

МОНИТОРИНГ И ПЛАНИРОВАНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДВУХВОЛНОВОГО ФЛЮОРЕСЦЕНТНОГО ИМИДЖИНГА

DOI: 10.17691/stm2017.9.4.12

УДК 615.831:575:577

Поступила 20.07.2017 г.



А.В. Хиллов, младший научный сотрудник лаборатории биофотоники¹;
Д.А. Логинова, старший лаборант-исследователь лаборатории биофотоники¹;
Е.А. Сергеева, к.ф.-м.н., старший научный сотрудник лаборатории биофотоники¹;
М.А. Шахова, младший научный сотрудник лаборатории биофотоники¹; ассистент кафедры болезней уха, горла и носа²;
А.Е. Меллер, младший научный сотрудник лаборатории биофотоники¹; ассистент кафедры болезней уха, горла и носа²;
И.В. Турчин, к.ф.-м.н., зав. лабораторией биофотоники¹;
М.Ю. Кириллин, к.ф.-м.н., старший научный сотрудник лаборатории биофотоники¹

¹Институт прикладной физики РАН, Н. Новгород, 603950, ул. Ульянова, 46;²Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Цель исследования — разработка способа флуоресцентного мониторинга и планирования фотодинамической терапии с применением фотосенсибилизаторов хлоринового ряда.

Материалы и методы. Исследование проведено с помощью численного моделирования и в экспериментах на агаровом оптическом фантоме биоткани и коже человека *in vivo*. В качестве метода оптического мониторинга использован флуоресцентный имиджинг, в качестве фотосенсибилизатора — препарат хлоринового ряда «Фотодитазин» («Вета-гранд», Россия). Численное моделирование распространения воздействующего излучения в объекте проведено с помощью метода Монте-Карло для многослойной модели кожи.

Результаты. Установлено, что при двухволновом флуоресцентном мониторинге проникновения фотосенсибилизатора в биоткани отношение сигналов флуоресценции, возбуждаемой на длинах волн 405 и 660 нм, может быть использовано в качестве характеристики глубины проникновения фотосенсибилизатора в биоткани. Результаты численного моделирования хорошо согласуются с результатами модельного эксперимента на агаровом фантоме и пилотных *in vivo* экспериментов. С помощью метода Монте-Карло рассчитаны карты освещенности и поглощенной световой дозы на длинах волн 405 и 660 нм, проанализированы зависимости характерных величин доз от оптических характеристик среды.

Заключение. Метод двухволнового флуоресцентного имиджинга позволяет неинвазивно оценить глубину проникновения фотосенсибилизатора хлоринового ряда в биоткань при поверхностном нанесении, а численное моделирование методом Монте-Карло — более корректно выбрать дозу светового воздействия при фотодинамической терапии в зависимости от оптических характеристик биоткани и длины волны излучения воздействия.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия; планирование фотодинамической терапии; флуоресцентный имиджинг; фотосенсибилизаторы хлоринового ряда; метод Монте-Карло.

Как цитировать: Khilov A.V., Loginova D.A., Sergeeva E.A., Shakhova M.A., Meller A.E., Turchin I.V., Kirillin M.Yu. Two-wavelength fluorescence monitoring and planning of photodynamic therapy. *Modern Tehnologies in Medicine* 2017; 9(4): 96–105, <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.4.12>

English

Two-Wavelength Fluorescence Monitoring and Planning of Photodynamic Therapy

A.V. Khilov, Junior Researcher, Laboratory of Biophotonics¹;
D.A. Loginova, Senior Laboratory Assistant Researcher, Laboratory of Biophotonics¹;
E.A. Sergeeva, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Biophotonics¹;

Для контактов: Хиллов Александр Владимирович, e-mail: alhil@inbox.ru

M.A. Shakhova, Junior Researcher, Laboratory of Biophotonics¹; Assistant, Department of ENT Diseases²;
A.E. Meller, Junior Researcher, Laboratory of Biophotonics¹; Assistant, Department of ENT diseases²;
I.V. Turchin, PhD, Head of the Laboratory of Biophotonics¹;
M.Yu. Kirillin, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Biophotonics¹

¹Institute of Applied Physics of Russian Academy of Sciences, 46 Ul'yanov St., Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation;

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

The aim of the study is to develop approaches for fluorescence monitoring and planning of photodynamic therapy employing chlorine series photosensitizers.

Materials and Methods. The study included numerical simulations and experiments with optical agar phantoms of biotissue and human skin *in vivo*. Fluorescence imaging was used as a method of optical monitoring. Chlorine series photosensitizer Photoditazin (Veta Grand, Russia) was employed. Numerical simulation of light propagation was performed with Monte Carlo technique for a multilayer skin model.

Results. It was demonstrated that in the case of two-wavelength fluorescence monitoring of photosensitizer penetration into the tissue the ratio of fluorescence signals excited at wavelengths of 405 and 660 nm can be used as a characteristic of photosensitizer penetration depth in biological tissue. The results of numerical simulations are in good agreement with the results of model experiments on agar phantoms and pilot *in vivo* experiment. Radiant exposure and absorbed light dose maps at the wavelengths of 405 and 660 nm were calculated employing Monte-Carlo technique; the dependencies of the characteristic dose values on the optical properties of the medium were analyzed.

Conclusion. Two-wave fluorescence imaging technique allows for non-invasive estimation of chlorine series photosensitizer penetration depth into the biotissue after topical application, while numerical simulation by Monte-Carlo method allows for more accurate choice of the light exposure dose for photodynamic therapy depending on optical properties of the tissue and the radiation wavelength.

Key words: photodynamic therapy; planing of photodynamic therapy; fluorescence imaging; chlorine series photosensitizers; Monte-Carlo simulations.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) — современный многофакторный метод лечения опухолевых и неопухолевых патологий, основанный на селективном накоплении фотосенсибилизатора (ФС) в тканях с последующим воздействием оптическим излучением на длине волны поглощения ФС. Поглощение квантов света ФС вызывает фотодинамическую реакцию. Основными фотодинамическими эффектами являются непосредственное цитотоксическое действие на клетки, повреждение сосудов опухоли и иммунные реакции [1–3].

Фотодинамическая терапия в современной клинической практике демонстрирует высокую эффективность при лечении широкого круга патологий. Наряду с высокой онкологической эффективностью у метода ФДТ имеется большой потенциал и в антимикробной терапии при лечении воспалительной патологии различной локализации [4–7].

Говоря о преимуществах ФДТ, таких как крайне незначительные отрицательные системные эффекты, минимальная токсичность для здоровых тканей, возможность многократного повторения процедуры при необходимости, следует, однако, отметить и недостатки метода. Например, по современным протоколам проведения ФДТ при назначении процедуры определяются только доза ФС и световая доза без учета индивидуальных особенностей пациента. Однако эффективность ФДТ во многом зависит от распределения ФС в тканях, распределения поглощенной интенсивности оптического излучения в тканях и выгорания

ФС в процессе светового воздействия [8]. Учет этих факторов при определении порядка выполнения ФДТ поможет повысить ее эффективность. Поэтому многие исследователи считают необходимым и возможным поиск путей и разработку способов оптимизации технологии ФДТ [3, 9].

Одно из направлений оптимизации ФДТ — индивидуализация режимов воздействия. Это может быть реализовано при эффективном мониторинге лечения [3, 10]. Известно множество подходов с использованием различных методов визуализации [11–13]. Среди них оптический биоимиджинг является наиболее перспективным благодаря возможности неинвазивного контроля в режиме реального времени.

Применение методов оптического биоимиджинга при проведении процедуры ФДТ позволяет контролировать распределение ФС и его выгорание. Наиболее часто для этого используют методы флуоресцентного имиджинга [14], поскольку ФС всегда являются флуоресцирующими маркерами. Одними из наиболее распространенных ФС, широко применяющихся в России, являются ФС хлоринового ряда. К их особенностям относятся два максимума в спектре поглощения, соответствующие длинам волн 405 и 660 нм (рис. 1).

Поскольку оптические характеристики биотканей на этих длинах волн существенно различаются — показатель поглощения на волне 405 нм существенно выше [15, 16], распределения интенсивности воздействующего излучения (как дошедшего, так и поглощенного)

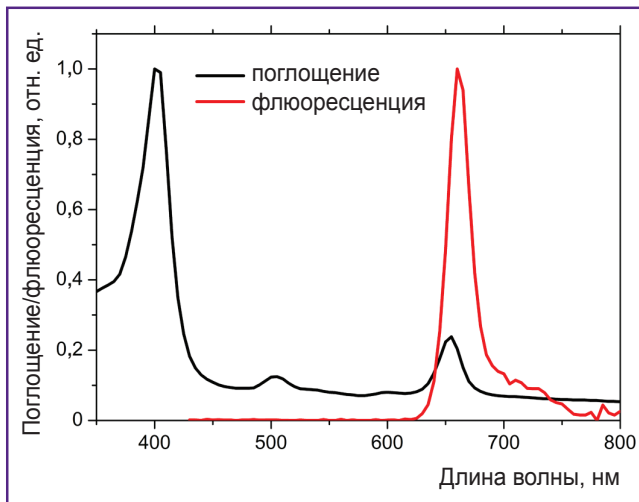


Рис. 1. Спектры поглощения и флюоресценции фотосенсибилизаторов хлороинового ряда

также различны, что дает возможность выбора глубины воздействия. Одновременное использование различных спектральных полос поглощения ФС предоставляет дополнительные возможности как для мониторинга, так и для осуществления процедуры ФДТ. В частности, регистрация сигнала флюоресценции при различных длинах волн возбуждения позволяет неинвазивно оценить глубину проникновения ФС в ткани [17, 18].

Разница в характере распределения поглощенной интенсивности в биоткани для двух длин волн приводит к тому, что область воздействия различается, и это важно учитывать при планировании процедуры ФДТ. Авторами предложен подход к оценке пространственного распределения поглощенной дозы светового излучения с помощью численного моделирования методом Монте-Карло для многослойных сред, имитирующих биоткани, и проведен анализ влияния величин оптических характеристик на это распределение.

Цель исследования — разработка способа флюоресцентного мониторинга и планирования фотодинамической терапии с применением фотосенсибилизаторов хлороинового ряда.

Материалы и методы. Рассматриваются способы применения двухволнового флюоресцентного имиджинга на примере исследования флюоресцентного отклика биоткани в присутствии ФС с помощью численного моделирования и в эксперименте на фантомах биоткани, а также планирование ФДТ с помощью численного моделирования.

Экспериментальные исследования. В работе использовали ФС хлороинового ряда «Фотодитазин» («Вета-гранд», Россия). Экспериментальная часть работы включала исследование возможностей метода флюоресцентного имиджинга в определении глубины проникновения ФС в биоткань как на фантомах, так и на коже человека *in vivo*.

Эксперимент на фантомах. Модельный эксперимент проводили на агаровых фантомах биоткани, изготовленных из смеси воды, 20%-ного интралипида, а также красной и черной чертежной туши. Концентрации компонентов были подобраны таким образом, чтобы оптические свойства фантома на длинах волн 405 и 660 нм совпадали с типичными свойствами биоткани [19]. Регистрацию флюоресцентных изображений осуществляли на разработанном приборе для контроля ФДТ [20]. Данное устройство было модернизировано для обеспечения возможности двухволнового возбуждения ФС путем добавления к источнику с длиной волны 660 ± 10 нм светодиодного источника 405 ± 10 нм, синхронизированного с камерой.

Концентрация ФС С в фантоме составляла 0,05 мг/мл при исходной концентрации препарата 5,0 мг/мл. При изготовлении фантома ФС был равномерно распределен в объеме его верхнего слоя, толщина d которого варьировала от 0,25 до 6,0 мм. Нижний слой фантома не содержал ФС, общая толщина фантома составляла 6,0 мм (рис. 2).

Эксперимент *in vivo*. Пилотный эксперимент проводили на коже внутренней стороны предплечья здорового волонтера женского пола (41 год) в соответствии с протоколом по проведению научных исследований с участием человека в качестве объекта исследования Этического комитета НижГМА. ФС «Фотодитазин» наносили на поверхность кожи в объеме 100 мкл, после чего равномерно распределяли на площади 24 см². Далее производили мониторинг участка с нанесенным ФС с помощью прибора для контроля ФДТ в течение 5 мин. Положение руки волонтера фиксировали на протяжении всего времени мониторинга.

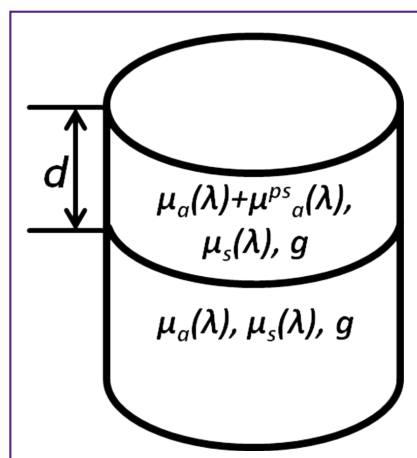


Рис. 2. Схема агарового фантома биоткани для модельного эксперимента:

μ_a — коэффициент поглощения среды, μ_s — коэффициент рассеяния среды, g — фактор анизотропии, μ^{ps}_a — коэффициент поглощения фотосенсибилизатора, d — толщина слоя, содержащего фотосенсибилизатор

Оценка глубины проникновения фотосенсибилизатора. Глубину проникновения ФС оценивали с помощью подхода, предложенного в работах [17, 18]. Подход основан на построении численной модели флюоресцентного отклика биоткани в присутствии ФС. Модель строится на расчете распределения в биоткани зондирующего излучения S_{ex} на длине волны возбуждения λ_{ex} с помощью аппарата теории переноса излучения и последующего расчета флюоресцентного отклика S_{em} , когда карта эмиссии на длине волны флюоресценции λ_{em} строится на основе карты поглощения возбуждающего излучения.

В качестве параметра, характеризующего глубину проникновения ФС, рассматривали отношение флюоресцентных откликов при возбуждении на длинах волн 405 и 660 нм, соответствующих пикам поглощения ФС хлоринового ряда. В модельных и *in vivo* экспериментах флюоресцентный отклик рассчитывали как среднее значение сигнала флюоресценции по всей области нанесения ФС.

Численное моделирование. Моделирование флюоресцентного отклика, а также пространственного распределения освещенности и поглощенной дозы воздействующего излучения проводили методом Монте-Карло. Это метод статистического моделирования, основанный на многократном моделировании случайных траекторий фотонов в среде, исходя из заданных оптических свойств и геометрии облучения, и последующем обобщении полученных данных. При моделировании использовали алгоритм, разработанный и развитый ранее [21–23].

Моделирование флюоресцентного отклика. В рамках численного моделирования методом Монте-Карло были получены флюоресцентные отклики фантомов, содержащих «Фотодитазин» с концентрацией 0,05 мг/мл и 0,5 мг/мл, равномерно распределенный в поверхностном слое, толщина которого варьировалась, что соответствовало параметрам модельного эксперимента на фантомах. Оптические характеристики модельной среды соответствовали типичным характеристикам биотканей [19]. Значения параметров среды и коэффициентов поглощения ФС представлены в табл. 1.

Модельная среда с размерами 20×20×6 мм считалась равномерно облученной по всей поверхности. Глубина проникновения ФС в среду изменялась от 0,25 до 6,0 мм, граница между содержащим и не содержащим ФС слоями принималась резкой.

Моделирование распределения освещенности и поглощенной дозы. При расчете распределения дозы поглощенного излучения моделирование методом Монте-Карло проводили для образца с плоскими границами, имеющего толщину 4 мм и поперечные размеры 10×10 мм. При моделировании пола-

гали, что поверхность образца равномерно засвечивается излучением на одной из заданных длин волн (405 и 660 нм) с полной световой дозой, равной 50 Дж/см².

В качестве модельного объекта рассматривали образец кожи человека. В рамках данной работы предполагалась упрощенная трехслойная модель кожи, состоящая из рогового слоя (50 мкм), эпидермиса (150 мкм) и дермы (3,8 мм). При моделировании считали, что слои однородны и на рассматриваемых длинах волн обладают оптическими свойствами, отображенными в табл. 2. Коэффициент преломления для всех трех слоев был задан равным 1,4.

В рамках данной работы алгоритм Монте-Карло адаптировали для среды MATLAB. Реализация алгоритма в среде MATLAB основана на одновременной обработке 10⁶ фотонных траекторий. На первом этапе инициализируются такие параметры фотонов, как позиция в декартовых координатах, направление и начальный вес W . Данные характеристики хранятся в виде массивов, где каждая строка соответствует отдельно взятому фотону, и общее количество строк равно общему количеству фотонов. Затем массивы данных обрабатываются в соответствии с алгоритмом Монте-Карло, в котором учитываются изменение траектории фотонов за счет рассеяния и уменьшение веса фотонов из-за поглощения среды.

Под поглощенной дозой воздействующего излучения в элементарном объеме среды в данном случае понимается суммарный вес, который потеряли фотоны вследствие поглощения, находясь в данном элементарном объеме. Элементарный объем представляет собой куб 0,05×0,05×0,05 мм.

Таблица 1

Оптические характеристики модельной среды и коэффициент поглощения фотосенсибилизатора

Длина волны, нм	μ_a , мм ⁻¹	μ_s , мм ⁻¹	g	μ_a^{ps} , мм ⁻¹ (C=0,05 мг/мл)
405	2,41	4,35	0,7	1,65
660	0,68	4,22	0,7	0,31

Примечания: μ_a — коэффициент поглощения среды, μ_s — коэффициент рассеяния среды, g — фактор анизотропии, μ_a^{ps} — коэффициент поглощения ФС, C — концентрация фотосенсибилизатора.

Таблица 2

Оптические свойства и толщина слоев кожи, использованные при моделировании [15, 16, 24]

Слои кожи	d , мм	g	405 нм		660 нм	
			μ_a , мм ⁻¹	μ_s , мм ⁻¹	μ_a , мм ⁻¹	μ_s , мм ⁻¹
Роговой слой	0,05	0,9	20,0	200,0	10,0	200,0
Эпидермис	0,15	0,8	1,3	35,0	0,3	23,0
Дерма	3,8	0,8	0,9	27,0	0,15	14,0

Результаты

Мониторинг проникновения фотосенсибилизатора с помощью флуоресцентного имиджинга

Численное моделирование и эксперимент на фантомах. Поскольку ФС являются флуоресцентными маркерами, флуоресцентный имиджинг является наиболее распространенным подходом к оптическому мониторингу ФДТ, причем наличие двух пиков поглощения предоставляет дополнительные возможности для мониторинга присутствия ФС в тканях. Сравнение результатов численного моделирования и модельного эксперимента по измерению отношения сигналов флюо-

ресценции при возбуждении на длинах волн 405 и 660 нм представлено на рис. 3.

Поскольку коэффициент поглощения биотканей для $\lambda_{ex}=405$ нм существенно выше, чем для $\lambda_{ex}=660$ нм, поглощение излучения на $\lambda_{ex}=405$ нм происходит преимущественно в приповерхностных слоях биоткани, в то время как для $\lambda_{ex}=660$ нм — и в более глубоких слоях, и поэтому отношение $S_{\lambda=405 \text{ нм}}/S_{\lambda=660 \text{ нм}}$ монотонно падает с увеличением толщины слоя, содержащего ФС. Количественное сравнение поглощенной дозы на различных глубинах в биоткани для разных длин волн будет проведено ниже. Наблюдается хорошее согласование модельного эксперимента и численной

модели. Это говорит о том, что измерение отношения сигналов на этих двух длинах волн может служить эффективным индикатором глубины проникновения ФС, однако следует отметить, что для корректного применения этого подхода необходимо знать оптические характеристики исследуемой биоткани.

Эксперимент in vivo. Для проверки возможности использования отношения $S_{\lambda=405 \text{ нм}}/S_{\lambda=660 \text{ нм}}$ в качестве индикатора глубины проникновения ФС был проведен пилотный *in vivo* эксперимент на коже человека. Типичные флуоресцентные изображения при возбуждении флуоресценции на $\lambda_{ex}=405$ нм и $\lambda_{ex}=660$ нм представлены на рис. 4, а и 4, б соответственно.

Результаты мониторинга проникновения ФС в кожу человека (внутренняя сторона предплечья, здоровый волонтер женского пола, 41 год) при поверхностной аппликации приведены на рис. 5. Как было показано в модельном эксперименте, отношение сигналов флуоресценции падает с увеличением глубины проникновения, что хорошо согласуется с динамикой, наблюдаемой в *in vivo* эксперименте. Для качественного сравнения

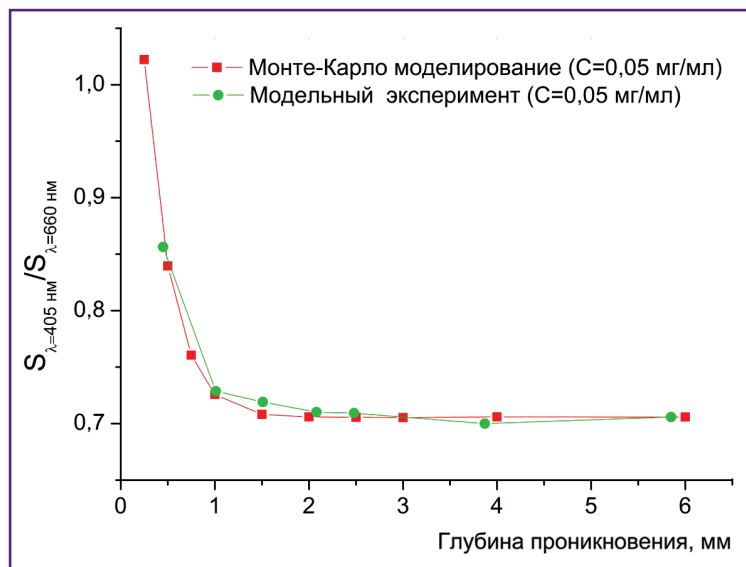


Рис. 3. Зависимости отношения флуоресцентных сигналов при возбуждении флуоресценции фотосенсибилизатора на длинах волн 405 и 660 нм от глубины проникновения фотосенсибилизатора, полученные в рамках моделирования по методу Монте-Карло и в модельном эксперименте; концентрация фотосенсибилизатора составляла 0,05 мг/мл

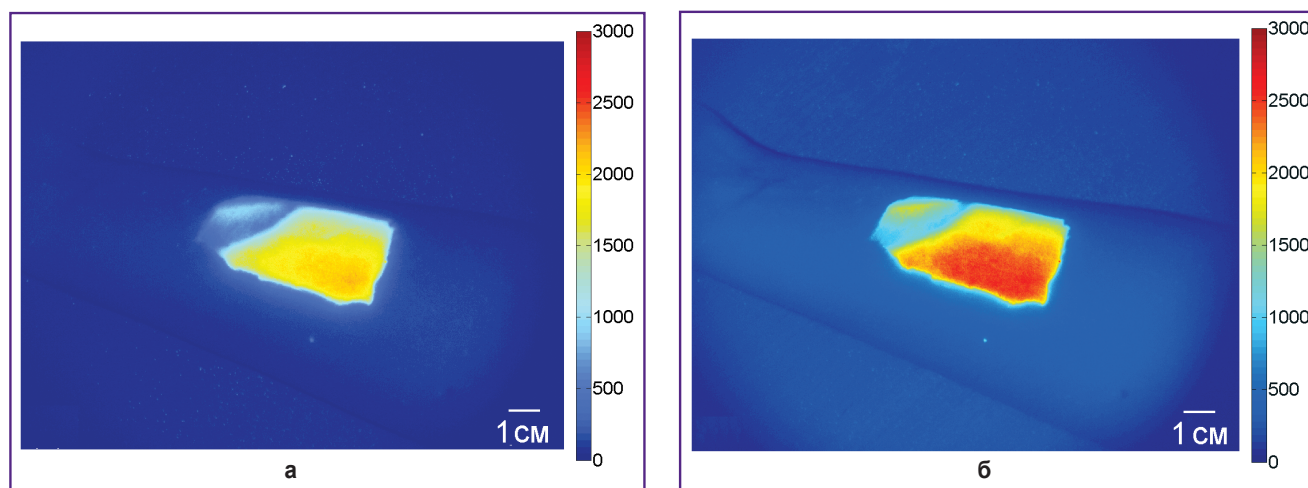
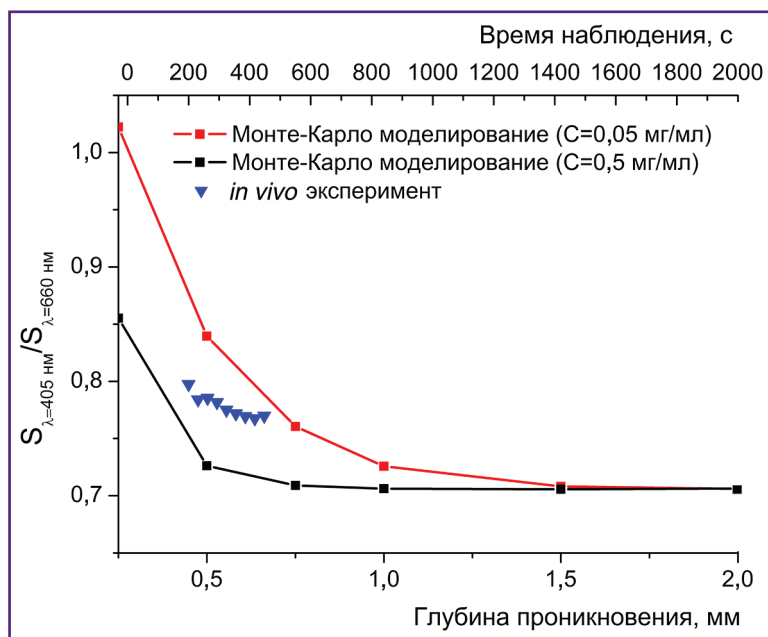


Рис. 4. Типичные флуоресцентные изображения кожи при облучении на длинах волн $\lambda_{ex}=405$ нм (а) и $\lambda_{ex}=660$ нм (б)

Рис. 5. Зависимости отношения флуоресцентных сигналов при возбуждении флуоресценции фотосенсибилизаторов на длинах волн 405 и 660 нм от глубины проникновения фотосенсибилизаторов, полученные в рамках моделирования по методу Монте-Карло (для концентраций 0,05 и 0,5 мг/мл), а также динамика отношения флуоресцентных сигналов при возбуждении флуоресценции фотосенсибилизатора «Фотодитазин» на длинах волн 405 и 660 нм в *in vivo* эксперименте



на рисунке также приведены результаты моделирования для двух концентраций ФС — 0,05 и 0,5 мг/мл. При поверхностном нанесении ФС на биоткань объемное распределение ФС в ткани отличается от равномерного распределения, рассмотренного в численном моделировании и модельном эксперименте [25]. По оценкам (соотношение объема нанесенного ФС и площади нанесения) концентрация ФС в коже волонтера составила порядка 0,1–0,2 мг/мл. Кроме того, необходимо учесть, что оптические свойства кожи волонтера могут отличаться от оптических свойств фантома. Учитывая все вышесказанное, можно считать, что результаты *in vivo* эксперимента согласуются с результатами модельного эксперимента и численного моделирования, а модельные кривые можно использовать для оценки глубины проникновения ФС в кожу человека. Накопление ФС в коже человека подтверждалось результатами флуоресцентного имиджинга через 24 и 48 ч после эксперимента.

Таким образом, отношение флуоресцентных сигналов, соответствующих различным длинам волн возбуждения ФС, может служить инструментом для дифференциации глубин проникновения ФС на 1,5–2,0 мм (предел зависит от оптических свойств ткани и концентрации накопленного ФС). Последнее ограничение связано с лимитированным проникновением света в биоткани.

Планирование фотодинамической терапии с помощью моделирования по методу Монте-Карло

Вычисление распределения освещенности и поглощенной световой дозы. Одним из факторов, определяющих эффективность процедуры ФДТ, является распределение поглощенного воздействующего излучения в биологических тканях так называемой световой дозы. Таким образом,

важным этапом в планировании ФДТ является изучение распространения излучения в неоднородных средах и проведение оценок распределения поглощенной доли излучения. Наиболее перспективным подходом для решения данных задач является численное моделирование методом Монте-Карло.

В рамках настоящего исследования методом Монте-Карло были рассчитаны карты распределения освещенности и поглощенной световой дозы в модельном образце, имитирующем многослойную структуру кожи человека, в случае, когда образец освещается излучением на длинах волн 405 и 660 нм (рис. 6, 7 соответственно), причем световая доза на поверхности ткани составляет 50 Дж/см² (0,5 Дж/мм²). Представленные карты позволяют наглядно оценить распределение освещенности и поглощенной дозы по глубине.

При планировании ФДТ значение имеет именно поглощенная доза, поскольку она характеризует интенсивность фотодинамической реакции. Из представленных зависимостей можно видеть, что при облучении на длине волны 405 нм основной фотодинамический эффект будет наблюдаться в ткани на глубинах до 0,5 мм, в то время как при длине волны 660 нм эта величина составит порядка 2 мм.

Влияние вариации оптических свойств на распределение поглощенной световой дозы. Отдельно было исследовано влияние вариации оптических свойств на распределение поглощенной световой дозы. С этой целью моделирование распределения поглощенной световой дозы по методу Монте-Карло проводили для трехслойной среды с оптическими параметрами, соответствующими оптическим свойствам биоткани кожи на длинах волн 405 и 660 нм (см. табл. 1), однако коэффициенты поглощения и рассеяния отдельно варьировались в пределах ±60% относительно базовых значений.

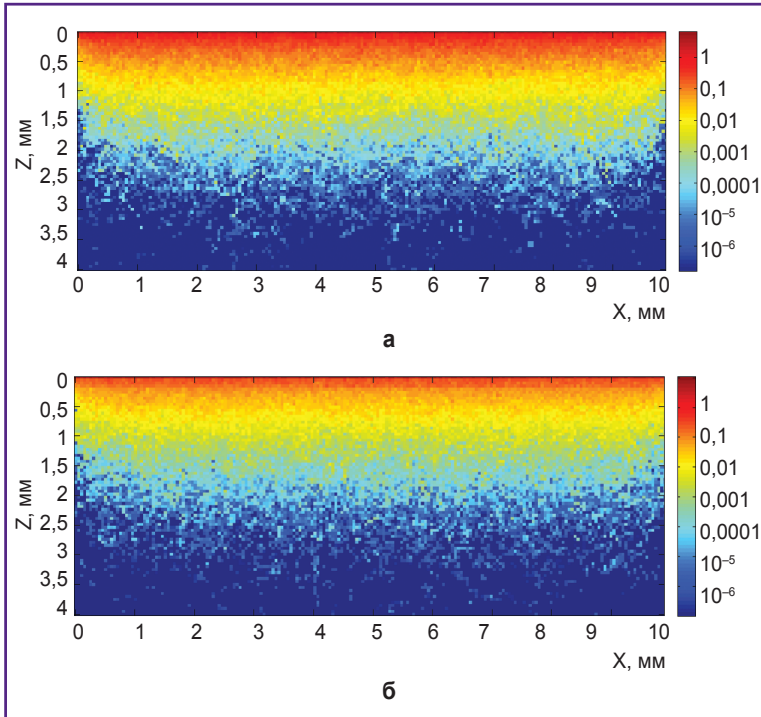


Рис. 6. Карты распределения освещенности (цветовой шкалой отображена величина в Дж/мм²) — а и поглощенной световой дозы (цветовой шкалой отображена величина в Дж/мм³) — б, соответствующие длине волны излучения 405 нм

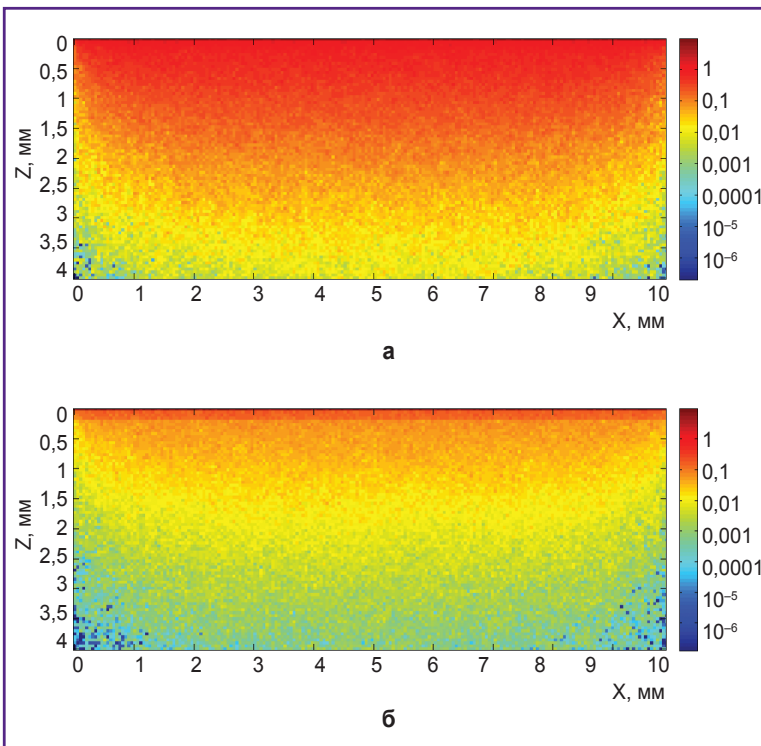


Рис. 7. Карты распределения освещенности (цветовой шкалой отображена величина в Дж/мм²) — а и поглощенной световой дозы (цветовой шкалой отображена величина в Дж/мм³) — б, соответствующие длине волны 660 нм

На рис. 8, а и рис. 9, а представлено сравнение поглощенной световой дозы на трех разных глубинах (0,1; 0,5 и 1 мм) при вариации коэффициента поглощения модельной среды и фиксированном коэффициенте рассеяния в случае зондирования образца излучением на длинах волн 405 и 660 нм соответственно. На длине волны 405 нм коэффициент поглощения рогового слоя, толщина которого в модели составляет 0,05 мм, значительно превышает коэффициенты поглощения последующих слоев. Таким образом, значительную потерю веса фотон претерпевает, проходя роговой слой (см. рис. 8, а). Данная тенденция сохраняется и при одновременной вариации величины коэффициента поглощения в слоях модельной биоткани. Однако уменьшение коэффициента поглощения влечет уменьшение доли потерянного фотона на малых глубинах и рост поглощенной световой дозы на больших глубинах.

При вариации коэффициентов поглощения слоев при длине волны 660 нм (см. рис. 9, а) на глубинах 0,1 и 0,5 мм наибольшая поглощенная световая доза соответствует базовым значениям, затем ее величина убывает как при увеличении коэффициента поглощения, так и при его уменьшении. Здесь конкурируют два эффекта: описанный выше эффект, когда при увеличении поглощения в верхних слоях меньшая доза доходит и, следовательно, поглощается в более глубоких слоях, и эффект уменьшения поглощения при уменьшении непосредственно величины коэффициента поглощения.

На рис. 8, б и рис. 9, б представлено аналогичное сравнение поглощенной световой дозы на трех разных глубинах, но при вариации коэффициента рассеяния модельной среды и фиксированном коэффициенте поглощения. В этом случае величина световой дозы на всех трех глубинах растет с уменьшением коэффициента рассеяния в среде. Действительно, в средах с большим коэффициентом рассеяния фотонам, чтобы достичь определенной глубины, требуется преодолеть большой путь ввиду существенного многократного рассеяния, что влечет за собой значительное уменьшение их веса за счет поглощения еще на меньших глубинах.

Таким образом, установлено, что при планировании ФДТ необходимо учитывать распределение как освещенности, так и поглощенной дозы, причем при оди-

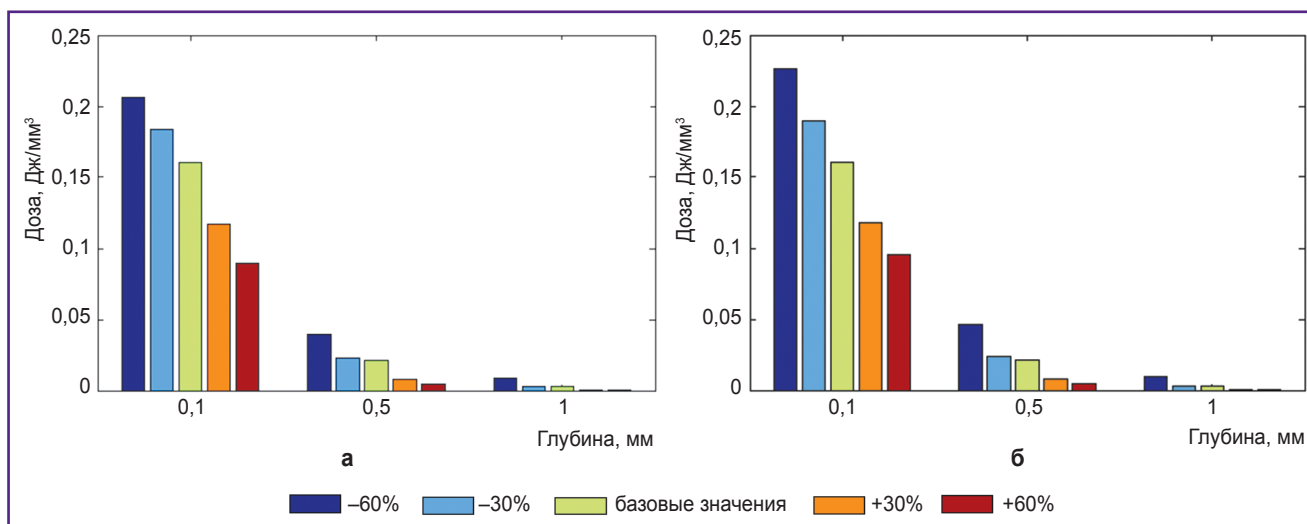


Рис. 8. Сравнение поглощенной дозы в трехслойной модели кожи на трех глубинах при вариации коэффициента поглощения (а) и коэффициента рассеяния (б) на ± 30 и $\pm 60\%$ при облучении образца на длине волны 405 нм

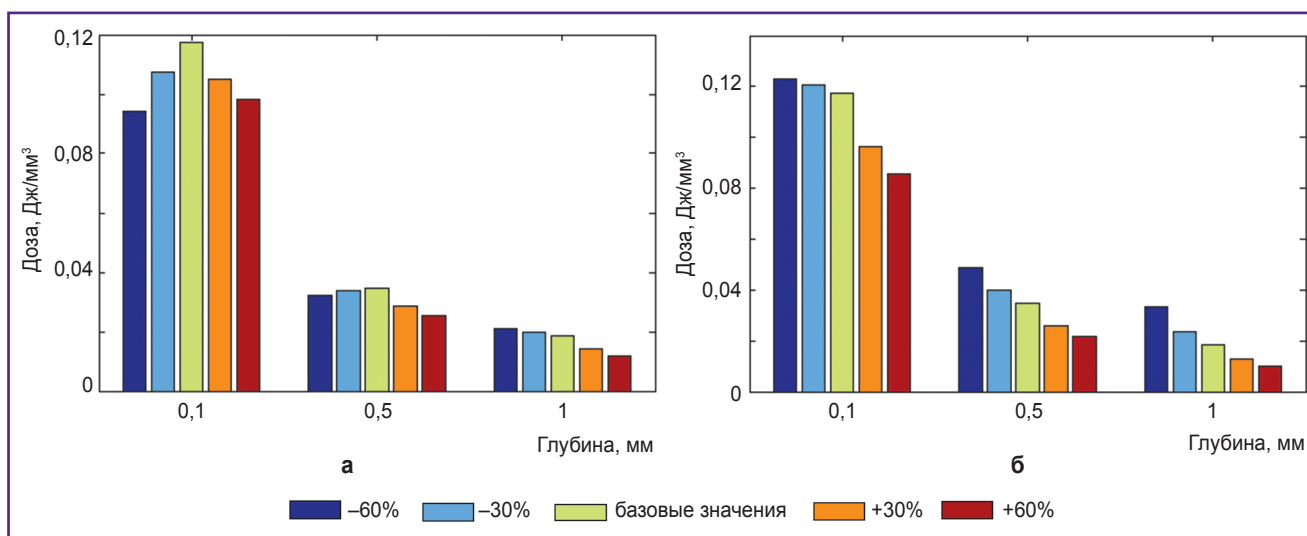


Рис. 9. Сравнение поглощенной дозы на трех глубинах при вариации коэффициента поглощения (а) и коэффициента рассеяния (б) на ± 30 и $\pm 60\%$ при облучении образца на длине волны 660 нм

наковой падающей дозе распределения существенно зависят от длины волны и от локальных оптических характеристик ткани. Численное моделирование методом Монте-Карло позволяет более точно оценить распределение падающей световой энергии в биоткани, причем в ряде случаев зависимость от оптических характеристик носит нелинейный характер.

Обсуждение. Для повышения эффективности процедуры ФДТ необходим контроль распределения и выгорания ФС в ткани, а также информация о распределении воздействующего излучения оптического диапазона. Поскольку ФС обладают флуоресценцией, контроль распределения и выгорания можно осуществлять методами оптического имиджинга, а для

оценки распределения световой дозы внутри биоткани можно применять методы численного моделирования распространения излучения в неоднородных средах.

В настоящей работе обсуждаются подходы к мониторингу проникновения ФС хлоринового ряда в биоткань при местной поверхностной аппликации методами флуоресцентного имиджинга и оценки распределения световой дозы в биоткани с помощью численного моделирования методом Монте-Карло.

Показано, что при применении флуоресцентного имиджинга для оценки динамики проникновения ФС хлоринового ряда эффективно использовать отношения сигналов флуоресценции при возбуждении ФС на длинах волн 405 и 660 нм. Отмечено монотонное

спадание этого отношения с увеличением глубины проникновения как в численном, так и в модельном эксперименте. Результаты хорошо согласуются с результатами пилотного *in vivo* эксперимента, в котором отношение сигналов монотонно спадает с течением времени.

Посредством численного моделирования методом Монте-Карло распределения поглощенной световой дозы в модельном образце, представляющем собой упрощенную трехслойную модель кожи человека, была обнаружена существенная зависимость поглощенной дозы от локальных оптических свойств биоткани на характерных глубинах 0,1; 0,5 и 1,0 мм. Стоит заметить, что данная зависимость имеет разный характер на рассматриваемых длинах волн — 405 и 660 нм. В частности, для длины волны 405 нм при увеличении коэффициентов поглощения и рассеяния слоев модельной биоткани наблюдается монотонное уменьшение доли поглощенного излучения на всех трех рассматриваемых глубинах при одинаковой падающей световой дозе. Однако при вариации оптических свойств, соответствующих длине волны 660 нм, на малых глубинах наибольшая поглощенная световая доза соответствует базовым значениям, затем ее значение убывает как при увеличении коэффициента поглощения, так и при его уменьшении. Вариация оптических характеристик в реальных биотканях может достигать 30%, поэтому учет индивидуальных особенностей и оценка распределения поглощенной световой дозы в численных экспериментах методом Монте-Карло с последующей корректировкой порядка проведения ФДТ могут существенно повысить эффективность процедуры.

Заключение. Метод двухволнового флюоресцентного имиджинга позволяет неинвазивно оценить глубину проникновения фотосенсибилизатора хлоринового ряда в биоткань при поверхностном нанесении, а численное моделирование методом Монте-Карло — более корректно выбрать дозу светового воздействия при фотодинамической терапии в зависимости от оптических характеристик биоткани и длины волны излучения воздействия.

Благодарности. Авторы благодарны Н.М. Шаховой, В.И. Плеханову и С.В. Гамаюнову за полезные обсуждения.

Финансирование исследования. Работа поддержана Российским научным фондом, проект №17-15-01264.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература/References

- Allison R.R., Moghissi K. Photodynamic therapy (PDT): PDT mechanisms. *Clin Endosc* 2013; 46(1): 24–29, <https://doi.org/10.5946/ce.2013.46.1.24>.
- Акопов А.Л., Казаков Н.В., Русанов А.А., Карлсон А. Механизмы фотодинамического воздействия при лечении онкологических больных. *Biomedical Photonics* 2015; 4(2): 9–16. Akopov A.L., Kazakov N.V., Rusanov A.A., Karlson A. The mechanisms of photodynamic action for treating of cancer patients. *Biomedical Photonics* 2015; 4(2): 9–16.
- Allison R.R., Moghissi K. Oncologic photodynamic therapy: clinical strategies that modulate mechanisms of action. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2013; 10(4): 331–341, <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2013.03.011>.
- Филоненко Е.В., Серова Л.Г. Фотодинамическая терапия в клинической практике. *Biomedical Photonics* 2016; 5(2): 26–37. Filonenko E.V., Serova L.G. Photodynamic therapy in clinical practice. *Biomedical Photonics* 2016; 5(2): 26–37.
- Juarranz A., Jaén P., Sanz-Rodríguez F., Cuevas J., González S. Photodynamic therapy of cancer. Basic principles and applications. *Clin Transl Oncol* 2008; 10(3): 148–154, <https://doi.org/10.1007/s12094-008-0172-2>.
- Kharkwal G.B., Sharma S.K., Huang Y.Y., Dai T., Hamblin M.R. Photodynamic therapy for infections: clinical applications. *Lasers Surg Med* 2011; 43(7): 755–767, <https://doi.org/10.1002/lsm.21080>.
- Biel M.A. Photodynamic therapy of head and neck cancers. *Methods Mol Biol* 2010; 635: 281–293, https://doi.org/10.1007/978-1-60761-697-9_18.
- Plaetzer K., Krammer B., Berlanda J., Berr F., Kiesslich T. Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects. *Lasers Med Sci* 2009; 24(2): 259–268, <https://doi.org/10.1007/s10103-008-0539-1>.
- Allison R.R. Future PDT. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2009; 6(3–4): 231–234, <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2009.10.003>.
- Celli J.P., Spring B.Q., Rizvi I., Evans C.L., Samkoe K.S., Verma S., Pogue B.W., Hasan T. Imaging and photodynamic therapy: mechanisms, monitoring, and optimization. *Chem Rev* 2010; 110(5): 2795–2838, <https://doi.org/10.1021/cr900300p>.
- Fei B., Wang H., Wu C., Chiu S.M. Choline PET for monitoring early tumor response to photodynamic therapy. *J Nucl Med* 2010; 51(1): 130–138, <https://doi.org/10.2967/jnumed.109.067579>.
- Wang H., Fei B. Diffusion-weighted MRI for monitoring tumor response to photodynamic therapy. *J Magn Reson Imaging* 2010; 32(2): 409–417, <https://doi.org/10.1002/jmri.22247>.
- Jo J., Lee C.H., Kopelman R., Wang X. Lifetime-resolved photoacoustic (LPA) spectroscopy for monitoring oxygen change and photodynamic therapy (PDT). *Proc SPIE Int Soc Opt Eng* 2016; 9708: 97081L, <https://doi.org/10.1117/12.2213083>.
- Gamayunov S., Turchin I., Fiks I., Korchagina K., Kleshnin M., Shakhova N. Fluorescence imaging for photodynamic therapy of non-melanoma skin malignancies — a retrospective clinical study. *Photonics & Lasers in Medicine* 2016; 5(2), <https://doi.org/10.1515/plm-2015-0042>.
- Salomatina E., Jiang B., Novak J., Yaroslavsky A.N. Optical properties of normal and cancerous human skin in the visible and near-infrared spectral range. *J Biomed Opt* 2006; 11(6): 064026, <https://doi.org/10.1117/1.2398928>.
- Тучин В.В. Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях. М: ФИЗМАТЛИТ; 2010. Tuchin V.V. *Lazery i volokonnaya optika v biomeditsinskikh issledovaniyakh* [Lasers and fiber optics in biomedical research]. Moscow: FIZMALIT; 2010.
- Swartling J., Bengtsson D., Terike K., Svensson J., Andersson-Engels S. Estimation of depth of fluorescing

lesions in tissue from changes in fluorescence spectra. *Optical Tomography and Spectroscopy of Tissue VI* 2005; 5693: 225–231, <https://doi.org/10.1117/12.590145>.

18. Swartling J., Svensson J., Bengtsson D., Terike K., Andersson-Engels S. Fluorescence spectra provide information on the depth of fluorescent lesions in tissue. *Appl Opt* 2005; 44(10): 1934–1941, <https://doi.org/10.1364/ao.44.001934>.

19. Логинова Д.А., Сергеева Е.А., Крайнов А.Д., Агрба П.Д., Кириллин М.Ю. Жидкие оптические фантомы, моделирующие спектральные характеристики биотканей лабораторной мыши. *Квантовая электроника* 2016; 46(6): 528–533. Loginova D.A., Sergeeva E.A., Krainov A.D., Agrba P.D., Kirillin M.Yu. Liquid optical phantoms mimicking spectral characteristics of laboratory mouse biotissues. *Quantum Electronics* 2016; 46(6): 528–533, <https://doi.org/10.1070/qel16133>.

20. Kleshnin M.S., Fiks I.I., Plekhanov V.I., Gamayunov S.V., Turchin I.V. Compact and fully automated system for monitoring photodynamic therapy, based on two LEDs and a single CCD. *Laser Phys Lett* 2015; 12(11): 115602, <https://doi.org/10.1088/1612-2011/12/11/115602>.

21. Kirillin M., Perekatova V., Turchin I., Subochev P. Fluence compensation in raster-scan optoacoustic angiography. *Photoacoustics* 2017; 8: 59–67, <https://doi.org/10.1016/j.pacs.2017.09.004>.

22. Loginova D.A., Sergeeva E.A., Fiks I.I., Kirillin M.Yu. Probing depth in diffuse optical spectroscopy and structured illumination imaging: a Monte Carlo study. *Journal of Biomedical Photonics & Engineering* 2017; 3(1): 010303, <https://doi.org/10.18287/jbpe17.03.010303>.

23. Kirillin M.Yu., Farhat G., Sergeeva E.A., Kolios M.C., Vitkin A. Speckle statistics in OCT images: Monte Carlo simulations and experimental studies. *Opt Lett* 2014; 39(12): 3472–3475, <https://doi.org/10.1364/ol.39.003472>.

24. Patwardhan S.V., Dhawan A.P., Relue P.A. Monte Carlo simulation of light-tissue interaction: three-dimensional simulation for trans-illumination-based imaging of skin lesions. *IEEE Trans Biomed Eng* 2005; 52(7): 1227–1236, <https://doi.org/10.1109/tbme.2005.847546>.

25. Lopez N., Mulet R., Rodríguez R. Tumor reactive ringlet oxygen approach for Monte Carlo modeling of photodynamic therapy dosimetry. *J Photochem Photobiol B* 2016; 160: 383–391, <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.04.014>.