

ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЙ МОНИТОРИНГ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РАКА КОЖИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

УДК 616.5–006.6–07:615.849.19

Поступила 15.11.2014 г.



С.В. Гамаюнов, к.м.н., зав. кабинетом фотодинамической терапии¹; ассистент кафедры онкологии ФПКВ²; старший научный сотрудник³;

Е.В. Гребенкина, к.м.н., врач-онколог кабинета фотодинамической терапии¹;

А.А. Ермилина, технолог отдела радиофизических методов в медицине⁴;

В.А. Каров, врач-онколог кабинета фотодинамической терапии¹;

К. König, PhD, Leading Scientist Femtosecond Biophotonics Laboratory⁵, Full Professor⁶; CEO⁶;

ведущий научный сотрудник лаборатории фемтосекундной биофотоники³;

К.С. Корчагина, ординатор кафедры патологической анатомии⁷;

Р.Р. Скребцова, врач-онколог кабинета фотодинамической терапии¹;

В.М. Терехов, к.м.н., главный врач¹;

И.Г. Терентьев, д.м.н., профессор, зав. кафедрой онкологии ФПКВ²;

И.В. Турчин, к.ф.-м.н., зав. отделом радиофизических методов в медицине⁴; старший научный сотрудник³;

Н.М. Шахова, д.м.н., ведущий научный сотрудник отдела радиофизических методов в медицине⁴;

ведущий научный сотрудник лаборатории фемтосекундной биофотоники³

¹Нижегородский областной онкологический диспансер, Н. Новгород, 603000, ул. Родионова, 190, корп. 5;

²Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

³Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, 603950, пр. Гагарина, 23;

⁴Институт прикладной физики РАН, Н. Новгород, 603950, ул. Ульянова, 46;

⁵Saarland University, Saarbrücken, 66123, Campus A5.1, Germany;

⁶JenLab GmbH, Jena, 07745, 1 Schillerstraße, Germany;

⁷Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, 127473, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

Цель исследования — оценить возможности метода флуоресцентной визуализации для мониторинга фотодинамической терапии (ФДТ) немеланомных опухолей кожи и проанализировать взаимосвязь показателей флуоресценции фотосенсибилизатора — ФС (степени накопления и выгорания) с эффективностью проведенного лечения.

Материалы и методы. Исследование выполнено на базе Нижегородского областного онкологического диспансера. Проведен анализ флуоресцентных изображений и дана клиническая оценка результатов ФДТ у 226 пациентов с немеланомными опухолями кожи.

Результаты. При оценке непосредственных результатов лечения выявлена взаимосвязь между фотобличингом (выгоранием) ФС и частотой полных ответов опухоли: при полном выгорании препарата полный ответ достигнут в 89% случаев, при частичном выгорании — в 87% и при отсутствии выгорания — в 81% ($p > 0,05$). В то же время влияния степени накопления ФС на частоту полных ответов не отмечено. При анализе отдаленных результатов со статистической значимостью ($p = 0,044$) установлено, что частота рецидивов опухоли при низком отношении концентраций ФС (опухоль/норма) составляет 9,5%, в то время как при среднем и высоком отношении этот показатель будет равен всего 4,1%. Отмечена тенденция к увеличению количества рецидивов — 10,4% при отсутствии выгорания ФС против 4,4% при полном и частичном выгорании препарата ($p = 0,051$). Наилучшие клинические результаты при сроках наблюдения от 4 до 40 мес достигнуты у пациентов с сочетанием высокого накопления и полного выгорания препарата.

Заключение. Флуоресцентный мониторинг позволяет осуществлять неинвазивный контроль накопления и выгорания ФС, что может способствовать подбору индивидуальных параметров лазерного воздействия. Для динамического наблюдения в режиме реального времени за основными фотодинамическими реакциями и результатами лечения целесообразно развитие мультимодального биоимиджинга.

Ключевые слова: мониторинг фотодинамической терапии; ФДТ; фотосенсибилизатор; флуоресцентная диагностика.

English

Fluorescent Monitoring of Photodynamic Therapy for Skin Cancer in Clinical Practice

S.V. Gamayunov, PhD, Head of Photodynamic Therapy Department¹; Assistant Professor, Department of Oncology, Postgraduate Faculty²; Senior Researcher³;

Для контактов: Гамаюнов Сергей Викторович, e-mail: Gamajnovs@mail.ru

E.V. Grebenkina, PhD, Oncologist, Photodynamic Therapy Department¹;
A.A. Ermilina, Technologist, Department of Radiophysical Methods in Medicine⁴;
V.A. Karov, Oncologist, Photodynamic Therapy Department¹;
K. König, PhD, Leading Scientist Femtosecond Biophotonics Laboratory³; Full Professor⁵; CEO⁶;
K.S. Korchagina, Resident Physician, Department of Pathological Anatomy⁷;
R.R. Skrebtsova, Oncologist, Photodynamic Therapy Department¹;
V.M. Terekhov, PhD, Chief Doctor¹;
I.G. Terentiev, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Oncology, Postgraduate Faculty²;
I.V. Turchin, PhD, Head of the Department of Radiophysical Methods in Medicine⁴; Senior Researcher³;
N.M. Shakhova, MD, DSc, Leading Researcher, Department of Radiophysical Methods in Medicine⁴;
 Leading Researcher, Femtosecond Biophotonics Laboratory³

¹Nizhny Novgorod Regional Oncologic Hospital, 190, bld. 5 Rodionova St., Nizhny Novgorod, 603000, Russian Federation;

²Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation;

³Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603950;

⁴Institute of Applied Physics, Russian Academy of Sciences, 46 Ulianova St., Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation;

⁵Saarland University, Campus A5.1 Saarbrücken, 66123, Germany;

⁶JenLab GmbH, 1 Schillerstraße, Jena, 07745, Germany;

⁷Moscow State Medical Stomatological University named after A.I. Evdokimov, 20, bld. 1 Delegatskaya St., Moscow, 127473, Russian Federation

The aim of the investigation was to assess the fluorescent imaging capabilities to monitor photodynamic therapy (PDT) of non-melanoma skin cancer, and study the correlation of PS (photosensitizer) fluorescence value (accumulation and photobleaching rate) and efficacy of the treatment provided.

Materials and Methods. The study was conducted in the Nizhny Novgorod Regional Oncologic Dispensary Hospital. We analyzed fluorescent images and PDT outcomes in 226 patients with non-melanoma skin carcinomas.

Results. The assessment of short-term treatment results revealed the relationship between PS photobleaching and tumor complete response rate: a complete response was found in 89% cases in complete photobleaching, in 87% cases — in partial photobleaching, and in 81% — in no photobleaching ($p > 0.05$). However, we found no effect of PS accumulation rate on complete response rate. The analysis of long-term results with significant difference ($p = 0.044$) showed tumor recurrence rate in low PS concentration (tumor/norm) to be 9.5%, while in moderate and high concentrations the recurrence rate appeared to be 4.1%. There was revealed the tendency for recurrence rate increase — 10.4% with no PS photobleaching versus 4.4% in PS complete and partial photobleaching ($p = 0.051$). The patients with high accumulation rate and complete PS photobleaching had the best clinical findings, the observation period being from 4 to 40 months.

Conclusion. Fluorescent monitoring enables to maintain noninvasive control of PS accumulation and photobleaching that can contribute to the selection of individual laser exposure parameters. It is reasonable to develop multimodal bioimaging for follow-up real-time monitoring of basic photodynamic reactions and treatment results.

Key words: photodynamic therapy monitoring; PDT; photosensitizer; fluorescent diagnostics.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) — современный, минимально инвазивный метод лечения опухолей, который в последние годы находит широкое применение в клинической практике [1–3]. Основными компонентами фотодинамической реакции являются: фотосенсибилизатор (ФС), предварительно введенный в организм и избирательно накопленный в опухолевой ткани, свет строго определенной длины волны, соответствующей максимуму поглощения ФС, и кислород [2, 4, 5]. ФДТ может использоваться в качестве метода радикального лечения при ранних стадиях опухолевого процесса, а также в схемах паллиативного лечения при запущенных стадиях опухолей, в качестве самостоятельного метода или в комбинации с другими подходами [1–3]. Привлекательность ФДТ для клинического применения в онкологии обусловлена следующими факторами: минимальное повреждение окружающих здоровых тканей за счет селек-

тивности накопления ФС в опухоли, незначительные системные эффекты, отсутствие механизмов первичной и приобретенной резистентности, отсутствие лимитирующих кумулятивных доз ФС и светового воздействия и, как следствие, возможность повторного проведения процедуры. Дополнительными преимуществами являются возможность использования в амбулаторных условиях, хорошая переносимость с минимальными болевыми реакциями, совместимость с другими методами лечения, хорошие косметические результаты. К факторам, ограничивающим широкое применение ФДТ, относятся: ослабление интенсивности лазерного излучения с глубиной проникновения света в биоткани и, как следствие, снижение эффективности и непредсказуемость фотодинамических реакций; влияние на результаты процедуры особенностей кровоснабжения и степени оксигенации опухоли; отсутствие эксцизионного материала для морфологического контроля лечения; эмпирический характер

подбора режимов воздействия [1–5]. Минимизировать влияние этих недостатков на результаты ФДТ можно при использовании эффективных методов оценки адекватности проводимого лечения. Для успешности динамического контроля и управления фотодинамической реакцией методы мониторинга должны быть неинвазивными и быстродействующими с реализацией в режиме реального времени [5, 6]. Одним из таких методов является флюоресцентная визуализация, которая позволяет оценить степень накопления препарата в опухоли, уточнить границы опухолевого поражения и контролировать выгорание ФС. На основании данных флюоресцентной диагностики может быть оптимизирован режим лазерного воздействия: время проведения процедуры после введения ФС, плотность мощности и доза лазерного облучения [5, 7–11].

Цель исследования — оценить возможности метода флюоресцентной визуализации для мониторинга фотодинамической терапии немеланомных опухолей кожи и проанализировать взаимосвязь показателей флюоресценции фотосенсибилизатора — ФС (степени накопления и выгорания) с эффективностью проведенного лечения.

Материалы и методы. Исследование выполнено на базе Нижегородского областного онкологического диспансера. Флюоресцентный мониторинг проведен при ФДТ у 226 пациентов с базально-клеточными и плоскоклеточными карциномами кожи.

Исследование осуществлено в соответствии с Хельсинкской декларацией (принятой в июне 1964 г. (Хельсинки, Финляндия) и пересмотренной в октябре 2000 г. (Эдинбург, Шотландия)) и одобрено Этическим комитетом НижГМА. От каждого пациента получено информированное согласие.

В качестве ФС применяли препарат хлоринового ряда Фотодитазин («Вета-грант», Россия) при системном введении в дозе 1,0 мг/кг массы тела. Лазерное воздействие проводили с использованием установки «Лахта-Милон» («Милон Лазер», Россия), длина волны излучения — 662 нм. Для доставки света к опухоли использовали световоды с микро- и макролинзами. Плотность мощности в среднем составляла 0,3 Вт/см² (0,28–0,32 Вт/см²), доза лазерного облучения — 200 Дж/см² при базально-клеточном раке и 300 Дж/см² — при плоскоклеточном раке.

Анализ параметров флюоресценции ФС проводили с помощью системы «Флуовизор» (ООО «Аткус», Россия). Через 1,5–2,0 ч после введения ФС (максимум накопления препарата согласно фармакодинамике Фотодитазина) оценивали интенсивность флюоресценции в реперных точках опухоли (I_t) и окружающей здоровой кожи (I_{NO}) с определением отношения интенсивностей флюоресценции опухоль/норма (I_t/I_{NO}). Степень выгорания (фотобликинга) препарата ($\Delta I_t/I_N$) рассчитывали после определения флюоресценции в реперных точках непосредственно после сеанса лазерного воздействия по следующей формуле:

$$\Delta \frac{I_t}{I_N} = \left[\frac{I_t}{I_N} \right] / \left[\frac{I_{t0}}{I_{NO}} \right]$$

Интенсивность флюоресценции косвенно свидетельствует о концентрации ФС в опухоли.

При клинической оценке результатов ФДТ опухоли оценивали на основании международных критериев RECIST [12] по изменению двух наибольших размеров с последующим проведением биопсии для морфологической верификации. Побочные эффекты классифицировали по шкале CTCAE v. 4.03 [13]. Длительность наблюдения составила от 2 до 40 мес, медиана — 26 мес.

Результаты и обсуждение. Полученные в исследовании данные о степени (концентрации) накопления ФС в опухоли относительно здоровых тканей позволили нам выделить три группы случаев. 1-я группа, условно оцененная нами как «отсутствие накопления», характеризуется низким отношением концентраций опухоль/норма $I_t/I_N < 1,1$, когда флюоресценция окружающих тканей и опухоли сравнима. При $I_t/I_N > 1,3$ диагностировали «высокое накопление». Параметры флюоресценции в границах $1,1 < I_t/I_N < 1,3$ отнесены к «низкому накоплению» (рис. 1).

При оценке степени фотобликинга ФС непосредственно после сеанса лазерного воздействия также было выделено три группы реакций (рис. 2). При уменьшении отношения флюоресценции опухоль/норма более чем на 20% от исходного ($(I_t/I_N)/(I_{t0}/I_{NO}) < 0,8$) выгорание препарата расценивалось как полное. Уменьшение отношения менее чем на 10% от исходного уровня ($(I_t/I_N)/(I_{t0}/I_{NO}) > 0,9$) соответствовало отсутствию фотобликинга ФС, показатель в пределах 0,8–0,9 трактовался как частичное выгорание.

С клинической точки зрения результаты ФДТ в исследованной группе пациентов могут быть оценены как хорошие: при медиане наблюдения 26 мес выздоровление (безрецидивный период) зарегистрировано у 198 пациентов из 226 (87,6%), рецидивы отмечены у 18 пациентов (12,4%), которым проведены повторные сеансы ФДТ с хорошим клиническим результатом и медианой длительности безрецидивного периода после повторной ФДТ 13 мес. Важным также является получение хороших функциональных и косметических результатов у подавляющего большинства пациентов (96%) обследованной группы (рис. 3).

Осложнений после проведения ФДТ не отмечено, однако у отдельных пациентов зарегистрированы нежелательные явления: незначительное повышение фоточувствительности (2 случая), стойкая гиперемия кожных покровов (5 случаев), умеренный болевой синдром в зоне воздействия (78 случаев), длительные (более 3 мес) воспалительные реакции в зоне воздействия (37 случаев), формирование гипои гипертрофических рубцов (9 случаев). Все нежелательные явления оценивались не выше чем I–II степень по шкале CTCAE v. 4.03. Побочных явлений или осложнений, связанных с использованием метода мониторинга, нами не отмечено.

При анализе характера ответа опухоли на проведение ФДТ в зависимости от степени накопления препарата (I_t/I_{NO}) статистически значимых различий не выяв-

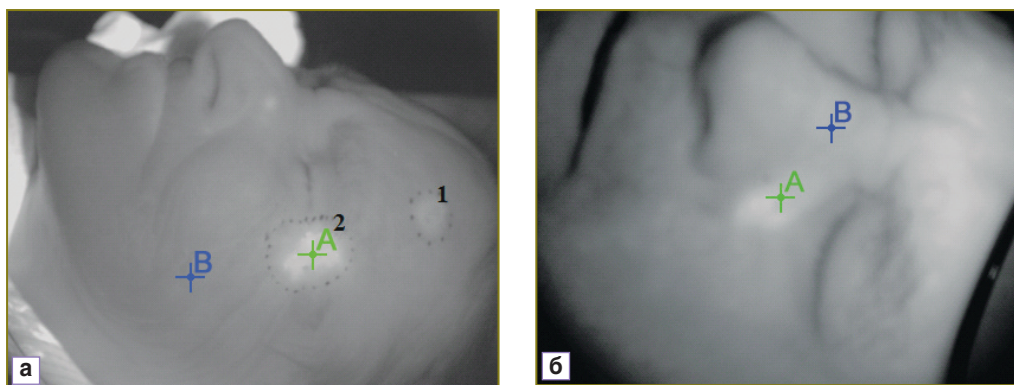


Рис. 1. Флюоресцентные изображения области опухоли (фокусы опухоли выделены пунктиром, точки А и В соответствуют курсорам измерения интенсивности флюоресценции). Степени накопления фотосенсибилизатора: а — пациентка Ц., мультицентричный базально-клеточный рак кожи лица, отсутствие накопления (зона 1), флюоресценция в опухоли сравнима с флюоресценцией окружающих тканей (отношение менее 1,1), и высокое накопление (зона 2), флюоресценция в опухоли значительно отличается от флюоресценции окружающих тканей (отношение более 1,3); б — пациент В., базально-клеточный рак кожи лица, низкое накопление, флюоресценция в опухоли незначительно отличается от флюоресценции окружающих тканей (отношение 1,1–1,3)

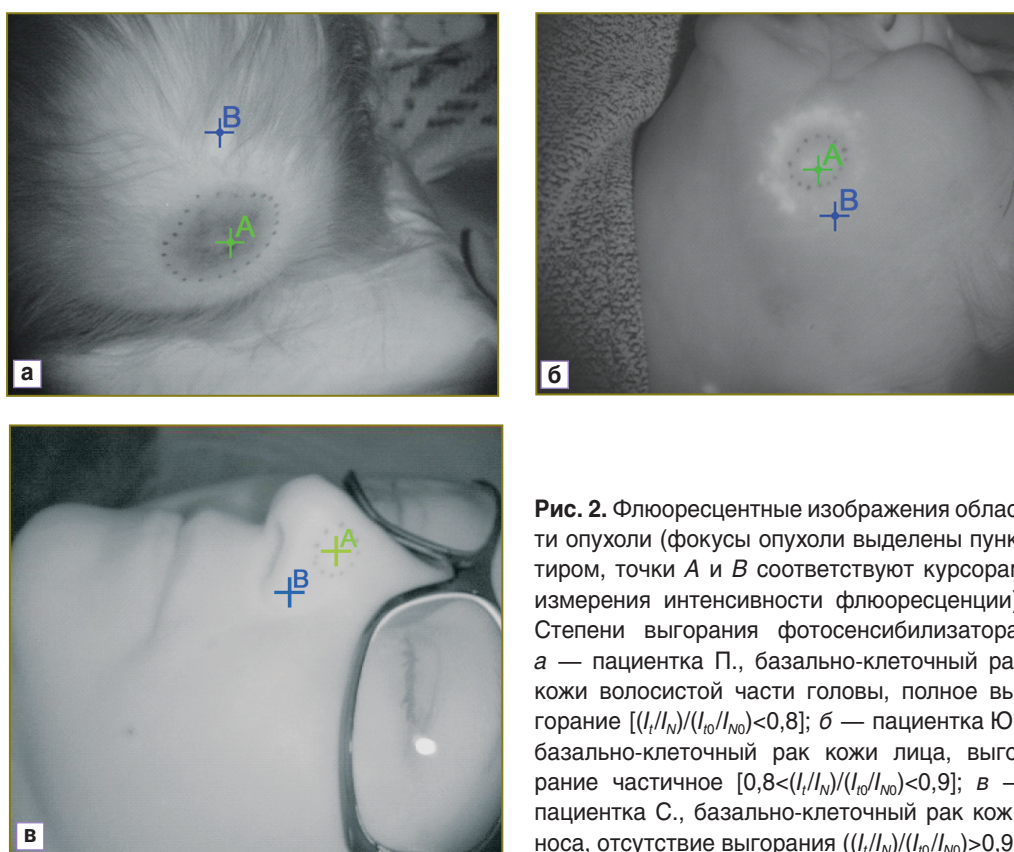


Рис. 2. Флюоресцентные изображения области опухоли (фокусы опухоли выделены пунктиром, точки А и В соответствуют курсорам измерения интенсивности флюоресценции). Степени выгорания фотосенсибилизатора: а — пациентка П., базально-клеточный рак кожи волосистой части головы, полное выгорание $[(I_t/I_N)/(I_{10}/I_{N0}) < 0,8]$; б — пациентка Ю., базально-клеточный рак кожи лица, выгорание частичное $[0,8 < (I_t/I_N)/(I_{10}/I_{N0}) < 0,9]$; в — пациентка С., базально-клеточный рак кожи носа, отсутствие выгорания $((I_t/I_N)/(I_{10}/I_{N0}) > 0,9)$

лено: частота полных ответов составила 90–93% при всех вариантах накопления. При анализе влияния на непосредственные результаты степени фотоблиинга препарата $(\Delta I_t/I_N)$ установлена тенденция к увеличению частоты полных ответов опухоли при полном выгорании ФС (см. таблицу).

В ходе анализа отдаленных результатов установлено, что частота рецидивов опухоли при отсутствии накопления и/или отсутствии выгорания ФС статистически значимо выше, чем при наличии флюоресцентного контраста между опухолью и окружающими тканями и полном или частичном выгорании.



Рис. 3. Фото пациентки И., 68 лет, диагноз — «первичный базально-клеточный рак кожи лица»: а — до ФДТ, размер опухоли 45×48 мм с толщиной (экзофитный компонент и инвазия) 6 мм; б — после ФДТ, полный ответ опухоли, хороший косметический эффект, безрецидивный период 4 года

Наилучшие непосредственные и отдаленные результаты достигнуты у 62 пациентов с сочетанием высокого накопления препарата и полного его выгорания после проведения процедуры. Количество полных ответов опухоли в этой группе составило 94% (58/62), отмечено всего 3,2% рецидивов (2/62) при сроках наблюдения от 4 до 40 мес.

Полученные результаты убедительно свидетельствуют о возможности использования флуоресцентной визуализации для неинвазивного наблюдения за ключевыми с точки зрения механизма ФДТ моментами: накоплением и выгоранием ФС, что позволяет говорить о перспективности мониторинга этих параметров для прогноза результата лечения. По нашим данным, у пациентов с низкой степенью накопления ФС в опухоли и/или отсутствием выгорания препарата после проведения ФДТ существует наибольший риск рецидива заболевания, что требует более интенсивного динамического наблюдения. Подобные результаты получены и другими авторами в серии экспериментальных исследований [5, 7–11].

Для повышения эффективности ФДТ в клинической практике важны не только пассивное наблюдение за основными компонентами лечения, но и возможность планирования режимов, управления основными реакциями ФДТ в режиме реального времени. В качестве метода планирования флуоресцентный имиджинг используется для детектирования реальных границ опухоли с целью формирования оптимальных полей и границ лазерного облучения, что особенно актуально при наличии невидимого ин-

Зависимость непосредственных и отдаленных результатов от параметров флуоресценции фотосенсибилизатора

Параметр флуоресценции	Непосредственные результаты, процент полных ответов опухоли	Отдаленные результаты, процент рецидивов
Высокое накопление ФС $I_t/I_N > 1,3$	90	
Низкое накопление ФС $1,1 < I_t/I_N < 1,3$	93	4,1
Отсутствие накопления ФС $I_t/I_N < 1,1$	91 ($p > 0,05$)	9,5 ($p = 0,044$)
Полное выгорание ФС $\Delta I_t/I_N < 0,8$	89	
Частичное выгорание ФС $0,8 < \Delta I_t/I_N < 0,9$	87	4,4
Отсутствие выгорания ФС $\Delta I_t/I_N > 0,9$	81 ($p > 0,05$)	10,4 ($p = 0,051$)

фильтративного компонента опухоли или мультицентричного поражения. Адекватный выбор поля светового воздействия способствует снижению риска рецидива на периферии и риска резидуальных опухолей [7, 14].

Целесообразным представляется изучение параметров флуоресценции для использования ее с целью дозиметрии и оптимизации режимов светового воздействия. В частности, время начала процедуры светового воздействия, плотность мощности и доза излучения могут быть персонифицированы в зависимости от времени и степени накопления и выгорания ФС [4, 5, 8, 11, 15]. Для управления фотодинамическими реакциями в режиме реального времени оптимальным является применение флуоресцентной визуализации непосред-

редственно во время светового воздействия [8], что, к сожалению, было невозможно в нашем исследовании из-за технологического несовершенства использованного оборудования. Еще одним ограничением проведенного исследования является измерение флуоресценции в условных единицах и анализ относительных величин, что позволяет лишь косвенно судить об истинной концентрации ФС в опухоли. С другой стороны, относительные величины позволяют минимизировать погрешности измерений, связанные с индивидуальными особенностями биотканей и существенным влиянием на результаты внешних условий проведения исследования. Все сказанное свидетельствует о необходимости совершенствования приборной базы флуоресцентного мониторинга ФДТ.

Для широкого использования в клинической практике диагностическая система должна обладать воспроизводимостью получаемых результатов, что достигается минимизацией влияния на результаты измерений внутренних шумов прибора и внешних факторов (фоновое освещение, расстояние от прибора до пациента). Для количественной оценки концентрации ФС в опухоли требуется принимать во внимание индивидуальные оптические характеристики биоткани (показатели рассеяния и поглощения, в том числе с учетом гетерогенности объекта), так как эти характеристики влияют на уровень измеряемой флуоресценции. Поскольку данные параметры варьируют от пациента к пациенту, а также существенно меняются в процессе ФДТ, для их корректного учета необходимы дополнительные измерения и соответствующая математическая обработка данных. Эти измерения могут быть проведены как точно [10, 16], так и с помощью цифровых камер с использованием нескольких источников излучения и приемных спектральных каналов [17, 18]. Следует также отметить, что поскольку оптическое поле экспоненциально падает с глубиной, эффективность ФДТ также уменьшается с глубиной. Зная глубину опухоли, оптические характеристики ткани и степень накопления ФС в опухоли, можно оценить дозу оптического излучения [19, 20].

Необходимо сказать, что механизм ФДТ основан на взаимодействии основных компонентов (фотосенсибилизатор, свет, кислород) с реализацией трех видов реакций: феномен флуоресценции, фотохимические реакции I (без присутствия кислорода) и II типа (с присутствием кислорода) [4, 5]. Флуоресцентная визуализация позволяет контролировать только параметры ФС через наблюдение феномена флуоресценции, в то время как основным звеном механизма ФДТ является фотохимическая реакция II типа с образованием синглетного кислорода, приводящая к прямому цитотоксическому действию и абляции сосудистого русла опухоли. Для мониторинга этих элементов ФДТ целесообразно использовать другие подходы. В серии исследований [15, 21, 22] показана важность диагностики кислородного статуса опухоли до начала ФДТ и мониторинга образования синглетного кислорода в ходе терапии с применением комбинации методов спектроскопии для оценки исходной оксигенации тканей, методов

флуоресценции для контроля накопления ФС и методов детектирования люминесценции синглетного кислорода после воздействия.

Другое направление оптического имиджинга основано на использовании оптической когерентной томографии (ОКТ) для неинвазивной диагностики изменений структуры опухоли после ФДТ. На примере немеланомных опухолей кожи показана эффективность ОКТ в визуализации границ новообразований для планирования ФДТ, в оценке непосредственных (ответ опухоли на лечение, адекватность процессов заживления) и отдаленных (диагностика резидуальных фокусов) результатов [23, 24]. Новые модификации ОКТ информативны относительно микроциркуляции опухолей, что перспективно в плане мониторинга основного патофизиологического механизма ФДТ — абляции сосудистого русла опухоли [25, 26].

Альтернативным и весьма перспективным подходом для неинвазивного мониторинга ФДТ является развитие технологии оптико-акустической визуализации. Этот вид биоимиджинга, объединяющий преимущества оптических и акустических методов, активно развивается в последние годы [27]. Как показывают первые результаты, оптико-акустический имиджинг при ФДТ позволяет получать информацию о структуре опухоли и архитектонике ее микрососудистого окружения до лечения и об изменении морфологии объекта после ФДТ, а также может использоваться для мониторинга одного из критичных компонентов фотодинамических реакций — параметров оксигенации опухоли [28].

Еще одним вариантом неинвазивного мониторинга могут стать методы многофотонной визуализации, приборная реализация и внедрение которых в клиническую практику стали возможными благодаря развитию фемтосекундной оптики [29–31]. Эти методы, несомненно, перспективны для детектирования опухолей. В работе [29] показаны преимущества многофотонной томографии по сравнению с конфокальной микроскопией в прижизненной диагностике базально-клеточной карциномы кожи. Возможность неинвазивного динамического детектирования снижения флуоресценции восстановленной формы никотинадениндинуклеотида (NADH) в коже при экспериментальной артериальной окклюзии делает многофотонную томографию перспективной для мониторинга методов воздействия, связанных с влиянием на микроциркуляцию, в том числе и для контроля ФДТ [30].

Все перечисленные подходы обладают определенными преимуществами и недостатками. В обзоре K. König [31] показана целесообразность комбинации разных методов: как в приборной реализации гибридной техники, так и в комплементарном использовании различных технологий.

Для широкого внедрения метода в клиническую практику требуются усовершенствование приборной базы флуоресцентного мониторинга ФДТ, разработка методик его использования и проведение рандомизированных исследований по эффективности применения метода в клинической практике. Развитие метода может способствовать персонификации ФДТ за счет

планирования индивидуальных параметров лазерного воздействия и управления фотодинамическими реакциями в режиме реального времени в зависимости от параметров флюоресценции, что позволит добиться максимального количества полных ответов опухоли на лечение и снизить процент рецидивов заболевания. Перспективным и актуальным направлением является развитие мультимодального биоимиджинга на основе флюоресцентной визуализации, новых модификаций ОКТ, оптико-акустической и многофотонной визуализации для дальнейшего развития дозиметрии и индивидуализации параметров ФДТ.

Заключение. На примере фотодинамической терапии опухолей кожи с использованием фотосенсибилизатора хлоринового ряда показано, что флюоресцентная визуализация является эффективным неинвазивным методом оценки характеристик одного из основных компонентов фотодинамических реакций — фотосенсибилизатора. Мониторинг таких параметров, как его накопление и выгорание, позволяет прогнозировать результаты фотодинамической терапии.

Финансирование исследования. Работа выполнена в рамках Комплексной программы развития и внедрения ФДТ при финансовой поддержке экспериментальных работ Российским фондом фундаментальных исследований (грант РФФИ №14-02-00753/14), Программой повышения конкурентоспособности ННГУ (соглашение от 27 августа 2013 г. №02.В.49.21.0003 между Минобрнауки РФ и ННГУ) и в рамках технологических разработок и клинических исследований Минобрнауки РФ (проект RFMEFI60414X0027, договор №14.В25.31.0015).

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература

1. Foley P., Freeman M., Menter A., Siller G., El-Azhary R.A., Gebauer K., et al. Photodynamic therapy with methyl aminolevulinic acid for primary nodular basal cell carcinoma: results of two randomized studies. *Int J Dermatol* 2009 Nov; 48(11): 1236–1245, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-4632.2008.04022.x>.
2. Agostinis P., Berg K., Cengel K.A., Foster T.H., Girotti A.W., Gollnick S.O., et al. Photodynamic therapy of cancer: an update. *CA Cancer J Clin* 2011 Jul–Aug; 61(4): 250–281, <http://dx.doi.org/10.3322/caac.20114>.
3. Соколов В.В., Карпова Е.С., Филоненко Е.В., Белоус Т.А., Франк Г.А. Успешное комбинированное эндоскопическое лечение (фотодинамическая терапия + электрокоагуляция) большого ранним раком нижней трети пищевода (14-летнее клиническое наблюдение). *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика* 2013; 1: 3–6.
4. Allison R.R., Moghissi K. Photodynamic therapy (PDT): PDT mechanisms. *Clin Endosc* 2013 Jan; 46(1): 24–29, <http://dx.doi.org/10.5946/ce.2013.46.1.24>.
5. Celli J.P., Spring B.Q., Rizvi I., Evans C.L., Samkoe K.S., Verma S., et al. Imaging and photodynamic therapy: mechanisms, monitoring, and optimization. *Chem Rev* 2010 May; 110(5): 2795–2838, <http://dx.doi.org/10.1021/cr900300p>.

6. Калугина Р.Р., Январева И.А., Стрельцова Ю.А., Гамаюнов С.В., Слугарев В.В., Денисенко А.Н. и др. Неинвазивный мониторинг патофизиологических процессов на разных стадиях фотодинамической терапии. *Современные технологии в медицине* 2009; 1: 107–110.

7. Чиссов В.И., Филоненко Е.В., Решетов И.В., Зайцев А.М., Лошаков В.А., Куржупов М.И. и др. Интраоперационная флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия у больных с метастатическим поражением головного мозга. *Российский онкологический журнал* 2011; 2: 4–7.

8. Kruijt B., van der Ploeg-van den Heuvel A., de Bruijn H.S., Sterenborg H.J., Amelink A., Robinson D.J. Monitoring interstitial m-THPC-PDT in vivo using fluorescence and reflectance spectroscopy. *Lasers Surg Med* 2009 Nov; 41(9): 653–664, <http://dx.doi.org/10.1002/lsm.20845>.

9. Wang Y., Gu Y., Liao X., Chen R., Ding H. Fluorescence monitoring of a photosensitizer and prediction of the therapeutic effect of photodynamic therapy for port wine stains. *Exp Biol Med* 2010 Feb; 235(2): 175–180, <http://dx.doi.org/10.1258/ebm.2009.009294>.

10. Brydegaard M., Haj-Hosseini N., Wardell K., Andersson-Engels S. Photobleaching-insensitive fluorescence diagnostics in skin and brain tissue. *IEEE Photonics J* 2011 Jun; 3(3): 407–421, <http://dx.doi.org/10.1109/jphot.2011.2141656>.

11. Ascencio M., Collinet P., Farine M.O., Mordon S. Protoporphyrin IX fluorescence photobleaching is a useful tool to predict the response of rat ovarian cancer following hexaminolevulinic acid photodynamic therapy. *Lasers Surg Med* 2008 Jul; 40(5): 332–341, <http://dx.doi.org/10.1002/lsm.20629>.

12. Shanbhogue A.K., Karnad A.B., Prasad S.R. Tumor response evaluation in oncology: current update. *J Comput Assist Tomogr* 2010 Jul; 34(4): 479–484, <http://dx.doi.org/10.1097/RCT.0b013e3181db2670>.

13. Common terminology criteria for adverse events (CTCAE). Version 4.03. U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Cancer Institute; 2010 June 14.

14. Kruijt B., van der Snoek E.M., Sterenborg H.J., Amelink A., Robinson D.J. A dedicated applicator for light delivery and monitoring of PDT of intra-anal intraepithelial neoplasia. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2010 Mar; 7(1): 3–9, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2010.01.006>.

15. Jarvi M.T., Patterson M.S., Wilson B.C. Insights into photodynamic therapy dosimetry: simultaneous singlet oxygen luminescence and photosensitizer photobleaching measurements. *Biophys J* 2012 Feb; 102(3): 661–671, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpj.2011.12.043>.

16. Xie H., Xie Z., Mousavi M., Bendsoe N., Brydegaard M., Axelsson J., Andersson-Engels S. Design and validation of a fiber optic point probe instrument for therapy guidance and monitoring. *J Biomed Opt* 2014 Mar; 19(7): 71408, <http://dx.doi.org/10.1117/1.JBO.19.7.071408>.

17. Valdes P.A., Jacobs V.L., Wilson B.C., Leblond F., Roberts D.W., Paulsen K.D. System and methods for wide-field fluorescence imaging during neurosurgery. *Opt Lett* 2013 Aug; 38(15): 2786–2788, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.38.002786>.

18. Sexton K., Davis S.C., McClatchy D., Valdes P.A., Kanick S.C., Paulsen K.D., et al. Pulsed-light imaging for fluorescence guided surgery under normal room lighting. *Opt Lett* 2013 Sep; 38(17): 3249–3252, <http://dx.doi.org/10.1364/OL.38.003249>.

19. Jacques S.L. How tissue optics affect dosimetry of

photodynamic therapy. *J Biomed Opt* 2010 Sept–Oct; 15(5): 051608, <http://dx.doi.org/10.1117/1.3494561>.

20. Sandell J.L., Zhu T.C. A review of in-vivo optical properties of human tissues and its impact on PDT. *J Biophotonics* 2011 Nov; 4(11–12): 773–787, <http://dx.doi.org/10.1002/jbio.201100062>.

21. Tyrrell J., Thorn C., Shore A., Campbell S., Curnow A. Oxygen saturation and perfusion changes during dermatological methylaminolaevulinate photodynamic therapy. *Br J Dermatol* 2011 Dec; 165(6): 1323–1331, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.2011.10554.x>.

22. Liu B., Farrell T.J., Patterson M.S. A dynamic model for ALA-PDT of skin: simulation of temporal and spatial distributions of ground-state oxygen, photosensitizer and singlet oxygen. *Phys Med Biol* 2010 Oct; 55(19): 5913–5932, <http://dx.doi.org/10.1088/0031-9155/55/19/019>.

23. Hamdoon Z., Jerjes W., Upile T., Hopper C. Optical coherence tomography-guided photodynamic therapy for skin cancer: case study. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2011 Mar; 8(1): 49–52, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2010.08.004>.

24. Themstrup L., Banzhaf C.A., Mogensen M., Jemec G.B.E. Optical coherence tomography imaging of non-melanoma skin cancer undergoing photodynamic therapy reveals subclinical residual lesions. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2014 Mar; 11(1): 7–12, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2013.11.003>.

25. Mariampillai A., Leung M.K., Jarvi M., Standish B.A., Lee K., Wilson B.C., et al. Optimized speckle variance OCT imaging of microvasculature. *Opt Lett* 2010 Apr; 35(8): 1257–1259, <http://dx.doi.org/10.1364/OL.35.001257>.

26. Zotter S., Pircher M., Torzicky T., Bonesi M., Götzinger E., Leitgeb R.A., Hitzinger C.K. Visualization of microvasculature by dual-beam phase-resolved Doppler optical coherence tomography. *Opt Express* 2011; 19(2): 1217–1227, <http://dx.doi.org/10.1364/OE.19.001217>.

27. Ntziachristos V., Razansky D. Molecular imaging by means of multi-spectral optoacoustic tomography (MSOT). *Chem Rev* 2010; 110(5): 2783–2794, <http://dx.doi.org/10.1021/cr9002566>.

28. Mallidi S., Huang H.C., Liu J.Y., Mensah L., Mai Z., Hasan T. Photoacoustic image guided photodynamic therapy of glioblastoma. *Cancer Res* 2013 Apr; 73(8 Suppl): 3923, <http://dx.doi.org/10.1158/1538-7445.am2013-3923>.

29. Balu M., Mazhar A., Hayakawa C.K., Mittal R., Krasieva T.B., König K., et al. In vivo multiphoton NADH fluorescence reveals depth-dependent keratinocyte metabolism in human skin. *Biophys J* 2013 Jan; 104(1): 258–267, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpj.2012.11.3809>.

30. Ulrich M., Klemp M., Darvin M.E., König K., Lademann J., Meinke M.C. In vivo detection of basal cell carcinoma: comparison of a reflectance confocal microscope and a multiphoton tomography. *J Biomed Opt* 2013 Jun; 18(6): 061229, <http://dx.doi.org/10.1117/1.jbo.18.6.061229>.

31. König K. Hybrid multiphoton multimodal tomography of in vivo human skin. *Intravital* 2012 Jul; 1(1): 11–26, <http://dx.doi.org/10.4161/intv.21938>.

References

1. Foley P., Freeman M., Menter A., Siller G., El-Azhary R.A., Gebauer K., et al. Photodynamic therapy with methyl aminolevulinate for primary nodular basal cell carcinoma: results of two randomized studies. *Int J Dermatol*

2009 Nov; 48(11): 1236–1245, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-4632.2008.04022.x>.

2. Agostinis P., Berg K., Cengel K.A., Foster T.H., Girotti A.W., Gollnick S.O., et al. Photodynamic therapy of cancer: an update. *CA Cancer J Clin* 2011 Jul–Aug; 61(4): 250–281, <http://dx.doi.org/10.3322/caac.20114>.

3. Sokolov V.V., Karpova E.S., Filonenko E.V., Belous T.A., Frank G.A. Successful combination of endoscopic treatment (photodynamic therapy + electrocoagulation) of a patient with early lower third esophageal cancer (14-year clinical observation). *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika* 2013; 1: 3–6.

4. Allison R.R., Moghissi K. Photodynamic therapy (PDT): PDT mechanisms. *Clin Endosc* 2013 Jan; 46(1): 24–29, <http://dx.doi.org/10.5946/ce.2013.46.1.24>.

5. Celli J.P., Spring B.Q., Rizvi I., Evans C.L., Samkoe K.S., Verma S., et al. Imaging and photodynamic therapy: mechanisms, monitoring, and optimization. *Chem Rev* 2010 May; 110(5): 2795–2838, <http://dx.doi.org/10.1021/cr900300p>.

6. Kalugina R.R., Yanvareva I.A., Strel'tsova Yu.A., Gamayunov S.V., Slugarev V.V., Denisenko A.N., et al. Non-invasive monitoring of pathophysiological processes at different photodynamic therapy stages. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2009; 1: 107–110.

7. Chissov V.I., Filonenko E.V., Reshetov I.V., Zaytsev A.M., Loshakov V.A., Kurzhupov M.I., et al. Intra-operative fluorescent diagnostics and photodynamic therapy in patients with brain metastatic lesions. *Rossiyskiy onkologicheskii zhurnal* 2011; 2: 4–7.

8. Kruijt B., van der Ploeg-van den Heuvel A., de Bruijn H.S., Sterenberg H.J., Amelink A., Robinson D.J. Monitoring interstitial m-THPC-PDT in vivo using fluorescence and reflectance spectroscopy. *Lasers Surg Med* 2009 Nov; 41(9): 653–664, <http://dx.doi.org/10.1002/lsm.20845>.

9. Wang Y., Gu Y., Liao X., Chen R., Ding H. Fluorescence monitoring of a photosensitizer and prediction of the therapeutic effect of photodynamic therapy for port wine stains. *Exp Biol Med* 2010 Feb; 235(2): 175–180, <http://dx.doi.org/10.1258/ebm.2009.009294>.

10. Brydegaard M., Haj-Hosseini N., Wardell K., Andersson-Engels S. Photobleaching-insensitive fluorescence diagnostics in skin and brain tissue. *IEEE Photonics J* 2011 Jun; 3(3): 407–421, <http://dx.doi.org/10.1109/jphot.2011.2141656>.

11. Ascencio M., Collinet P., Farine M.O., Mordon S. Protoporphyrin IX fluorescence photobleaching is a useful tool to predict the response of rat ovarian cancer following hexaminolevulinate photodynamic therapy. *Lasers Surg Med* 2008 Jul; 40(5): 332–341, <http://dx.doi.org/10.1002/lsm.20629>.

12. Shanbhogue A.K., Karnad A.B., Prasad S.R. Tumor response evaluation in oncology: current update. *J Comput Assist Tomogr* 2010 Jul; 34(4): 479–484, <http://dx.doi.org/10.1097/RCT.0b013e3181db2670>.

13. *Common terminology criteria for adverse events (CTCAE)*. Version 4.03. U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Cancer Institute; 2010 June 14.

14. Kruijt B., van der Snoek E.M., Sterenberg H.J., Amelink A., Robinson D.J. A dedicated applicator for light delivery and monitoring of PDT of intra-anal intraepithelial neoplasia. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2010 Mar; 7(1): 3–9, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2010.01.006>.

15. Jarvi M.T., Patterson M.S., Wilson B.C. Insights

- into photodynamic therapy dosimetry: simultaneous singlet oxygen luminescence and photosensitizer photobleaching measurements. *Biophys J* 2012 Feb; 102(3): 661–671, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpj.2011.12.043>.
16. Xie H., Xie Z., Mousavi M., Bendsoe N., Brydegaard M., Axelsson J., Andersson-Engels S. Design and validation of a fiber optic point probe instrument for therapy guidance and monitoring. *J Biomed Opt* 2014 Mar; 19(7): 71408, <http://dx.doi.org/10.1117/1.JBO.19.7.071408>.
17. Valdes P.A., Jacobs V.L., Wilson B.C., Leblond F., Roberts D.W., Paulsen K.D. System and methods for wide-field fluorescence imaging during neurosurgery. *Opt Lett* 2013 Aug; 38(15): 2786–2788, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.38.002786>.
18. Sexton K., Davis S.C., McClatchy D., Valdes P.A., Kanick S.C., Paulsen K.D., et al. Pulsed-light imaging for fluorescence guided surgery under normal room lighting. *Opt Lett* 2013 Sep; 38(17): 3249–3252, <http://dx.doi.org/10.1364/OL.38.003249>.
19. Jacques S.L. How tissue optics affect dosimetry of photodynamic therapy. *J Biomed Opt* 2010 Sept–Oct; 15(5): 051608, <http://dx.doi.org/10.1117/1.3494561>.
20. Sandell J.L., Zhu T.C. A review of in-vivo optical properties of human tissues and its impact on PDT. *J Biophotonics* 2011 Nov; 4(11–12): 773–787, <http://dx.doi.org/10.1002/jbio.201100062>.
21. Tyrrell J., Thorn C., Shore A., Campbell S., Curnow A. Oxygen saturation and perfusion changes during dermatological methylaminolaevulinate photodynamic therapy. *Br J Dermatol* 2011 Dec; 165(6): 1323–1331, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.2011.10554.x>.
22. Liu B., Farrell T.J., Patterson M.S. A dynamic model for ALA-PDT of skin: simulation of temporal and spatial distributions of ground-state oxygen, photosensitizer and singlet oxygen. *Phys Med Biol* 2010 Oct; 55(19): 5913–5932, <http://dx.doi.org/10.1088/0031-9155/55/19/019>.
23. Hamdoon Z., Jerjes W., Upile T., Hopper C. Optical coherence tomography-guided photodynamic therapy for skin cancer: case study. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2011 Mar; 8(1): 49–52, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2010.08.004>.
24. Themstrup L., Banzhaf C.A., Mogensen M., Jemec G.B.E. Optical coherence tomography imaging of non-melanoma skin cancer undergoing photodynamic therapy reveals subclinical residual lesions. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2014 Mar; 11(1): 7–12, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2013.11.003>.
25. Mariampillai A., Leung M.K., Jarvi M., Standish B.A., Lee K., Wilson B.C., et al. Optimized speckle variance OCT imaging of microvasculature. *Opt Lett* 2010 Apr 15; 35(8): 1257–1259, <http://dx.doi.org/10.1364/OL.35.001257>.
26. Zotter S., Pircher M., Torzicky T., Bonesi M., Götzinger E., Leitgeb R.A., Hitzinger C.K. Visualization of microvasculature by dual-beam phase-resolved Doppler optical coherence tomography. *Opt Express* 2011; 19(2): 1217–1227, <http://dx.doi.org/10.1364/OE.19.001217>.
27. Ntziachristos V., Razansky D. Molecular imaging by means of multi-spectral optoacoustic tomography (MSOT). *Chem Rev* 2010; 110(5): 2783–2794, <http://dx.doi.org/10.1021/cr9002566>.
28. Mallidi S., Huang H.C., Liu J.Y., Mensah L., Mai Z., Hasan T. Photoacoustic image guided photodynamic therapy of glioblastoma. *Cancer Res* 2013 Apr; 73(8 Suppl): 3923, <http://dx.doi.org/10.1158/1538-7445.am2013-3923>.
29. Balu M., Mazhar A., Hayakawa C.K., Mittal R., Krasieva T.B., König K., et al. In vivo multiphoton NADH fluorescence reveals depth-dependent keratinocyte metabolism in human skin. *Biophys J* 2013 Jan; 104(1): 258–267, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpj.2012.11.3809>.
30. Ulrich M., Klemp M., Darvin M.E., König K., Lademann J., Meinke M.C. In vivo detection of basal cell carcinoma: comparison of a reflectance confocal microscope and a multiphoton tomography. *J Biomed Opt* 2013 Jun; 18(6): 061229, <http://dx.doi.org/10.1117/1.jbo.18.6.061229>.
31. König K. Hybrid multiphoton multimodal tomography of in vivo human skin. *Intravital* 2012 Jul; 1(1): 11–26, <http://dx.doi.org/10.4161/intv.21938>.