25 (27.5%)	
BV (ml)	Mean, SD	951 ±481	866 ±477	800 ±379	0.68
Scincare	BSC	5 (5.5%)	26(28.6%)	13 (14.3%)	0.31
Servere	ASC	5 (5.5%)	21(23.1%)	21(23.1%)	
	Dmean CTV95%,	$48.93 \pm 0.96$	48.37 ±1.24	49.11±1.64	0.20
Dose Gv	SD				
,,	HI	0.43 ±0.13	0.46±0.10	$0.45 \pm 0.12$	0.74
	CTV Dmax, SD	54.1 ±0.15	53.8 ±0.98	54.6 ±1.45	0.29

Table 17. Patient's characteristics in different IRS groups.

IRS cat. - category of individual radiosensitivity; II IRS cat. -  $30\% \le IRS \le 50\%$ , III IRS cat. -  $50\% \le IRS \le 70\%$ , IV IRS cat. - IRS > 70%, y - years, N - number, SD standard deviation, Min - minimum, max - maximum, HT - hormonotherapy, BV breast volume, ml - milliliters, BSC - best supportive care, ASC - additional skincare, Gy - grays, Dmean - mean dose, HI - homogeneity index, Dmax maximum dose.

There were no significant differences in the manifestation of ARD or MD between patient groups with different IRS (table 18).

Table 18. ARD manifestation in different IRS groups.

		1
.9%) 40 (44.0%)	) 30 (33.0%)	
		0.91
.1%) 7 (7.7%)	4 (4.4%)	
.3%) 28 (30.8%)	) 24 (26.4%)	
		0.15
.7%) 19 (20.9%)	) 9 (9.9%)	
0(0%)	1 (1 1%)	-
	1 (111/0)	
)%) 9 (9.9%)	9 (9.9%)	
		_
1.0%) 37 (40.7%)	) 24 (26.4%)	0.38
)%) 1(1.1%)	1 (1.1%)	-
, , , ,		
0%) 2 (2.2%)	3 (3.3%)	
<u>(11.00/)</u>		0.01
.6%) 38 (41.8%)	) 21 (23.1%)	0.91
.4%) 7 (7.7%)	10 (11.0%)	
, , ,	× ,	
.3%) 22 (24.2%)	) 16 (17.6%)	
70() $24(2640)$	17(19.70/)	0.00
.7%) 24 (20.4%)	) 17(18.7%)	0.88
0%) 1 (1.1%)	1 (1.1%)	
.9%) 37 (40.7%)	) 26 (28.6%)	0.01
10() 10 (11 00/)		0.81
.1%) 10(11.0%)	) 0 (8.8%)	
	.9%)       40 (44.0%         .1%)       7 (7.7%)         .3%)       28 (30.8%         .7%)       19 (20.9%         .0%)       0 (0%)         .0%)       9 (9.9%)         1.0%)       37 (40.7%         .0%)       2 (2.2%)         .6%)       38 (41.8%         .4%)       7 (7.7%)         .3%)       22 (24.2%         .7%)       24 (26.4%         .0%)       1 (1.1%)         .9%)       37 (40.7%         .1%)       10 (11.0%	.9% $.40$ (44.0%) $.30$ (33.0%) $.1%$ $7$ (7.7%) $4$ (4.4%) $.3%$ $28$ (30.8%) $24$ (26.4%) $.7%$ $19$ (20.9%) $9$ (9.9%) $.0%$ $0$ (0%) $1$ (1.1%) $.0%$ $9$ (9.9%) $9$ (9.9%) $1.0%$ $37$ (40.7%) $24$ (26.4%) $.0%$ $1$ (1.1%) $1$ (1.1%) $.0%$ $2$ (2.2%) $3$ (3.3%) $.6%$ $38$ (41.8%) $21$ (23.1%) $.4%$ $7$ (7.7%) $10$ (11.0%) $.3%$ $22$ (24.2%) $16$ (17.6%) $.7%$ $24$ (26.4%) $17$ (18.7%) $.0%$ $1$ (1.1%) $1$ (1.1%) $.9%$ $37$ (40.7%) $26$ (28.6%) $.1%$ $10$ (11.0%) $8$ (8.8%)

ARD — acute radiation dermatitis, CTCAE — Common Terminology Criteria for Adverse Events, fx — fractions, IRS cat. — category of individual radiosensitivity, II IRS cat. — 30% $\leq$ IRS $\leq$ 50%, III IRS cat. — 50% $\leq$ IRS $\leq$ 70%, IV IRS cat. - IRS>70%, MD — moist desquamation.

These results indicates that IRS determined by G2 assay before RT does not correlate with the clinical presentation of ARD.

The impact of different risk factors on clinical manifestations of ARD: logistic regression was used to evaluate the impact of different factors on repeated measurements of ARD assessed by the CTCAE scale (table 19).

Descence	Explanatory	OR (05% CI)			
Response	variables	OK (95% CI)	р		
	Scale variables				
	Age, y	0.97 (0.95 – 1.00)	0.046		
	Breast volume, ml	0.99 (0.99 – 0.99)	< 0.001		
	IRS, %	1.02 (0.99 – 1.04)	0.14		
	Breast Dmean, Gy	0.94 (0.82 - 1.08)	0.39		
	Breast Dmax, Gy	0.93 (0.79 – 1.09)	0.38		
ARD degree	Breast DHI	2.66 (0.41 – 17.38)	0.31		
according to CTCAE	Skin Dmean, Gy	1.07 (0.95 – 1.21)	0.29		
scale from 10 fx to	Skin Dmax, Gy	1.04 (0.89 – 1.21)	0.61		
25 fx	Skin DHI	3.58 (0.372 - 34.47)	0.29		
	ER, %	0.99 (0.99 – 1.00)	0.17		
	PR, %	0.99 (0.99 – 1.00)	0.48		
	Categorical variables				
	Stage	0.59 (0.36 - 0.96)	0.04		
	HT	0.85 (0.53 – 1.37)	0.52		
	BSC	0.93 (0.59 – 1.46)	0.74		

Table 19. The impact of single variables to the repeated measurements of ARD.

ARD — acute radiation dermatitis. CTCAE — Common Terminology Criteria for Adverse Events, OR — odds ratio, CI — confidence interval, IRS – individual radiosensitivity, fx — fractions, Dmean – mean dose, Dmax – maximal dose, DHI –
dose homogeneity index, ER – estrogen receptors, PR – progesterone receptors, HT – hormonotherapy, ASC – additional skinncare.

In this model, repeated measurements of ARD were included from 10 fx when 40.7% of all patients had IR-induced dermatological symptoms. The degree of ARD according to the CTCAE scale from 10 fx up to the end of RT was assigned as a response (CTCAE scale from 10 fx to 25fx in table 5). A univariate logistic regression revealed a statistically significant impact of age, breast volume, and disease stage on ARD manifestation. According to the results, older patients with bigger breasts and higher than 0 disease stage were prone to more severe ARD (table 19). However, a multivariate logistic regression showed that only the breast volume had significant impact on ARD manifestation (table 20).

Response	Explanatory variables	OR (95% CI)	р		
ARD degree according to CTCAE scale from 10 fx to 25 fx	Scale variables				
	Age, y	1.01 (0.98 – 1.	.04) 0.64		
	Breast volume, ml	0.99 (0.99 – 1.	.00) 0.002		
	IRS, %	1.02 (0.99 – 1.	.04) 0.18		
	Breast Dmean, Gy	1.28 (0.79 – 2.	.05) 0.31		
	Breast Dmax, Gy	0.67 (0.44 – 1.	.02) 0.06		
	Breast DHI	4.22 (0.07 – 23	8.9) 0.49		
	Skin Dmean, Gy 1.12 (0.83 – 1.50)		.50) 0.46		
	Skin Dmax, Gy 0.97 (0.74 – 1.28)		.28) 0.84		
	Skin DHI	10.52 (0.07 – 15	91.52) 0.36		
	ER, %	1.01 (0.9913 – 1.	.0113) 0.62		

Table 20. Multivariate regression indicating that only breast volume had significant impact to repeated measurements of ARD.

PR, %	1.01 (0.9915 – 1.01)	0.78	
Categorical variables			
Stage > 0	0.55 (0.29 – 1.04)	0.07	
HT	1.44 (0.88 – 2.36)	0.15	
ASC	0.80 (0.51 – 1.24)	0.80	

ARD — acute radiation dermatitis, CTCAE — Common Terminology Criteria for Adverse Events, OR — odds ratio, CI — confidence interval, fx — fractions, IRS – individual radiosensitivity, Dmean – mean dose, Dmax – maximal dose, DHI – dose homogeneity index, ER – estrogen receptors, PR – progesterone receptors, HT – hormonotherapy, ASC – additional skinncare.

**Changes in quality of life during RT:** the quality of life assessment according to DLQI of all study patients is presented in table 21.

-	-	• •	-
DLQI category	Before RT, n (%)	After 15 fx, n (%)	After 25 fx, n (%)
DLQI 0	74 (68.5%)	40 (37.0%)	15 (13.9%)
DLQI I	27 (25.0%)	32 (29.6%)	32 (29.6%)
DLQI II	3 (2.8%)	27 (25.0%)	33 (30.6%)
DLQI III	3 (2.8%)	5 (4.6%)	16 (14.8%)
DLQI IV	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (0.9%)
NP	1 (0.9%)	4 (3.6%)	11 (10.2%)

Table 21. the quality of life assessment of all study patients during RT.

DLQI - dermatological life quality index, fx - fractions, RT - radiotherapy, NP - not performed.

From the data presented in table 21, we can see that the skin condition of 93.5% of the patients before ST had no or little effect on their quality of life. Meanwhile, at the end of treatment, the proportion of such patients decreased by half (43.5%), 30.6% of subjects estimated that skin condition had a moderate effect on quality of life, and 15.7% had a significant or very significant effect on quality of life. However, no statistically significant relationship between ARD onset and quality of life was found after the statistical analysis (table 22).

ARD		DLQI category					
		0	Ι	II	III	IV	р
CTCAE 0fx	0	74 (69.2%)	27 (25.2%)	3 (2.8%)	3 (2.8%)	0 (0%)	-
CTCAE 15fx	0	9 (8.7%)	7 (6.7%)	4 (3.8%)	0 (0%)	0 (0%)	
	Ι	30 (28.8%)	24 (23.1%)	22 (21.2%)	5 (4.8%)	0 (0%)	0.896
	Π	1 (1%)	1 (1%)	1 (1%)	0 (0%)	0(0%)	
CTCAE 25fx	Ι	5 (5.2%)	17 (15.5%)	15 (15.5%)	6 (6.2%)	0 (0%)	
	Π	10 (10.3%)	14 (14.4%)	18 (18.6%)	10 (10.3%)	1(1%)	0.728
	III	0 (0%)	1 (1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	]

Table 22. The association between quality of life and clinical ARD manifestation.

ARD — acute radiation dermatitis, CTCAE – Common Terminology Criteria for Adverse Events, DLQI – dermatological life quality index, fx — fractions.

#### CONCLUSIONS

- RCM features of irradiated skin appear earlier than clinical symptoms and have a characteristic course: after 20 Gy dose spongiosis/exocytosis are present in 94 % of cases, after 30 Gy IDC – in 45 %, after 40 Gy DE – in 66 %, and after 50 Gy ADP – in 68 %. In comparison with clinical manifestation the RCM features after 20 Gy dose are present in 94 % of cases, meanwhile, I degree of ARD according to the CTCAE scale is seen in 40 %.
- Digital dermoscopy detects erythema earlier than the onset of ARD clinical symptoms: after 20 Gy dose I/II degree of ERY is present in 62.1 % of cases, meanwhile, I/II degree of ARD according to the CTCAE scale is seen in 41 %.
- RCM<sub>coeff</sub> value of "1" determined after 20 Gy (10 fx) and 30 Gy (15 fx) dose had a significantly higher odds ratio of grade 2 ARD according to the CTCAE scale after 40 Gy and 50 Gy (20-25 fx).
- 4. IRS determined by G2 assay before RT does not correlate with the clinical presentation of ARD

# PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS

### Moksliniai straipsniai

1. Kisonas, J., et al., Application of Reflectance Confocal Microscopy for Early Diagnosis of Radiation-Induced Acute Dermatitis in Radiosensitive Patient: Case Study. Radiat Prot Dosimetry, 2018. 182(1): p. 93-97.

2. J. Kišonas, R. Rotomskis, A. Burneckis, J. Venius. Jonizuojančiosios spinduliuotės poveikio sveikiems audiniams tyrimai konfokaline atspindžio mikroskopija. Sveikatos mokslai, 2018. 28(6): P. 124-130.

3. Kišonas, J.; Venius, J.; Grybauskas, M.; Dabkevičienė, D.; Burneckis, A.; Rotomskis, R. Acute Radiation Dermatitis Evaluation with Reflectance Confocal Microscopy: A Prospective Study. Diagnostics 2021, 11, 1670. https://doi.org/10.3390/diagnostics11091670.

4. Kišonas, J.; Venius, J.; sevriukova, o., Grybauskas, M.; Dabkevičienė, D.; Burneckis, A.; Rotomskis, R. Individual radiosensitivity as a risk factor for the radiation-induced acute radiodermatitis. Life. 2022; 12(1):20. https://doi.org/10.3390/life12010020.

Moksliniai pranešimai

1. 2019-11-08d tarptautinėje konferencijoje "MEDICAL PHYSICS IN THE BALTIC STATES 14 (2019)" skaitytas pranešimas tema: "Acute Radiodermatitis clinical manifestation in comparison with reflectance confocal microscopy".

2. Kišonas, J.; Venius, J.; Grybauskas, M.; Burneckis, A.; Dabkevičienė, D.; Rotomskis, R. "Ūminio spindulinio dermatito predikcija ir ankstyva diagnostika panaudojant konfokalią atspindžio mikroskopiją". 2021 m. spalio 6-8 d 44-ojoje Lietuvos nacionalinėje fizikos konferencijoje pristatytas stendinis pranešimas, Vilnius, p-107.

## TRUMPOS ŽINIOS APIE DISERTANTĄ

Juras Kišonas, gydytojas onkologas radioterapiautas Tel. +37061237696 E-mail: juras.kisonas@gmail.com

### IŠSILAVINIMAS

2005–2011 Magistratūra (Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, gydomoji medicina)

2011–2015 Rezidentūra (Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, onkologinė radioterapija)

2017–2021 Doktorantūra (Vilniaus universitetas, Gyvybės mokslų centras, Biomokslų institutas, biofizika)

### PROFESINĖ PATIRTIS:

2011 m. Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, Integruota internatūra

2011–2013 Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, Rezidentūros bazės, jaunesnysis gydytojas rezidentas onkologas radioterapeutas

2013–2015 Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, Rezidentūros bazės, vyresnysis gydytojas rezidentas onkologas radioterapeutas

2013–2016 Nacionalinio Vėžio Instituto Branduolinės medicinos skyrius, Gydytojas asistentas

2010–2021 Nacionalinio Vėžio Instituto Biomedicininės fizikos laboratorija

Nuo 2016 m. iki dabar Nacionalinio Vėžio Instituto Onkologinės radioterapijos skyrius, gydytojas onkologas radioterapeutas

#### PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju visiems, kurie prisidėjo prie šios disertacijos rengimo ir visos mano mokslinės, bei profesinės veiklos.

Visų pirma noriu padėkoti šios disertacijos moksliniam vadovui prof. habil. dr. Ričardui Rotomskiui, kurio vadovaujamoje Biomedicininės fizikos laboratorijoje Nacionaliniame vėžio institute teko darbuotis nuo 2010 m. Didelis dėkui visiems šios laboratorijos darbuotojams, ypač dr. Vytautui Kulviečiui, prof. Vitalijui Karabanovui, Danutei Bulotienei ir kitiems, kurie visada padėdavo gilinantis į laboratorinių gyvūnų mokslą, nanodalelių ir konfokalinės mikroskopijos niuansus.

Atskirai norėčiau padėkoti šios disertacijos konsultantui dr. Jonui Veniui už idėjas ir diskusijas planuojant, bei vykdant šį darbą, už ilgas valandas vertinant konfokalinės mikroskopijos vaizdus, už nuolatines konsultacijas rengiant publikacijas, bei šią disertaciją.

Ačiū visiems Onkologinės radioterapijos, Išorinės spindulinės terapijos ir Medicinos fizikos skyrių darbuotojams, kurie prisidėjo prie tyrime dalyvavusių pacienčių gydymo. Ypač dėkoju Onkologinės radioterapijos skyriaus gydytojams (dr. Arvydui Burneckiui, Mindaugui Grybauskui, Šarūnei Liukpetrytei-Kuosienei, Ernestui Šileikai, Violetai Jurgelevičienei, Astai Vidrinskaitei, Mantui Janavičiui), kurie kartu vertino biomedicininio tyrimo dalyvių odos būklę spindulinio gydymo metu.

Labai dėkoju dr. Olgai Sevriukovai iš Radiacinės saugos centro už tyrimo dalyvių individualaus dariojautrumo vertinimą.

Ačiū dr. Daivai Dabkevičienei už konsultacijas atliekant statistinę analizę.

Didelis dėkui šios disertacijos recenzentams (prof. dr. Sauliui Bagdonui bei vyr. m. d. dr. emeritei Janinai Didžiapetrienei), kurie skyrė daug laiko disertacijos peržiūrai, pateikė vertingų pastabų ir konsultavo tobulinant šį darbą.

Labiausiai esu dėkingas savo šeimai, tėvams, broliui ir artimiesiems, kurie palaikė ir tikėjo, jog šis darbas gali būti baigtas, bei suprato, kad tam reikia daug laiko, kuris galėtų būti skirtas jiems.

Vilniaus universiteto leidykla Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius El. p. info@leidykla.vu.lt, www.leidykla.vu.lt Tiražas 15 egz.