



*На правах рукописи*

ХИЛОВ Александр Владимирович

**ДВУХВОЛНОВАЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ  
ВИЗУАЛИЗАЦИЯ  
ДЛЯ ЗАДАЧ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ**

1.3.4 – радиофизика

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Нижний Новгород – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики Российской академии наук» (ИПФ РАН, г. Нижний Новгород).

Научный руководитель:

Михаил Юрьевич Кириллин, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН» (г. Нижний Новгород).

Официальные оппоненты:

Дмитрий Александрович Зимняков, доктор физико-математических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.»

Валерий Павлович Захаров, доктор физико-математических наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Защита состоится «27» февраля 2023 г. в 15.00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.238.01 при ИПФ РАН по адресу: 603950, г. Нижний Новгород, БОКС-120, ул. Ульянова, 46.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на сайте ИПФ РАН [ipfran.ru](http://ipfran.ru).

Автореферат разослан «23» января 2023 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор физико-математических наук



Э.Б. Абубакиров

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

### Актуальность темы диссертации

Традиционно применяемые для биомедицинской диагностики методы, такие как ультразвуковое исследование, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, позитронно-эмиссионная томография, характеризуются, как правило, относительно высокой стоимостью оборудования и небезопасностью, связанной с использованием ионизирующего излучения, что существенно ограничивает возможности их использования для мониторинга.

В связи с этим актуальной радиофизической задачей является разработка новых методов и устройств для неинвазивной визуализации биотканей, основанных на альтернативных параметрах зондирующего излучения. Такими методами стали оптические методы визуализации, использующие неионизирующее излучение видимого и ближнего инфракрасного диапазонов, которые, несмотря на ограниченную глубину проникновения в биоткани световых волн данных диапазонов, хорошо зарекомендовали себя как в исследованиях на клеточном и тканевом уровне, так и при *in vivo* визуализации биотканей мелких животных, а также в клинических условиях, поскольку обладают высокой чувствительностью к молекулярному составу и морфологическим особенностям биотканей. Совершенствование методов моделирования распространения зондирующего излучения в биотканях и формирования сигналов в системах неинвазивной диагностики является важным аспектом развития высокотехнологичных диагностических средств.

В настоящее время одним из наиболее активно развивающихся и широко применяющихся в биомедицинских приложениях оптических методов неинвазивной диагностики биологических тканей является флуоресцентная визуализация (ФВ), основанная на процессах взаимодействия излучения с веществом, заключающихся в способности ряда молекул (флуорофоров) переизлучать фотоны с длиной волны, превышающей длину волны поглощённого фотона (т.н. стоксов сдвиг). Возможность осуществления регистрации в диапазоне длин волн, отличном от длины волны возбуждения, обуславливает основное преимущество флуоресцентного метода диагностики, состоящее в возможности получения высококонтрастных изображений структуры биологических тканей путем использования как эндогенных, так и экзогенных флуоресцентных маркеров. Одним из наиболее востребованных и перспективных направлений применения флуоресцентной визуализации в биомедицине является мониторинг процедуры фотодинамической терапии (ФДТ). ФДТ является современным терапевтическим методом лечения широкого спектра опухолевых и неопухолевых патологий, суть которого заключается во введении фотосенсибилизатора (ФС), с высокой селективностью накапливающегося в патологических тканях, характеризующихся повышенной мик-

роциркуляторной активностью, и в последующем облучении целевых тканей излучением видимого диапазона в спектре поглощения ФС, что приводит к его активации и запуску фотохимических реакций с образованием высокоактивного синглетного кислорода, приводящего к гибели опухолевых клеток. Большинство ФС обладают флуоресцентными свойствами, что и делает целесообразным применение флуоресцентных методов визуализации при планировании и проведении ФДТ. Таким образом, ФДТ воплощает в себе принципы так называемой тераностики, т.е. проведения терапии с одновременным диагностическим контролем.

При использовании ФС с широкими спектрами поглощения и/или эмиссии целесообразным является использование различных длин волн возбуждения и/или детектирования флуоресценции и последующего анализа различий в регистрируемых флуоресцентных сигналах. Подобные исследования зачастую носят радиометрический характер: количественным критерием служит отношение флуоресцентных сигналов, соответствующих двум длинам волн возбуждения или эмиссии флуоресценции.

Эффективность процедуры ФДТ зависит от множества факторов, в том числе от поглощенной ФС световой дозы терапевтического излучения, обусловленной распределением ФС в биоткани и характером распространения излучения оптического диапазона в биотканях различной локализации. По современным протоколам ФДТ дозы ФС и светового облучения определяются эмпирическим путем, однако возможность контроля ряда параметров потенциально позволяет повысить эффективность процедуры и индивидуализировать лечение посредством корректировки режима воздействия, дозы ФС и дозы светового облучения. В связи с этим определение локализации флуорофоров является важным этапом при оптимизации процедуры ФДТ.

Дальнейшее совершенствование современных методов ФВ и переход от качественного к количественному имиджингу требуют разработки недорогих и легко воспроизводимых стандартов для калибровки и валидации разрабатываемых методик. В связи с этим необходимым этапом является создание фантомов, которые имитируют оптические свойства биотканей до и после введения флуоресцентного маркера, а также сохраняют заданные оптические и структурные свойства на протяжении определенного времени. Традиционно фантомы биоткани изготавливаются на основе жировых эмульсий, однако такие фантомы являются жидкими, что накладывает ряд существенных ограничений на возможность создания фантомов заданной формы, а также фантомов, содержащих флуоресцентные включения.

В связи с вышеизложенным, актуальной радиофизической задачей в совершенствовании современных протоколов ФДТ является разработка технически легко реализуемых методов оценки глубины локализации ФС в биоткани. Включение применения такого метода в протоколы ФДТ позволит существенно повысить эффективность процедуры, а также оценивать глубину терапевтического воздействия при проведении ФДТ. Для решения задач, свя-

занных с разработкой и валидацией методов ФВ, существует потребность в разработке простых подходов к созданию полутвёрдых фантомов, имитирующих биоткани до и после введения в них флуоресцентного маркера.

### **Цель и задачи диссертационной работы**

Целью диссертационной работы явилась разработка и экспериментальная апробация метода оценки глубины локализации флуорофора в биоткани на основе данных двухволновой ФВ.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

1. Разработка подходов к моделированию формирования флуоресцентных откликов от распределённых в биоткани флуорофоров. Задача включает в себя разработку аналитической и численной моделей для флуоресцентного отклика приповерхностного слоя биоткани с равномерным распределением флуорофора, а также верификацию результатов аналитического исследования путем численного моделирования методом Монте-Карло.

2. Разработка метода оценки локализации флуорофора внутри биоткани по глубине при двухволновой ФВ на основе анализа отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих различным длинам волн возбуждения флуоресценции. Исследование влияния оптических свойств биоткани на возможность такой оценки. Адаптация метода на случай ФС хлоринового ряда при их поверхностном нанесении и внутривенном введении в биоткань перед проведением процедуры фотодинамической терапии.

3. Разработка подхода к изготовлению многослойных агаровых фантомов, имитирующих оптические свойства биоткани до и после введения ФС хлоринового ряда различными способами.

4. Апробация метода оценки локализации флуорофора в биоткани в модельном эксперименте на разработанных агаровых фантомах биоткани, имитирующих поверхностное нанесение и внутривенное введение ФС.

5. Апробация метода на экспериментальных данных двухволновой ФВ *in vivo* при проведении ФДТ с ФС хлоринового ряда на лабораторных животных и в клинических условиях. Исследование динамики отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих различным длинам волн возбуждения в спектре поглощения ФС хлоринового ряда, при фотодинамическом воздействии в монорежиме на терапевтических длинах волн 405 нм и 660 нм, а также в комбинированном режиме.

### **Научная новизна**

Научная новизна диссертации определяется полученными в ней оригинальными результатами:

1. В рамках полуэмпирической модели с использованием диффузионного приближения уравнения переноса излучения впервые получено аналитическое выражение для флуоресцентного отклика от равномерно распределённо-

го в приповерхностном слое биоткани флуорофора, а также для отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих различным длинам волн возбуждения флуоресценции в спектре поглощения флуорофора, равномерно распределенного в приповерхностном слое биоткани.

2. Предложен новый метод оценки глубины локализации флуорофора внутри биоткани, исключая необходимость калибровочных измерений и использующий отношение флуоресцентных сигналов для различных длин волн возбуждения флуоресценции.

3. Предложен новый подход к изготовлению многослойных флуоресцирующих агаровых фантомов, имитирующих оптические свойства кожи в диапазоне длин волн 400–1000 нм до и после поверхностного нанесения и внутривенного введения ФС хлоринового ряда, для задач планирования и мониторинга ФДТ.

4. В рамках серии *in vivo* экспериментов по мониторингу различных режимов ФДТ тканей лабораторных животных, а также актинического кератоза и базальноклеточного рака кожи человека в клинических условиях с использованием ФС хлоринового ряда впервые продемонстрированы различия в динамике отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих длинам волн возбуждения 660 нм и 405 нм при ФДТ.

5. Предложенный метод оценки локализации флуорофора на основе данных двухволновой ФВ впервые позволил получить оценки средней глубины проникновения ФС хлоринового ряда в здоровую и патологическую кожу лабораторных животных и человека.

### **Практическая значимость**

Практическая значимость диссертации состоит в следующем:

1. Предложенный метод оценки локализации флуорофора в биоткани на основе анализа отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих различным длинам волн возбуждения, позволяет оценивать глубину локализации флуоресцирующего слоя биоткани. Разработанный метод позволит оценивать распределение ФС хлоринового ряда в биоткани, корректировать режим воздействия при назначении процедуры ФДТ с использованием ФС хлоринового ряда, а также оценивать эффективность процедуры при двухволновой ФВ. Включение метода в протоколы проведения ФДТ позволит существенно повысить их эффективность и персонализировать лечение.

2. Предложенный подход к созданию многослойных агаровых фантомов биоткани позволяет имитировать биоткани с различным способом введения в них ФС хлоринового ряда. Разработанные фантомы могут быть использованы в модельных экспериментах по планированию и мониторингу ФДТ с ФС хлоринового ряда.

## Основные положения, выносимые на защиту

1. Полуэмпирическая аналитическая модель с использованием диффузионного приближения уравнения переноса излучения для формирования флуоресцентного сигнала в системах двухволновой ФВ позволяет рассчитать с погрешностью менее 10% относительно моделирования методом Монте-Карло флуоресцентный отклик от равномерно распределённого в приповерхностном слое кожи толщиной более 0,1 мм ФС хлоринового ряда при его возбуждении плоской волной на длинах волн 660 нм и 405 нм, а также отношение флуоресцентных сигналов, соответствующих этим длинам волн возбуждения.

2. Применение аналитической модели на основе диффузионного приближения при обработке данных двухволновой ФВ позволяет оценить толщину содержащего ФС хлоринового ряда приповерхностного слоя кожи в диапазоне от 0,1 до 2 мм, с точностью 0,1 мм; погрешность априорной оценки оптических свойств кожи в диапазоне 30% влечет дополнительную погрешность определения толщины слоя в пределах 30%.

3. Многослойные флуоресцирующие агаровые фантомы, изготовленные с использованием липофундина и красной туши, позволяют имитировать оптические свойства кожи *in vivo* до и после введения ФС хлоринового ряда с погрешностью коэффициента поглощения менее 5% в диапазонах 520–560 нм и 760–800 нм и с погрешностью транспортного коэффициента рассеяния менее 10% в диапазоне 450–700 нм и могут использоваться в модельных экспериментах по двухволновой ФВ за счёт существенной разницы коэффициента поглощения в синем и красном диапазонах длин волн.

4. Изменение отношения флуоресцентных сигналов, регистрируемых с помощью двухволновой ФВ при проведении ФДТ здоровой кожи и новообразований человека и лабораторных животных с терапевтической длиной волны 660 нм не превосходит 10%, а при использовании терапевтической длины волны 405 нм отношение возрастает на величину до 40% при поверхностном нанесении ФС и до 300% при внутривенном введении ФС, что обусловлено различиями в глубине проникновения терапевтического излучения в биоткань и в характере фотовыгорания ФС.

## Достоверность научных результатов

Достоверность полученных результатов обеспечивается физически обоснованной постановкой задач ФВ, использованием общепринятых моделей при разработке алгоритмов и подтверждается численными, модельными и *in vivo* экспериментами.

## **Публикации и апробация результатов работы**

Результаты диссертации изложены в 26 работах автора, из которых 10 статей [1–10] в рецензируемых российских и зарубежных журналах (из них 10 – в журналах, рекомендованных ВАК для публикации основных материалов), 7 работ [11–17] в сборниках трудов конференций, 9 работ [18–26] в сборниках тезисов конференций.

Изложенные в диссертации результаты обсуждались на семинарах в Институте прикладной физики РАН, докладывались на конкурсах молодых ученых ИПФ РАН (2019 г., 2022 г.) и на Всероссийских и Международных конференциях: International Graduate summer school Biophotonics (Island of Ven, Sweden, 2017); European Conferences on Biomedical Optics (ECBO) (Munich, Germany, 2017, 2019, 2021); International Symposium TOPICAL PROBLEMS OF BIOPHOTONICS (St.-Petersburg – Nizhny Novgorod, Russia, 2017); «Saratov Fall Meeting» (Saratov, Russia, 2017, 2018, 2020, 2021); Clinical and Translational Biophotonics (Florida, United States, 2018); International Conference on Laser Optics (ICLO) (2018, St.-Petersburg, Russia, 2018, 2020, 2022); 4th International Conference CTCT–2018 - Current Trends in Cancer Theranostics and 3rd General Meeting of COST Action CM1403 (Trakai, Lithuania, 2018); International Conference on Advanced Laser Technologies (ALT) (2018, 2019, 2021); 4th Sechenov International Biomedical Summit (Moscow, Russia, 2020).

## **Личный вклад автора**

Все приведенные в диссертации результаты получены лично автором, либо при его непосредственном участии. Автор участвовал в разработке аналитических и численных моделей формирования сигналов в системах двухволновой ФВ, разработке подхода к созданию агаровых фантомов биоткани с флуоресцентными включениями, имитирующих биоткани при различном способе введения ФС, проведении экспериментов по двухволновой ФВ процедур ФДТ биотканей различных локализаций, численной и экспериментальной апробации разработанного метода оценки локализации флуорофора в биоткани.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа состоит из введения, четырёх глав, заключения и списка цитируемой литературы. Общий объем работы — 133 страницы, включая 42 рисунка, 2 таблицы и список цитируемой литературы из 181 наименования.



## КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введении** обоснована актуальность работы, сформулированы цели и задачи диссертации, указаны научная новизна и практическая значимость диссертации, приведены основные положения, выносимые на защиту, а также краткое содержание работы.

В **Главе 1** диссертации представлен аналитический обзор современного состояния в области флуоресцентных методов визуализации. Описано место ФВ среди методов неинвазивной диагностики биотканей. Обсуждаются оптические методы контроля и оценки эффективности ФДТ, а также подробно описана многоволновая ФВ и её потенциал применительно к задачам оценки локализации флуорофора в биоткани и мониторинга процедуры ФДТ. Также обсуждаются подходы к созданию фантомов биоткани для проведения модельных экспериментов по ФВ.

В **Главе 2** диссертации описан предложенный метод оценки глубины локализации флуорофора в биоткани на основе двухволновой ФВ [3, 8, 9]. В основе метода лежит использование существенной дисперсии оптических свойств биотканей в видимом диапазоне при выборе длины волны зондирования в ФВ. Предложена аналитическая модель с использованием диффузионного приближения уравнения переноса излучения формирования флуоресцентного сигнала в системах ФВ и получено аналитическое выражение для флуоресцентного отклика от равномерно распределённого в приповерхностном слое биоткани флуорофора. Расчёт флуоресцентного сигнала представляет суперпозицию двух задач, а именно вычисления распределения поглощённой флуорофором световой дозы зондирующего излучения интенсивности  $I_0$  на длине волны возбуждения  $\lambda_{ex}$ , и последующего расчёта флуоресцентного отклика распределённого источника на длине волны эмиссии  $\lambda_{em}$ . Показано, что в случае однородного распределения флуорофора в приповерхностном слое толщины  $d$  регистрируемый на поверхности биоткани флуоресцентный сигнал  $I_{em}(\lambda_{ex}, \lambda_{em}, d)$  выражается формулой

$$I_{em}(\lambda_{ex}, \lambda_{em}, d) = I_0 \eta \mu_{a,f}(\lambda_{ex}) K(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) (1 - e^{-(\mu_{ex} + \tilde{\mu}_{em})d}), \quad (1)$$

где  $K(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) = \gamma \frac{k(\lambda_{ex}) \sinh(\tilde{\mu}_{em} z_{em}^*) e^{-\tilde{\mu}_{em} z_{em}^*}}{\tilde{\mu}_{em} D_{em} (\mu_{ex} + \tilde{\mu}_{em})}$ ,  $\eta$  и  $\mu_{a,f}(\lambda_{ex})$  – квантовый выход флуоресценции и коэффициент поглощения ФС соответственно,  $\gamma$  – фактор, связанный со скачком показателя преломления на границе биоткани,  $k(\lambda_{ex}) = 3 + 5,4R_d - 2e^{-17R_d}$  – фактор обратного рассеяния,  $\mu(\lambda_{ex}) = \tilde{\mu} \left(1 - \frac{e^{-20R_d}}{\sqrt{3}}\right)$  – коэффициент диффузного ослабления излучения в среде на длине волны возбуждения  $\lambda_{ex}$ , выражающиеся через характеристику полного диффузного отражения  $R_d \approx \exp\left(-8 \frac{\mu_a}{\tilde{\mu}}\right)$  и эффективный коэффициент ослабления диффузного света  $\tilde{\mu} = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}$ , где  $\mu_a$  и  $\mu'_s$  – коэффициент поглощения и транспортный коэффициент рассеяния биоткани. Область чувствительности

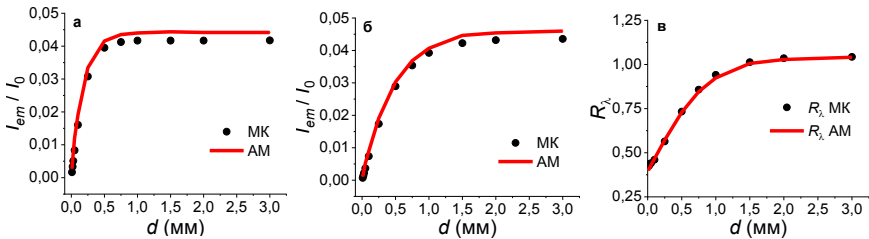
флуоресцентного сигнала к наличию флуорофора ограничена диапазоном глубин  $z \lesssim 3/(\mu_{ex} + \tilde{\mu}_{em})$ , и наличие флуорофора за её пределами практически не приводит к изменению сигнала флуоресценции, что связано с ограниченной глубиной проникновения света в биоткань.

Показано, что для флуорофоров с широким спектром поглощения или с несколькими пиками в спектре поглощения, в частности, для ФС хлоринового ряда, можно ввести отношение сигналов эмиссии для двух длин волн возбуждения флуоресценции, нормированных на интенсивность падающего излучения:

$$R_\lambda = \frac{\eta_2 \mu_{a,f}(\lambda_{ex2}) k(\lambda_{ex2}) (\mu_{ex1} + \tilde{\mu}_{em}) (1 - e^{-(\mu_{ex2} + \tilde{\mu}_{em})d})}{\eta_1 \mu_{a,f}(\lambda_{ex1}) k(\lambda_{ex1}) (\mu_{ex2} + \tilde{\mu}_{em}) (1 - e^{-(\mu_{ex1} + \tilde{\mu}_{em})d})}, \quad (2)$$

где  $\lambda_{ex2}$  соответствует области пика поглощения ФС в красном диапазоне длин волн, а  $\lambda_{ex1}$  – области пика поглощения ФС в синем диапазоне длин волн. Соотношение (2) построено таким образом, чтобы увеличение толщины слоя  $d$  соответствовало росту величины  $R_\lambda$ , для чего в знаменателе должен находиться сигнал, соответствующий бóльшим значениям коэффициента ослабления на длине волны зондирования и поэтому достигающий насыщения при меньших  $d$ .

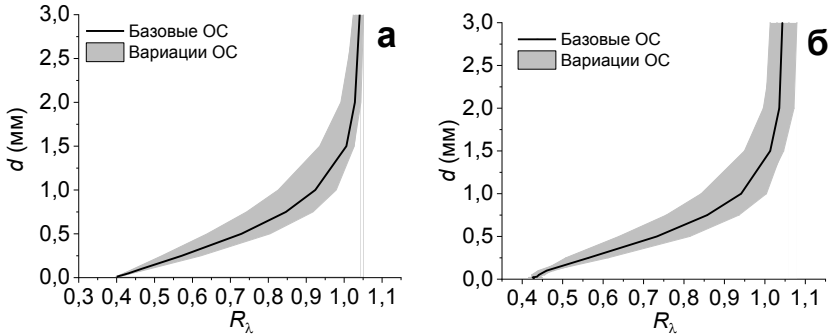
Проведено сравнение результатов применения аналитической модели и Монте-Карло моделирования для дермы, в верхнем слое которой содержится равномерно распределённый ФС хлоринового ряда (рис. 1).



**Рис. 1.** Нормированные интенсивности флуоресценции  $I_{em}/I_0$  в зависимости от толщины приповерхностного флуоресцентного слоя  $d$  при возбуждении флуоресценции на длине волны 405 нм (а) и 660 нм (б), а также их отношение  $R_\lambda$  и его асимптоты (в), вычисленные в рамках моделирования методом Монте-Карло (МК) и аналитической модели (АМ)

Зависимость отношения  $R_\lambda$  от толщины флуоресцентного слоя является монотонной, что позволяет использовать зависимость  $R_\lambda(d)$  для оценки толщины приповерхностного флуоресцентного слоя. Радиометрический параметр  $R_\lambda$ , рассчитываемый с использованием аналитического соотношения (2), позволит получить адекватную оценку толщины  $d$  слоя ФС хлоринового ряда даже при описанных упрощениях модели флуоресцентного сигнала.

Также проведено численное моделирование флуоресцентных сигналов ФС хлоринового ряда при вариации оптических параметров окружающей биоткани в пределах  $\pm 30\%$ . Для исследования величины погрешности оценки толщины флуоресцирующего слоя  $d$  по обратной функции  $d(R_\lambda)$  были построены зависимости  $d(R_\lambda)$  как для базовых оптических свойств, использованных в рамках Монте-Карло моделирования, так и для случая их вариаций на величины в пределах  $\pm 30\%$ , включая одновременные (рис. 2).

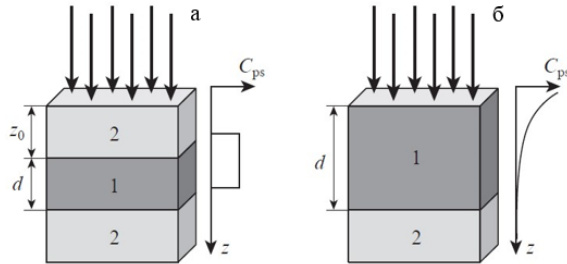


**Рис. 2.** Оценки толщины флуоресцирующего слоя  $d$  по величине отношения сигналов флуоресценции  $R_\lambda$ , полученные в рамках аналитической модели (а) и метода Монте-Карло моделирования (б), для базовых значений оптических свойств (ОС) (сплошная линия) и для их различных вариаций (включая одновременные) в пределах  $\pm 30\%$  (интервал указан серым цветом)

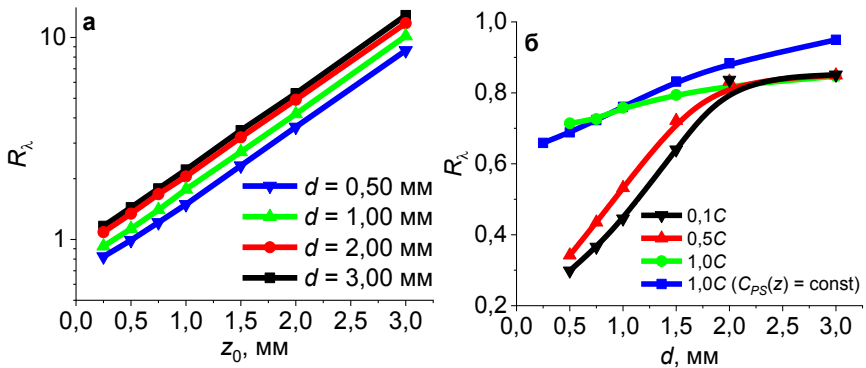
Оценка ширины области значений (выделена на рис. 2 серым цветом) для фиксированных значений  $R_\lambda$  позволяет оценить погрешность определения толщины флуоресцирующего слоя в 25–30% при погрешности определения оптических свойств биоткани в 30% в диапазоне значений  $R_\lambda \in [0,4; 1]$ , что соответствует интервалу толщин флуоресцирующего слоя  $d \in [0,1; 2]$  мм. Для малых значений  $d$  ( $d \ll l_{tr} = 3D$ ) предложенная аналитическая модель не может быть использована, поскольку в этом случае нарушаются условия применимости диффузионного приближения. При больших значениях  $d$  ( $d > 3/(\mu_{ex2} + \tilde{\mu}_{em})$ ) изменение флуоресцентных сигналов перестает быть чувствительным к наличию флуорофора, что ограничивает возможности применения предложенного метода оценки толщины флуоресцентного слоя.

Проведён численный расчёт флуоресцентных сигналов и их отношений для различных способов введения ФС хлоринового ряда в организм [4]. Соответствующие схемы распределения ФС представлены на рис. 3. Получены зависимости отношения  $R_\lambda$  от глубины залегания флуоресцентного слоя  $z_0$  и его толщины  $d$  при системном введении ФС (рис. 4, а) и зависимости отношения  $R_\lambda$  от толщины приповерхностного содержащего ФС слоя  $d$  с экспо-

ненциальным распределением концентрации ФС при поверхностном нанесении (рис. 4, б).



**Рис. 3.** Геометрия численного моделирования и профиль концентрации ФС  $C_{PS}(z)$  для случая внутривенного введения ФС (а) и поверхностного нанесения ФС (б). 1 – флуоресцентный слой, 2 – окружающая биоткань

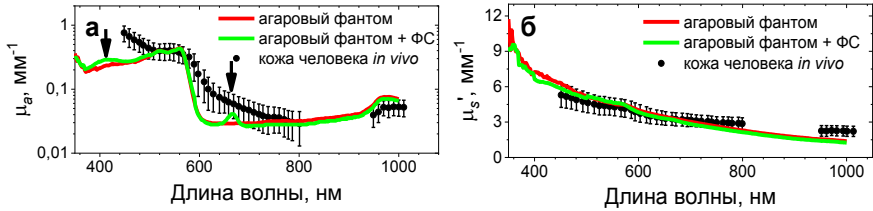


**Рис. 4.** Зависимости отношения флуоресцентных сигналов  $R_\lambda$  от глубины залегания флуоресцентного слоя  $z_0$  для случая внутривенного введения ФС (а) и толщины флуоресцентного слоя  $d$  для случая поверхностного нанесения ФС (б) при различных концентрациях ФС, а также результаты численного моделирования для случая однородного распределения ФС в приповерхностном слое биоткани ( $C_{PS}(z) = \text{const}$ )

Результаты численного моделирования демонстрируют, что отношение  $R_\lambda$  может быть использовано для оценки характерной глубины локализации флуоресцентного ряда внутри биоткани при его внутривенном введении или поверхностном нанесении.

В Главе 3 диссертации описан предложенный подход к созданию фантомов биоткани для проведения модельных экспериментов по двухволновой ФВ [10]. В рамках предложенного подхода изготовлены фантомы, характеризующиеся значениями коэффициента поглощения  $0,02\text{--}0,5\text{ мм}^{-1}$  и транспортного коэффициента рассеяния  $1\text{--}7\text{ мм}^{-1}$  в диапазоне  $400\text{--}1000\text{ нм}$  и хорошо имитирующие оптические свойства кожи человека *in vivo* в диапазоне  $500\text{--}$

800 нм, представленные в работе [Kono T., Yamada J. In vivo measurement of optical properties of human skin for 450–800 nm and 950–1600 nm wavelengths // International Journal of Thermophysics. 2019. Т. 40, № 5. С. 1–14.] (рис. 5).



**Рис. 5.** Восстановленные спектры коэффициента поглощения (а) и транспортного коэффициента рассеяния (б) агаровых фантомов базовой биоткани (агаровый фантом) и биоткани с введением ФС хлоринового ряда (агаровый фантом + ФС) в сравнении со спектрами кожи человека из работы [Kono T., Yamada J.]. Стрелками показаны пики поглощения ФС

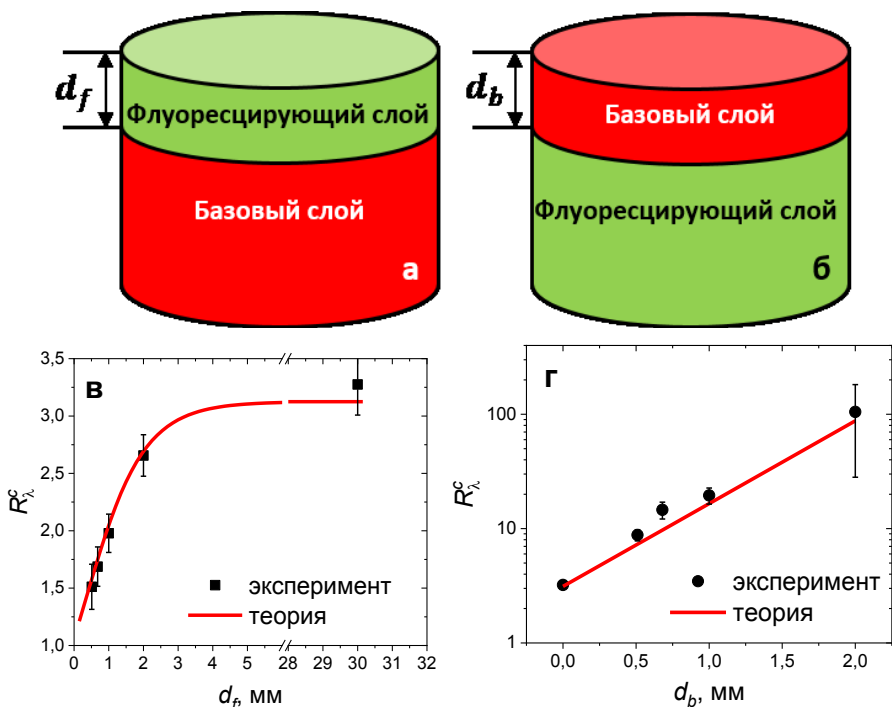
Предложенный подход к оценке локализации ФС хлоринового ряда апробирован в рамках модельного эксперимента с использованием разработанных агаровых фантомов биоткани, имитирующих поверхностное нанесение или внутривенное введение ФС. Регистрация флуоресцентных сигналов осуществлялась при помощи устройства для мониторинга накопления ФС и контроля ФДТ, оснащённого двумя светодиодными источниками с длинами волн  $405 \pm 10$  нм и  $660 \pm 10$  нм, соответствующими пикам поглощения ФС хлоринового ряда, и CCD-камерой для получения флуоресцентных изображений. Устройство подробно описано в работах [1, 3, 7, 9]. Для количественного сравнения отношения флуоресцентных сигналов  $R_\lambda$ , полученного в рамках эксперимента, с теоретическими результатами был подготовлен объект, представляющий собой поглощающую поверхность с нанесённым на неё тонким слоем ФС хлоринового ряда. Величина отношения  $R_{\lambda,ref}$  при опорном измерении содержит информацию о квантовых выходах флуоресценции  $\eta_{1,2}$ , интенсивностях возбуждающего излучения  $I_0(\lambda_{ex1,2})$  и коэффициентах поглощения ФС  $\mu_{a,f}(\lambda_{ex1,2})$  для двух длин волн возбуждения флуоресценции:

$$R_{\lambda,ref} \approx \frac{\eta_2 I_0(\lambda_{ex2}) \mu_{a,f}(\lambda_{ex2})}{\eta_1 I_0(\lambda_{ex1}) \mu_{a,f}(\lambda_{ex1})}. \quad (3)$$

Все экспериментально полученные значения  $R_\lambda$  были нормированы на коэффициент  $R_{\lambda,ref}$ , что позволило получить параметр  $R_\lambda^c$ , независящий от потенциально неизвестных параметров эксперимента:

$$R_\lambda^c = \frac{R_\lambda}{R_{\lambda,ref}}. \quad (4)$$

Получены зависимости отношения флуоресцентных сигналов от толщины приповерхностного флуоресцирующего слоя  $d_f$  при поверхностном нанесении ФС и от толщины приповерхностного базового слоя  $d_b$  (рис. 6).

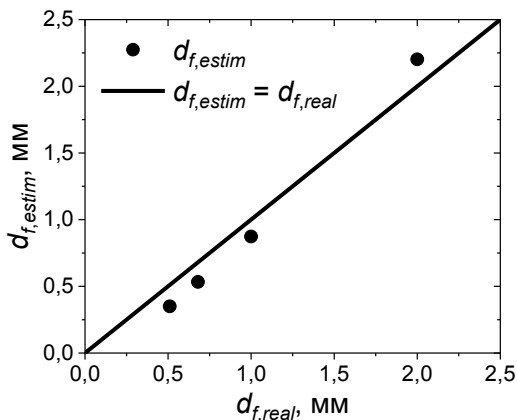


**Рис. 6.** Схема двухслойных агаровых фантомов биоткани, имитирующих поверхностное (а) и внутривенное (б) введение ФС в организм, а также соответствующие им теоретические и экспериментальные зависимости нормированного отношения флуоресцентных сигналов  $R_{\lambda}^c$  от толщины приповерхностного флуоресцирующего (е) или базового (з) слоя

Экспериментальные значения параметра  $R_{\lambda}^c$  были использованы для оценки толщины приповерхностного слоя, содержащего ФС. Трансцендентное уравнение, связывающее  $R_{\lambda}^c$  и толщину  $d$  с учётом (3) и (4)

$$R_{\lambda}^c = \frac{k(\lambda_{ex2})(\mu_{ex1} + \tilde{\mu}_{em})(1 - e^{-(\mu_{ex2} + \tilde{\mu}_{em})d})}{k(\lambda_{ex1})(\mu_{ex2} + \tilde{\mu}_{em})(1 - e^{-(\mu_{ex1} + \tilde{\mu}_{em})d})}, \quad (5)$$

решалось численно в среде Matlab для заданного набора оптических параметров биоткани и экспериментальных значений параметра  $R_{\lambda}^c$ . На рис. 7 представлены результаты оценки толщины приповерхностного флуоресцентного слоя  $d_{f,estim}$  по экспериментальным значениям  $R_{\lambda}^c$ , в сравнении с истинным значением толщины приповерхностного флуоресцентного слоя  $d_{f,real}$ .



**Рис. 7.** Результаты оценки толщины приповерхностного флуоресцентного слоя  $d_{f,estim}$  по экспериментальным значениям  $R_\lambda^c$  в зависимости от истинного значения толщины приповерхностного флуоресцентного слоя  $d_{f,real}$

Таким образом, использование предложенной аналитической модели позволило получить адекватную оценку толщины приповерхностного флуоресцентного слоя в рамках двухволновой ФВ. Погрешность определения толщины приповерхностного слоя толщиной 0,5–2 мм находится в пределах 10–30%, что согласуется с теоретическими и численными результатами, представленными в главе 2 диссертации.

В **Главе 4** диссертации впервые продемонстрированы различия в динамике отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих длинам волн возбуждения 660 нм и 405 нм при ФДТ с использованием ФС хлоринового ряда, а также проведена апробация предложенного в главе 2 диссертации метода оценки глубины локализации флуорофора. Исследования включают в себя проведение экспериментов на интактных (здоровых) тканях внутренней поверхности уха кролика [2, 5, 9] и опухолях линии СТ-26, привитых на бедра мышей линии Balb/c [7, 9], а также мониторинг ФДТ в клинических условиях при лечении актинического кератоза и базальноклеточного рака кожи человека (БКРК) [1, 6, 9]. Процедуры ФДТ проводились на терапевтических длинах волн  $\lambda_{th} = 405$  нм и  $\lambda_{th} = 660$  нм, а также в комбинированном режиме, поскольку различия в оптических свойствах биотканей и ФС в синем и красном диапазоне длин волн позволяют варьировать глубину воздействия путем выбора длины волны терапевтического воздействия при ФДТ с использованием ФС хлоринового ряда. Режимы воздействия для различных тканей и локализаций представлены в таблице 1.

Таблица 1. Режимы воздействия при ФДТ различных биотканей и локализаций и при различных способах введения ФС хлороинового ряда

Биоткань	Световая доза, Дж/см <sup>2</sup>					
	Поверхностное нанесение (пн)			Внутривенное введение (вв)		
	$\lambda_{th}=660$ нм	$\lambda_{th}=405$ нм	Комбинированное воздействие	$\lambda_{th}=660$ нм	$\lambda_{th}=405$ нм	Комбинированное воздействие
Ухо кролика	50 (r50)	50 (b50)	50 (rb50)	—	—	—
Опухоли СТ-26	250 (r250)	200 (b200)	250 (rb250)	250 (r250)	200 (b200)	250 (rb250)
Актинический кератоз	50 (r50)	50 (b50)	50 (rb50)	—	—	—
БКРК	—	—	—	150 (r150)	—	—

На рис. 8 представлены значения параметра  $R_{\lambda}^c$ , зарегистрированные до и после процедур ФДТ различных тканей и локализаций.

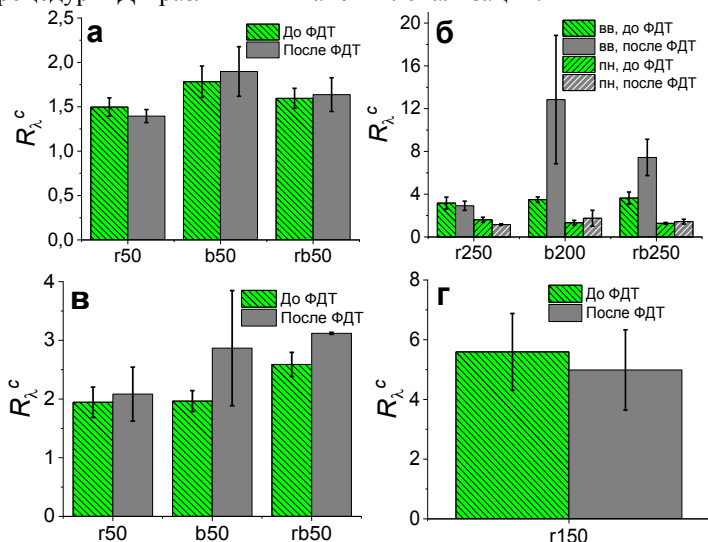


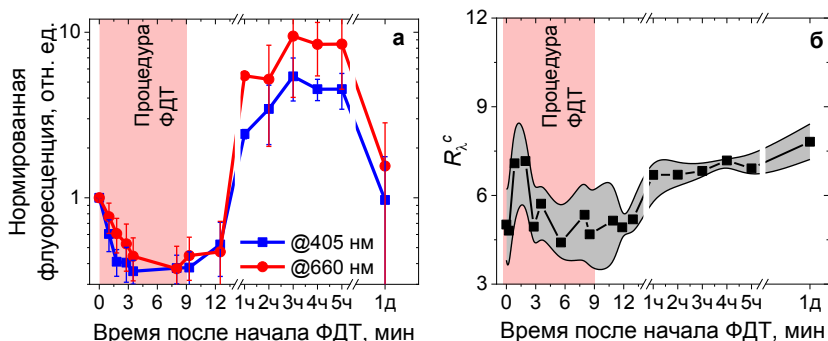
Рис. 8. Нормированное отношение флуоресцентных сигналов  $R_{\lambda}^c$  до и после процедуры ФДТ здоровых тканей уха кролика (а); опухолей линии СТ-26, привитых на бедро мыши Valb/c (б); актинического кератоза (в); БКРК (г). Режимы ФДТ представлены в таблице 1

Проведённые эксперименты показывают, что при проведении ФДТ на длинах волн  $\lambda_{th}=405$  нм и  $\lambda_{th}=660$  нм величина  $R_{\lambda}$  (или нормированное отношение флуоресцентных сигналов  $R_{\lambda}^c$ ) по-разному изменяется в ходе процедуры для различных длин волн терапевтического воздействия. Для терапевтической длины волны 660 нм изменение отношения флуоресцентных сигналов до и после процедуры не превосходит 10%, что свидетельствует о фотовыгорании ФС во всём зондируемом объеме, в то время как для тера-



пептической длины волны 405 нм отношении увеличивается на 10–40% при поверхностном нанесении ФС и на 200–300% при внутривенном введении ФС в силу его фотовыгорания преимущественно в приповерхностных слоях биоткани. При внутривенном введении ФС в организм изменения величины  $R_\lambda^c$  в результате ФДТ более существенны, нежели при поверхностном нанесении ФС, что объясняется большей чувствительностью отношения  $R_\lambda^c$  к изменению глубины локализации ФС. Данный результат согласуется с результатами численного моделирования, представленными в главе 2.

В ходе экспериментов по двухволновой ФВ процедуры ФДТ БКРК получены обобщенные динамики флуоресцентных сигналов в ходе и после процедуры ФДТ для 7 пациентов и 29 очагов БКРК (рис. 9).

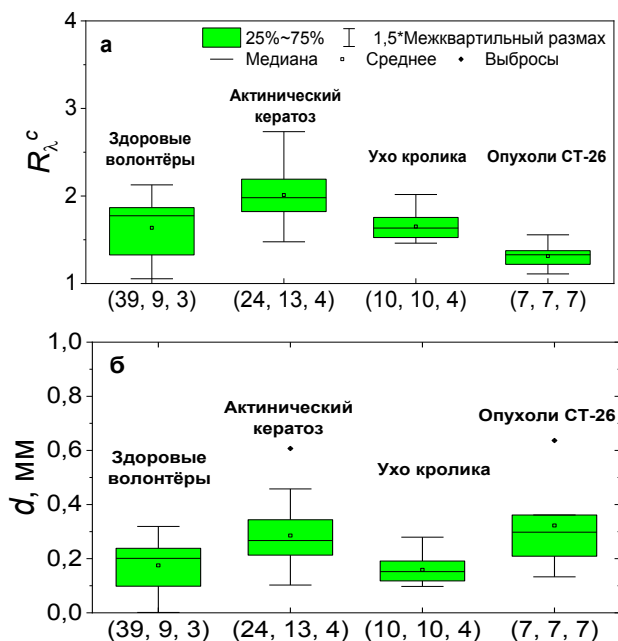


**Рис. 9.** Динамика флуоресцентных сигналов при возбуждении на длинах волн 405 нм и 660 нм, нормированных на соответствующие величины после накопления ФС (перед началом процедуры ФДТ) (а) и динамика нормированного отношения флуоресцентных сигналов  $R_\lambda^c$  (б). Результаты усреднены по всем случаям двухволнового флуоресцентного мониторинга ФДТ при лечении БКРК (7 пациентов, 29 очагов)

По медицинским показаниям мониторинг осуществлялся в ходе процедур ФДТ и в характерные реперные сроки в течение первых суток после ФДТ. Двухволновая ФВ демонстрирует фотовыгорание ФС в ходе процедуры. Величина  $R_\lambda^c$  при этом изменяется в пределах 10%, что свидетельствует о равномерном выгорании ФС. После ФДТ наблюдается постепенное восстановление уровня флуоресцентного сигнала, связанное с притоком ФС в опухолевые ткани через кровеносные сосуды, питающие опухоль. В дальнейшем происходит существенное увеличение интенсивности флуоресценции до уровня, значительно превышающего исходный (непосредственно перед процедурой ФДТ), что обусловлено повышением микроциркуляторной активности и притоком ФС в область опухоли через питающие её сосуды. Спустя примерно сутки после ФДТ уровень флуоресцентного сигнала значительно снижается, причём наблюдаемая флуоресценция периферии опухоли и окружающих здо-

ровых тканей остаётся достаточно высокой, что не позволяет говорить о полной биодеградации ФС; при этом она существенно выше, чем флуоресценция опухоли, что свидетельствует о прекращении кровоснабжения опухолевых тканей. Прекращение кровотока, питающего опухоль, в течение суток после ФДТ приводит к перераспределению ФС в более глубокие слои биоткани (вкуче с биодеградацией), что приводит к росту отношения флуоресцентных сигналов.

По обобщенным экспериментальным величинам  $R_{\lambda}^c$  после поверхностного нанесения и накопления ФС перед проведением ФДТ (рис. 10, а) для всех групп (здоровые волонтеры, внутренняя поверхность ушей кроликов, бедра мышей, очаги актинического кератоза) численно в среде Matlab решалось уравнение (5) для оценки глубины проникновения ФС в биоткань (рис. 10, б) с учётом оптических свойств биотканей из литературных данных.



**Рис. 10.** Нормированные отношения флуоресцентных сигналов  $R_{\lambda}^c$  (а) и оценки глубины проникновения ФС в биоткань (б), полученные на лабораторных животных, здоровых волонтерах и пациентах после поверхностного нанесения и накопления ФС (перед процедурой ФДТ). В скобках указано общее число измерений, очагов воздействия и независимых организмов внутри группы

Для полученных экспериментальных значений  $R_{\lambda}^c$  средняя глубина проникновения ФС при нанесении на кожу здоровых волонтеров составила 0,18 мм; на очаги актинического кератоза – 0,28 мм; на ухо кролика – 0,16 мм;

на бедро мыши с привитой опухолью клеточной линии СТ-26 – 0,32 мм. Полученные значения согласуются с результатами морфологических исследований и с литературными данными.

В заключении сформулированы основные результаты диссертации.

### Основные результаты диссертации

1. В рамках полужемпирической модели с использованием диффузионного приближения уравнения переноса излучения впервые получено аналитическое выражение для флуоресцентного отклика от равномерно распределённого в приповерхностном слое биоткани флуорофора, а также для отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих различным (405 нм и 660 нм) длинам волн возбуждения флуоресценции в спектре поглощения ФС хлоринового ряда, равномерно распределённого в приповерхностном слое кожи толщиной более 0,1 мм. Результаты применения полученных аналитических выражений хорошо согласуются с результатами численного моделирования методом Монте-Карло.

2. Предложен новый метод оценки глубины локализации флуорофора внутри биоткани, исключающий необходимость калибровочных измерений и использующий отношение флуоресцентных сигналов для различных длин волн возбуждения флуоресценции. Показано, что применение разработанной аналитической модели позволяет оценить толщину содержащего ФС хлоринового ряда приповерхностного слоя кожи в диапазоне от 0,1 до 2 мм с точностью 0,1 мм, а погрешность априорной оценки оптических свойств биоткани до 30% влечёт дополнительную погрешность определения толщины слоя предложенным методом в пределах 30%.

3. Предложен новый подход к изготовлению многослойных флуоресцирующих агаровых фантомов, имитирующих оптические свойства биоткани в диапазоне длин волн 400–1000 нм до и после поверхностного нанесения и внутривенного введения ФС хлоринового ряда, для задач планирования и мониторинга ФДТ. Изготовленные агаровые фантомы характеризуются коэффициентом поглощения  $0,02\text{--}0,5\text{ мм}^{-1}$  и транспортным коэффициентом рассеяния  $1\text{--}7\text{ мм}^{-1}$  в диапазоне длин волн 400–1000 нм и имитируют оптические свойства кожи *in vivo* до и после введения ФС хлоринового ряда с погрешностью коэффициента поглощения менее 5% в диапазонах 520–560 нм и 760–800 нм и с погрешностью транспортного коэффициента рассеяния менее 10% в диапазоне 450–700 нм. Изготовленные фантомы позволили в хорошо контролируемых условиях апробировать предложенный метод оценки глубины локализации флуорофора и подтвердить, что погрешность оценки толщины приповерхностного флуоресцирующего слоя составляет 10–30% для значений толщины от 0,5 мм до 2 мм.

4. В рамках серии *in vivo* экспериментов по мониторингу различных режимов ФДТ тканей лабораторных животных, а также актинического кератоза

и базальноклеточного рака кожи человека в клинических условиях с использованием ФС хлоринового ряда впервые продемонстрированы различия в динамике отношения флуоресцентных сигналов, соответствующих длинам волн возбуждения 660 нм и 405 нм при ФДТ. Для терапевтической длины волны 660 нм изменение отношения флуоресцентных сигналов до и после процедуры не превосходит 10%, что свидетельствует о фотовыгорании ФС во всём зондируемом объеме, в то время как для терапевтической длины волны 405 нм отношение увеличивается на 10–40% при поверхностном нанесении ФС и на 200–300% при внутривенном введении ФС в силу его фотовыгорания преимущественно в приповерхностных слоях биоткани.

5. Предложенный метод оценки локализации флуорофора на основе данных двухволновой ФВ впервые позволил получить оценки средней глубины проникновения ФС хлоринового ряда: в коже здорового человека она составила 0,18 мм, в очагах актинического кератоза – 0,28 мм, в здоровой ткани уха кролика – 0,16 мм, в опухоли СТ-26 на бедре мыши – 0,32 мм. Эти оценки согласуются с результатами морфологических исследований и с литературными данными о толщине эпидермиса соответствующих локализаций.

### **Список публикаций автора по теме диссертации**

#### **Статьи в реферируемых журналах**

1. Хилов А., Логинова Д., Сергеева Е., Шахова М., Меллер А., Турчин И., Кириллин М. Мониторинг и планирование фотодинамической терапии с использованием двухволнового флуоресцентного имиджинга // Современные технологии в медицине. – 2017. – Т. 9, № 4. – С. 96-105.

2. Shakhova M., Loginova D., Meller A., Sapunov D., Orlinskaya N., Shakhov A., Khilov A., Kirillin M. Photodynamic therapy with chlorin-based photosensitizer at 405 nm: numerical, morphological, and clinical study // Journal of Biomedical Optics. – 2018. – Т. 23, № 9. – С. 091412.

3. Khilov A., Kirillin M. Y., Loginova D., Turchin I. Estimation of chlorin-based photosensitizer penetration depth prior to photodynamic therapy procedure with dual-wavelength fluorescence imaging // Laser Physics Letters. – 2018. – Т. 15, № 12. – С. 126202.

4. Хилов А.В., Куракина Д.А., Турчин И.В., Кириллин М.Ю. Мониторинг локализации фотосенсибилизаторов хлоринового ряда с помощью двухволнового флуоресцентного имиджинга: численное моделирование // Квантовая электроника. – 2019. – Т. 49, № 1. – С. 63.

5. Kurakina D., Khilov A., Shakhova M., Orlinskaya N., Sergeeva E., Meller A., Turchin I., Kirillin M. Comparative analysis of single- and dual-wavelength photodynamic therapy regimes with chlorin-based photosensitizers: animal study // Journal of biomedical optics. – 2019. – Т. 25, № 6. – С. 063804.

6. Миронычева А., Кириллин М., Хилов А., Малыгина А., Куракина Д., Гутаковская В., Турчин И., Орлинская Н., Шливко И., Клеменова И. Комбинированное применение двухволнового флуоресцентного мониторинга и бесконтактной термометрии при фотодинамической терапии базально-клеточного рака кожи // Современные технологии в медицине. – 2020. – Т. 12, № 3. – С. 47-54.

7. Kirillin M., Kurakina D., Khilov A., Orlova A., Shakhova M., Orlinskaya N., Sergeeva E. Red and blue light in antitumor photodynamic therapy with chlorin-based photosensitizers: a comparative animal study assisted by optical imaging modalities // Biomedical Optics Express. – 2021. – Т. 12, № 2. – С. 872-892.

8. Хилов А.В., Сергеева Е.А., Куракина Д.А., Турчин И.В., Кириллин М.Ю. Аналитическая модель формирования флуоресцентного отклика для оценки локализации флуорофора в биоткани с помощью двухволнового флуоресцентного имиджинга // Квантовая электроника. – 2021. – Т. 51, № 2. – С. 95.

9. Kirillin M., Khilov A., Kurakina D., Orlova A., Perekatova V., Shishkova V., Malygina A., Mironycheva A., Shlivko I., Gamayunov S., Turchin I., Sergeeva E. Dual-Wavelength Fluorescence Monitoring of Photodynamic Therapy: From Analytical Models to Clinical Studies // Cancers. – 2021. – Т. 13, № 22. – С. 5807.

10. Хилов А.В., Шишкова В.А., Сергеева Е.А., Куракина Д.А., Кириллин М.Ю. Агаровые фантомы биоткани для задач флуоресцентного мониторинга фотодинамической терапии // Квантовая электроника. – 2022. – Т. 52, № 1. – С. 63.

### **Публикации в сборниках трудов конференций**

11. Kirillin M., Shakhova M., Meller A., Sapunov D., Agrba P., Khilov A., Pasukhin M., Kondratieva O., Chikalova K., Motovilova T., Sergeeva E., Turchin I., Shakhova N. Quantitative Optical Diagnostics in Pathology Recognition and Monitoring of Tissue Reaction to PDT // Proceedings SPIE. – 2017. – Т. 10417. – С. 104170C.

12. Khilov A., Kirillin M., Loginova D., Turchin I. Estimation of chlorine-based photosensitizer penetration depth prior to PDT procedure from two-wavelength excitation fluorescence measurements // OSA Technical Digest. – 2018. – JW3A.9.

13. Khilov A. V., Kurakina D. A., Turchin I. V., Kirillin M. Y. Dual-wavelength fluorescence localization of chlorin-based photosensitizer // Proceedings SPIE. – 2019. – Т. EB101. – 11079\_54.

14. Kirillin M., Shakhova M., Kurakina D., Khilov A., Orlova A., Sergeeva E., Meller A., Orlinskaya N., Turchin I. Red and blue light photodynamic therapy regimes: optical monitoring and histology studies // Proceedings SPIE. – 2019. – Т. EB101. – 11079\_26.

15. Kurakina D., Khilov A., Shakhova M., Orlinskaya N., Kirillin M. Comparative analysis of single- and dual-wavelength low dose photodynamic therapy regimens // Proceedings SPIE. – 2019. – Т. EB101. – 11079\_57.

16. *Khilov A. V., Kurakina D. A., Sergeeva E. A., Shakhova M. A., Malygina A. S., Mironycheva A. M., Pavlova K. G., Getmanskaya A. A., Turchin I. V., Shlivko I. L., Gamayunov S. V., Kirillin, M. Y.* Dual-Wavelength Fluorescence Imaging of Chlorin-Based Photosensitizers // OSA Technical Digest. – 2021. – EW1A.5.

17. *Kirillin M., Kurakina D., Khilov A., Orlova A., Shakhova M., Pavlova K., Perekatova V., Orlinskaya N., Sergeeva E.* Red and Blue Light in Photodynamic Therapy with Chlorin-Based Photosensitizers // OSA Technical Digest. – 2021. – EW1A.2.

### **Публикации в сборниках тезисов конференций**

18. *Khilov A., Kirillin M., Loginova D., Gamayunov S., Turchin I.* Two-color fluorescence monitoring in PDT treatment // 18th International Conference on Laser Optics, 4-8 June, 2018, St.-Petersburg, Russia.

19. *Kirillin M., Shakhova M., Khilov A., Kurakina D., Sergeeva E., Meller A., Sapunov D., Perekatova V., Turchin I., Orlinskaya N., Shakhov A.* Optical techniques for advancement of photodynamic therapy: from model experiments to clinical studies // 18th International Conference on Laser Optics, 4-8 June, 2018, St.-Petersburg, Russia.

20. *Khilov A., Kirillin M., Loginova D., Turchin I.* Estimation of photosensitizer penetration depth with dual-wavelength fluorescence imaging prior to PDT procedure with chlorin-based photosensitizers // Book of abstracts of The 26th International Conference on Advanced Laser Technologies, ALT'18, 9-14 September, 2018, Tarragona, Spain.

21. *Kirillin M., Kurakina D., Khilov A., Orlova A., Sergeeva E., Shakhova M., Mironycheva A., Malygina A., Shlivko I., Orlinskaya N.* Optical imaging for development and advancement of photodynamic therapy protocols // International Conference on Advanced Laser Technologies (ALT) 19, 157 (2019).

22. *Sergeeva E., Kurakina D., Khilov A., Kirillin M.* Modeling of a photosensitizer fluorescence response during accumulation and photobleaching in biotissue // International Conference on Advanced Laser Technologies (ALT) 19, 180 (2019).

23. *Kirillin M., Khilov A., Kurakina D., Shakhova M., Sergeeva E., Orlova A., Meller A., Mironycheva A., Malygina A., Shlivko I., Orlinskaya N., Turchin I., Gamayunov S.* Development of photodynamic therapy protocols with assistance of optical monitoring techniques // 2020 International Conference Laser Optics (ICLO), 2020, pp. 1-1.

24. *Khilov A., Kurakina D., Sergeeva E., Shakhova M., Orlova A., Mironycheva A., Malygina A., Turchin I., Shlivko I., Kirillin M.* Dual-wavelength fluorescence imaging for photodynamic therapy planning and monitoring // 2020 International Conference Laser Optics (ICLO), 2020, pp. 1-1.

25. *Kirillin M., Kurakina D., Khilov A., Orlova A., Shakhova M., Perekatova V., Shishkova V., Mironycheva A., Malygina A., Shlivko I., Gamayunov S., Turchin I., Orlinskaya N., Sergeeva E.* PDT-Duo: Dual-wavelength approaches in perfor-

mance and monitoring of photodynamic therapy // International Conference on Advanced Laser Technologies (ALT) 21, 101 (2021).

26. Kirillin M., Kurakina D., Khilov A., Perekatova V., Getmanskaya A., Shishkova V., Shakhova M., Orlova A., Malygina A., Mironycheva A., Shlivko I., Gamayunov S., Orlinskaya N., Turchin I., Sergeeva E. Spectral approaches for depth analysis in diffuse optical diagnostics modalities // 2022 International Conference Laser Optics (ICLO), 2022, pp. 1-1.

## Оглавление диссертации

Введение.....	4
Глава 1. Аналитический обзор современного состояния в области флуоресцентной визуализации.....	15
1.1. Флуоресцентные методы визуализации .....	15
1.2. Многоволновая флуоресцентная визуализация .....	19
1.3. Оптические методы мониторинга фотодинамической терапии .....	22
1.4. Подходы к созданию фантомов биоткани .....	24
1.5. Выводы .....	26
Глава 2. Оценка локализации флуорофора в биоткани на основе двухволновой флуоресцентной визуализации .....	27
2.1. Расчёт оптических полей в биоткани в рамках уравнения переноса излучения .....	27
2.2. Аналитическая модель формирования флуоресцентных сигналов в системах флуоресцентной визуализации.....	29
2.3. Отношение флуоресцентных сигналов при двухволновой флуоресцентной визуализации и его связь с толщиной приповерхностного флуоресцентного слоя.....	35
2.4. Монте-Карло моделирование флуоресценции распределённого в биоткани флуорофора .....	38
2.5. Сравнение аналитической модели и результатов Монте-Карло моделирования .....	40
2.6. Исследование влияния оптических свойств биоткани на точность оценки локализации флуорофора.....	43
2.7. Монте-Карло моделирование флуоресценции фотосенсибилизатора, распределённого внутри биоткани, при внутривенном введении и поверхностном нанесении .....	48
2.8. Выводы .....	58
Глава 3. Апробация метода оценки локализации флуорофора в биоткани на основе двухволновой флуоресцентной визуализации в модельном эксперименте .....	61
3.1. Изготовление агаровых фантомов биоткани.....	61
3.2. Оптические свойства агаровых фантомов биоткани .....	64

3.3. Двухволновая флуоресцентная визуализация агаровых фантомов, имитирующих биоткани с введённым фотосенсибилизатором хлоринового ряда.....	69
3.4. Выводы .....	77
Глава 4. Двухволновой флуоресцентный мониторинг фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизаторов хлоринового ряда.....	79
4.1. Мониторинг фотодинамической терапии <i>in vivo</i> на интактной ткани лабораторных животных .....	79
4.2. Мониторинг фотодинамической терапии <i>in vivo</i> на опухолевой ткани лабораторных животных .....	83
4.3. Мониторинг фотодинамической терапии актинического кератоза в клинических условиях.....	90
4.4. Мониторинг фотодинамической терапии базальноклеточного рака кожи в клинических условиях .....	92
4.5. Обобщение результатов двухволнового флуоресцентного мониторинга фотодинамической терапии .....	96
4.6. Выводы .....	100
Заключение. Основные результаты .....	103
Список публикаций автора по теме диссертации.....	106
Список литературы .....	111

ХИЛОВ Александр Владимирович

**ДУХВОЛНОВАЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ  
ВИЗУАЛИЗАЦИЯ  
ДЛЯ ЗАДАЧ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ**

А в т о р е ф е р а т

Подписано к печати 5.12.2022 г.

Формат 60 × 90 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.

Усл. печ. л. 1,5. Тираж 100 экз. Заказ № 63(2022).

Отпечатано в типографии Института прикладной физики РАН,  
603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46