

# BIOMEDICAL PHOTONICS

## BIOMEDICAL PHOTONICS –

научно-практический, рецензируемый,  
мультидисциплинарный журнал.  
Выходит 4 раза в год.  
Тираж – 1000 экз., ежеквартально.

Входит в Перечень ведущих рецензируемых  
научных журналов ВАК РФ.  
Индексируется в международной  
реферативной базе данных Scopus.

Издательство «Агентство МОРЕ».  
Москва, Хохловский пер., д. 9

### Редакция:

Зав. редакцией	Иванова-Радкевич В.И.
Научный редактор	проф. Мамонтов А.С.
Литературный редактор	Моисеева Р.Н.
Выпускающий редактор	Мачинская Е.А.
Переводчики	Урлова А.Н. Романишкин И.Д.
Компьютерный дизайн	Кренева Е.И.
Компьютерная верстка	Меркулова О.Е.

### Адрес редакции:

Россия, Москва, 2-й Боткинский пр., д. 3  
Тел. 8 (495) 945–86–60  
www: PDT-journal.com  
E-mail: PDT-journal@mail.ru

### Адрес для корреспонденции:

125284, Москва, а/я 13

Свидетельство о регистрации ПИ  
№ ФС 77–51995, выдано 29.11.2012 г.  
Федеральной службой по надзору в сфере  
связи, информационных технологий  
и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

### Индекс по каталогу агентства

«Роспечать» – 70249

Редакция не несет ответственности за  
содержание рекламных материалов.

В статьях представлена точка зрения авторов,  
которая может не совпадать с мнением  
редакции журнала.

К публикации принимаются только статьи,  
подготовленные в соответствии с правилами  
для авторов, размещенными на сайте журнала.

Полное или частичное воспроизведение  
материалов, опубликованных в журнале,  
допускается только с письменного разрешения  
редакции.

### УЧРЕДИТЕЛИ:

Национальная Фотодинамическая Ассоциация  
Московский научно-исследовательский онкологический институт  
им. П.А. Герцена

### ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

**Филоненко Е.В.**, доктор медицинских наук, профессор, руководитель  
Центра лазерной и фотодинамической диагностики и терапии опухолей  
Московского научно-исследовательского онкологического института  
им. П.А. Герцена (Москва, Россия)

### ЗАМ. ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

**Грин М.А.**, доктор химических наук, профессор, заведующий  
кафедрой химии и технологии биологически активных соединений  
им. Н.А. Преображенского Московского технологического университета  
(Москва, Россия)

**Лощенов В.Б.**, доктор физико-математических наук, профессор,  
заведующий лабораторией лазерной биоспектроскопии в Центре  
естественно-научных исследований Института общей физики  
им. А.М. Прохорова РАН (Москва, Россия)

### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

**Каплан М.А.**, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела  
фотодинамической диагностики и терапии Медицинского радиологического  
научного центра им. А.Ф. Цыба (Обнинск, Россия)

**Каприн А.Д.**, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор,  
генеральный директор Национального медицинского исследовательского  
центра радиологии Минздрава России (Москва, Россия)

**Лукьянец Е.А.**, доктор химических наук, профессор, заведующий  
лабораторией Государственного научного центра «Научно-  
исследовательский институт органических полупродуктов и красителей»,  
(Москва, Россия)

**Мионов А.Ф.**, доктор химических наук, профессор кафедры химии  
и технологии биологически активных соединений им. Н.А. Преображенского  
Московского технологического университета (Москва, Россия)

**Пономарев Г.В.**, доктор химических наук, профессор, главный научный  
сотрудник Института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАН  
(Москва, Россия)

**Романко Ю.С.**, доктор медицинских наук, профессор, руководитель  
научно-организационного отдела Медицинского радиологического научного  
центра им. А.Ф. Цыба (Обнинск, Россия)

**Странадко Е.Ф.**, доктор медицинских наук, профессор, руководитель  
отделения лазерной онкологии и фотодинамической терапии  
Государственного научного центра лазерной медицины ФМБА (Москва,  
Россия)

**Якубовская Р.И.**, доктор биологических наук, профессор, руководитель  
отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии  
Московского научно-исследовательского онкологического института  
им. П.А. Герцена (Москва, Россия)

**Blondel V.**, профессор Университета Лотарингии, руководитель отделения  
Здравоохранение-Биология-Сигналы (SBS), (Нанси, Франция)

**Bolotine L.**, профессор научно-исследовательского центра автоматизации  
и управления Нанси (Нанси, Франция)

**Douplik A.**, профессор Университета Райерсона (Торонто, Канада)

**Steiner R.**, профессор, почетный директор Института лазерных технологий  
в медицине и измерительной технике Университета Ульма (Ульм, Германия)

# BIOMEDICAL PHOTONICS

## FOUNDERS:

National Photodynamic Association  
P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute

## EDITOR-IN-CHIEF:

**Filonenko E.V.**, Dr. Sci. (Med.), professor, head of the Centre of laser and photodynamic diagnosis and therapy of tumors in P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute (Moscow, Russia)

## DEPUTY CHIEF EDITOR:

**Grin M.A.**, Dr. Sci. (Chem.), professor, chief of department of Chemistry and technology of biological active substances named after Preobragenskiy N.A. in Moscow Technological University (Moscow, Russia)

**Loschenov V.B.**, Dr. Sci. (Phys and Math), professor, chief of laboratory of laser biospectroscopy in the Natural Sciences Center of General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

## EDITORIAL BOARD:

**Kaplan M.A.**, Dr. Sci. (Med.), professor, chief of department of photodynamic diagnosis and therapy in A.F. Tsyb «Medical Radiological Research Center» (Obninsk, Russia)

**Kaprin A.D.**, Academician of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), professor, general director of National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

**Lukyanets E.A.**, Dr. Sci. (Chem.), professor, chief of laboratory in State Research Center «Research Institute of Organic Intermediates and Dyes» (Moscow, Russia)

**Mironov A.F.**, Dr. Sci. (Chem.), professor of department of Chemistry and technology of biological active substances named after Preobragenskiy N.A. in Moscow Technological University (Moscow, Russia)

**Ponomarev G.V.**, Dr. Sci. (Chem.), professor, principal researcher in the V.N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry (IBMC) of RAS (Moscow, Russia)

**Romanko Yu.S.**, Dr. Sci. (Med.), professor, chief of scientific organizational in A.F. Tsyb «Medical Radiological Research Center» (Obninsk, Russia)

**Stranadko E.F.**, Dr. Sci. (Med.), professor, chief of department of laser oncology and vascular therapy in State research centre of laser medicine of FMBA (Moscow, Russia)

**Yakubovskaya R.I.**, Dr. Sci. (Biol.), professor, chief of department of modifiers and protectors for cancer therapy in P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute (Moscow, Russia)

**Blondel V.**, PhD, professor at University of Lorraine, joint-Head of the Health-Biology-Signal Department (SBS) (Nancy, France)

**Bolotina L.**, PhD, professor of Research Center for Automatic Control of Nancy (Nancy, France)

**Douplik A.**, PhD, professor in Ryerson University (Toronto, Canada)

**Steiner R.**, PhD, professor, the honorary director of Institute of Laser Technologies in Medicine and Metrology at Ulm University (Ulm, Germany)

## BIOMEDICAL PHOTONICS –

research and practice, peer-reviewed, multidisciplinary journal.  
The journal is issued 4 times per year.  
The circulation – 1000 copies., on a quarterly basis.

The journal is included into the List of peer-reviewed science press of the State Commission for Academic Degrees and Titles of Russian Federation  
The journal is indexed in the international abstract and citation database – Scopus.

The publisher «Agentstvo MORE».  
Moscow, Khokhlovskiy lane., 9

## Editorial staff:

Chief of the editorial staff	Ivanova-Radkevich V.I.
Science editor professor	Mamontov A.S.
Literary editor	Moiseeva R.N.
Managing editor	Machinskaya E.A.
Translators	Urlova A.N. Romanishkin I.D.
Computer design	Kreueva E.I.
Desktop publishing	Merkulova O.E.

## The Address of Editorial Office:

Russia, Moscow, 2nd Botkinskiy proezd, 3  
Tel. 8 (495) 945-86-60  
www: PDT-journal.com  
E-mail: PDT-journal@mail.ru

## Corresponding to:

125284, Moscow, p/o box 13

Registration certificate ПИ № ФС 77-51995,  
issued on 29.11.2012 by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media of Russia

## The subscription index

of «Rospechat» agency – 70249

The editorial staff is not responsible for the content of promotional material. Articles represent the authors' point of view, which may be not consistent with view of the journal's editorial board. Editorial Board admits for publication only the articles prepared in strict accordance with guidelines for authors. Whole or partial presentation of the material published in the Journal is acceptable only with written permission of the Editorial board.

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**Application of devices for space-resolved spectroscopy on the example of two-layer phantoms containing metallic nanoparticles**

Kholodtsova M.N., Grachev P.V., Blondel W.C., Zelenkov P.V., Potapov A.A., Shcherbakov I.A., Loschenov V.B. 4

**Применение методов лазерной фотоники в ортопедической стоматологии для неинвазивного бесконтактного исследования объемных микродеформаций костных тканей**

М.А. Гросманн, А.И. Ларкин 13

**Клинические задачи прямой дозиметрии (in vivo) при контактной лучевой терапии**

В.А. Титова, Д.А. Коконцев, Т.С. Белле 19

**Неинвазивная оценка локальной температуры нагрева биотканей под действием лазерного излучения по спектрам люминесценции ионов Nd<sup>3+</sup>**

И.Д. Романишкин, Д.В. Поминова, П.В. Грачев, В.И. Макаров, А.С. Ванецев, Е.О. Орловская, А.Е. Баранчиков, И. Силдос, В.Б. Лощенов, Ю.В. Орловский, А.В. Рябова 25

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

**Роль фотодинамической терапии в лечении первичных, рецидивных и метастатических злокачественных опухолей головного мозга**

Д.А. Церковский, Е.А. Маслаков, Д.А. Багринцев, И.А. Семак, Е.Л. Протопович, А.Г. Чиж, А.А. Татур, И.С. Фоменков, Д.С. Ступак 37

## КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

**Эндоскопическая фотодинамическая терапия больного с метастазами рака легкого в бифуркационные лимфатические узлы (клиническое наблюдение)**

В.М. Легостаев, О.Ю. Бабенков, Г.В. Балицкий 50

## ORIGINAL ARTICLES

**Application of devices for space-resolved spectroscopy on the example of two-layer phantoms containing metallic nanoparticles**

Kholodtsova M.N., Grachev P.V., Blondel W.C., Zelenkov P.V., Potapov A.A., Shcherbakov I.A., Loschenov V.B. 4

**Application of laser photonics methods in orthopedic dentistry for non-invasive non-contact examination of bulk micro-deformations of bone tissue**

Grossmann M.A., Larkin A.I. 13

**Clinical problems of direct dosimetry (in vivo) in contact radiation therapy**

Titova V.A., Kokontsev D.A., Belle T.S. 19

**Noninvasive estimation of the local temperature of biotissues heating under the action of laser irradiation from the luminescence spectra of Nd<sup>3+</sup> ions**

Romanishkin I.D., Pominova D.V., Grachev P.V., Makarov V.I., Vanetsev A.S., Orlovskaya E.O., Baranchikov A.E., Sildos I., Loschenov V.B., Orlovskii Y.V., Ryabova A.V. 25

## REVIEWS OF LITERATURE

**The role of photodynamic therapy in the treatment of primary, recurrent and metastatic malignant brain tumors**

Tzerkovsky D.A., Maslakov E.A., Bagrintsev D.A., Semak I.A., Protopovich Y.L., Chizh A.G., Tatur A.A., Fomenkov I.S., Stupak D.S. 37

## CASE REPORTS

**Endoscopic photodynamic therapy of a patient with lung cancer metastasis in bifurcation lymph nodes (clinical observation)**

Legostaev V.M., Babenkov O.Y., Balitskiy G.V. 50

# APPLICATION OF DEVICES FOR SPACE-RESOLVED SPECTROSCOPY ON THE EXAMPLE OF TWO-LAYER PHANTOMS CONTAINING METALLIC NANOPARTICLES

Kholodtsova M.N.<sup>1,2,3</sup>, Grachev P.V.<sup>1</sup>, Blondel W.C.<sup>2,3</sup>, Zelenkov P.V.<sup>4</sup>, Potapov A.A.<sup>4</sup>, Shcherbakov I.A.<sup>1</sup>, Loschenov V.B.<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>2</sup>University of Lorraine, Vandoeuvre-les-Nancy, France

<sup>3</sup>CRAN, Nancy, France

<sup>4</sup>N.N. Burdenko National Scientific and Practical Center for Neurosurgery, Moscow, Russia

<sup>5</sup>National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia

## Abstract

The abilities of the optical probe for fluorescence-guided stereotactic biopsy were investigated by means of a multifiber probe under 532 or 632.8 nm excitation. The set of multilayered phantoms representing a border between normal brain-tissue and a tumor with photosensitizer and gold nanoparticles (spheres or stars) in different concentrations were made to investigate the macroscopic parameters observed during the neurosurgical biopsy sample collection by means of the optical probe. These investigations will allow to define the border of a brain tumor and control the type of tissue being collected by a stereotactic cannula during surgery. The impact of gold nanospheres and gold nanostars added in different concentrations to the bottom-layer of phantom was analyzed by fluorescence quenching or enhancement due to energy transfer between nanoparticles and fluorescent molecules. The results allow determining the tumor border and to make the biopsy uptake more efficient by observing the character of signal change while penetrating a tumor and while going out of it.

**Keywords:** plasmon resonance, metal nanoparticles, optical probing depth, fluorescence probing depth, glial tumours, biological tissue, multi-layered tissue, spatially resolved spectroscopy, 5-aminolevulinic acid, protoporphyrin IX, stereotactic biopsy, fluorescence spectroscopy.

**For citations:** Kholodtsova M.N., Grachev P.V., Blondel W.C., Zelenkov P.V., Potapov A.A., Shcherbakov I.A., Loschenov V.B. Spatially-resolved optical spectroscopy abilities of stereotactic biopsy cannula verified by optical multi-fibre probe on two-layered phantoms containing metal nanoparticles for fluorescence enhancement or quenching, *Biomedical Photonics*, 2018, T. 7, No. 2, pp. 4–12. doi: 10.24931/2413-9432-2018-7-2-4-12.

**Contacts:** Kholodtsova M.N., e-mail: m.kholodtsova@gmail.com

## ПРИМЕНЕНИЕ УСТРОЙСТВ ДЛЯ ПРОСТРАНСТВЕННО-РАЗРЕШЕННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ НА ПРИМЕРЕ ДВУХСЛОЙНЫХ ФАНТОМОВ, СОДЕРЖАЩИХ МЕТАЛЛИЧЕСКИЕ НАНОЧАСТИЦЫ

М.Н. Холодцова<sup>1,2,3</sup>, П.В. Грачев<sup>1</sup>, В.С. Блондель<sup>2,3</sup>, П.В. Зеленков<sup>4</sup>,  
А.А. Потапов<sup>4</sup>, И.А. Щербаков<sup>1</sup>, В.Б. Лощенов<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Университет Лорэйн, Вандёвр-ле-Нанси, Франция

<sup>3</sup>ЦИАН, Нанси, Франция

<sup>4</sup>Научно-исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко,  
Москва, Россия

<sup>5</sup>Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Москва, Россия

## Резюме

Исследованы возможности применения зонда для стереотаксической биопсии при флуоресцентной навигации при возбуждении 532 или 632,8 нм. Для исследования макроскопических параметров, наблюдаемых во время забора образцов при стереотаксической биопсии с помощью оптического зонда, был сделан набор полужидких, полутвердых многослойных фантомов, моделирующих

границу между нормальной мозговой тканью и опухолью с фотосенсибилизатором и наночастицами золота (сферы и звезды) в различных концентрациях. Было проанализировано влияние золотых наносфер и нанозвезд, добавленных в разных концентрациях к нижнему слою фантома, на усиление флуоресценции за счет переноса энергии между наночастицами и флуоресцентными молекулами. Результаты позволяют определить границу опухоли и повысить эффективность биопсии, наблюдая характер изменения флуоресцентного сигнала при прохождении зонда через опухоль.

**Ключевые слова:** плазмонный резонанс, наночастицы металлов, глубина оптического зондирования, глубина зондирования флуоресценции, глиальные опухоли, биологическая ткань, многослойная ткань, пространственно разрешенная спектроскопия, 5-аминолевулиновая кислота, протопорфирин IX, стереотактическая биопсия, флуоресцентная спектроскопия

**Для цитирования:** Холодцова М.Н., Грачев П.В., Блондель В.С., Зеленков П.В., Потапов А.А., Щербakov И.А., Лощенов В.Б. Возможности пространственно-разрешенной оптической спектроскопии стереотактической канюли для биопсии подтвержденные оптическим многоволоконным зондом на двухслойных фантомах, содержащих металлические наночастицы для усиления или тушения флуоресценции. // *Biomedical Photonics*. – 2018 – Т. 7, № 2 – С. 4–12. doi: 10.24931/2413-9432-2018-7-2-4-12.

**Контакты:** Холодцова М.Н., e-mail: m.kholodtsova@gmail.com

## Introduction

In recent years the nanosized materials has been deeply investigated and reached outstanding facilities in preparation of nanoparticles (NP) [1], their use in many areas of nowadays life [2]. Among all NP practical usages and theoretical researches there is one quite prominent, which is connected with inner properties of the material from which NP are made of. Some materials have such properties as having the size below around 100 nm they have abilities to resonantly absorb and scatter light on a certain wavelength which is defined by the surrounding medium and the geometry of a NP [3]. Applied to photo-diagnosis of biological tissue, this kind of NP seems to be leading to the new approaches in fluorescent diagnosis.

The use of plasmonic NP to improve optical properties of biological tissue is of certain interest for biomedical optics. NP could be functionalized with transport agents to accumulate in tumorous tissue, thus improving spectroscopic signal, as NP can be tuned to have enhanced optical properties in special range. This effect has been taken into account by change of optical properties, assuming the NP presence [4].

Recently we had developed a new device for clinical use – the stereotactic biopsy cannula equipped with optical fibers (or the optical biopsy probe). The optical biopsy probe allows simultaneous sampling and spectroscopic analysis of brain tissue during biopsy uptake procedure [5]. This biopsy probe was already tested experimentally by two different wavelengths: 405 and 633 nm [6].

To expand the area of optical biopsy probe application we conducted a research to investigate its tumor detection abilities not only by fluorescent signal, but also by presence of metal nanoparticles (MNP).

Thus, in the present research we investigate its tumor border detection abilities by fluorescent signal, diffuse reflected light and their ratio on specially developed multi-layered phantoms. The spatially resolved measurements were performed with multifiber probe [7] gives the possibility of optical biopsy probe signal description

in terms of spatial resolution and signal enhancement or quenching due to metal NP presence.

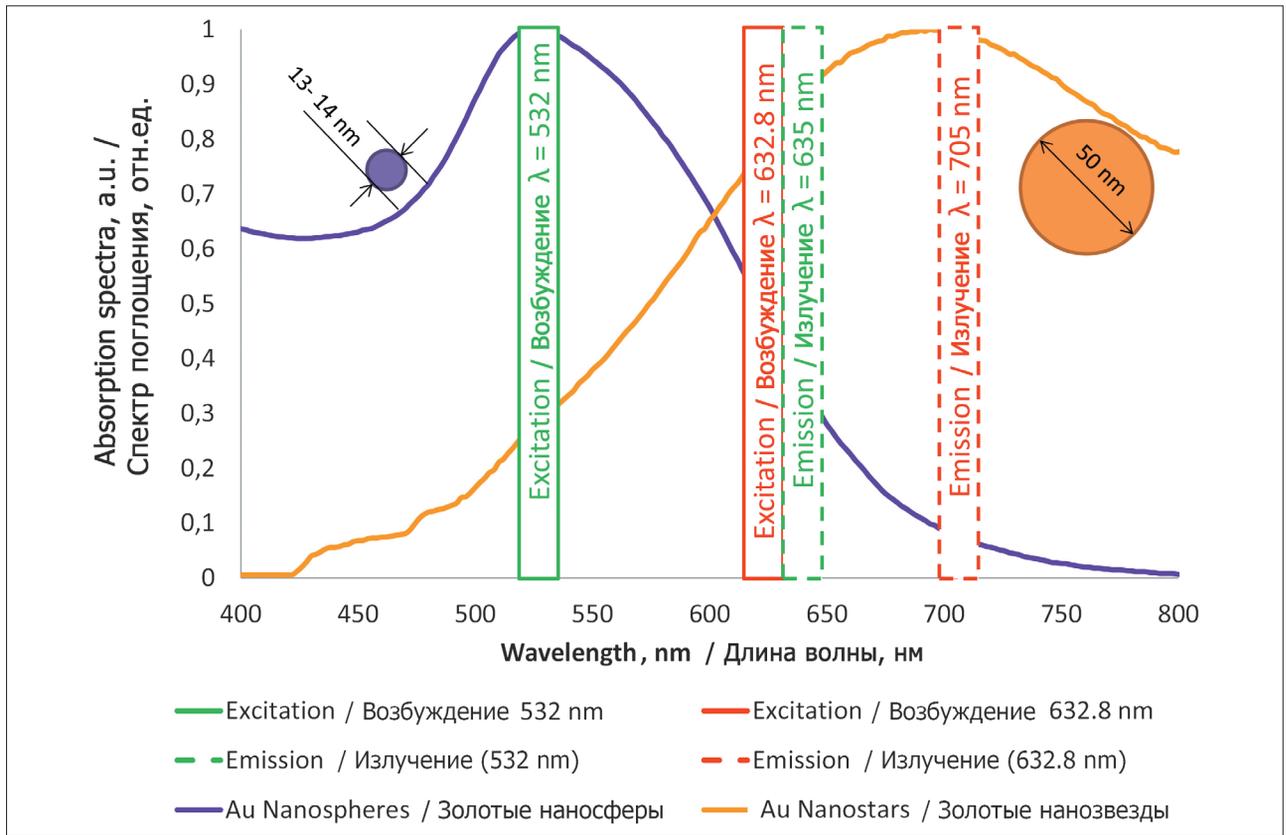
The experiment was conducted on the multi-layered phantoms set to recover the signal components collected by optical biopsy probe while penetrating into brain tissue and its influence on fluorescence signal, diffuse reflected light and their ratio. Our experiment involved the use of special MNP, which were added at different concentrations to one of the layers. The influence of MNP on biological tissue optical parameters was investigated. As fluorescent agent protoporphyrin IX (PPIX) was used, because for the fluorescence-guided neurosurgery operations 5-aminolevulinic acid application is usually used to increases accumulation of PPIX in areas which have an increased metabolic activity and correspond to tumor lesions [8].

Firstly, NP were analyzed by spectrophotometry and dynamic light scattering measurements. Secondly, the optical properties of biological tissue were modelled and verified by means of spectrophotometry. Then the spatially and spectrally-resolved diffuse-reflected and fluorescence spectra were obtained by means of multi-fiber optical probe. The analysis of each fiber contribution into optical biopsy probe signal while penetrating and going out the layer modelling tumorous tissue was done. Such investigation offers possibilities to define the border of tumor while biopsy procedure.

## Materials and methods

### *Optical properties of phantoms and NP*

To estimate absorption of NP and optical properties of phantoms components, the spectrophotometer U-3400 (Hitachi, Japan) was used. Spectrophotometer allows determining light attenuation in turbid media by measuring the transmitted light. The measurements were taken for the following NP: gold nanospheres (GNP [9]), gold nanostars (GNS [10]).



**Fig. 1.** Absorption spectra of gold nanospheres and nanostars used in the experiments on phantoms. Excitation and fluorescence bands of PPIX

**Рис. 1.** Спектр поглощения золотых наносфер и нанозвезд, используемых для приготовления фантомов. Диапазоны возбуждения и флуоресценции протопорфирина IX

Fig. 1 is representing the absorption spectra of NP, excitation and emission wavelengths of PPIX. Absorption peak of GNP corresponds to 532 nm excitation, it was chosen for transferring the energy from GNP to molecules of PPIX. Absorption peak of GNS corresponds to maximum emission wavelength of PPIX. Thus, the GNP intensify the absorption of 532 nm and the stars intensify the luminescence of PPIX [11–13].

#### **NP size measurements with Photon-Correlation Spectroscopy (PCS)**

To measure NP size, the PCS technique with help of multi-angle dynamic and static light scattering instrument Complex (Photocor, Russia) was used. The homio-photometer was fixed on a single angle of 30° and signal was collected during 2 min.

#### **Modelling optical properties of tissue**

As the biopsy probe was made for parenchymal organs analysis, the phantoms were made to mimic one of tumor types (meningioma or astrocytoma) and normal brain tissue: white or gray matter.

A group of Zaccanti has been working with Indian ink as the absorber which is close to melanin [14]. This group

as well has suggested intralipid as the optical standard for making phantoms [15,16]. The main absorber in the bottom layer was PPIX and the scatter intralipid. The superficial layer has a variable thickness (0:100:400  $\mu\text{m}$ ) and was liquid, it consists of intralipid and Indian ink. In this case, blood absorption is modeled with the help of Indian ink. Optical properties of biological tissues are listed in the table 1.

#### **Preparation of phantoms**

The phantoms were made semi-liquid, semi-solid to avoid diffusion between two layers. The phantom components were placed in cubic clean and dry plastic cuvettes. The top-layer was prepared by simple mixing of distilled water, intralipid 10% and India ink. The bottom-layer was made with gelatin 5% not overcoming 30°C while melting the gelatin in magnetic thermal mixer, these phantoms were kept in fridge under the temperature 2°C for about 20 min to let gelatin congeal. Electronic scales with 0.05 mg precision used for the weight measurements of PPIX and gelatin.

Finally, the concentration of components and the geometry of each layer are presented in the table 2 and on the fig. 2.

**Table 1**  
 Optical properties of white, gray matter of human brain and human tumors (astrocytoma and meningioma) [17, 18], prepared phantoms

**Таблица 1**  
 Оптические свойства приготовленных фантомов белого, серого вещества и опухолей (астроцитомы и менингиомы) человеческого мозга [17–18]

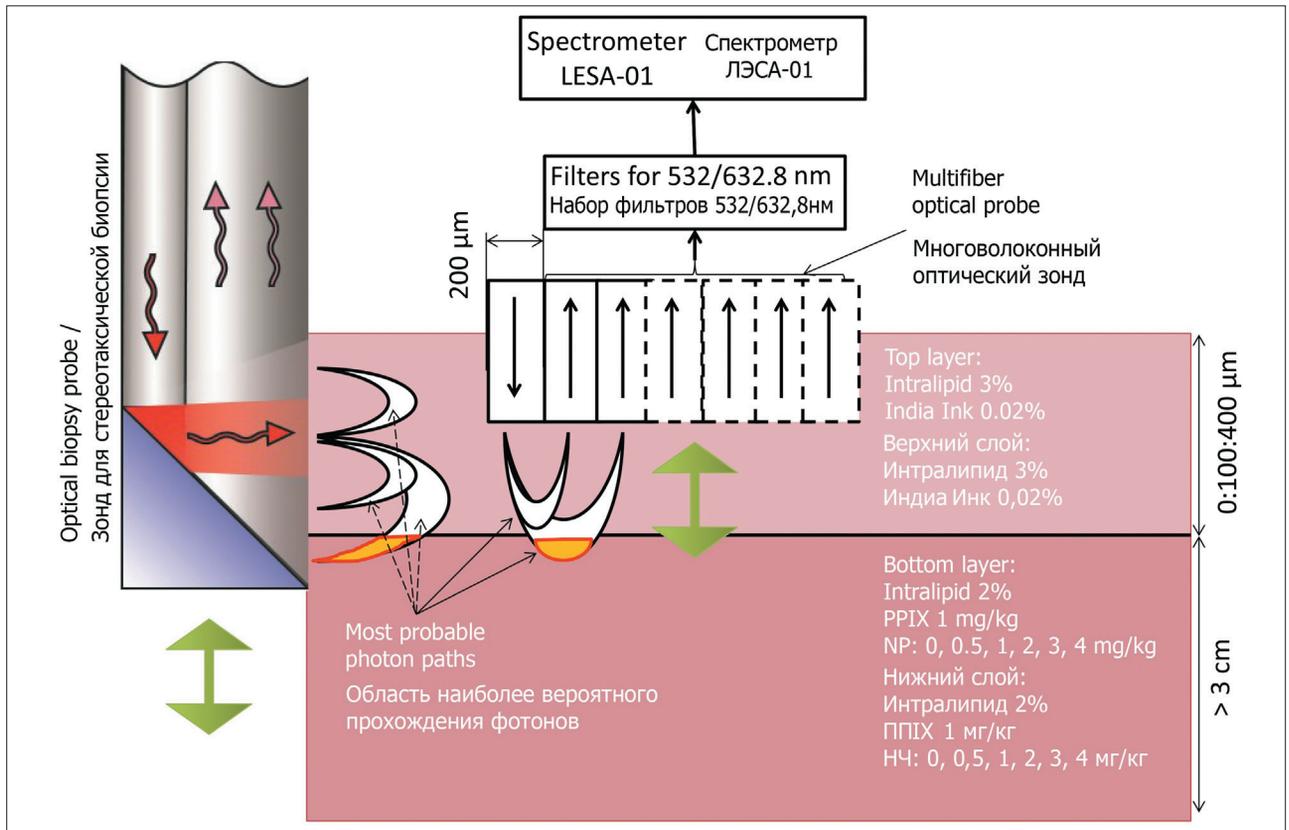
Tissue Ткань	Wave-length, nm Длина волны, нм	Scattering coefficient, cm <sup>-1</sup> Коэффициент рассеяния, см <sup>-1</sup>	Absorption coefficient, cm <sup>-1</sup> Коэффициент поглощения, см <sup>-1</sup>	Anisotropy factor, Фактор анизотропии	Transmittance coefficient, cm <sup>-1</sup> Коэффициент пропускания, см <sup>-1</sup>
Gray matter Серое вещество	532	100	0.60	0.87	13.6
White matter Белое вещество		450	1.00	0.83	77.5
Meningioma Менингиома		140	1.00	0.95	8.0
Astrocytoma Астроцитомы		110	1.00	0.94	7.6
Phantom top-layer Верхний слой фантома		60	0.11	0.85	9.1
Phantom bottom-layer Нижний слой фантома		80	2.50	0.85	14.5
Gray matter Серое вещество	632.8	90	0.20	0.88	11.0
White matter Белое вещество		420	1.00	0.84	68.2
Meningioma Менингиома		105	0.50	0.95	5.8
Astrocytoma Астроцитомы		200	1.00	0.95	10.1
Phantom top-layer Верхний слой фантома		40	0.08	0.83	6.9
Phantom bottom-layer Нижний слой фантома		50	1.00	0.83	9.5

**Table 2**  
 Multi-layered phantoms optical and geometry properties

**Таблица 2**  
 Оптические и геометрические параметры многослойных фантомов

Layer properties Свойства слоя	Top-layer Верхний слой	Bottom-layer Нижний слой
Thickness Толщина	0 : 100 : 400 μm 0 : 100 : 400 μm	Semi-infinite (more than 3 cm) Полу-бесконечный (более 3 см)
Absorber Поглотители	India ink 0.02% Индия Инк 0,02%	Gelatin 5% Желатин 5%
Scatterer Рассеиватели	Intralipid 2% Интралипид 2%	Intralipid 3% Интралипид 3%
Nanoparticles Наночастицы	-	GNP: 0, 1, 2, 4 mg/kg GNS: 0, 0.5 mg/kg ЗНС: 0, 1, 2, 4 мг/кг ЗНЗ: 0, 0,5 мг/кг
Fluorophore Флуорофор	-	PPIX, 1 mg/kg ППИХ, 1 мг/кг

GNP – gold nanospheres  
 GNS – gold nanostars  
 PPIX – protoporphyrin IX  
 ЗНС – золотые наносферы  
 ЗНЗ – золотые нанозвезды  
 ППИХ – протопорфирин IX



**Fig. 2.** Sketch of experimental design used to measure optical response of the modelled tissue

**Рис. 2.** Эскиз экспериментальной установки для измерения оптического ответа в приготовленных фантомах

### Experimental design

For GNP and PPIX containing phantoms green diode laser (532 nm, 30 mW BIOSPEC, Russia) was used. For GNS and PPIX containing phantoms HeNe laser (632.8 nm, 30 mW BIOSPEC, Russia) was used. Both lasers correspond to Q-bands of PPIX absorbance. Signal was analyzed by LESА-01-Biospec spectrometer (BIOSPEC, Russia). The multifiber probe with six source-detector separations (SDS) was used. Distances 261, 344, 500, 778, 1041, 1290  $\mu\text{m}$  between source and detector were used for collection the back scattered light. For 532 nm excitation, the detection range was 500–800 nm, for 632.8 nm – 600–800 nm. The setup and description of the fiber and its parameters are presented on the fig. 2.

Laser is connected to the multifiber probe with six different SDS. The diffuse-reflected light and fluorescent signal are collected by the receiving fibers, then transferred to spectrometer and analyzed by UnoMemento software (BIOSPEC, Russia). The model of tissue is described above. The «banana»-shaped regions drawn under the fibers (fig. 2) are the most probable paths calculated by diffusion approximation to radiation transfer equation and used in our previous work for determining the optical and effective fluorescent probing depth [19–20].

### Multifiber optical probe and optical biopsy probe

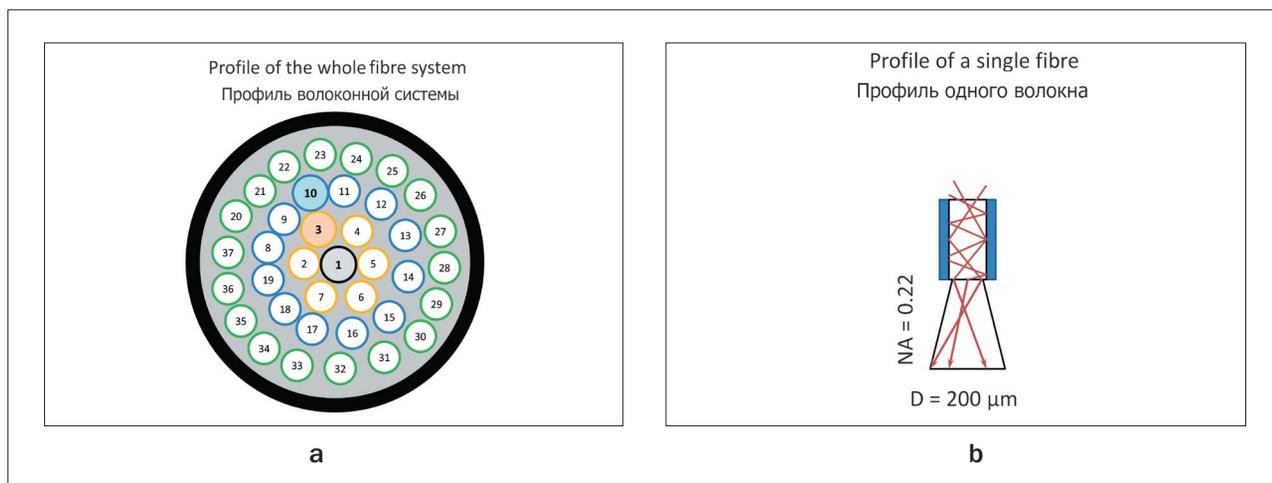
The multifiber optical probe used in the experiment was specially developed for multimodal spectroscopy for elastic scattering (or diffuse-reflected) and autofluorescence analysis to characterize biological tissue *in vivo* and *in vitro*. Its configuration allows combining the principles of diffuse optical spectroscopy and imaging such as spatial, spectral and depth resolutions combined with light-tissue interaction models.

The multifiber optical probe geometry and main properties are shown on the fig. 3. It should be mentioned that the light losses were no more than 10%. Maximum output power was 30 mW, estimated losses on the output of the multifiber probe less than 3 mW.

Sketch of the optical biopsy probe is presented on the fig. 2.

### Conformity of the multifiber probe and the optical biopsy probe

First of all, we need to state that we specially use the multifiber probe instead of the optical biopsy probe, because the first one has several SDS whose contribution into signal could be analyzed separately, which is not the case for the biopsy probe, which has more complicated form of the detecting fiber. This special type of aligned



**Fig. 3.** The multifiber optical probe used in the experiment:

- a – a profile of single fiber;
- b – the whole multifiber optical probe geometry

**Рис. 3.** Многоволоконный оптический зонд:

- a – профиль единичного волокна;
- b – геометрия многоволоконного оптического зонда

fiber-detector was specially developed for stereotactic biopsy procedure, which needs the illumination of probing tissue. The multifiber probe is used for the superficial measurements and could be only partly compared to the optical biopsy probe, which is used while penetrating in the brain tissue during the biopsy procedure. In this investigation, our goal is simply to obtain a better biopsy specimen for pathological analysis, that is why we can only compare the two probes, as the multifiber probe shows the contribution of smaller parts of the optical biopsy probe.

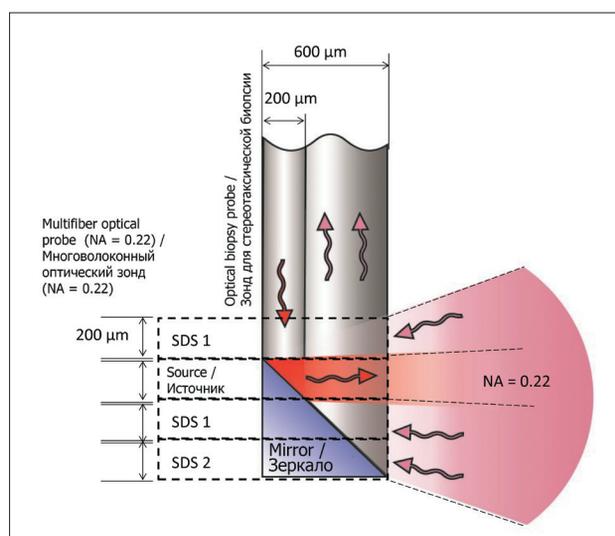
The configuration of the optical biopsy probe is different from the one of the multifiber probe used for the measurements, thus it is needed to get the detailed comparison of the spectra which are obtained by both probes. To understand the contribution of fluorescent signal and diffuse reflected signal to spectra obtained by stereotactic biopsy cannula, we first compare the areas from which both devices receive signal. It could be done by analyzing the «banana»-shaped regions. On the fig. 4 there is a schematic representation of the probes fibers conformity.

The fibers used in both probes has the same numerical aperture ( $NA = 0.22$ ). However, the detector-fiber in the optical biopsy probe is oblique and its diameter is  $600 \mu\text{m}$ . Its probing area corresponds twice to the first SDS and once to second SDS of the multifiber probe. When the optical biopsy probe is in the tumor area, SDS are:

1. Fiber №10 – Fiber №3 equals  $260.8 \mu\text{m}$ ,
2. Fiber №31 – Fiber №15 equals  $343.6 \mu\text{m}$ .

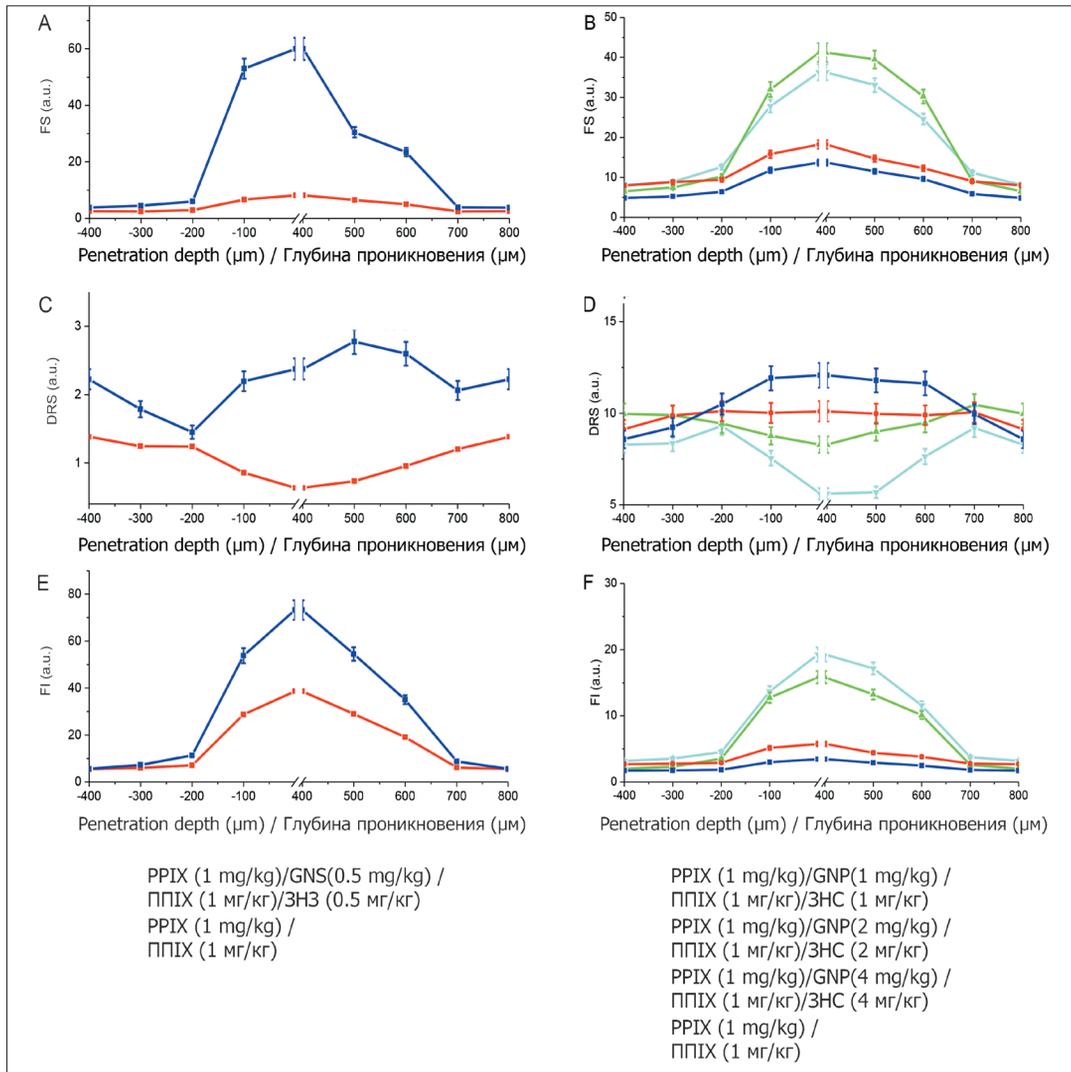
However, when a tissue is examined with optical biopsy probe, it means that the multifiber probe first gains the signal with the fiber placed on the second SDS ( $344 \mu\text{m}$ ).

Then the fiber placed on the first SDS ( $261 \mu\text{m}$ ) starts to contribute in the signal of the cannula which is now represented by the sum of signals from both SDS. Afterwards the signal from the first SDS ( $344 \mu\text{m}$ ) is doubled and the signal collected by the optical biopsy probe is affected by the doubled signal from fiber placed at the first SDS and one from the fiber placed at the second SDS ( $261 \mu\text{m}$ ). Even though the probes are placed differently according to the bottom-layer as it is indicated on the fig. 2 we still



**Fig. 4.** Conformity between the multifiber probe used in the experiment and the stereotactic biopsy cannula numerical apertures. Dotted lines represent the fibers of a multifiber optical probe

**Рис. 4.** Соответствие апертур многоволоконного зонда, используемого в эксперименте, и зонда для стереотаксической биопсии. Пунктирными линиями показаны волокна многоволоконного оптического зонда



**Fig. 5.** Influence of concentration and penetration depth on DRS (A, B), FS (C, D) and FI (E, F). Left column is for phantom with GNS, right – phantom with GNP

**Рис. 5.** Влияние концентрации и глубины проникновения на диффузионно-рассеянный сигнал DRS (A, B), флуоресцентный сигнал FS (C, D) и индекс флуоресценции FI (E, F). Левая колонка – фантом с золотыми нанозвездами (ЗНЗ), правая – с золотыми наносферами (ЗНС)

can derive the signal, which is obtained when the optical biopsy probe is going out from a tumor. Hereby now the fiber places at the first SDS is leaving the tumor but the major part of 'banana'-shaped region remains in a tumor.

Thus, when the fluorescent signal is gathered by multifiber probe it means that optical biopsy probe is 100  $\mu\text{m}$  deep according to the scheme and principle of photons' most probable paths estimation, described elsewhere [19]. Keeping in mind the fig. 2 and yellow areas bordered with red line we say that these areas give the same contribution in diffuse reflected and fluorescence spectra of both probes, however different by absolute value.

## Results and discussion

We used glass round cuvette with diameter 10 mm for preparation of phantoms. 3.5  $\mu\text{l}$  of NP were added to 3 ml

of water, gold density was 19.3 g/ml. Then, number of particles per cubic  $\mu\text{m}$  was estimated  $3.24 \cdot 10^{-3}$ . The measured hydrodynamic diameter of the GNP was 14 nm, GNS – 50 nm. It should be noticed that concentration of 1 mg/kg of GNP gives around 790 particles per  $100 \times 100 \times 100 \mu\text{m}^3$ , 0.5 mg/kg of GNS – around 395; PPIX concentration of 1 mg/kg –  $1.07 \cdot 10^9$  particles per same volume.

The group of scientists proposed equation to define the nanoparticle diameter [20]. According to their results, the GNP size was determined as  $13.0 \pm 1.4$  nm, what corresponds with the result of PCS measurements, which gave  $14.0 \pm 1.2$  nm diameter. For GNS the equation does not applicable due to their nonspherical form, electron microscopy shows that the particles are around 50 nm in size.

Spectroscopic studies can be carried out using both a multifiber optical probe and an optical biopsy probe.

To compare spectroscopic signals from these devices, one must take into account their internal structure. Make the necessary changes in the calculation based on SDS detectors.

The obtained spectra were analyzed separately by the following parameters:

1. Diffuse-Reflected Signal (DRS);
2. Fluorescent Signal (FS);
3. Fluorescence Index (FI),  $FI = FS/DRS$ ,

where DRS is an area under the spectrum curve in diffuse-reflected laser range wavelength, FS is an area under the spectrum curve in fluorescence range wavelength.

The results are obtained with multifiber optical probe and presented on the fig. 5. Zero corresponds to the border between top and bottom layers, the break from 0 to 400  $\mu\text{m}$  corresponds to thickness of the bottom-layer, which we chose to be 400  $\mu\text{m}$ , the signal is constant, thus we put a break on the graphs.

The left column of graphs, A, C, E represents FS, DRS and FI, respectively, while exciting with 632.8 nm the phantoms, containing GNS (0, 0.5 mg/kg) and PPIX 1 mg/kg.

The right column of graphs, B, D, F represents FS, DRS and FI, respectively, while exciting with 532 nm the phantoms, containing GNP (0, 1, 2, 4 mg/kg) and PPIX 1 mg/kg.

The main difference observed for phantoms containing PPIX without NP – the higher FI while exciting with longer wavelength, even though the absorption of PPIX on 632.8 nm and emission on 705 nm are lower than absorption on 532 nm and consequent emission on 635 nm. It could be explained with reabsorption of 635 nm due to PPIX presence, with higher scattering on lower wavelengths, thus even though the fluorescing centers (PPIX molecules) are excited more efficiently with lower wavelength, the volume excited by longer wavelength is higher, according to scattering and absorption properties of phantoms. From this, we can conclude that the 632.8 nm excitation is more efficient for optical biopsy.

By the character of the curves we can conclude from which part of the brain the biopsy is taken:

- if the signal is constant (FS, DRS or FI) – the biopsy probe would be taken from the tumor itself,
- while the biopsy probe approaching a tumor the FS and FI start to increase, however the character of decrease while going out of a tumor is different, as the main contribution is given by the second SDS, which is first to approach a tumor and the first to leave it.
- both types of NP showed change in the parameters analyzed less than 300  $\mu\text{m}$  away from the border between two layers while the optical biopsy probe approaching it and less than 100  $\mu\text{m}$  away from the border while the probe is leaving the layer containing NP.

GNS are drastically changing DRS, FS and consequently FI in comparison with pure PPIX phantoms. We can con-

clude that FS quenching occurs with efficiency from 1.5 to 8 times. When the optical biopsy probe approaches a tumor containing these NP, they start to absorb and scatter the light, but as it is seen from DRS increase due to presence of GNS (fig. 5C) – the light is mostly scattered which is due to big size of GNS.

Another set of phantoms containing GNP in different concentrations (1, 2, 4 mg/kg) being excited close to maximum of transmission showed increase in FS (fig. 5B) and decrease in DRS (fig. 5D). Decrease in DRS is explained due higher absorption to scattering rate of 14 nm size GNP. This resulted in higher FI: from 1 to 3.5 times for phantoms containing GNP according to pure phantoms (fig. 5F). The highest concentration of GNP 4 mg/kg was almost comparable with pure phantoms, the difference observed is no more than 20%, however for 2 mg/kg of GNP, the difference in FI is from 1.8 to 8 times higher and the closer the optical biopsy probe is to the border, the higher is difference between phantoms containing and not containing GNP.

## Conclusion

The working ranges of the photosensitizer PPIX used in the clinical practice were investigated. We used the GNP to increase of the absorption in the 532 nm wavelength region, and GNS to increase the fluorescence in the 705 nm wavelength region. Both the multifiber optical probe and an optical biopsy probe can be used to register spectroscopic signals on the boundary of media. The multifiber optical system allows modeling other fiber spectroscopic systems, as well as interpreting spectroscopic data from them in various clinical cases.

GNP concentration of 2 mg/kg appeared to be the most effective in energy transfer from GNP to PPIX molecules when it is excited to extinction peak of GNP and absorption peak of PPIX simultaneously thus increasing FI up to 6 times according to the concentration. Thus, we showed that red laser excitation is more efficient than green one, however in vicinity of small gold NP (14 nm) of sufficiently low concentration (1–2 mg/kg) gives fluorescent signal enhancement, while big nanostars (50 nm) in lower concentration (0.5 mg/kg) are already quenching fluorescent signal.

The results obtained allow determining location of the biopsy optical probe during the stereotactic biopsy procedure.

*The work was conducted in the frame of co-supervised PhD thesis between the University of Lorraine, CRAN-CNRS (France, Nancy) and GPI RAS (Russia, Moscow). Kholodtsova M. would like to acknowledge the financial support for PhD grant from Conseil Regional de Lorraine and French Embassy in Moscow.*

*This work was supported by Russian Ministry of Education and Science [grant number RFMEFI61615X0064].*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Champion J., Katare Y., Mitragotri S. Particle shape: A new design parameter for micro- and nanoscale drug delivery carriers // *Journal of Controlled Release*. – 2007. – Vol. 121. – P. 3–9.
2. Weibo C., Ting G., Hao H., Sun J. Applications of gold nanoparticles in cancer and nanotechnology // *Nanotechnology, Science and Applications*. – 2008. – № 1. – P. 17–32.
3. Bohren C., Huffman D. *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. – Wiley, VCH Verlag GmbH, 1998. – 545 p.
4. Cihan C., Arifler D. Influence of phase function on modeled optical response of nanoparticle-labeled epithelial tissues // *Journal of Biomedical Optics*. – 2011. – Vol. 16(8). – 085002.
5. Потопов А.А., Гаврилов А.Г., Горяйнов С.А. и др. Способ проведения интраоперационной комбинированной спектроскопической диагностики опухолей головного и спинного мозга Simultaneous parenchymal organ biopsy and spectroscopic inspection device. – Патент РФ №2497558, 2013. – 16 с.
6. Markwardt N.A., Haj-Hosseini N., Hollnburger B., et al. 405 nm versus 633 nm for protoporphyrin IX excitation in fluorescence-guided stereotactic biopsy of brain tumors // *Journal of Biophotonics*. – 2015. – Vol. 9(9). – P. 901–912.
7. Blondel W.C., Ghribi M., Leroux A., et al. Spectral features selection and classification for bimodal optical spectroscopy applied to bladder cancer in vivo diagnosis // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 2014. – Vol 61(1). – P. 207–216.
8. Rick K., Sroka R., Stepp H., Kriegmair M., et al. Pharmacokinetics of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin ix in skin and blood // *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*. – 1997. – Vol. 40(3). – P. 313–319.
9. Wuihschick M., Birnbaum A., Witte S., et al. Turkevich in new robes: Key questions answered for the most common gold nanoparticle synthesis // *ACS Nano*. – 2015. – Vol. 9(7). – P. 7052–7071.
10. Hrelescu C., Sau T.K. Selective excitation of individual plasmonic hotspots at the tips of single gold nanostars // *Nano Letters*. – 2011. – Vol. 11. – P. 402–407.
11. Scaffard L., Tocho J. Size dependence of refractive index of gold nanoparticles // *Nanotechnology*. – 2006. – Vol. 17. – P. 1309–1315.
12. Kholodtsova M., Samsonova I., Blondel W., Loschenov V. Metal nanoparticles of different shapes influence on optical properties of multilayered biological tissues // *Proceedings of SPIE*. – 2015. – Vol. 9542. – 954205.
13. Kang K., Wang J., Jasinski J., Achilefu S. Fluorescence manipulation by gold nanoparticles: From complete quenching to extensive enhancement // *Journal of Nanobiotechnology*. – 2011. – Vol. 9. – P. 16.
14. Ninni P.D., Martelli F., Zaccanti G. The use of India Ink in tissue-simulating phantoms // *Optics Express*. – 2010. – Vol. 18(26). – P. 26854–26865.
15. Ninni P.D., Martelli F., Zaccanti G. Intralipid: towards a diffusive reference standard for optical tissue phantoms // *Physics in Medicine and Biology*. – 2011. – Vol. 56. – P. 21–28.
16. Flock S.T., Jacques S.L., Wilson B.C., et al. Optical properties of intralipid: A phantom medium for light propagation studies // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 1992. – Vol. 12(5). – P.510–519.
17. Yaroslavsky N., Schulze P., Yaroslavsky I.V., et al. Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues in vitro in the visible and near infrared spectral range // *Physics in Medicine and Biology*. – 2002. – Vol. 47(12). – P. 2059–2073.
18. Bashkatov, A., Genina, E., Tuchin, V., Optical properties of skin, subcutaneous, and muscle tissues: a review // *Journal of Innovative Optical Health Science*. – 2011. – Vol. 04(01). – P.9–38.
19. Kholodtsova M.N., Grachev P.V., Savelieva T.A., et al. Scattered and fluorescent photon track reconstruction in a biological tissue // *International Journal of Photoenergy*. – 2014. – 517510.
20. Haiss W., Thanh N., Aveyard J., Fernig, D. Determination of size and concentration of gold nanoparticles from uv-vis spectra // *Analytical Chemistry*. – 2007. – Vol. 79. – P.4215–4221.

## REFERENCES

1. Champion J., Katare Y., Mitragotri S. Particle shape: A new design parameter for micro- and nanoscale drug delivery carriers, *Journal of Controlled Release*, 2007, Vol. 121, pp. 3–9.
2. Weibo C., Ting G., Hao H., Sun J. Applications of gold nanoparticles in cancer and nanotechnology, *Nanotechnology, Science and Applications*, 2008, No. 1, pp. 17–32.
3. Bohren C., Huffman D. *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. Wiley, VCH Verlag GmbH, 1998. 545 p.
4. Cihan C., Arifler D. Influence of phase function on modeled optical response of nanoparticle-labeled epithelial tissues, *Journal of Biomedical Optics*, 2011, Vol. 16(8), 085002.
5. Potapov A.A., Gavrilov A.G., Goryaynov S.A., Zelenkov P.V., Gol'bin D.A., Savel'eva T.A. et al. *Sposob provedeniya intraoperatsionnoy kombinirovannoy spektroskopicheskoy diagnostiki opukholey golovnogo i spinnogo mozga* [Simultaneous parenchymal organ biopsy and spectroscopic inspection device]. Patent RF no. 2497558, 2013. 16 p.
6. Markwardt N. A., Haj-Hosseini N., Hollnburger B., Stepp, H., Zelenkov, P., Ruhm A. 405 nm versus 633 nm for protoporphyrin IX excitation in fluorescence-guided stereotactic biopsy of brain tumors, *Journal of Biophotonics*, 2015, Vol. 9(9), pp. 901–912.
7. Blondel W.C., Ghribi M., Leroux A., Pery E., Tindel S. Spectral features selection and classification for bimodal optical spectroscopy applied to bladder cancer in vivo diagnosis, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 2014, Vol 61(1), pp. 207–216.
8. Rick K., Sroka R., Stepp H., Kriegmair M., Huber R.M., Jacob K., Baumgartner R. Pharmacokinetics of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin ix in skin and blood, *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*, 1997, Vol. 40(3), pp. 313–319.
9. Wuihschick M., Birnbaum A., Witte S., Sztucki M., Vainio U., Pinna N., Rademann K., Emmerling F., Kraehnert R., Polte J. Turkevich in new robes: Key questions answered for the most common gold nanoparticle synthesis, *ACS Nano*, 2015, Vol. 9(7), pp. 7052–7071.
10. Hrelescu C., Sau T.K. Selective excitation of individual plasmonic hotspots at the tips of single gold nanostars, *Nano Letters*, 2011, Vol. 11, pp. 402–407.
11. Scaffard L., Tocho J. Size dependence of refractive index of gold nanoparticles, *Nanotechnology*, 2006, Vol. 17, pp. 1309–1315.
12. Kholodtsova M., Samsonova I., Blondel W., Loschenov V. Metal nanoparticles of different shapes influence on optical properties of multilayered biological tissues, *Proceedings of SPIE*, 2015, Vol. 9542, 954205.
13. Kang K., Wang J., Jasinski J., Achilefu S. Fluorescence manipulation by gold nanoparticles: From complete quenching to extensive enhancement, *Journal of Nanobiotechnology*, 2011, Vol. 9, p. 16.
14. Ninni P.D., Martelli F., Zaccanti G. The use of India Ink in tissue-simulating phantoms, *Optics Express*, 2010, Vol. 18(26), pp. 26854–26865.
15. Ninni P.D., Martelli F., Zaccanti G. Intralipid: towards a diffusive reference standard for optical tissue phantoms, *Physics in Medicine and Biology*, 2011, Vol. 56, pp. 21–28.
16. Flock S.T., Jacques S.L., Wilson B.C., Star W.M., van Gemert M.J. Optical properties of intralipid: A phantom medium for light propagation studies, *Lasers in Surgery and Medicine*, 1992, Vol. 12(5), pp. 510–519.
17. Yaroslavsky N., Schulze P., Yaroslavsky I.V., Schober R., Ulrich F., Schwarzmair H.J. Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues in vitro in the visible and near infrared spectral range, *Physics in Medicine and Biology*, 2002, Vol. 47(12), pp. 2059–2073.
18. Bashkatov, A., Genina, E., Tuchin, V., Optical properties of skin, subcutaneous, and muscle tissues: a review, *Journal of Innovative Optical Health Science*, 2011, Vol. 04(01), pp. 9–38.
19. Kholodtsova M.N., Grachev P.V., Savelieva T.A., Kalyagina N.A., Blondel W., Loschenov V.B. Scattered and fluorescent photon track reconstruction in a biological tissue, *International Journal of Photoenergy*, 2014, 517510.
20. Haiss W., Thanh N., Aveyard J., Fernig, D. Determination of size and concentration of gold nanoparticles from uv-vis spectra, *Analytical Chemistry*, 2007, Vol. 79, pp. 4215–4221.

# ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ЛАЗЕРНОЙ ФОТОНИКИ В ОРТОПЕДИЧЕСКОЙ СТОМАТОЛОГИИ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОГО БЕСКОНТАКТНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ОБЪЕМНЫХ МИКРОДЕФОРМАЦИЙ КОСТНЫХ ТКАНЕЙ

М.А. Гросманн<sup>1</sup>, А.И. Ларкин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Страсбургский университет им. Луи Пастера, Страсбург, Франция

<sup>2</sup>Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Москва, Россия

## Резюме

Современные методы лазерной фотоники, позволяющие бесконтактно с высокой чувствительностью измерять динамику микродеформаций объемных объектов, находят все более широкое применение в самых разнообразных областях. Особенно привлекательно применение такой деликатной, не возмущающей объект методики в медицине. Цель настоящей работы – обосновать возможность и целесообразность применения лазерной фотоники в ортопедической стоматологии для неинвазивного бесконтактного исследования объемных микродеформаций костной ткани. В статье приведены результаты экспериментов с использованием методов лазерной фотоники в стоматологической имплантологии, позволивших дать практические медицинские рекомендации. В частности, в работе проведено исследование возможностей методов голографической и спекл-интерферометрии для измерения деформирования костной ткани челюсти при пошаговой установке мини-имплантов цилиндрической и конической формы. Продемонстрирована возможность определения времени релаксации деформаций после установки мини-имплантов.

**Ключевые слова:** лазерная фотоника, стоматологическая имплантология, спекл-эффект, голографическая интерферометрия.

**Для цитирования:** Гросманн М.А., Ларкин А.И. Применение методов лазерной фотоники в ортопедической стоматологии для неинвазивного бесконтактного исследования объемных микродеформаций костной ткани // *Biomedical Photonics*. – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 13–18. doi: 10.24931/2413-9432-2018-7-2-13-18.

**Контакты:** Ларкин А.И., e-mail: alexlarkin16@gmail.com

## APPLICATION OF LASER PHOTONICS METHODS IN ORTHOPEDIC DENTISTRY FOR NON-INVASIVE NON-CONTACT EXAMINATION OF BULK MICRO-DEFORMATIONS OF BONE TISSUE

Grossmann M.A.<sup>1</sup>, Larkin A.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Louis Pasteur University of Strasbourg, Strasbourg, France

<sup>2</sup>National Nuclear Research University MEPhI, Moscow, Russia

## Abstract

Modern methods of laser photonics, which make it possible to measure the dynamics of micro-deformations of volumetric objects without contact and with high sensitivity, find increasing application in a wide variety of fields. Particularly attractive is the use of such a delicate, non-perturbing technique in medicine. The article reports on experiments using laser photonics methods in dental implantology, which allowed to give practical medical recommendations. In the work, a study was made of the possibilities of holographic and speckle interferometry methods for measuring the deformation of the jaw bone tissue with a step-by-step installation of cylindrical and conical mini implants. The possibility of determining the relaxation time of deformations after the installation of mini implants was demonstrated. The purpose of this work is to justify the possibility and feasibility of using laser photonics to solve this medical problem.

**Keywords:** laser photonics, dental implantology, speckle effect, holographic interferometry.

**For citation:** Grossmann M.A., Larkin A.I. Application of laser photonics methods in orthopedic dentistry for non-invasive non-contact examination of bulk micro-deformations of bone tissue, *Biomedical Photonics*, 2018, T. 7, No. 2, pp. 13–18. (in Russian). doi: 10.24931/2413-9432-2018-7-2-13-18.

**Contacts:** Larkin A.I., e-mail: alexlarkin16@gmail.com

## Введение

Лечение больных с полной утратой зубов по-прежнему остается одной из актуальных проблем ортопедической стоматологии. На данный момент, обеспеченность населения пожилого возраста протезами составляет 44%, из которых лишь 50% пациентов удовлетворены их качеством, а 25% – вовсе ими не пользуются. Причинами, не позволяющими адаптироваться к съемным пластиночным протезам, является их слабая фиксация в полости рта и дискомфорт или боль, проявляющиеся при их ношении. Наиболее остро стоит проблема крепления съемных пластиночных протезов у пациентов с полной утратой зубов и резкой формой атрофии альвеолярного отростка. Предложено много методов фиксации протезов на беззубых челюстях: механические, хирургические, физические, включая использование эластичных подкладок, адгезивных гелей, порошков, пленок и т.д., – однако радикальное решение данной проблемы дает только имплантология. В связи с этим становится актуальной проблема неинвазивного бесконтактного исследования объемных микродеформаций костной ткани в процессе внедрения импланта в челюсть пациента. Для решения таких задач ортопедической стоматологии, как исследование степени деформации костной ткани челюсти и истирания протеза, а также смещения зубов, целесообразно привлечение современных методов когерентной лазерной фотоники.

## Материалы и методы

Использование методик лазерной фотоники позволяет проводить бесконтактные измерения полей перемещения объемных диффузных объектов с чувствительностью до долей длины волны излучения лазера.

Голографическая интерферометрия позволяет получить информацию о полных векторах перемещений точек поверхности деформируемого тела, но в отличие от классической, она позволяет работать с объемными диффузно рассеивающими объектами [1,2]. В голографической интерферометрии интерференционные полосы могут быть локализованными. Это обстоятельство существенно усложняет интерпретацию голографических интерферограмм – определение компонент вектора перемещения точки поверхности деформируемого тела по картине полос. Большинство методов голографической интерферометрии изучает только форму полос на интерференционной картине, в то время как контраст полос и положение области их локализации также связаны с изменениями, происшедшими с объектом между экспозициями.

Корреляционная спекл-интерферометрия представляет собой класс измерительных методов, в которых происходит когерентное сложение поля, имеющего спекл-структуру, с плоской опорной волной или с другим полем, имеющим спекл-структуру [3,4]. Добав-

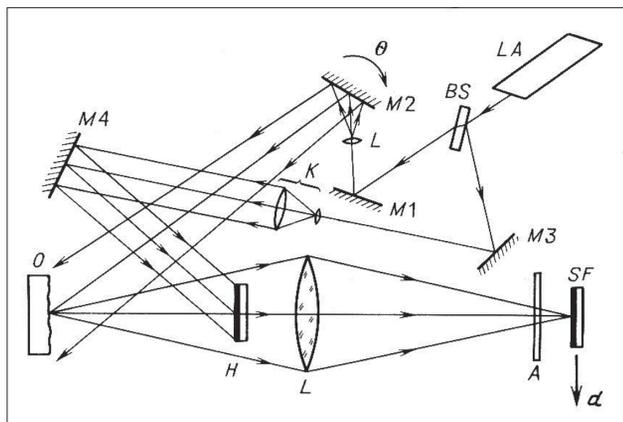
ление опорной волны приводит к существенным изменениям в поведении картины спеклов при перемещении объекта в направлении к наблюдателю или от него. Чувствительность этого метода сравнима с чувствительностью голографической интерферометрии. Основные преимущества спекл-интерферометрии заключаются в снижении требований к механической стабильности элементов системы и когерентности лазерного излучения, легко перенастраиваемой чувствительности, простоте измерения смещений и возможности компьютерной обработки результатов.

По сравнению с голографическими методами, требования к разрешающей способности регистрирующей среды в методе корреляционной спекл-интерферометрии оказываются менее жесткими. Это связано с требованием обеспечить разрешение только спекл-структуры, которое может существенно превышать длину волны лазера, а не тонкой структуры полос, возникающих на голограмме в результате интерференции предметной и опорной волн. Характерный размер спекла  $b_s$ , определяется длиной волны излучения лазера  $\lambda$ , апертурой  $D$  и фокусным расстоянием линзы  $f$

$$b_s \approx 1,22 \cdot \lambda \cdot \frac{f}{D} .$$

Типичные минимальные размеры спеклов лежат в пределах 1–100 мкм, поэтому для записи спекл-структуры можно использовать стандартную видеокамеру. Таким образом, для получения картины спекл-корреляционных полос наряду с фотографией можно использовать видеозапись. Отличительной особенностью метода электронной спекл-интерферометрии является то, что он позволяет выводить динамическую картину корреляционных полос непосредственно на экран дисплея, минуя этап фоторегистрации. Электронная спекл-интерферометрия позволяет создать автоматизированную систему регистрации полей перемещений с последующей обработкой данных на компьютере.

Изменение микрорельефа поверхности тела при регистрации голографических и спекл-интерферограмм приводит к уменьшению контраста интерференционных полос вплоть до их полного исчезновения. В голографической интерферометрии изменение микрорельефа поверхности тела приводит к декорреляции восстановленных световых волн, в результате чего контраст полос уменьшается. В спекл-фотографии, наиболее распространенном методе спекл-интерферометрии, изменение микрорельефа поверхности тела приводит к декорреляции спекл-структур изображения поверхности тела, в результате чего контраст полос Юнга уменьшается. Таким образом, исследование закономерностей регистрации го-



**Рис. 1.** Оптическая схема одновременной регистрации голографических интерферограмм и спекл-фотографий: LA – лазер, BS – делитель пучка, K – коллиматор, M1, M2, M3 и M4 – зеркала, L – объектив, O – объект, A – экран, H – голограмма, SF – спекл-фотография

**Fig. 1.** Optical scheme for simultaneous recording of holographic interferograms and speckle photographs: LA – laser, BS – beam splitter, K – collimator, M1, M2, M3 and M4 – mirrors, L – lens, O – object, A – screen, H – hologram, SF – speckle photo

логографических и спекл-интерферограмм при случайном изменении микрорельефа или смещения поверхности тела дает возможность использовать эти методы для изучения различного типа взаимодействий между твердыми телами. Для изучения релаксации деформаций при установке в костную ткань мини-имплантов регистрируются двухэкспозиционные голограммы костной ткани вблизи места установки в различные моменты времени с одинаковым интервалом времени между экспозициями. В результате обработки голографических и спекл-интерферограмм получают зависимости перемещения по высоте тела челюсти для каждого из выбранных шагов вкручивания импланта.

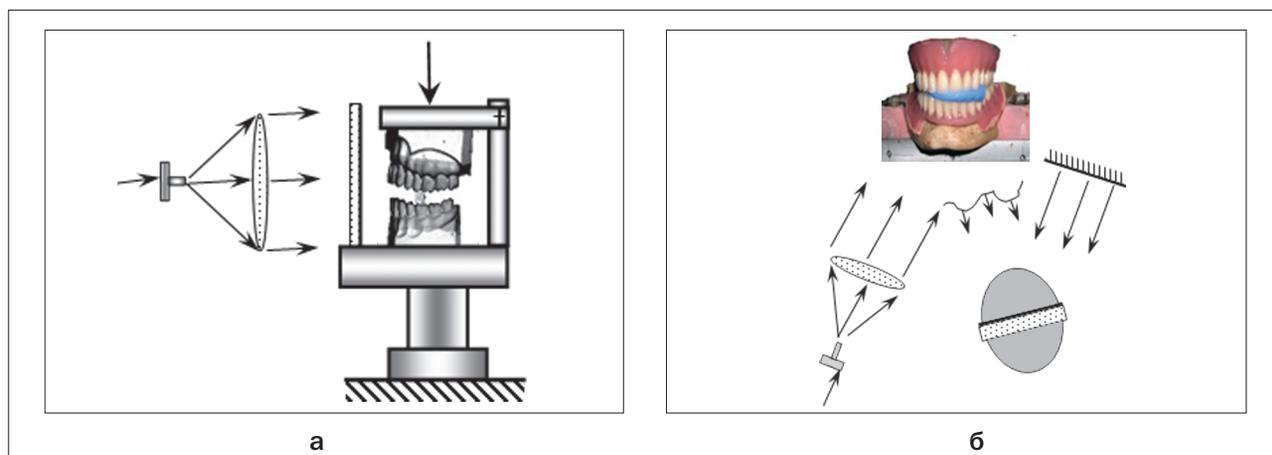
Сравнивая результаты измерения перемещений точек костной ткани челюсти с целым зубным рядом и с протезом, можно оценить работоспособность и качество конкретного вида протеза.

Для проведения экспериментальных исследований разработано универсальное устройство, позволяющее совместить методы голографической интерферометрии и электронной спекл-интерферометрии (рис. 1).

В системах, основанных на регистрации отражательных голограмм, использованы две оптические схемы: с креплением фотопластинки на объекте исследования (рис. 2а), либо с креплением фотопластинки вне объекта исследования (рис. 2б). Первая схема эффективна в тех случаях, когда требуется определение только деформационных перемещений. Жесткие смещения челюсти, как целого, исключаются автоматически. Вторая схема позволяет зарегистрировать деформационные перемещения на фоне жестких смещений – трансляций и поворотов. При исследовании перемещений костной ткани челюсти и зубов может использоваться либо одна, либо другая схема. Отраженный зеркалом лазерный луч расширяется микрообъективом, установленным в фокусе линзы. Сформированная линзой плоская волна освещает исследуемый объект. Рассеянный объектом свет формирует предметную голографическую волну.

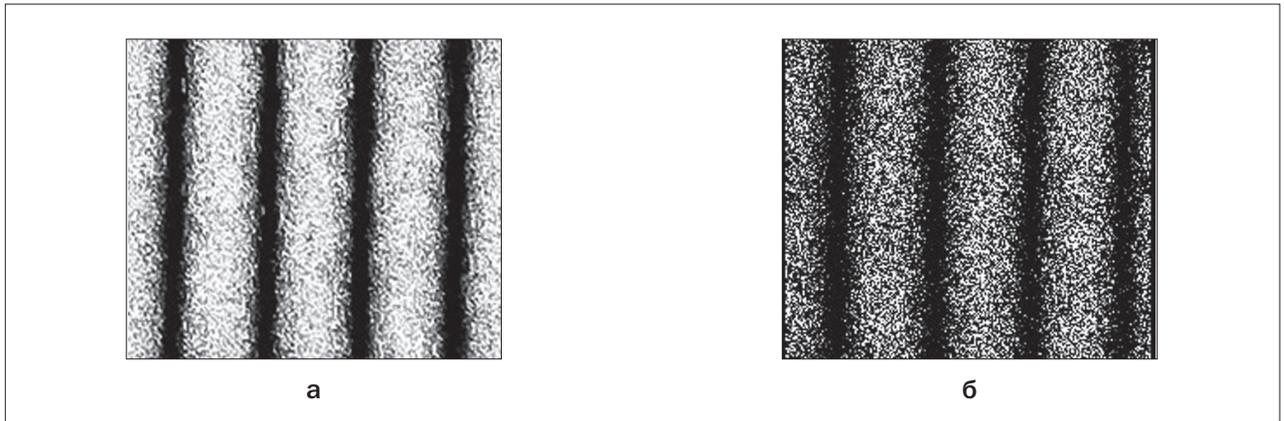
Интерференционные полосы в голографической схеме Лейта и Упатниекса и цифровой спекл-интерферометрии промодулированы спекл-шумом. На рис. 3а приведена увеличенная голографическая интерферограмма, на которой хорошо видна спекл-структура, а на рис. 3б – картина полос, полученная методом цифровой спекл-интерферометрии.

Спеклы модулируют распределение интенсивности света в интерференционной картине, в результа-



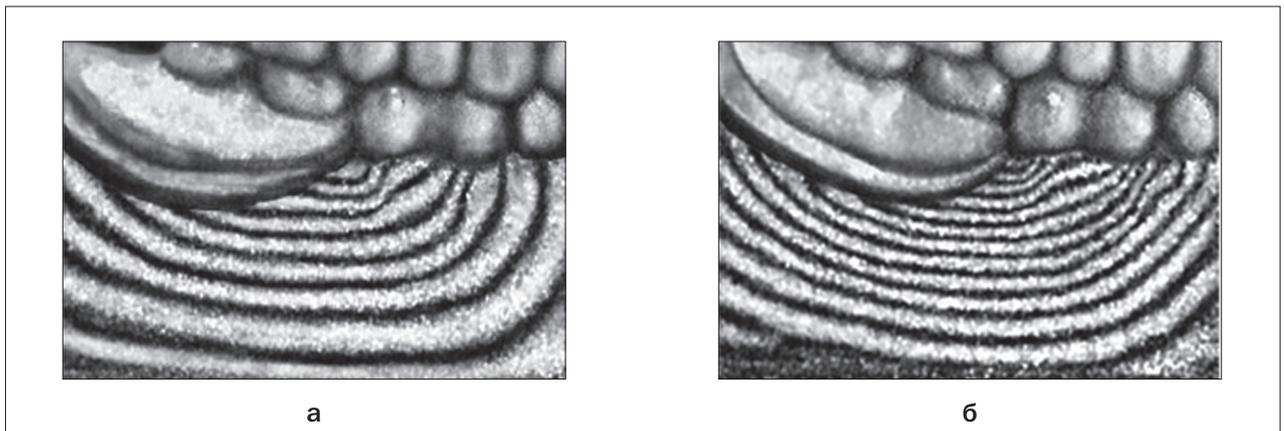
**Рис. 2.** Голографические схемы:  
 а – регистратор закреплен на исследуемом объекте;  
 б – регистратор закреплен отдельно от объекта

**Fig. 2.** The holographic schemes:  
 а – with photographic plate fixed together with the studied object;  
 б – with photographic plate fixed separately from the studied object



**Рис. 3.** Картина интерференционных полос:  
 а – метод голографической интерферометрии;  
 б – метод цифровой спекл-фотографии

**Fig. 3.** Fringe patterns obtained by:  
 а – holographic interferometry method;  
 б – digital speckle photography method



**Рис. 4.** Спекл-интерферограмма малого седловидного протеза:  
 а – с жестким креплением;  
 б – с полулабильным креплением

**Fig. 4.** Speckle interferogram of a small saddle prosthesis:  
 а – with a rigid denture;  
 б – with a semi-fixed denture

те чего усложняется задача идентификации центров полос, которые используются непосредственно при определении перемещений. Задача устранения спекл-шума является одной из основных при автоматизации измерений методами голографической и цифровой спекл-интерферометрии. Распределение интенсивности света в интерференционной картине носит случайный характер, что позволяет предложить следующий алгоритм, ограничивающий влияние спекл-шума на картину интерференционных полос:

- картина интерференционных полос, полученная описанными методами фотоники, с помощью цифровой камеры оцифровывается и вводится в компьютер;
- на картине полос, промодулированных спекл-шумом, выбирается определенное направле-

ние и осуществляется сканирование интерференционной картины;

- параллельно выбранному исходному сечению производится сканирование интенсивности в нескольких сечениях, расстояние между которыми превышает средний размер спекла;
- распределения интенсивностей, полученные по этим сечениям, усредняются, в результате спекл-шум устраняется и представляется возможным определить центры интерференционных полос.

В результате этот алгоритм обработки позволяет описать перемещения при исследовании деформирования костной ткани челюсти при вкручивании в него импланта.

В наших экспериментах использовался аргоновый лазер, позволяющий при мощности непрерывного

излучения около 100 мВт и временной когерентности порядка 10 см, реализовывать чувствительность измерений до 0,2 мкм. В настоящее время разработаны полупроводниковые лазеры, имеющие такие же мощностные и когерентные параметры, что открывает возможность получения аналогичных медицинских результатов при использовании более компактной и дешевой аппаратуры. В качестве приемников излучения использовались стандартные видеокамеры.

Экспериментальные исследования были проведены на мини-имплантах диаметром 1,8 мм цилиндрической и конической формы, изготовленных из титана. Длина мини-имплантов выбиралась исходя из размеров подбородочного отдела нижней челюсти и равнялась 10 мм для монокортикальной фиксации.

### Результаты и обсуждение

Следующие иллюстрации демонстрируют вид результирующих интерферограмм для конкретных медицинских ситуаций.

На рис. 4 изображены спекл-интерферограммы, полученные при исследовании характера и степени деформирования кости нижней челюсти под малым седловидным протезом с жесткой (рис. 4а) или полулабильной (рис. 4б) фиксацией. Исследованы несколько вариантов клинических ситуаций, в том числе, при различном состоянии парадонта опорных зубов, при различном состоянии податливости слизистой оболочки протезного ложа, при различных типах альвеолярного гребня.

На рис. 5. изображена спекл-фотография исследования пластиночных зубных протезов на предмет выявления микротрещин. Сравнительный эксперимент позволил выявить достоинства и недостатки двух конструкций протеза, а также сформулировать показания к их применению и разработать оригинальную

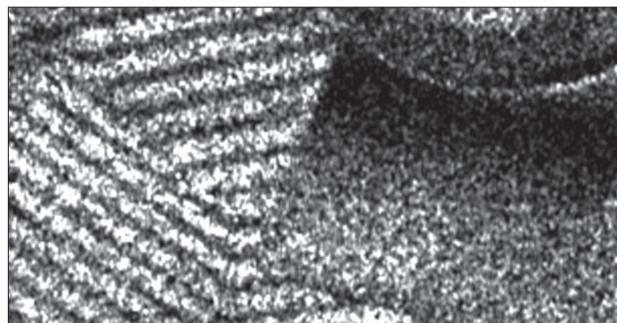


Рис. 5. Спекл-интерферограмма обнаружения трещин в пластиночном протезе

Fig. 5. Speckle interferogram detection of cracks in the plate prosthesis

методику для оценки срока службы пластиночных протезов.

Далее приведены интерферограммы, полученные при исследовании методом голографической интерферометрии характера и степени деформирования кости нижней челюсти под мостовидным зубным протезом с жесткой (рис. 6а) и шарнирной фиксацией (рис. 6б). Сравнительный эксперимент позволил выявить достоинства и недостатки двух конструкций протеза.

При изучении релаксации деформаций при установке в костную ткань мини-имплантов регистрировались двухэкспозиционные голограммы [5] костной ткани с одинаковым интервалом времени между экспозициями (рис. 7). Эти результаты показывают, что предпочтительными оказываются мини-импланты цилиндрической формы.

Общая картина деформирования костной ткани при установке мини-импланта получается в результате суммирования результатов измерения деформаций. Полу-

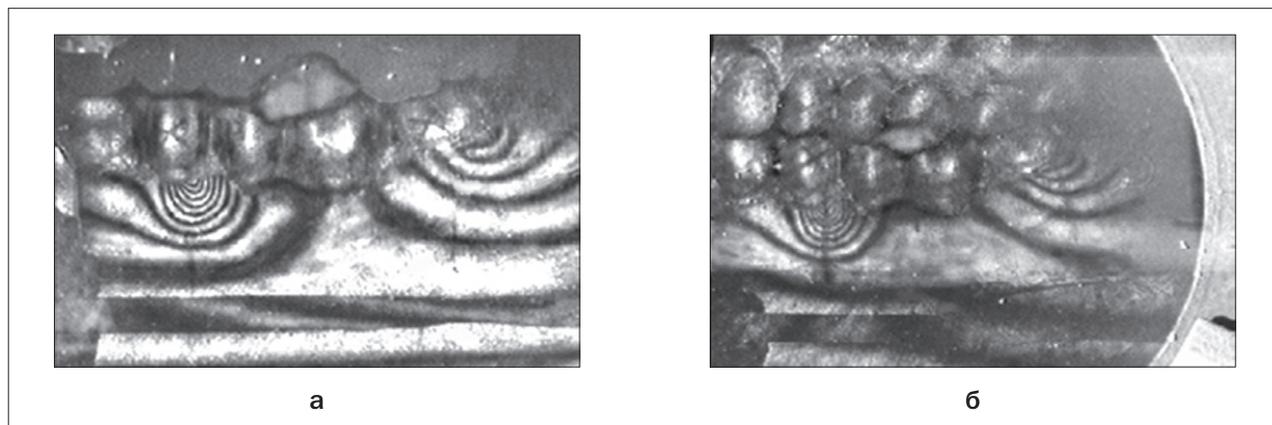
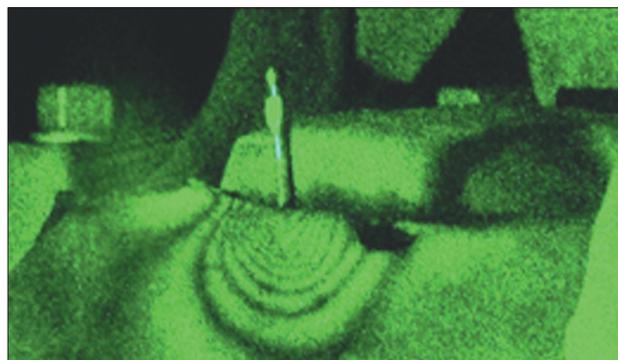


Рис. 6. Голографическая интерферограмма мостовидного протеза:

а – с жестким креплением;  
б – с шарнирным креплением

Fig. 6. Holographic interferogram of a bridge:

а – with a rigid denture;  
б – with a hinged denture



**Рис. 7.** Интерферограммы, характеризующие релаксацию деформаций костной ткани, интервал между экспозициями – 2 мин  
**Fig. 7.** Interferograms characterizing the relaxation of bone tissue deformations, the interval between exposures is 2 min

ченные интерферограммы показывают, что на всех этапах установки цилиндрического мини-импланта максимальная деформация наблюдается в области вершины и распространяется по поверхности челюсти. При этом на начальном этапе установки деформация незначительна, а на остальных этапах наблюдается последовательное увеличение деформации. При установке конического мини-импланта максимальная деформация на всех этапах его установки наблюдается на вершине альвеолярного гребня, что связано с его конусообразной формой.

Характерная зависимость величины деформирования костной ткани в вершине кости от глубины вкручивания подтверждает сделанный на основании качественного анализа картины интерференционных полос вывод о том, что зона деформаций распространяется по костной ткани по мере углубления импланта.

### Заключение

Полученные результаты обосновывают возможность и целесообразность применения методов лазерной фотоники в ортопедической стоматологии

для неинвазивного бесконтактного исследования объемных микродеформаций костной ткани. Приведенные в статье примеры исследований позволяют дать некоторые практические рекомендации.

При установке цилиндрического мини-импланта деформация костной ткани на вершине альвеолярного гребня возникает только при первых оборотах. При установке конического мини-импланта деформация костной ткани возникает на вершине альвеолярного гребня и действует на протяжении всего процесса погружения. Это может привести к расщеплению костной ткани и, как осложнение, к трещине или перелому кости. Процесс релаксации костной ткани идет быстрее в случае цилиндрического мини-импланта. Полученные результаты дают основание утверждать, что установка мини-имплантов цилиндрической формы является более предпочтительной.

Полученные результаты обосновывают возможность и целесообразность применения методов лазерной фотоники в ортопедической стоматологии для неинвазивного бесконтактного исследования объемных микродеформаций костной ткани.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Von Bally G. *Holography in Medicine and Biology*. – Berlin: Springer-Verlag, 1979. – P. 240–265.
2. Ostrovsky Yu.I., Shchepinov V.P., Yakovlev V.V. *Holographic Interferometry in Experimental Mechanics*. – Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1991. – P. 182–320.
3. Goodman J.W. *Speckle Phenomena in Optics: theory and applications*. – Englewood: Roberts and Company Publishers, 2007. – P. 162–248.
4. Ларкин А.И., Юу Ф.Т.С. Когерентная фотоника. – М.: Бином, Лаборатория знаний, 2007. – P. 182–320.
5. Grosman M.A., Kiryushin M.A., Larkin A.I., Lebedenko A.I., Lebedenko I.Yu., Lopatina N.A., Osincev A.V., Shchepinov V.P., Shchepinova I.V. Application of laser photonics for denture design optimization // *Laser Phys.* – 2010. – No. 6. – P. 1–5.

### REFERENCES

1. Von Bally G. *Holography in Medicine and Biology*. Berlin, Springer-Verlag Publ., 1979. pp. 240–265.
2. Ostrovsky Yu.I., Shchepinov V.P., Yakovlev V.V. *Holographic Interferometry in Experimental Mechanics*. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag Publ., 1991. pp. 182–320.
3. Goodman J.W. *Speckle Phenomena in Optics: theory and applications*. Englewood, Roberts and Company Publishers, 2007. pp. 162–248.
4. Larkin A.I., Yuu F.T.S. *Kogerentnaja fotonika* [Coherent Photonics]. Moscow, BINOM, Laboratoriya znaniy Publ. 2007. pp. 182–320.
5. Grosman M.A., Kiryushin M.A., Larkin A.I., Lebedenko A.I., Lebedenko I.Yu., Lopatina N.A., Osincev A.V., Shchepinov V.P., Shchepinova I.V. Application of laser photonics for denture design optimization, *Laser Phys.*, 2010, No. 6, pp. 1–5.

# КЛИНИЧЕСКИЕ ЗАДАЧИ ПРЯМОЙ ДОЗИМЕТРИИ (IN VIVO) ПРИ КОНТАКТНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

В.А. Титова, Д.А. Коконцев, Т.С. Белле

ФГБУ Российский научный центр рентгенорадиологии МЗ РФ, Москва, Россия

## Резюме

Применение в онкологии многокомпонентных методов специального лечения (хирургия, полихимиотерапия, лучевая терапия, фотодинамическая терапия) требует высокоточного контроля за полученными дозами облучения как самой опухоли, так и здоровыми органами. Авторами предложен способ прямой дозиметрии с использованием оптоволоконного сцинтилляционного дозиметра МКД-04. Дозиметр фиксирован на эндостатах и визуализируется на экранах компьютерного или магнитно-резонансного томографа. Координаты вносятся в анатомические блоки и дозиметрические расчеты, данные сопоставляются, дозы корректируются по медицинским показаниям. Разработанная авторами методика прямой дозиметрии позволяет проводить контроль за процедурой контактной лучевой терапии (КЛТ) в режиме реального времени и вносить необходимые изменения, внося коррективы в ходе проведения лечения. Уточнение величин поглощенных доз с помощью расчета и прямой дозиметрии минимизирует риск осложнений и обеспечивает возможность эффективного использования после КЛТ других методов лечения, в том числе фотодинамической терапии.

**Ключевые слова:** контактная лучевая терапия, брахитерапия, прямая дозиметрия, дозиметрия in vivo, снижение частоты лучевых осложнений.

**Для цитирования:** Титова В.А., Коконцев Д.А., Белле Т.С. Клинические задачи прямой дозиметрии (in vivo) при контактной лучевой терапии // Biomedical photonics. – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 19–24. doi: 10.24931/2413–9432–2018–7–2–19–24.

**Контакты:** Титова В.А., e-mail: mailbox@rncrr.rssi.ru

## CLINICAL PROBLEMS OF DIRECT DOSIMETRY (IN VIVO) IN CONTACT RADIATION THERAPY

Titova V.A., Kokontsev D.A., Belle T.S.

Russian Scientific Center of Roentgeno-Radiology, Moscow, Russia

## Abstract

The use of multicomponent methods of special treatment (surgery, polychemotherapy, radiation therapy, laser photodynamic therapy) in oncology requires the control of doses in the tumor and healthy organs with high accuracy. A method of direct dosimetry using fiber-optic scintillation dosimeter MCD-4 is proposed. The dosimeter is fixed on endostats and is visualized on CT/MRI. The coordinates are entered into the anatomical units and dosimetry calculations, the data are mapped, the doses are adjusted on medical grounds. The developed technique of direct dosimetry allows monitoring of the contact radiation therapy (CRT) procedure in real time and making the necessary changes and corrections during the treatment. The refinement of the absorbed dose values using calculations and direct dosimetry minimizes the risk of complications and ensures the possibility of effective use of other treatment methods, including photodynamic therapy, after CRT.

**Keywords:** contact radiation therapy, brachytherapy, direct dosimetry, dosimetry in vivo, reduction of radiation complications rate.

**For citation:** Titova V.A., Kokontsev D.A., Belle T.S. Clinical problems of direct dosimetry (in vivo) in contact radiation therapy, *Biomedical photonics*, 2018, T. 7, No. 2, pp. 19–24. (in Russian). doi: 10.24931/2413–9432–2018–7–2–19–24.

**Contacts:** Titova V.A., e-mail: mailbox@rncrr.rssi.ru

## Введение

Современные программы помощи онкологическим больным основаны на использовании различных сочетанных методик, включающих хирургическое лечение и цитостатическую, лучевую и

фотодинамическую терапию. При этом, технологии высоко- и среднечастотной контактной лучевой терапии (КЛТ или брахитерапии) являются необходимым атрибутом радикальной конформной лучевой

терапии (ЛТ), существенно повышающим результаты лечения онкологических больных с опухолями различной локализации (злокачественные новообразования женской и мужской репродуктивной системы, орофарингеальной области, толстой кишки и др.) [1,2]. Однако повсеместная замена сохранившихся преимущественно в лечении рака предстательной железы низкоэнергетических вариантов с источниками  $^{125}\text{I}$  на автоматизированную КЛТ малогабаритными источниками  $^{60}\text{Co}$  и  $^{192}\text{Ir}$  в сочетании с эскалацией разовых и суммарных доз неизбежно требуют оценки рисков развития поздних лучевых осложнений. Эта проблема особенно актуальна при укрупненных режимах фракционирования [3], что может ограничивать дальнейшее применение, например, фотодинамической терапии, находящей широкое применение не только в самостоятельном варианте, но и при неэффективности традиционных методов.

Существующие программы 3D индивидуально-дозиметрического планирования основаны на международных принципах формирования трех объемов облучения опухоли (высокого, среднего и низкого риска). Такой подход применяется для рационального радиационного воздействия на опухоль со снижением доз облучения на здоровые органы, которые неизбежно попадают в зону облучения ввиду анатомических особенностей их локализации [4,5]. Однако, несмотря на оптимистичные прогнозы, получаемые на гистограммах «доза-объем», исключить высокие радиобиологические риски поздних осложнений в условиях облучения высокой мощностью дозы излучения невозможно [4–6]. Это, в

определенной мере, обусловлено радиационно-физическими особенностями КЛТ (снижение мощности дозы по квадрату расстояния), что существенно влияет на дозы вблизи источников излучения, повышая их минимум в 12 раз от терапевтических значений [7,8]. Использование укрупненных режимов фракционирования КЛТ с высокой мощностью дозы обусловлено клиническими (анатомической сложностью интрадукций) и экономическими причинами (сокращение числа сеансов КЛТ), что неизбежно повышает риск развития поздних осложнений, проявляющихся в виде лучевых циститов и ректитов, стриктуры уретры и др. Так, поздние ректиты при лечении рака шейки матки развиваются в сроки 4–5 лет после радиационного лечения и достигают I-IV-й степени у 29,5% и III-IV-й степени тяжести – у 2% пациентов [4, 9, 10].

Совершенствование способов дозиметрического контроля радиационного воздействия при КЛТ позволяет осуществлять двойной контроль за подведением терапевтических доз, особенно в тех случаях, когда детекторы для прямой дозиметрии миниатюрны и анатомически могут быть размещены в непосредственной близости от источников излучения [3, 11].

## Материалы и методы

В ФГБУ «РНЦПР» МЗ РФ совместно с АО «НИИТФА» ГК Росатом были проведены исследования по совершенствованию отечественного аппаратного и методического сегмента технологий прямой дозиметрии (*in vivo*). В результате совместных исследований был разработан медицинский дозиметр МКД-04 с несколькими малогабаритными 3-мм сцинтилляционными детекторами для одновременной регистрации доз в нескольких точках медицинского интереса [1, 10, 12]. Дозиметр МКД-04 состоит из малогабаритного сцинтилляционного детектора с гибким световодом, фотопреобразователя и электрометрического блока.

Детекторы дозиметра помещаются в катетеры, которые полностью соответствуют медицинским требованиям по стерилизации и токсикологии. Для измерений в полостях при внутрисполостной КЛТ используются катетеры из тефлоновой (фторопластовой) трубки с герметически закрытой торцевой частью (рис. 1), которые выдерживают паровую стерилизацию и стерилизацию раствором 6%-ой перекиси водорода. Детектор находится или перемещается внутри них, не контактирует с тканями организма и не травмирует их.

Анатомическое позиционирование и определение координат точек, в которых должно быть произведено измерение, является самостоятельной клинической задачей и прерогативой врача и медицинского физика (например, при радиационном

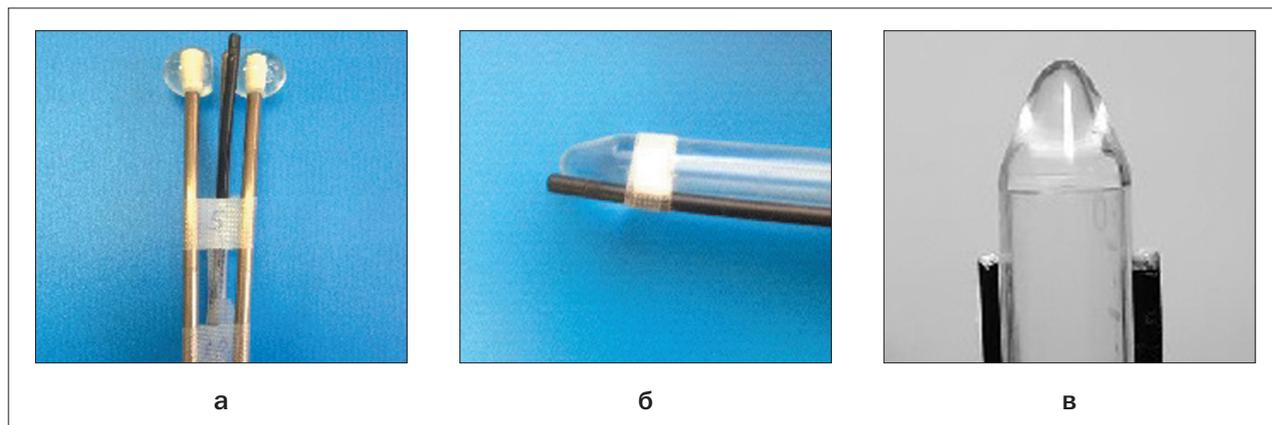


**Рис. 1.** Катетер из фторопластовой трубки с герметически закрытым торцевым концом:

- 1 – детектор;
- 2 – катетер с маркером

**Fig. 1.** Catheter made of fluoropolymer tube with hermetically sealed end:

- 1 – detector;
- 2 – marked catheter



**Рис. 2.** Виды эндостатов с детекторами:

- а – метракольпостат аппарата АГАТ-ВТ для послеоперационного облучения влагалищного рубца при раке шейки и тела матки – с детектором;
- б – кольпостат аппарата АГАТ-ВТ для послеоперационного облучения при раке шейки и тела матки – с фиксированным детектором;
- в – проктостат аппарата АГАТ-ВТ с фиксированным детектором дозиметра

**Fig. 2.** Types of endostats with detectors:

- а – metracolpostat for AGAT-BT system for post-operative irradiation of the vaginal scar in cervical and uterine cancer – with a detector;
- б – colpostat for AGAT-BT system for postoperative irradiation of cervical and uterine body cancer – with a fixed detector;
- в – proctostat for AGAT-BT system with a fixed dosimeter detector

воздействию должна быть определена «точка медицинского интереса»). Это требует жесткой «привязки» детекторов дозиметра и гарантии их фиксации относительно эндостатов или ректального ультразвукового датчика, например, при КЛТ рака предстательной железы. При измерениях в КЛТ ошибки в позиционировании детектора в 1 мм могут приводить к погрешности 40% на расстоянии 5 мм, 20% – на 10 мм и 4% – на 50 мм от малогабаритного источника  $^{60}\text{Co}$  и еще с большей погрешностью от источников  $^{192}\text{Ir}$  [9,10]. Поэтому на первый план при измерениях доз на малых расстояниях 5–25 мм (а именно эти точки в первую очередь представляют клинический интерес) выходит не только точность измерения самого дозиметра (на практике составляющая 3–5%), но и точность позиционирования детектора. Например, точность измерения с помощью ионизационной камеры составляет 3%, а точность измерения многоканального клинического дозиметра МКД-04 – 4%. Различия по точности измерений достигают 1%, но в данном случае эта величина незначительна по сравнению с общей погрешностью, которая может быть обусловлена именно неточностью в позиционировании детекторов в 20–40% [11].

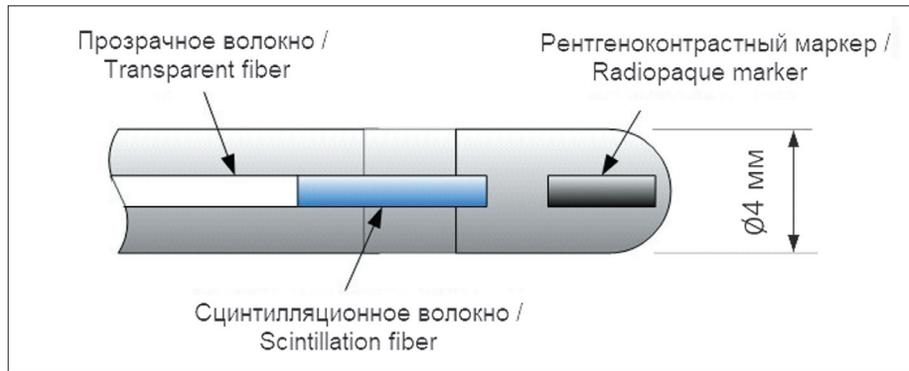
Важной составляющей при этом является решение клинической задачи точного позиционирования торца катетера и чувствительного элемента малогабаритного детектора. Детектор имеет возможность перемещаться в катетере, длина катетера известна. При условии, что катетер установлен в требуемом фиксированном положении и координаты его за-

крытой торцевой части определены, детектор МКД-04 контролируется с помощью маркера и штангенциркуля.

Перед сеансом КЛТ детекторы по разработанной в РНЦРР методике жестко фиксируются на эндостатах, как в зоне самой опухоли (рис. 2а), так и в области полостных органов, например, во влагалище (рис. 2б) и прямой кишке (рис. 2в) по передней и задней ее стенкам.

Контролируемая компьютерной томографией топометрия (КТ-топометрия) с введенными эндостатами и детекторами проводится с частотой слайсов 0,3 см, на которых визуализируется взаимное положение эндостатов и детекторов. Затем проводится сеанс КЛТ. Сигналы с детектора и измерителя координат детектора поступают для обработки и контроля процесса в блок управления. Точность позиционирования детектора в катетере составляет 0,1 мм и обеспечивается с помощью электропривода. Многоканальный дозиметр необходим для получения сигналов с нескольких детекторов, что увеличивает для клинициста информационную панель поглощенных доз в определенных им анатомических зонах риска. При этом достаточно велика вероятность того, что в точках, находящихся между «оконечностями» детекторов, при определенной конфигурации дозного поля величина дозы может значительно превышать установленное значение.

Для визуализации используются торцевые накопечники из рентгеноконтрастного силикона (рис. 3), что позволяет с помощью компьютерной томографии



**Рис. 3.** Схема расположения рентгеноконтрастных маркеров в конструкции детекторов дозиметра МКД-04

**Fig. 3.** The layout of radiopaque markers in the construction of MCD-04 dosimeter detectors

на потоке прецизионно отслеживать местоположение катетера и детектора.

На рис. 4 на уровне тела матки визуализируется введенный в нее метракольпостат и катетер с детектором в объемном полой органе – прямой кишке.

Необходимо констатировать, что «свободное» размещение малогабаритного детектора в полостных объемных органах, не исключает его перемещения в процессе КЛТ, что не позволяет оценить поглощенные дозы, реально получаемые отдельными участками критических органов. В связи с этим нами была предложена методика фиксированного размещения детекторов на эндостатических системах, используемых для КЛТ (рис. 5).

Выполнение КТ-топограмм с толщиной срезов 0,3 см позволило рассчитать плотность тканей.

Тканевые плотности определялись по результатам КТ-топометрии дифференцированно. Так, для металлических конструкций эндостатов средняя плотность составила 2200 ед. Н; для имитаторов дозиметра – 100 ед. Н; для детектора дозиметра – 1000 ед. Н (диапазон от 300 до 1000 ед.); для мочевого пузыря – 13 ед. Н;



**Рис. 4.** КТ-визуализация эндостата в матке (1) и катетера с детектором (2) в ректо-сигмоидном отделе прямой кишки

**Fig. 4.** CT imaging of the endostat in the uterus (1) and the catheter with the detector (2) in the rectosigmoid

для прямой кишки – 20 ед. Н. Также доказано, что световод дозиметра имеет среднюю плотность 316 ед. Н. При этом его присутствие не вызывает эффекта «возмущения» в дозном поле.

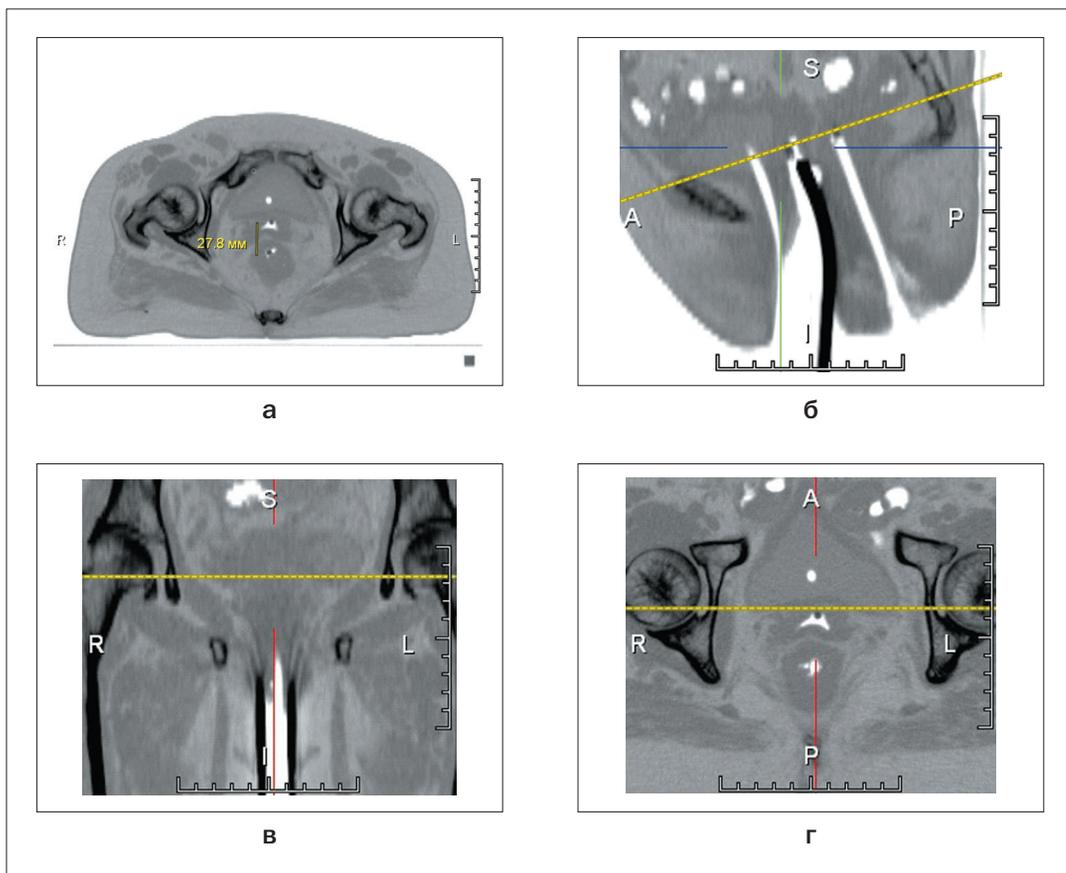
Данные КТ-топометрии анализировались медицинским физиком и врачом. В рамках принятой в центре программы математического расчета, определялись уровни поглощенных доз в анатомических зонах размещения детекторов. Визуализация эндостатов и катетеров с детекторами с помощью магнитно-резонансной и компьютерной томографии по информативности была расценена как достаточная и достоверная.

## Результаты и обсуждение

Клинический отечественный дозиметр МКД-04 позволяет проводить контроль за процедурой КЛТ в режиме реального времени и вносить необходимые изменения, корректируя процедуру. Измерение дозы облучения может осуществляться как суммарно за время всей процедуры, так и за любой произвольно выбранный интервал времени, что позволяет учитывать смещение полых органов риска в зависимости от наполнения (мочевой пузырь) или движения (петли кишечника).

При сравнении полученных доз, измеренных *in vivo*, с результатами расчетов в системе планирования КЛТ определено, что в полой объемном органе, мочевом пузыре, при визуализируемом положении детектора дозиметра при РОД=5 Гр на область мишени, менее 20% объема получают дозу 2,5 Гр.

Предложены методики позиционирования и визуализации детекторов, положение которых следует определять трехкратно: на этапе первичной визуализации эндостатов, при изменении объема опухоли на 30–50% (уменьшение/увеличение) под влиянием лучевой терапии и после завершения лечения при последнем сеансе КЛТ. Измерения доз в зонах меди-



**Рис. 5.** Компьютерные томограммы с визуализированными детекторами дозиметра, размещенными:  
а – в мочевом пузыре;  
б – в проекции эндостата;  
в, г – в прямой кишке

**Fig. 5.** Computer tomograms with visualized dosimeter detectors placed:  
а – in the bladder;  
б – in the endostat projection;  
в, г – in the rectum

цинского интереса оцениваются в эти же временные периоды, что позволяет получить полную информацию об уровнях расчетных поглощенных доз и уровнях доз, реально полученных в зонах медицинского интереса на этапе прямой дозиметрии *in vivo*.

Настоящие исследования проведены в рамках развития импортозамещающих инновационных технологий контактной высокоэнергетической автоматизированной гамма-терапии закрытыми источниками злокачественных новообразований различных локализаций для практического здравоохранения при лечении опухолей полости рта, женской/мужской репродуктивной системы, прямой кишки и др.

## Заключение

В статье рассмотрена методика прямой дозиметрии с использованием оптоволоконного сцинтилляционного дозиметра МКД-04. В ходе медицинских исследований были подтверждены параметры и характеристики дозиметра МКД-04, востребованность

дозиметра для получения информации об уровнях расчетных поглощенных доз и уровнях доз, полученных в зонах медицинского интереса на этапе прямой дозиметрии *in vivo*, а также удобство в клинической эксплуатации.

В ходе исследований была разработана и внедрена в клинику методика фиксации и визуализации детекторов (имитаторов) методами КТ и МРТ с эндостатами, а также методика крепления детектора на корпусе аппликатора, обеспечивающего стабильное расстояние «источник-детектор» при измерениях *in vivo*.

Использование методики прямой дозиметрии с применением дозиметра МКД-04 во время процедуры КТЛ не удлиняет процедуру КЛТ и не обременяет пациентов. Уточнение величин поглощенных доз с помощью расчета и прямой дозиметрии минимизирует риск осложнений и обеспечивает возможность эффективного использования после КЛТ других методов лечения, в том числе фотодинамической терапии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Солодкий В.А., Титова В.А. Автоматизированная контактная лучевая терапия – условия эффективного использования в практическом здравоохранении // Вопросы онкологии. – 2016. – Т. 62, № 5. – С. 688–693.
2. Титова В.А., Снигирева Г.П., Петровский В.Ю., Тельшева Е.Н. Современные подходы к лучевому лечению опухолей полости рта // Сибирский онкологический журнал. – 2016. – Т. 15, № 5. – С. 47–54.
3. Титова В.А., Коконцев Д.А., Ивашин А.В., Хромов А.Б. Контактная лучевая терапия на аппарате АГАТ-ВТ с использованием отечественных систем визуализации и планирования // Вестник РНЦРР. – 2016. – Т. 16, № 3. – С. 9.
4. Pötter R., Haie-Meder C., Van Limbergen E., et al. Recommendations from gynaecological (GYN) GEC ESTRO working group (II): concepts and terms in 3D image-based treatment planning in cervix cancer brachytherapy-3D dose volume parameters and aspects of 3D image-based anatomy, radiation physics, radiobiology // Radiother Oncol. – 2006. – Vol. 78. – P. 67–77.
5. Dimopoulos J.C.A., Petrow P., Tanderup K., et al. Recommendations from Gynaecological (GYN) GEC-ESTRO Working Group (IV): Basic principles and parameters for MR imaging within the frame of image based adaptive cervix cancer brachytherapy // Radiother Oncol. – 2012. – Vol. 103. – P. 113–122.
6. Чехонадский В.Н., Марьина Л.А., Титова В.А., Киселева В.Н. Эффект мощности дозы при планировании внутрисполостного облучения // Вопросы онкологии. – 1998. – Т. 44, № 5. – С. 551–555.
7. Ставицкий Р.В., Мильштейн Р.С., Титова В.А. Распределение доз вблизи источников излучения при контактной лучевой терапии // Медицинская радиология. – 1984. – № 4. – С. 46–48.
8. Титова В.А., Сулькин А.Г., Соколов В.Г., Батнер А.А. Сопоставление методов формирования дозных распределений при внутрисполостной гамма-терапии // Мед. радиология. – 1984. – № 5. – С. 67–71
9. Tanderup K., Viswanathan A.N., Kirisits C., Frank S.J. Magnetic resonance image guided brachytherapy // Semin Radiat Oncol. – 2014. – Vol. 24. – P. 181–191.
10. Jastaniyah N., Yoshida K., Tanderup K., et al. A volumetric analysis of GTVD and CTVHR as defined by the GEC ESTRO recommendations in FIGO stage IIB and IIIB cervical cancer patients treated with IGABT in a prospective multicentric trial (EMBRACE) // Radiother Oncol. – 2016. – Vol. 120. – P. 404–411
11. Сумин А.В., Медведков А.М., Васильев В.Н. и др. Верификация работы сцинтилляционного многоканального клинического дозиметра МКД-04 в коллимированном пучке гамма-излучения источника  $^{60}\text{Co}$  // Медицинская физика. – 2017. – Т. 75, № 3. – С. 24–33.
12. Абалякин И.Н., Некрасова А.А., Сумин А.В. и др. Клинический дозиметр-анализатор для внутрисполостных in vivo измерений. – Патент РФ на полезную модель №148494, 2014. – 9 с.

## REFERENCES

1. Solodkiy V.A., Titova V.A. Automated contact radiation therapy – conditions for effective use in practical health care, *Voprosy onkologii*, 2016, Vol. 62, No. 5, pp. 688–693. (in Russian)
2. Titova V.A., Snigireva G.P., Petrovskiy V.Yu., Telysheva E.N. Modern approaches to radiotherapy of the oral cavity tumors, *Sibirskiy onkologicheskij zhurnal*, 2016, Vol. 15, No. 5, pp. 47–54. (in Russian)
3. Titova V.A., Kokontsev D.A., Ivashin A.V., Khromov A.B. Contact radiation therapy on AGAT-BT apparatus using domestic imaging and planning systems, *Vestnik RNTsRR*, 2016, Vol. 16, No. 3, 9 p. (in Russian)
4. Pötter R., Haie-Meder C., Van Limbergen E., Barillot I., De Brabandere M., Dimopoulos J., Dumas I., Erickson B., Lang S., Nulens A., Petrow P., Rownd J., Kirisits C. Recommendations from gynaecological (GYN) GEC ESTRO working group (II): concepts and terms in 3D image-based treatment planning in cervix cancer brachytherapy-3D dose volume parameters and aspects of 3D image-based anatomy, radiation physics, radiobiology, *Radiother Oncol*, 2006, Vol. 78, pp. 67–77.
5. Dimopoulos J.C.A., Petrow P., Tanderup K., Petric P., Berger D., Kirisits C., Pedersen E.M., van Limbergen E., Haie-Meder C., Pötter R. Recommendations from Gynaecological (GYN) GEC-ESTRO Working Group (IV): Basic principles and parameters for MR imaging within the frame of image based adaptive cervix cancer brachytherapy, *Radiother Oncol*, 2012, Vol. 103, pp. 113–122.
6. Chekhonadskiy V.N., Mar'ina L.A., Titova V.A., Kiseleva V.N. The effect of dose rate in the planning of intracavitary irradiation, *Voprosy onkologii*, 1998, Vol. 44, No. 5, pp. 551–555. (in Russian)
7. Stavitskiy R.V., Mil'shteyn R.S., Titova V.A. Distribution of doses near radiation sources in contact radiation therapy, *Meditsinskaya radiologiya*, 1984, No. 4, pp. 46–48. (in Russian)
8. Titova V.A., Sul'kin A.G., Sokolov V.G., Batner A.A. Comparison of methods for the formation of dose distributions for intracavitary gamma therapy, *Meditsinskaya radiologiya*, 1984, No. 5, pp. 67–71 (in Russian)
9. Tanderup K., Viswanathan A.N., Kirisits C., Frank S.J. Magnetic resonance image guided brachytherapy, *Semin Radiat Oncol*, 2014, Vol. 24, pp. 181–191.
10. Jastaniyah N., Yoshida K., Tanderup K., Lindegaard J.C., Sturdza A., Kirisits C., Šegedin B., Mahantshetty U., Rai B., Jürgenliemk-Schulz I.M., Haie-Meder C., Banerjee S., Pötter R. A volumetric analysis of GTVD and CTVHR as defined by the GEC ESTRO recommendations in FIGO stage IIB and IIIB cervical cancer patients treated with IGABT in a prospective multicentric trial (EMBRACE), *Radiother Oncol*, 2016, Vol. 120, pp. 404–411
11. Sumin A.V., Medvedkov A.M., Vasil'ev V.N., Smyslov A.YU., Rusetskiy S.S., Kokontsev A.A., Titova V.A., Kokontsev D.A. Verification of the operation of the scintillation multichannel clinical dosimeter MCD-04 in a collimated gamma radiation beam of a  $^{60}\text{Co}$  source, *Meditsinskaya fizika*, 2017, Vol. 75, No. 3, pp. 24–33. (in Russian)
12. Abalakin I.N., Nekrasova A.A., Sumin A.V., Titova V.A., Khmelinin D.I., Lomonosov A.M., Kheteev M.V. Klinicheskiy dozimetr-analizator dlya vnutripolostnykh in vivo izmereniy [Clinical dosimeter-analyzer for intracavitary in vivo measurements]. Patent RF na poleznuyu model' no. 148494, 2014. 9 p.

# НЕИНВАЗИВНАЯ ОЦЕНКА ЛОКАЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НАГРЕВА БИОТКАНЕЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПО СПЕКТРАМ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ИОНОВ Nd<sup>3+</sup>

И.Д. Романишкин<sup>1</sup>, Д.В. Поминова<sup>1</sup>, П.В. Грачев<sup>1</sup>, В.И. Макаров<sup>1</sup>, А.С. Ванецев<sup>1,2</sup>, Е.О. Орловская<sup>1</sup>, А.Е. Баранчиков<sup>3</sup>, И. Силдос<sup>2</sup>, В.Б. Лощенов<sup>1</sup>, Ю.В. Орловский<sup>1,2</sup>, А.В. Рябова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской Академии Наук, Москва, Россия

<sup>2</sup>Тартуский университет, Тарту, Эстония

<sup>3</sup>Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

## Резюме

Одним из перспективных методов лечения онкологических заболеваний является метод лазерной гипертермии. Для рутинного клинического использования гипертермии необходимо контролировать однородность и локальность нагрева внутри опухоли. Добиться локального нагрева можно при использовании специальных термоагентов, в качестве которых могут выступать наночастицы (НЧ), допированные редкоземельными ионами. Измерение температуры термоагентов в режиме реального времени позволит своевременно регулировать подаваемую возбуждающую мощность лазерного излучения и оптимизировать режимы гипертермии.

В работе представлены результаты исследования по неинвазивному определению температуры НЧ YPO<sub>4</sub>, допированных ионами Nd<sup>3+</sup>, с чувствительностью 0,2% °C<sup>-1</sup> в диапазоне температур 30–60°C. Температура НЧ рассчитывалась по спектрам люминесценции Nd<sup>3+</sup> в диапазоне 800–1000 нм при возбуждении на уровень <sup>4</sup>F<sub>5/2</sub> лазерным излучением 805 нм. Приведена процедура калибровки для пересчета отношения интенсивностей люминесценции со штатковских подуровней состояния <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> Nd<sup>3+</sup> в значения реальной температуры НЧ в соответствии с распределением Больцмана. Предложен алгоритм расчета интенсивностей люминесценции для отдельных штатковских компонент. После вычисления интенсивностей, соответствующих каждой отдельной штатковской компоненте, происходит суммирование всех интенсивностей, относящихся к переходу с верхнего и с нижнего штатковских подуровней состояния <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub>, а затем вычисляется их отношение. Полученное отношение нормируется на значение отношения при комнатной температуре и в соответствии с калибровочной зависимостью пересчитывается в температуру нагрева НЧ. Продемонстрировано, что исследуемые НЧ Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub> могут быть использованы в качестве так называемых «первичных» термометров, не требующих дополнительной перекалибровки для оценки температуры в диапазоне температур, используемом при гипертермии.

**Ключевые слова:** наночастицы, допированные Nd<sup>3+</sup>, ближний инфракрасный спектральный диапазон, спектроскопия, термометрия.

**Для цитирования:** Романишкин И.Д., Поминова Д.В., Грачев П.В., Макаров В.И., Ванецев А.С., Орловская Е.О., Баранчиков А.Е., Силдос И., Лощенов В.Б., Орловский Ю.В., Рябова А.В. Неинвазивная оценка локальной температуры нагрева биотканей под действием лазерного излучения по спектрам люминесценции ионов Nd<sup>3+</sup> // Biomedical Photonics. – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 25–36. doi: 10.24931/2413–9432–2018–7–2–25–36.

**Контакты:** Романишкин И.Д., e-mail: igor.romanishkin@gmail.com

## NONINVASIVE ESTIMATION OF THE LOCAL TEMPERATURE OF BIOTISSUES HEATING UNDER THE ACTION OF LASER IRRADIATION FROM THE LUMINESCENCE SPECTRA OF ND<sup>3+</sup> IONS

Romanishkin I.D.<sup>1</sup>, Pominova D.V.<sup>1</sup>, Grachev P.V.<sup>1</sup>, Makarov V.I.<sup>1</sup>, Vanetsev A.S.<sup>1,2</sup>, Orlovskaya E.O.<sup>1</sup>, Baranchikov A.E.<sup>3</sup>, Sildos I.<sup>2</sup>, Loschenov V.B.<sup>1</sup>, Orlovskii Y.V.<sup>1</sup>, Ryabova A.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>2</sup>University of Tartu, Tartu, Estonia

<sup>3</sup>Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

## Abstract

Laser hyperthermia is one of the promising methods for treatment of oncological diseases. For routine clinical use of hyperthermia, it is necessary to control the uniformity and localization of heat within the tumor. Local heating can be achieved by using special thermal agents, such as nanoparticles doped with rare-earth ions. Measurement of the temperature of the thermal agents will allow timely regulation of the applied laser radiation excitation power and optimization of the hyperthermia process.

The paper presents the results of a study on the non-invasive determination of the YPO<sub>4</sub> nanoparticles doped with Nd<sup>3+</sup> temperature with sensitivity of 0.2% °C<sup>-1</sup> in 30–60°C temperature range. The temperature of the nanoparticles was calculated from the Nd<sup>3+</sup> luminescence spectra in the 800–1000 nm range under excitation into <sup>4</sup>F<sub>5/2</sub> energy state by 805 nm laser. A calibration procedure for recalculating the ratio of the luminescence intensities from the Stark sublevels of the <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> Nd<sup>3+</sup> state into the values of the real NP temperature in accordance with the Boltzmann distribution is given. An algorithm for calculating luminescence intensities for individual Stark components is proposed. After calculating the intensities corresponding to each individual Stark component, all the intensities related to the transition from the upper and lower Stark sublevels of the <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> state are summed, and then their ratio is calculated. The resulting ratio is normalized to the value of the ratio at room temperature and, in accordance with the calibration dependence, is recalculated into the NP heating temperature. It was demonstrated that the investigated 1%Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub> nanoparticles can be used as “primary” thermometers that do not require additional recalibration to evaluate the temperature in the range used for hyperthermia.

**Keywords:** nanoparticles doped with Nd<sup>3+</sup>; near infrared spectral range; spectroscopy; thermometry.

**For citations:** Romanishkin I.D., Pominova D.V., Grachev P.V., Makarov V.I., Vanetsev A.S., Orlovskaya E.O., Baranchikov A.E., Sildos I., Loschenov V.B., Orlovskii Y.V., Ryabova A.V. Noninvasive estimation of the local temperature of biotissues heating under the action of laser irradiation from the luminescence spectra of Nd<sup>3+</sup> ions, *Biomedical Photonics*, 2018, T. 7, No. 2. – P. 25–36. (in Russian). doi: 10.24931/2413–9432–2018–7–2–25–36.

**Contacts:** Romanishkin I.D., e-mail: igor.romanishkin@gmail.com

## Введение

Перспективность применения гипертермии при лечении злокачественных заболеваний растет с каждым годом [1]. Гипертермию используют в качестве вспомогательного воздействия на опухоль при химио- и радиотерапии. При локальной гипертермии температура патологического новообразования искусственно повышается до 42–46°C, чтобы вызвать гибель злокачественных клеток [2]. В клиниках для нагрева биотканей используют высокоинтенсивное сфокусированное лазерное, ультразвуковое, либо микроволновое и радиочастотное излучения, а также переменное магнитное поле [3]. Для достижения максимальной глубины терапии в биотканях при лазерной гипертермии используют длины волн лазерного возбуждения в ближнем инфракрасном (ИК) диапазоне, относящемся к так называемому «окну прозрачности биотканей», в котором рассеивание и поглощение биотканей минимально [4]. Для минимизации таких побочных явлений, как перегрев здоровых тканей [5], а также с целью исключить возможность неполной деструкции опухоли, используют специальные термоагенты, в качестве которых могут выступать магнитные и плазмонные наночастицы (НЧ), а также НЧ, допированные редкоземельными (РЗ) ионами, и квантовые точки [6]. Сдерживающим фактором повсеместного использования локальной гипертермии является отсутствие разрешенного в клинических условиях контроля терапии, что может приводить к неполному эффекту от проведенного лечения и рецидивам.

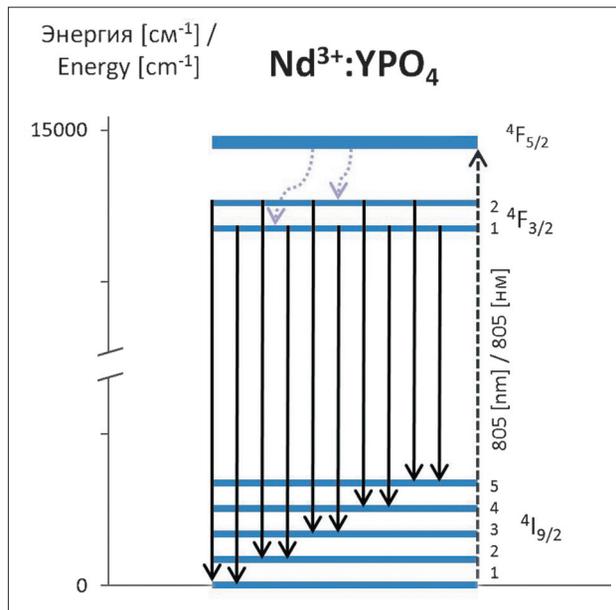
Современные подходы к внутритканевому определению температуры включают инвазивные методы с использованием одной или нескольких термопар и неинвазивные – на основе магнитно-резонансной томографии [7]. В последние годы развиваются

бесконтактные методы измерения температуры по люминесценции НЧ с РЗ ионами [8]. Преимущества использования РЗ ионов в качестве люминесцирующих меток состоят в узкополосном излучении, большом спектральном расстоянии между длинами волн возбуждения и эмиссии, длительном времени высвечивания люминесценции, высокой фотостабильности материалов, низкой токсичности, минимальной аутофлуоресценции биотканей и наибольшей глубине зондирования при возбуждении НЧ в ближней ИК-области [9]. Значение температуры для таких НЧ можно вычислить, используя распределение Больцмана [10]. Отмечается, что метод определения температуры, основанный на изменении отношения интенсивностей люминесценции с двух термически связанных уровней РЗ иона, – один из самых чувствительных и надежных, в отличие от метода определения температуры по сдвигу длины волны или ширины полос [11]. Несмотря на то, что РЗ ионы имеют большое количество термально спаренных уровней, с практической точки зрения, не все из них могут быть использованы для калибровки оптического отклика на изменение температуры. В качестве общих требований было определено, что энергетическая щель между термолизованными уровнями должна быть достаточно большой, чтобы избежать сильного перекрытия двух полос (>200 см<sup>-1</sup>) и, в то же время, достаточно малой (< 2000 см<sup>-1</sup>), чтобы позволить верхнему уровню иметь минимальную заселенность оптически активных ионов в интересующем диапазоне температур. Кроме того, вероятности излучения термолизованных уровней должны быть достаточно высокими, чтобы проявить большую интенсивность излучения.

В литературных источниках имеются данные по сравнению чувствительности различных РЗ ионов

к изменению температуры. Среди преимуществ использования ионов неодима (Nd<sup>3+</sup>) для термометрии помимо прямого механизма возбуждения выделяется их высокая термочувствительность [12]. Наиболее часто используются НЧ, полученные на основе фторидных матриц, имеющих низкую энергию фононов и позволяющих получить интенсивную люминесценцию, например, NaYF<sub>4</sub> [13]. Следует отметить, что точность определения температуры с помощью люминесценции Nd<sup>3+</sup> зависит от энергетического зазора между уровнями, используемыми для термометрии. Так, в работе U. Rocha с соавт. [14] сообщается о температурном разрешении 2°C для ионов Nd<sup>3+</sup> в матрице LaF<sub>3</sub> (энергетический зазор 42 см<sup>-1</sup>). Фосфатные матрицы, например, YPO<sub>4</sub> (энергетический зазор 53 см<sup>-1</sup>), обладают схожей чувствительностью, но при этом являются более биосовместимыми. НЧ, допированные ионами Nd<sup>3+</sup>, имеют спектры люминесценции и поглощения, попадающие как в первое (800–900 нм), так и во второе (1200–1300) нм окна «биологической прозрачности» [15]. Возбуждение можно осуществлять длиной волны 800–830 нм (состояния <sup>4</sup>F<sub>5/2</sub>, <sup>2</sup>H<sub>9/2</sub>). Контроль температуры осуществляют по отношению интенсивностей люминесценции с уровнями <sup>4</sup>F<sub>5/2</sub> и <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> диапазон 800–870 нм [16] или по отношению интенсивностей люминесценции со штарковских подуровней состояния <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> [17]. Тепловые потери для иона Nd<sup>3+</sup> низки, поскольку возбужденный уровень с высоким сечением поглощения на переходе из основного состояния расположен лишь немногим выше метастабильного уровня и энергетический зазор между ними может быть перекрыт однофононной релаксацией, происходящей в течение нескольких пикосекунд [18]. Согласно литературным данным, методика определения температуры по соотношению интенсивностей люминесценции с уровнями <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> и <sup>4</sup>F<sub>5/2</sub> имеет большую температурную чувствительность и широкий температурный диапазон, обусловленные большим энергетическим зазором между состояниями [19]. Однако, из-за большой разницы между длинами волн люминесценции, поглощение биологических тканей может вносить искажения в детектируемый сигнал при использовании такой методики.

В настоящей работе теоретически и экспериментально продемонстрировано, что для применения в качестве температурных сенсоров перспективны НЧ с кристаллической матрицей YPO<sub>4</sub>, допированной ионами Nd<sup>3+</sup>, позволяющие, даже при температуре 300 К, селективно выделять два штарковских уровня мультиплета <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> иона Nd<sup>3+</sup>. Авторами выполнена процедура калибровки для пересчета отношения интенсивностей люминесценции со штарковских подуровней в значения реальной температуры нагрева НЧ в соответствии с распределением Больцмана. Установлена однозначная зависимость между абсолютной



**Рис. 1.** Диаграмма энергетических уровней иона Nd<sup>3+</sup> в кристалле Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub>  
**Fig. 1.** Diagram of the Nd<sup>3+</sup> energy levels in the Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub> crystal

температурой и температурно-зависимым параметром. Энергетический зазор между штарковскими подуровнями был экспериментально установлен из спектров люминесценции НЧ Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub> при возбуждении 805 нм при температуре кипящего азота и при комнатной температуре. На основе полученных экспериментальных значений энергетического зазора, была построена теоретическая калибровочная кривая для широкого диапазона температур.

### Материалы и методы

НЧ 1% Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub> были синтезированы с помощью гидротермально микроволнового метода [20]. Спектры люминесценции ионов Nd<sup>3+</sup> при возбуждении непрерывным лазерным излучением λ=805 нм (возбуждение на уровень <sup>4</sup>F<sub>5/2</sub> Nd<sup>3+</sup>), с плотностью мощности 0,7 Вт/см<sup>2</sup> регистрировали спектрометром Raman-HR-TEC (StellarNet, США) в диапазоне 800–1000 нм.

#### Процедура калибровки для пересчета отношения интенсивностей люминесценции в значения реальной температуры локального разогрева микроокружения композитных НЧ

При спектроскопической оценке локальной температуры нагрева, определение температуры происходит по изменению температурно-зависимого параметра. В работе использовалось отношение интенсивностей люминесценции при переходах со штарковских подуровней ионов Nd<sup>3+</sup> <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> (2) и <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> (1) на штарковские подуровни состояния <sup>4</sup>I<sub>9/2</sub> (Xj) (рис. 1).

Отношение интенсивностей люминесценции со штарковских подуровней, используемое в качестве температурно-зависимого параметра  $R$ , может быть рассчитано в соответствии с распределением Больцмана:

$$R = \frac{I_2}{I_1} = B \cdot \exp\left(\frac{-\Delta E}{k_B T}\right) \quad (1),$$

$$B = \frac{c_2(\nu) \cdot A_2 \cdot g_2 \cdot h \cdot \nu_2}{c_1(\nu) \cdot A_1 \cdot g_1 \cdot h \cdot \nu_1} \quad (2),$$

где  $I_2$  и  $I_1$  интенсивности переходов со штарковских подуровней  ${}^4F_{3/2}$ ,  $k_B$  – константа Больцмана,  $\Delta E$  – энергетический зазор между штарковскими подуровнями 2 и 1 состояния  ${}^4F_{3/2}$ ,  $T$  – температура,  $h$  – постоянная Планка,  $A_i$  – вероятность спонтанной эмиссии,  $g_i$  – кратность вырождения состояния,  $c_i(\nu)$  – чувствительность системы детектирования на частоте излучения  $\nu_i$ .

В работе использовалось нормированное на комнатную температуру отношение  $R/R_0$ , где

$$R_0 = \frac{I_2}{I_1} = B \cdot \exp\left(\frac{-\Delta E}{k_B T_0}\right) \quad (3)$$

– отношение интенсивностей люминесценции со штарковских подуровней в отсутствие нагрева (при комнатной температуре  $T_0=300$  K).

Температура нагрева может быть рассчитана исходя из соотношения:

$$\frac{1}{T} = \frac{1}{T_0} - \frac{k_B}{\Delta E} \cdot \ln\left(\frac{R}{R_0}\right) \quad (4).$$

Чтобы проводить оценку температуры спектроскопическим методом, требовалось установить однозначное соответствие между изменением отношения интенсивностей люминесценции и температурой нагрева частиц. В соответствии с распределением Больцмана, отношение интенсивностей люминесценции со штарковских подуровней зависит от величины энергетического зазора между ними. На первом этапе использовали калибровочную кривую, построенную на основании литературных данных о величине энергетического зазора между штарковскими подуровнями состояния  ${}^4F_{3/2}$  для матрицы  $YPO_4$ . Затем было проведено уточнение литературных данных о величине энергетического зазора экспериментальными методами для исследуемых НЧ. Для этого были зарегистрированы спектры люминесценции исследуемых порошков при охлаждении жидким азотом. Полученные спектры аппроксимировались, выделялось 10 пиков, аппроксимируемых функцией Лоренца, соот-

ветствующие 10-ти переходам между штарковскими подуровнями. Энергетический зазор рассчитывался исходя из разности между максимумами найденных пиков.

#### **Определение температурно-зависимого отношения интенсивностей люминесценции и алгоритм расчета интенсивностей люминесценции для отдельных штарковских компонент**

Для определения температурно-зависимого отношения интенсивностей люминесценции использовалась аппроксимация усредненного спектра с помощью функции Лоренца с выделением 10 пиков с максимумами, соответствующими переходам между штарковскими подуровнями состояний  ${}^4F_{3/2}$  и  ${}^4I_{9/2}$ .

Спектральная зависимость люминесценции представляется в виде суммы интенсивности люминесценции штарковских переходов РЗ иона:

$$I(\lambda) = I_0 + \sum_i I_i(\lambda) \quad (5),$$

где  $I_0$  – уровень фоновой интенсивности,  $I_i(\lambda)$  – спектр люминесценции отдельной штарковской компоненты. Компонента  $I_i(\lambda)$ , в свою очередь, представлена в виде функции Лоренца:

$$I_i(\lambda) = \frac{A_i}{1 + \left(\frac{\lambda - \lambda_{ci}}{d_i/2}\right)^2} \quad (6),$$

где  $A_i$  – амплитуда пика,  $\lambda_{ci}$  – центральная длина волны, и  $d_i$  – ширина на полувысоте.

Далее происходит решение задачи минимизации методом наименьших квадратов путем реализации алгоритма Левенберга-Марквардта [21,22]. Для поиска решения задачи минимизации выбирались начальные и предельные значения параметров, приведенные в табл. 1.

Результатом решения задачи является набор оптимизированных параметров, позволяющих рассчитывать интенсивность отдельных штарковских компонент по формуле:

$$I_i = \int I_i(\lambda) d\lambda = \frac{\pi A_i d_i}{2} \quad (7).$$

После вычисления интенсивностей, соответствующих каждой отдельной штарковской компоненте, происходит суммирование всех интенсивностей, относящихся к переходу с верхнего штарковского подуровня состояния  ${}^4F_{3/2}$  и с нижнего штарковского

подуровня состояния  ${}^4F_{3/2}$ , а затем вычисляется их отношение. Полученное отношение нормируется на значение отношения при комнатной температуре и в соответствии с калибровочной зависимостью пересчитывается в температуру нагрева НЧ.

**Сопоставление теоретической калибровочной кривой с оценкой температуры независимыми методами и оценка температурной чувствительности методики**

Для сопоставления теоретической калибровочной зависимости с оценкой температуры независимыми методами было проведено измерение изменения отношений интенсивности люминесценции со штатковских подуровней при нагреве на термостойке при независимом контроле температуры с помощью термометрической ИК-камеры JADE MWIR SC7300M (CEDIP, Франция). Исследуемый образец помещался на термостойку, позволяющий контролировать температуру нагрева в диапазоне 25–46°C с шагом 0,5°C.

Лазерное излучение фокусировалось на образец, плотность мощности составляла 300 мВт/см<sup>2</sup>. Спектр люминесценции регистрировался в диапазоне длин волн 800–1000 нм. Проводилось измерение 10 спектров люминесценции при каждом значении температуры. Время накопления каждого спектра составляло 1 с. Отношение интенсивностей при каждом значении температуры рассчитывалось по усредненному спектру. Интенсивность пика, соответствующего переходу 1–4 практически нулевая, в связи с чем, отношение интенсивностей люминесценции при переходах 2–4 и 1–4 было исключено из рассмотрения.

Для оценки чувствительности методики определения температуры, кварцевую кювету, содержащую коллоид исследуемых НЧ помещали в термостатируемый кюветодержатель от спектрофотометра U-3400 (Hitachi, Япония). Задаваемая температура образца поддерживалась за счет циркуляции воды заданной температуры в стенках кюветодержателя. Контроль

температуры стенок кюветодержателя осуществляли с использованием термометрической ИК-камеры с точностью 0,1°C. Лазерное излучение мощностью 700 мВт подавалось на кювету с раствором сверху, диаметр пятна составлял 1 см. Спектр люминесценции регистрировали с боковой поверхности кюветы; собранный сигнал проходил через интерференционный фильтр, пропускающий длины волн больше 830 нм, и поступал на спектрометр Raman-HR-TEC (StellarNet, США). Спектр рассеянного лазерного излучения, проходящего через интерференционный фильтр, был измерен независимо и вычитался из спектров люминесценции. Время накопления каждого спектра составляло 5 с. За каждое значение установленной температуры производилось 10 измерений. Было обнаружено, что за время регистрации люминесценции температура образца увеличивалась на 2°C под действием лазерного излучения.

Температурная чувствительность соотношения интенсивностей определялась в соответствии с соотношением [24]:

$$S = \frac{1}{R} \frac{dR}{dT} = \frac{\Delta E_{ij}}{kT^2} \quad (8),$$

$$\text{где } R = \frac{I_2}{I_1} \quad (9).$$

**Результаты и обсуждение**

Определение энергетического зазора между штатковскими подуровнями по спектру люминесценции и оптимизация калибровки для пересчета отношения интенсивностей люминесценции в значения температуры нагрева НЧ.

Измеренный при температуре кипящего азота (77K) спектр люминесценции порошка Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub> был разложен на 10 отдельных пиков, соответствующих переходам между штатковскими подуровнями состояний  ${}^4F_{3/2}$  и  ${}^4I_{9/2}$  (рис. 2).

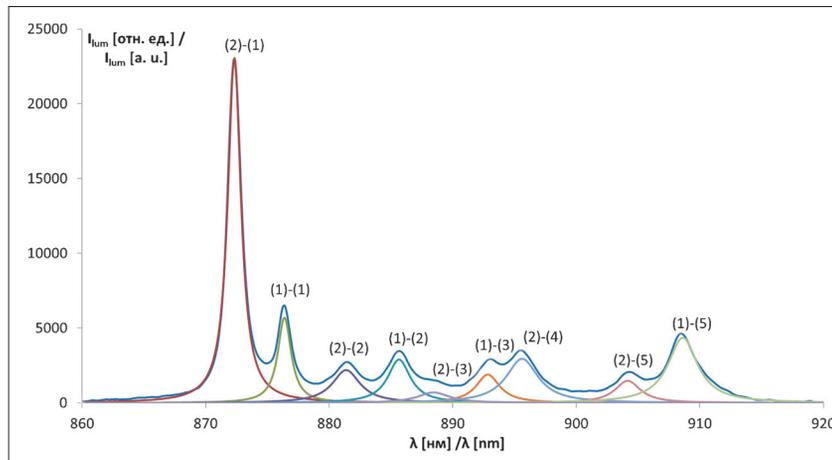
**Таблица 1**

Начальные и предельные значения параметров для решения задачи минимизации:  $\lambda_{ci}^0$  – начальное значение центральной длины волны лоренцианы,  $I(\lambda_{ci}^0)$  – интенсивность люминесценции на длине волны  $\lambda_{ci}^0$

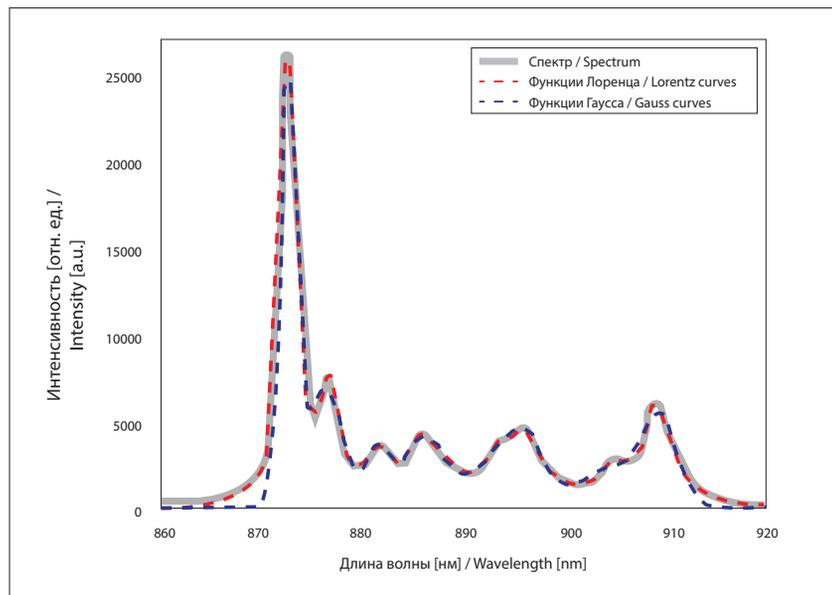
**Table 1**

The initial and limit values of the parameters for solving the problem of minimizing:  $\lambda_{ci}^0$  – initial value of the Lorentzians central wavelength,  $I(\lambda_{ci}^0)$  – luminescence intensity at the wavelength  $\lambda_{ci}^0$

Параметр Parameter	Начальное значение Initial value	Минимум Minimum	Максимум Maximum
$I_0$	0	-	-
$\lambda_{ci}$ [нм] $\lambda_{ci}$ [nm]	Для Nd <sup>3+</sup> :YPO <sub>4</sub> из литературы [23] For Nd <sup>3+</sup> :YPO <sub>4</sub> from literature [23]	$\lambda_{ci}^0 - 2$	$\lambda_{ci}^0 + 2$
$A_i$	$I(\lambda_{ci}^0)$	0	$I(\lambda_{ci}^0)$
$d_i$ [нм] $d_i$ [nm]	1	0	10



**Рис. 2.** Аппроксимация спектра люминесценции порошка Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub> при возбуждении 805 нм с помощью функции Лоренца  
**Fig. 2.** Approximation of the luminescence spectrum of Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub> powder excited at 805 nm using the Lorentz function



**Рис. 3.** Аппроксимация спектра люминесценции порошка Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub> комбинациями функций Гаусса и Лоренца  
**Fig. 3.** Approximation of the luminescence spectrum of Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub> powder by combinations of Gaussian and Lorentz functions

Было также проведено сравнение аппроксимации полученных спектров люминесценции функцией Лоренца и функцией Гаусса:

$$I_i^G(\lambda) = A_i e^{-\frac{(\lambda - \lambda_{ci})^2}{2\sigma^2}} \quad (10).$$

Аппроксимация функцией Гаусса требовала более строгого задания начальных и граничных значений параметров и не позволяла выделять некоторые штарковские компоненты, а также имела форму,

сильно отличающуюся от регистрируемого спектра, что приводило к низкой точности аппроксимации и невозможности последующего определения интенсивности отдельных штарковских компонент. Для аппроксимации выбрана функция Лоренца. Сравнение аппроксимаций функциями Гаусса и Лоренца приведено на рис. 3.

Энергетический зазор рассчитывался исходя из разности между максимумами найденных пиков и составил 53 см<sup>-1</sup> для штарковских подуровней состояния <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> для матрицы YPO<sub>4</sub>. Литературные данные

и результаты вычислений энергетических зазоров, соответствующих переходам между всеми рассматриваемыми штарковскими подуровнями состояний <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> и <sup>4</sup>I<sub>9/2</sub> приведены в табл. 2.

Показано, что энергетический зазор между уровнями не зависит от температуры. Полученные значения находятся в хорошем соответствии со значениями, приведенными в [23] для матрицы YPO<sub>4</sub>. С использованием формул (1) и (2,3) и полученных экспериментальных значений энергетического зазора, была построена теоретическая калибровочная кривая для широкого диапазона температур. Полученная калибровочная кривая позволяет пересчитать отношение интенсивностей люминесценции в значение реальной температуры нагрева НЧ. Калибровочные кривые, построенные для литературной и экспериментальной величин энергетического зазора, приведены на рис. 4а.

Использование нормировки на значение при комнатной температуре позволяет избавиться от разницы в калибровочных кривых для низких температур, однако для температур выше 100°C начинает наблюдаться расхождение (рис. 4б). Таким образом, для наиболее точной спектроскопической оценки температуры нагрева НЧ, необходимо использовать нормированную калибровочную кривую, построенную для экспериментально измеренной величины энергетического зазора между штарковскими подуровнями.

Сопоставление теоретической калибровочной зависимости с оценкой температуры независимыми методами

Получены зависимости отношения интенсивностей люминесценции при переходах со штарковских подуровней состояния <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> на подуровни состояния <sup>4</sup>I<sub>9/2</sub> от температуры нагрева образца на термостолике (рис. 5).

Сравнение с теорией показало, что наблюдается достаточно большой разброс отношения интенсивностей для отдельных пар переходов (<sup>4</sup>F<sub>3/2</sub>(2)-<sup>4</sup>I<sub>9/2</sub>(i)) / (<sup>4</sup>F<sub>3/2</sub>(1)-<sup>4</sup>I<sub>9/2</sub>(i)) (рис. 5а). Уменьшить разброс значений удалось при использовании суммарного отношения интенсивности переходов с состояния <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub>(2) на все штарковские подуровни <sup>4</sup>I<sub>9/2</sub> к суммарной интенсивности переходов с состояния <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub>(1) на все штарковские подуровни <sup>4</sup>I<sub>9/2</sub> (рис. 5б).

Рассчитанная и теоретическая зависимость хорошо описывает экспериментально измеренное изменение отношения интенсивностей при повышении температуры нагрева. Таким образом, продемонстрировано, что исследуемые НЧ, содержащие ионы неодима могут быть использованы в качестве так называемых «первичных» термометров, не требующих дополнительной перекалибровки для оценки температуры в диапазоне температур, используемом при гипертермии.

Оценка температурной чувствительности спектра люминесценции НЧ, содержащих Nd<sup>3+</sup>, с использованием термостатируемого кюветодержателя.

Для оценки чувствительности спектроскопической методики оценки температуры был разработан алгоритм, позволяющий рассчитать температурную чувствительность для изменения отношения общей интенсивности пиков люминесценции к наиболее

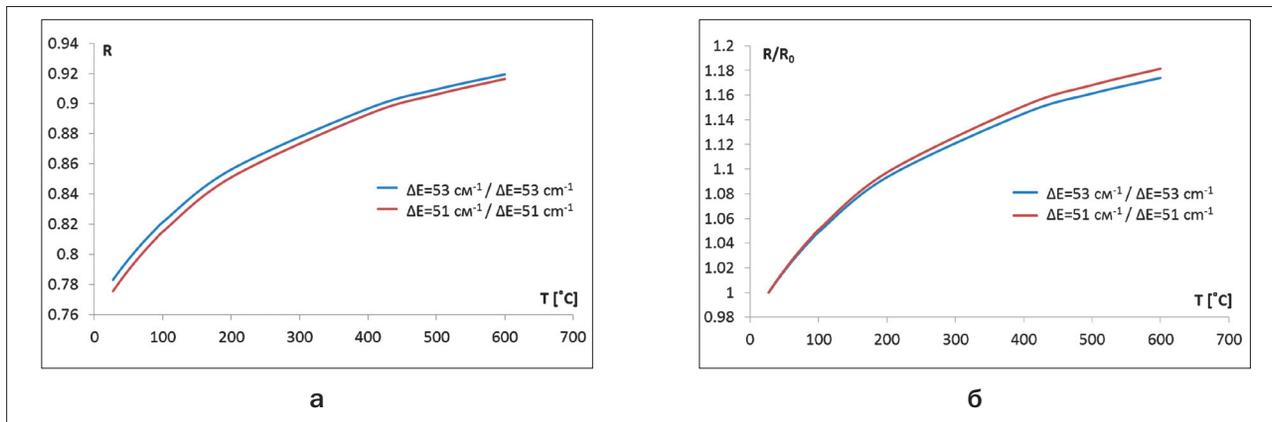
**Таблица 2**

Энергетический зазор, соответствующий переходам между штарковскими подуровнями состояний <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> и <sup>4</sup>I<sub>9/2</sub>

**Table 2**

The energy gap corresponding to transitions between the Stark sublevels of the states <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> and <sup>4</sup>I<sub>9/2</sub>

Переход Transition	Литературные данные [23] Literature data [23]			Измеренные данные, T=77 K Measured data at T=77 K			Измеренные данные, T=300 K Measured data at T=300 K		
	E [cm <sup>-1</sup> ] E [cm <sup>-1</sup> ]	λ [нм] λ [nm]	ΔE [cm <sup>-1</sup> ] ΔE [cm <sup>-1</sup> ]	E [cm <sup>-1</sup> ] E [cm <sup>-1</sup> ]	λ [нм] λ [nm]	ΔE [cm <sup>-1</sup> ] ΔE [cm <sup>-1</sup> ]	E [cm <sup>-1</sup> ] E [cm <sup>-1</sup> ]	λ [нм] λ [nm]	ΔE [cm <sup>-1</sup> ] ΔE [cm <sup>-1</sup> ]
2_1	11464	872,30		11464	872,3		11464	872,3	
1_1	11413	876,19	51	11412	876,3	52	11411	876,3	53
2_2	11347	881,29		11347	881,3		11346	881,3	
1_2	11296	885,27	51	11294	885,4	53	11291	885,4	55
2_3	11249	888,97		11251	888,8		11256	888,8	
1_3	11198	893,02	51	11198	893,0	53	11200	893,0	55
2_4	11171	895,18		11168	895,4		11166	895,4	
1_4	11120	899,28	51	-	-	-	-	-	-
2_5	11061	904,08		11062	904,0		11060	904,0	
1_5	11010	908,27	51	11009	908,3	53	11006	908,3	54

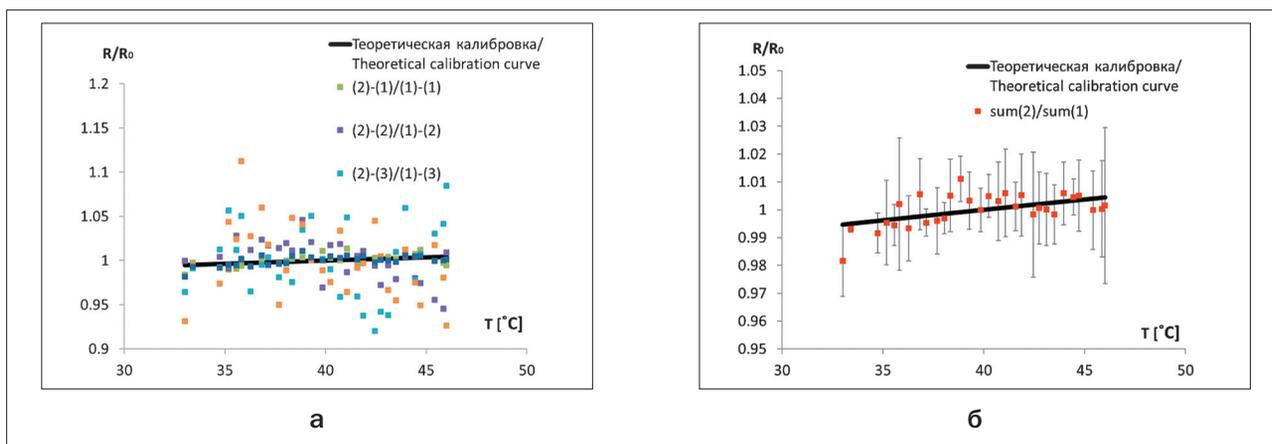


**Рис. 4.** Калибровочные кривые для пересчета отношения интенсивностей люминесценции в значения температуры НЧ для двух значений энергетического зазора между штарковскими подуровнями:

- а – построенные в соответствии с температурным распределением Больцмана;
- б – нормированные на значение при комнатной температуре

**Fig. 4.** Calibration curves for recalculating the ratio of luminescence intensities to the values of temperature of the NPs for two values of the energy gap between the Stark sublevels:

- а – plotted in accordance with the Boltzmann temperature distribution;
- б – normalized to the value at room temperature



**Рис. 5.** Зависимости отношения интенсивностей люминесценции при переходах со штарковских подуровней состояния  ${}^4F_{3/2}$  на подуровни состояния  ${}^4I_{9/2}$  от температуры:

- а – отношения интенсивностей для отдельных пар переходов ( ${}^4F_{3/2}(2)-{}^4I_{9/2}(i)$ )/( ${}^4F_{3/2}(1)-{}^4I_{9/2}(i)$ ) в сравнении с теоретической зависимостью;
- б – суммарное отношение интенсивности переходов с состояния  ${}^4F_{3/2}(2)$  на все штарковские подуровни  ${}^4I_{9/2}$  к суммарной интенсивности переходов с состояния  ${}^4F_{3/2}(1)$  на все штарковские подуровни  ${}^4I_{9/2}$

**Fig. 5.** Dependences of the luminescence intensities ratio for transitions from the Stark sublevels of the  ${}^4F_{3/2}$  state to the  ${}^4I_{9/2}$  sublevels from the temperature:

- а – the intensities ratio for the individual pairs of transitions ( ${}^4F_{3/2}(2)-{}^4I_{9/2}(i)$ )/( ${}^4F_{3/2}(1)-{}^4I_{9/2}(i)$ ) in comparison with the theoretical dependence;
- б – the total intensity ratio of transitions from the  ${}^4F_{3/2}(2)$  state to all Stark sublevels  ${}^4I_{9/2}$  to the total intensity of transitions from the  ${}^4F_{3/2}(1)$  state to all Stark sublevels  ${}^4I_{9/2}$

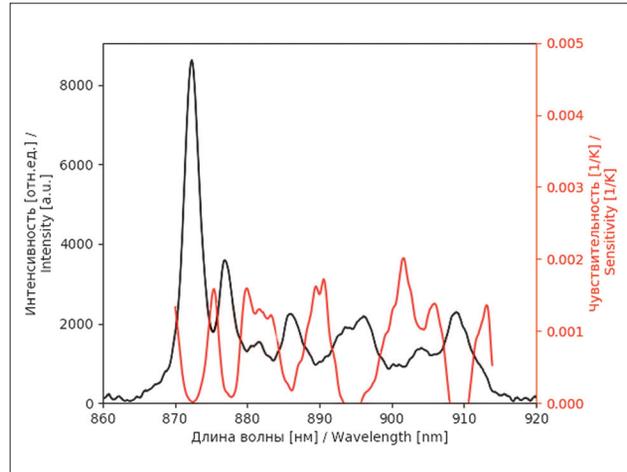
интенсивному пику в соответствии с формулами 8 и 9, где  $I_2$  – наиболее интенсивный пик люминесценции. Результатом работы алгоритма является получение значения температурной чувствительности  $S$  и коэффициента детерминации  $R^2$  для каждой точки спектра люминесценции.

Для НЧ Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub> в качестве  $I_2$  был выбран переход (2)-(1), соответствующий длине волны 872 нм, как наиболее интенсивный (рис. 6).

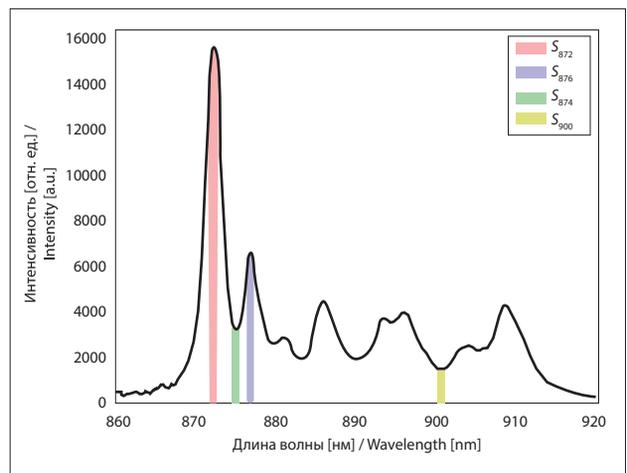
Чувствительность определения температуры с помощью спектроскопической методики варьируется в диапазоне длин волн 870–915 нм от 0,0009 до 0,002°C<sup>-1</sup> с  $R^2 = 0,7–0,9$  (табл. 3). При этом самые высокие значения чувствительности были получены при использовании отношения наиболее интенсивного пика люминесценции к провалу между пиками, соответствующему длине волны 900 нм (рис. 7). Чувствительность метода при использовании этого отноше-

ния составила  $0,0020^{\circ}\text{C}^{-1}$  ( $R^2 = 0,6$ ). Для сравнения, чувствительность при использовании отношения наиболее интенсивного пика люминесценции (872 нм) к пику на длине волны 876 нм, соответствующего отношению интенсивностей (2)-(1) и (1)-(1) при переходах с 1 и 2 штарковских подуровней состояния  ${}^4\text{F}_{3/2}$  на первый штарковский подуровень состояния  ${}^4\text{I}_{9/2}$  составила  $0,0007^{\circ}\text{C}^{-1}$  ( $R^2 = 0,45$ ). Если использовать область провала между пиками, соответствующими переходам 2-1 и 1-1 (874 нм)  $-0,0016^{\circ}\text{C}^{-1}$  ( $R^2 = 0,87$ ).

В настоящее время в научном сообществе для ионов Nd<sup>3+</sup> предложено два подхода для мониторинга изменения температуры. Первый подход основан на измерении соотношения интенсивностей люминесценции переходов  ${}^4\text{F}_{5/2}-{}^4\text{I}_{9/2}$  к  ${}^4\text{F}_{3/2}-{}^4\text{I}_{9/2}$ . Этот подход был впервые применен для теплового зондирования в биологическом диапазоне температур S. Balabhadra и соавт. [25]. На нанопалочках (Gd<sub>1-x</sub>Nd<sub>x</sub>)<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ( $x = 0,009; 0,024$  и  $0,049$ ) было обнаружено, что более высокая разность энергий между возбужденными уровнями приводит к значительному увеличению температурной чувствительности, достигающей  $1,75 \pm 0,04\% \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$  при температуре 12<sup>o</sup>C. В диапазоне температур 40–60<sup>o</sup>C, используемом для гипертермии, чувствительность составила порядка 1% <sup>o</sup>C<sup>-1</sup>. Следует отметить, что использовалось возбуждающее излучение с длиной волны 532 нм, имеющее малую глубину проникновения в биологические ткани, а детекция осуществлялась двумя отдельными детекторами (ФЭУ R928 и детектором на основе InGaAs). I.E. Kolesnikov с соавт. [20] описывает схожие результаты эксперимента: исследователи отмечают высокую чувствительность для НЧ YVO<sub>4</sub>:Nd<sup>3+</sup> – 9% <sup>o</sup>C<sup>-1</sup> при температуре -150<sup>o</sup>C, однако она сильно снижается с ростом температуры и в диапазоне, используемом для гипертермии, составляет 1–1,3% <sup>o</sup>C<sup>-1</sup>, при этом возбуждение также осуществлялось при  $\lambda=532$  нм. Этим же коллективом авторов в другой статье для НЧ YVO<sub>4</sub>:Nd<sup>3+</sup> при возбуждении 808 нм получена чувствительность 0,47–0,54% <sup>o</sup>C<sup>-1</sup>, при температуре 30<sup>o</sup>C [26]. Для



**Рис. 6.** Спектр люминесценции водного коллоида НЧ 1% Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub>, а также зависимость температурной чувствительности образца от центральной длины волны I<sub>2</sub>  
**Fig. 6.** The luminescence spectrum of the aqueous colloid of 1% Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub> NPs as well as the temperature sensitivity dependence of the sample on the central wavelength I<sub>2</sub>



**Рис. 7.** Выбранные диапазоны для определения температурной чувствительности методики  
**Fig. 7.** Selected regions for temperature sensitivity of method determination

**Таблица 3**

Температурная чувствительность S в зависимости от центральной длины волны области I<sub>2</sub> для 1% Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub>

**Table 3**

Temperature sensitivity S as a function of the central wavelength of the I<sub>2</sub> region for 1% Nd<sup>3+</sup>:YPO<sub>4</sub>

$\lambda$ [нм] $\lambda$ [nm]	Тип области спектра Type of spectrum area	S, <sup>o</sup> C <sup>-1</sup>	R <sup>2</sup>
876	пик	0,0007	0,45
874	провал	0,0016	0,87
900	провал	0,0020	0,6

матрицы YPO<sub>4</sub>, допированной 0,1% Nd<sup>3+</sup>, нами ранее была продемонстрирована чувствительность 1,6% °C<sup>-1</sup> при 42 °C [27]. Большой энергетический зазор между состояниями <sup>4</sup>F<sub>5/2</sub> и <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub>, с одной стороны позволяет получить более высокую чувствительность, но с другой стороны может приводить к ошибкам в измерении температуры *in vivo*. Энергетический зазор составляет порядка 1000 см<sup>-1</sup>, разница в длинах волн люминесценции порядка 100 нм. При использовании данного метода для определения температуры в толще биологических тканей могут возникать существенные ошибки, обусловленные разницей в рассеянии и поглощении биологическими тканями люминесцентного излучения с длинами волн 800 и 900 нм [28]. Для точного определения температуры потребуется дополнительная калибровка, определяющая зависимость отношения интенсивностей от толщины поглощающего слоя биотканей. Подобная методика не применима в условиях *in vivo* при регистрации обратного диффузно-рассеянного излучения без данных о глубине в толще тканей, с которых был получен сигнал. Альтернативная методика основана на анализе полос излучения, соответствующих переходам между близлежащими шарковскими уровнями <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> (Ri) и <sup>4</sup>F<sub>9/2</sub> (Xj) или <sup>4</sup>F<sub>11/2</sub> (Yk) [14]. Чувствительность этого подхода существенно ниже, около 0,12% °C<sup>-1</sup> [13], и имеет ограниченный диапазон термического зондирования, однако в силу небольшой разницы энергий между двумя шарковскими компонентами (обычно около 100 см<sup>-1</sup>), отношение интенсивностей люминесценции не будет изменяться при детектировании температуры *in vivo*. В статье предложен подход, который позволяет дополнительно повысить чувствительность

методики спектроскопического определения температуры по соотношению интенсивностей люминесценции со шарковских подуровней состояния <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> за счет использования отношения интенсивностей, соответствующих самому интенсивному пику люминесценции, переход (2)-(1), и впадине между пиками. Продemonстрированная нами температурная чувствительность составила 0,2% °C<sup>-1</sup> в диапазоне температур 30–60 °C при возбуждении 805 нм, используемом для гипертермии, что сравнимо с результатами, полученными для НЧ YVO<sub>4</sub>:Nd<sup>3+</sup> при использовании отношения <sup>4</sup>F<sub>5/2</sub> и <sup>4</sup>F<sub>3/2</sub> при тех же условиях.

## Заключение

Исходя из полученных экспериментальных данных о чувствительности методики спектроскопического определения температуры по отношению самого интенсивного пика к провалу между пиками, методика обеспечивает лучшую чувствительность по сравнению с традиционно используемым отношением интенсивностей двух пиков, соответствующих переходам с разных шарковских подуровней. Величина коэффициента детерминации  $r^2$  при использовании такого подхода также возрастает, что говорит о более высокой чувствительности.

Таким образом, данный подход по измерению температуры НЧ позволит своевременно регулировать количество подаваемой световой энергии, и, соответственно, контролировать и оптимизировать режимы гипертермии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства Образования и Науки РФ [номер гранта RFMEFI61615X0064].*

## ЛИТЕРАТУРА

- Issels R., Kampmann E., Kanaar R., Lindner L.H. Hallmarks of hyperthermia in driving the future of clinical hyperthermia as targeted therapy: translation into clinical application // *International Journal of Hyperthermia*. – 2016. – Vol. 32(1). – P. 89–95. doi:10.3109/02656736.2015.1119317
- Chichel A., Skowronek J., Kubaszewska M., Kanikowski M. Hyperthermia – description of a method and a review of clinical applications // *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy*. – 2007. – Vol. 12(5). – P. 267–275. doi: 10.1016/S1507-1367(10)60065-X
- Myerson R.J., Moros E.G., Diederich C.J., et al. Components of a hyperthermia clinic: recommendations for staffing, equipment, and treatment monitoring // *International Journal of Hyperthermia*. – 2014. – Vol. 30(1). – P. 1–5. doi:10.3109/02656736.2013.861520
- Helmchen F., Denk W. Deep tissue two-photon microscopy // *Nature Methods*. – 2005. – Vol. 2. – P. 932–940. doi:10.1038/nmeth818
- Leitgeb N., Omerspahic A., Niedermayr F. Exposure of non-target tissues in medical diathermy // *Bioelectromagnetics*. – 2010. – Vol. 31(1). – P. 12–19. doi:10.1002/bem.20521

## REFERENCES

- allmarks of hyperthermia in driving the future of clinical hyperthermia as targeted therapy: translation into clinical application, *International Journal of Hyperthermia*, 2016, Vol. 32(1), pp. 89–95. doi:10.3109/02656736.2015.1119317
- Chichel A., Skowronek J., Kubaszewska M., Kanikowski M. Hyperthermia – description of a method and a review of clinical applications, *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy*, 2007, Vol. 12(5), pp. 267–275. doi: 10.1016/S1507-1367(10)60065-X
- Myerson R.J., Moros E.G., Diederich C.J., Haemmerich D., Hurwitz M.D., Hsu I.C., Mc Gough R.J., Nau W.H., Straube W.L., Turner P.F., Vujaskovic Z., Stauffer P.R. Components of a hyperthermia clinic: recommendations for staffing, equipment, and treatment monitoring, *International Journal of Hyperthermia*, 2014, Vol. 30(1), pp. 1–5. doi:10.3109/02656736.2013.861520
- Helmchen F., Denk W. Deep tissue two-photon microscopy, *Nature Methods*, 2005, Vol. 2, pp. 932–940. doi:10.1038/nmeth818
- Leitgeb N., Omerspahic A., Niedermayr F. Exposure of non-target tissues in medical diathermy, *Bioelectromagnetics*, 2010, Vol. 31(1), pp. 12–19. doi:10.1002/bem.20521

- Kaur P., Aliru M.L., Chadha A.S., Asea A., Krishnan S. Hyperthermia using nanoparticles – promises and pitfalls // *International Journal of Hyperthermia*. – 2016. – Vol. 32(1). – P. 76–88. doi:10.3109/02656736.2015.1120889
- Wust P., Cho C., Hildebrandt B., Gellermann J. Thermal monitoring: invasive, minimal-invasive and non-invasive approaches // *International Journal of Hyperthermia*. – 2006. – Vol. 22(3). – P. 255–262. doi: 10.1080/02656730600661149
- Rocha U., Hu J., Rodriguez E.M., et al. Subtissue imaging and thermal monitoring of gold nanorods through joined encapsulation with Nd-doped infrared-emitting nanoparticles // *Small*. – 2016. – Vol. 12(39). – P. 5394–5400. doi:10.1002/smll.201600866
- Escudero A., Carrillo-Carrion C., Zyuzin M.V., Parak W.J. Luminescent rare-earth-based nanoparticles: a summarized overview of their synthesis, functionalization, and applications // *Top Curr Chem (Cham)*. – 2016. – Vol. 374(4). – P. 48. doi:10.1007/s41061-016-0049-8
- Carrasco E., del Rosal B., Sanz-Rodriguez F., et al. Intratumoral thermal reading during photo-thermal therapy by multifunctional fluorescent nanoparticles // *Advanced Functional Materials*. – 2015. – Vol. 25(4). – P. 615. doi:10.1002/adfm.201403653
- Quintanilla M., Benayas A., Naccache R., Vetrone F. Chapter 5. Luminescent nanothermometry with lanthanide-doped nanoparticles in book *Thermometry at the Nanoscale: Techniques and Selected Applications*. – The Royal Society of Chemistry, 2016. – P. 124–166. doi:10.1039/9781782622031-00124
- Wang Z., Zhang P., Yuan Q., et al. Nd<sup>3+</sup>-sensitized NaLuF<sub>4</sub> luminescent nanoparticles for multimodal imaging and temperature sensing under 808 nm excitation // *Nanoscale*. – 2015. – Vol. 7(42). – P. 17861–17870. doi:10.1039/C5NR04889C
- Wawrzynczyk D., Bednarkiewicz A., Nyk M., et al. Neodymium(III) doped fluoride nanoparticles as non-contact optical temperature sensors // *Nanoscale*. – 2012. – Vol. 4(22). – P. 6959–6961. doi:10.1039/c2nr32203j
- Rocha U., Silva C.J., Silva W.F., et al. Subtissue thermal sensing based on neodymium-doped LaF<sub>3</sub> nanoparticles // *ACS Nano*. – 2013. – Vol. 7(2). – P. 1188–1199. doi:10.1021/nn304373q
- Li X., Wang R., Zhang F., et al. Nd<sup>3+</sup> sensitized up/down converting dual-mode nanomaterials for efficient in-vitro and in-vivo bioimaging excited at 800 nm // *Sci. Rep.* – 2013. – Vol. 3. – P. 3536. doi:10.1038/srep03536
- Tian X., Wei X., Chen Y., et al. Temperature sensor based on ladder-level assisted thermal coupling and thermal-enhanced luminescence in NaYF<sub>4</sub>: Nd<sup>3+</sup> // *Opt Express*. – 2014. – Vol. 22(24). – P. 30333–30345. doi:10.1364/OE.22.030333
- Rocha U., Kumar K.U., Jacinto C., et al. Nd<sup>3+</sup> doped LaF<sub>3</sub> nanoparticles as self-monitored photo-thermal agents // *Appl. Phys. Lett.* – 2014. – Vol. 104. – P. 053703. doi:10.1063/1.4862968
- Basiev T.T., Dergachev A.Yu., Orlovskii Y.V., Prokhorov A.M. Multiphonon nonradiative relaxation from high-lying levels of Nd<sup>3+</sup> ion in fluoride and oxide laser materials // *Journal of Luminescence*. – 1992. – Vol. 53. – P. 19–23. doi:10.1016/0022-2313(92)90096-R
- Kolesnikov I.E., Kalinichev A.A., Kurochkin M.A., et al. New strategy for thermal sensitivity enhancement of Nd<sup>3+</sup>-based ratiometric luminescence thermometers // *Journal of Luminescence*. – 2017. – Vol. 192. – P. 40–46. doi:10.1016/j.jlumin.2017.06.024
- Samsonova E., Popov A., Vanetsev A., et al. Energy transfer kinetics probe for OH- quenchers in the YPO<sub>4</sub>:Nd<sup>3+</sup> nanocrystals suitable for imaging in the biological tissue transparency window // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2014. – Vol. 16. – P. 26806–26815. doi:10.1039/C4CP03774J
- Levenberg K. A method for the solution of certain non-linear problems in least squares // *Quarterly of Applied Mathematics*. – 1944. – Vol. 2. – P. 164–168. doi: 10.1090/qam/10666
- Marquardt D.W. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters // *Journal of the Society for Industrial*
- Kaur P., Aliru M.L., Chadha A.S., Asea A., Krishnan S. Hyperthermia using nanoparticles – promises and pitfalls, *International Journal of Hyperthermia*, 2016, Vol. 32(1), pp. 76–88. doi:10.3109/02656736.2015.1120889
- Wust P., Cho C., Hildebrandt B., Gellermann J. Thermal monitoring: invasive, minimal-invasive and non-invasive approaches, *International Journal of Hyperthermia*, 2006, Vol. 22(3), pp. 255–262. doi: 10.1080/02656730600661149
- Rocha U., Hu J., Rodriguez E.M., Vanetsev A.S., Rahn M., Sammelselg V., Orlovskii Y.V., Sole J.G., Jaque D., Ortgies D.H. Subtissue imaging and thermal monitoring of gold nanorods through joined encapsulation with Nd-doped infrared-emitting nanoparticles, *Small*, 2016, Vol. 12(39), pp. 5394–5400. doi:10.1002/smll.201600866
- Escudero A., Carrillo-Carrion C., Zyuzin M.V., Parak W.J. Luminescent rare-earth-based nanoparticles: a summarized overview of their synthesis, functionalization, and applications, *Top Curr Chem (Cham)*, 2016, Vol. 374(4), p. 48. doi:10.1007/s41061-016-0049-8
- Carrasco E., del Rosal B., Sanz-Rodriguez F., de la Fuente A.J., Gonzalez P.H., Rocha U., Kumar K.U., Jacinto C., Sole J.G., Jaque D. Intratumoral thermal reading during photo-thermal therapy by multifunctional fluorescent nanoparticles, *Advanced Functional Materials*, 2015, Vol. 25(4), p. 615. doi:10.1002/adfm.201403653
- Quintanilla M., Benayas A., Naccache R., Vetrone F. Chapter 5. Luminescent nanothermometry with lanthanide-doped nanoparticles in book *Thermometry at the Nanoscale: Techniques and Selected Applications*. The Royal Society of Chemistry, 2016. pp. 124–166. doi:10.1039/9781782622031-00124
- Wang Z., Zhang P., Yuan Q., Xu X., Lei P., Liu X., Su Y., Dong L., Feng J., Zhang H. Nd<sup>3+</sup>-sensitized NaLuF<sub>4</sub> luminescent nanoparticles for multimodal imaging and temperature sensing under 808 nm excitation, *Nanoscale*, 2015, Vol. 7(42), pp. 17861–17870. doi:10.1039/C5NR04889C
- Wawrzynczyk D., Bednarkiewicz A., Nyk M., Strek W., Samoc M. Neodymium(III) doped fluoride nanoparticles as non-contact optical temperature sensors, *Nanoscale*, 2012, Vol. 4(22), pp. 6959–6961. doi:10.1039/c2nr32203j
- Rocha U., Silva C.J., Silva W.F., Guedes I., Benayas A., Maestro L.M., Elias M.A., Bovero E., van Veggel F.C.J.M., Sole J.A.G., Jaque D. Subtissue thermal sensing based on neodymium-doped LaF<sub>3</sub> nanoparticles, *ACS Nano*, 2013, Vol. 7(2), pp. 1188–1199. doi:10.1021/nn304373q
- Li X., Wang R., Zhang F., Zhou L., Shen D., Yao C., Zhao D. Nd<sup>3+</sup> sensitized up/down converting dual-mode nanomaterials for efficient in-vitro and in-vivo bioimaging excited at 800 nm, *Sci. Rep.*, 2013, Vol. 3, p. 3536. doi:10.1038/srep03536
- Tian X., Wei X., Chen Y., Duan C., Yin M. Temperature sensor based on ladder-level assisted thermal coupling and thermal-enhanced luminescence in NaYF<sub>4</sub>: Nd<sup>3+</sup>, *Opt Express*, 2014, Vol. 22(24), pp. 30333–30345. doi:10.1364/OE.22.030333
- Rocha U., Kumar K.U., Jacinto C., Ramiro J., Caamano A.J., Sole J.G., Jaque D. Nd<sup>3+</sup> doped LaF<sub>3</sub> nanoparticles as self-monitored photo-thermal agents, *Appl. Phys. Lett.*, 2014, Vol. 104, 053703. doi:10.1063/1.4862968
- Basiev T.T., Dergachev A.Yu., Orlovskii Y.V., Prokhorov A.M. Multiphonon nonradiative relaxation from high-lying levels of Nd<sup>3+</sup> ion in fluoride and oxide laser materials, *Journal of Luminescence*, 1992, Vol. 53, pp. 19–23. doi:10.1016/0022-2313(92)90096-R
- Kolesnikov I.E., Kalinichev A.A., Kurochkin M.A., Mamonova D.V., Kolesnikov E.Y., Kurochkin A.V., Lähderanta E., Mikhailov M.D. New strategy for thermal sensitivity enhancement of Nd<sup>3+</sup>-based ratiometric luminescence thermometers, *Journal of Luminescence*, 2017, Vol. 192, pp. 40–46. doi:10.1016/j.jlumin.2017.06.024
- Samsonova E., Popov A., Vanetsev A., Keevend K., Orlovskaya E., Kiisk V., Lange S., Joost U., Kaldvee K., Mäeorg U., Glushkov N., Ryabova A., Sildos I., Osiko V., Steiner R., Loschenov V., Orlovskii Y. Energy transfer kinetics probe for OH- quenchers in the

- and Applied Mathematics. – 1963. – Vol. 11(2). – P. 431–441. doi:10.1137/0111030
23. Guillot-Noel O., Kahn-Harari A., Viana B., et al. Optical spectra and crystal field calculations of Nd<sup>3+</sup> doped Zircon-type YMO<sub>4</sub> laser hosts (M=V, P, As) // *Journal of Physics: Condensed Matter*. – 1998. – Vol. 10(29). – P. 6491–6503. doi:10.1088/0953-8984/10/29/009
  24. Rai V.K., Rai S.B. A comparative study of FIR and FL based temperature sensing schemes: an example of Pr<sup>3+</sup> // *Applied Physics B*. – 2007. – Vol. 87. – P. 323–325. doi:10.1007/s00340-007-2592-z
  25. Balabhadra S., Debasu M.L., Brites C.D.S., et al. Boosting the sensitivity of Nd<sup>3+</sup>-based luminescent nanothermometers // *Nanoscale*. – 2015. – Vol. 7. – P. 17261–17267. doi:10.1039/C5NR05631D
  26. Kolesnikov I.E., Kalinichev A.A., Kurochkin M.A., et al. YVO<sub>4</sub>:Nd<sup>3+</sup> nanophosphors as NIR-to-NIR thermal sensors in wide temperature range // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – 18002. doi:10.1038/s41598-017-18295-w
  27. Kaldvee K., Nefedova A.V., Fedorenko S.G., et al. Approaches to contactless optical thermometer in the NIR spectral range based on Nd<sup>3+</sup> doped crystalline nanoparticles // *Journal of Luminescence*. – 2017. – Vol. 183. – P. 478–485.
  28. Jacques S.L. Origins of tissue optical properties in the UVA, visible and NIR regions // *Advances in Optical Imaging and Photon Migration*. – 1996. – Vol. 2. – P. 364–370.
- YPO<sub>4</sub>:Nd<sup>3+</sup> nanocrystals suitable for imaging in the biological tissue transparency window, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2014, Vol. 16, pp. 26806–26815. doi:10.1039/C4CP03774J
  21. Levenberg K. A method for the solution of certain non-linear problems in least squares, *Quarterly of Applied Mathematics*, 1944, Vol. 2, pp. 164–168. doi: 10.1090/qam/10666
  22. Marquardt D.W. An algorithm for least-squares estimation of non-linear parameters, *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics*, 1963, Vol. 11(2), pp. 431–441. doi:10.1137/0111030
  23. Guillot-Noel O., Kahn-Harari A., Viana B., Vivien D., Antic-Fidancev E., Porcher P. Optical spectra and crystal field calculations of Nd<sup>3+</sup> doped Zircon-type YMO<sub>4</sub> laser hosts (M=V, P, As), *Journal of Physics: Condensed Matter*, 1998, Vol. 10(29), pp. 6491–6503. doi:10.1088/0953-8984/10/29/009
  24. Rai V.K., Rai S.B. A comparative study of FIR and FL based temperature sensing schemes: an example of Pr<sup>3+</sup>, *Applied Physics B*, 2007, Vol. 87, pp. 323–325. doi:10.1007/s00340-007-2592-z
  25. Balabhadra S., Debasu M.L., Brites C.D.S., Nunes L.A.O., Malta O.L., Rocha J., Bettinellie M., Carlos L.D. Boosting the sensitivity of Nd<sup>3+</sup>-based luminescent nanothermometers, *Nanoscale*, 2015, Vol. 7, pp. 17261–17267. doi:10.1039/C5NR05631D
  26. Kolesnikov I.E., Kalinichev A.A., Kurochkin M.A., Golyeva E.V., Kolesnikov E.Yu., Kurochkin A.V., Lahderanta E., Mikhailov M.D. YVO<sub>4</sub>:Nd<sup>3+</sup> nanophosphors as NIR-to-NIR thermal sensors in wide temperature range, *Scientific Reports*, 2017, Vol. 7, 18002. doi:10.1038/s41598-017-18295-w
  27. Kaldvee K., Nefedova A.V., Fedorenko S.G., Vanetsev A.S., Orlovskaya E.O., Puust L., Pärs M., Sildos I., Ryabova A.V., Orlovskii Yu.V. Approaches to contactless optical thermometer in the NIR spectral range based on Nd<sup>3+</sup> doped crystalline nanoparticles, *Journal of Luminescence*, 2017, Vol. 183, pp. 478–485.
  28. Jacques S.L. Origins of tissue optical properties in the UVA, visible and NIR regions, *Advances in Optical Imaging and Photon Migration*, 1996, Vol. 2, pp. 364–370.

## РОЛЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ ПЕРВИЧНЫХ, РЕЦИДИВНЫХ И МЕТАСТАТИЧЕСКИХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Д.А. Церковский, Е.А. Маслаков, Д.А. Багринцев, И.А. Семак, Е.Л. Протопович, А.Г. Чиж, А.А. Татур, И.С. Фоменков, Д.С. Ступак

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, Лесной, Республика Беларусь

### Резюме

Фотодинамическая терапия является актуальным и перспективным направлением для применения в области клинической нейроонкологии. Применение современных разработок в области лазерных технологий и новых фотосенсибилизаторов позволяет относить данное направление к высокотехнологичным. По данным различных авторов, включение фотодинамической терапии в схемы комбинированного и комплексного лечения пациентов со злокачественными опухолями головного мозга позволяет достигнуть медианы общей выживаемости пациентов от 11 до 26 мес для первичной формы глиобластомы и от 7,5 до 15 мес – для рецидивных форм глиобластомы. Достигнуты определенные результаты в лечении пациентов с метастатическим поражением головного мозга. В данной публикации авторами проанализированы и систематизированы результаты основных клинических исследований в области флуоресцентной диагностики и интраоперационной фотодинамической терапии при первичных, рецидивных и метастатических формах злокачественных новообразований головного мозга.

**Ключевые слова:** злокачественные опухоли, головной мозг, глиома, флуоресцентная диагностика, интраоперационная фотодинамическая терапия.

**Для цитирования:** Церковский Д.А., Маслаков Е.А., Багринцев Д.А., Семак И.А., Протопович Е.Л., Чиж А.Г., Татур А.А., Фоменков И.С., Ступак Д.С. Роль фотодинамической терапии в лечении первичных, рецидивных и метастатических злокачественных опухолей головного мозга // *Biomedical Photonics*. – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 37–49. doi: 10.24931/2413-9432-2018-7-2-37-49.

**Контакты:** Церковский Д.А., e-mail: tzerkovsky@mail.ru

## THE ROLE OF PHOTODYNAMIC THERAPY IN THE TREATMENT OF PRIMARY, RECURRENT AND METASTATIC MALIGNANT BRAIN TUMORS

Tzerkovsky D.A., Maslakov E.A., Bagrintsev D.A., Semak I.A., Protopovich Y.L., Chizh A.G., Tatur A.A., Fomenkov I.S., Stupak D.S.

N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Lesnoy, Republic of Belarus

### Abstract

Photodynamic therapy is a relevant and promising area for research in the field of clinical neurooncology. Application of modern developments in the field of laser technologies and new photosensitizers allows us to refer to this field as to high-tech. According to various authors, the inclusion of photodynamic therapy in combined and complex treatments of patients with malignant brain tumors allows achieving overall survival median of patients from 11 to 26 months for primary form of glioblastoma, and from 7.5 to 15 months – for recurrent forms of glioblastoma. Certain results have been achieved in the treatment of patients with metastatic brain lesion. In this publication the authors analyzed and systematized the results of the main clinical studies in the field of fluorescent diagnostics and intraoperative photodynamic therapy of primary, recurrent and metastatic forms of malignant brain tumors.

**Keywords:** malignant tumors, brain, glioma, fluorescence diagnostics, intraoperative photodynamic therapy.

**For citations:** Tzerkovsky D.A., Maslakov E.A., Bagrintsev D.A., Semak I.A., Protopovich Y.L., Chizh A.G., Tatur A.A., Fomenkov I.S., Stupak D.S. The role of photodynamic therapy in the treatment of primary, recurrent and metastatic malignant brain tumors, *Biomedical Photonics*, 2018, T. 7, No. 2, pp. 37–49. (in Russian). doi: 10.24931/2413-9432-2018-7-2-37-49.

**Contacts:** Tzerkovsky D.A., e-mail: tzerkovsky@mail.ru

## Введение

Несмотря на очевидные достижения медицины в последние десятилетия, лечение пациентов с первичными, рецидивными и метастатическими злокачественными опухолями головного мозга во многом остается нерешенной проблемой современной клинической нейроонкологии. Используемые в настоящий момент методы лечения, в лучшем случае, увеличивают продолжительность жизни до возникновения рецидива. При этом сохраняется высоким уровень послеоперационной летальности больных. Современные методы лечения: лучевая и химиотерапия, ангиогенная терапия, лазерная термотерапия, иммунотерапия, – пока не оказали существенного влияния на показатели выживаемости у больных злокачественными новообразованиями центральной нервной системы. По данным многочисленных эпидемиологических исследований, показатель 5-летней выживаемости у пациентов со злокачественными глиомами составляет в среднем 4–5%, медиана выживаемости с момента гистологической верификации варьирует от 12,6 до 19 мес [1–3], а показатель одногодичной выживаемости составляет 61% [4]. Для пациентов с метастатическим поражением головного мозга медиана общей выживаемости без лечения составляет 1 мес, при облучении всего головного мозга – 3–6 мес и при использовании хирургии или радиохимирургии с последующей химиолучевой терапией – 12–16 мес [5].

Подводя итог перечисленным методам лечения опухолей мозга, следует признать, что все существующие способы терапии достигли своего предела, поэтому в настоящее время активно ведется поиск новых, альтернативных методов лечения данной патологии. К одному из них относится фотодинамическая терапия (ФДТ). Предпосылками к ее использованию в качестве альтернативного метода терапии злокачественных новообразований головного мозга стали результаты клинических исследований, показавших достоверное увеличение медианы общей выживаемости больных и безрецидивного периода при одновременном уменьшении риска развития тяжелых неврологических осложнений [6–8].

Метод ФДТ основан на использовании эффекта селективной лазерной фотодеструкции предварительно sensibilizированной опухолевой ткани. Одной из основных мишеней для фотодинамического воздействия являются эндотелиоциты кровеносных сосудов и система макрофагальных клеток, фотооблучение которых приводит к выработке медиаторов воспаления и цитокинов (лимфокины, тромбоксаны, простогландины и др.), играющих весомую роль в деструкции сосудистого компонента стромы опухоли [9,10]. Действие ФДТ включает прямое цитотоксическое действие на пораженные клетки, а также повреждение микрососудистого русла опухоли

вследствие развивающегося сосудистого стаза, тромбоза и кровоизлияний, что приводит к её гипоксии и последующей гибели [11,12]. В зависимости от класса фотосенсибилизирующего агента и его локализации в опухоли, в целом, и опухолевой клетке, в частности, реализация противоопухолевого эффекта ФДТ приводит к апоптозу, некрозу или аутофагии. Результаты данных исследований *in vitro* представлены в табл. 1.

В последние годы основные исследования в области ФДТ злокачественных опухолей головного мозга направлены на изучение противоопухолевой активности различных фотосенсибилизаторов (ФС). К ним относятся препараты, созданные на основе гематопорфиринов (фотофрин I, II, QLT PhotoTherapeutics, Канада), фотогем (МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Россия), хлорин  $e_6$  и его производные – фотолон (РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь), фоскан (BioLitec, Великобритания), фотодитазин (ООО «ВЕТА-ГРАНД», Россия), производные 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК) – глиолан (Medac, Германия), аласенс (ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Россия), производные металлокомплекса азопорфина – фталоцианин фотосенс (ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Россия).

Стоит отметить, что противоопухолевая активность ряда ФС исследовалась и исследуется в рамках научных проектов, а некоторые уже официально разрешены для применения в клинической практике, в частности, в клинической нейроонкологии. Основными из них являются фотофрин, фотолон, аласенс и другие производные 5-АЛК.

Несмотря на многообразие перечисленных ФС, большинство из них не соответствуют требованиям, предъявляемым к ФС для ФДТ опухолей головного мозга. Вопрос о селективности накопления ФС в опухолях головного мозга – один из ключевых в проблеме повышения эффективности ФДТ.

Идеальный ФС должен избирательно накапливаться в опухолевой ткани, преодолевать гематоэнцефалический барьер, не абсорбируясь в значительных концентрациях в здоровых тканях, обладать максимальным цитотоксическим действием в отношении злокачественных клеток, не оказывать системного токсического действия и быстро выводиться из организма [14].

Доказано, что избирательность накопления ФС в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью головного мозга колеблется в пределах от 3:1 до 150:1 [15] в зависимости от активного вещества. Однако существует ряд ограничений использования ФДТ в нейроонкологии, основным из которых является незначительная глубина проникновения лазерного излучения в биологические ткани. Результаты экспериментальных исследований, подтверждающих этот факт, представлены в табл. 2.

**Таблица 1**  
 Пути повреждения опухоли при фотодинамическом воздействии [13]  
**Table 1**  
 Ways of tumor damage with photodynamic therapy [13]

Фотосенсибилизатор Photosensitizer	Локализация в клетке Localization in a cell	Биологические эффекты Biological effects	Путь клеточной гибели Path of cell death
Фотофрин II Photofrin II	Плазматическая мембрана; митохондрии Cell membrane; mitochondria	Разрушение плазматической мембраны, увеличение проницаемости мембран митохондрий для цитохрома С Cell membrane destruction, increased permeability of mitochondrial membranes for cytochrome C	Некроз; апоптоз Necrosis; apoptosis
Фоскан Foscan	Митохондрии, комплекс Гольджи, эндоплазматический ретикулум Mitochondria, Golgi complex, endoplasmic reticulum	Высвобождение в цитоплазму цитохрома С и Bcl-2 протеина The release of cytochrome C and Bcl-2 protein into the cytoplasm	Апоптоз Apoptosis
N-аспартил-хлорин е6 N-aspartyl-chlorin e6	Лизосомы Lysosomes	Активация лизосомальных протеаз Activation of lysosomal proteases	Апоптоз Apoptosis
Хлорофиллин е4 Chlorophyllin e4	Митохондрии; лизосомы Mitochondria; lysosomes	Не изучены Not studied	Апоптоз; аутофагия Apoptosis; autophagy
Гиперицин Hypericin	Эндоплазматический ретикулум Endoplasmic reticulum	Снижение активности Ca <sup>2+</sup> -зависимой АТФ-азы и SERCA-протеина Reduced activity of Ca <sup>2+</sup> -dependent ATPase and SERCA-protein	Апоптоз; аутофагия Apoptosis; autophagy
Фталоцианин цинка Zinc phthalocyanine	Митохондрии Mitochondria	Деструкция митохондриальной мембраны Destruction of the mitochondrial membrane	Апоптоз Apoptosis
Катионные производные порфиринов Cationic porphyrin derivatives	Плазматическая мембрана; митохондрии Cell membrane; mitochondria	Разрушение плазматической мембраны, увеличение проницаемости мембран митохондрий для цитохрома С Cell membrane destruction, increased permeability of mitochondrial membranes for cytochrome C	Некроз; апоптоз Necrosis; apoptosis
Метиленовый синий Methylene blue	Митохондрии; лизосомы Mitochondria; lysosomes	Снижение потенциала митохондриальной мембраны и инактивация анти-апоптотического протеина Bcl-2 Reduction of mitochondrial membrane potential and inactivation of anti-apoptotic protein Bcl-2	Апоптоз Apoptosis
Бенгальский розовый Rose bengal	Комплекс Гольджи Golgi Complex	Не изучены Not studied	Некроз; апоптоз; аутофагия Necrosis; apoptosis; autophagy
Фталоцианин Pc4 Phthalocyanine Pc4	Митохондрии; комплекс Гольджи; эндоплазматический ретикулум Mitochondria; Golgi Complex; endoplasmic reticulum	Инактивация Bcl-2 протеина Inactivation of Bcl-2 protein	Апоптоз Apoptosis
Порфицены Porphycenes	Эндоплазматический ретикулум Endoplasmic reticulum	Нарушение мембранного транспорта ионов Ca <sup>2+</sup> Disruption of Ca <sup>2+</sup> membrane transport	Апоптоз; аутофагия Apoptosis; autophagy
Сульфированное производное фталоцианина алюминия Sulphonated aluminum phthalocyanine derivative	Лизосомы Lysosomes	Выработка лизосомальных протеаз, активирующих каспазу-3 Expression of caspase-3 activating lysosomal proteases	Аутофагия Autophagy
Бензопорфирин Benzoporphyrin	Митохондрии Mitochondria	Инактивация антиапоптотического протеина Bcl-2; выработка X-протеина ((Bax)/Bcl-xL) Inactivation of anti-apoptotic protein Bcl-2; expression of X protein ((Bax) / Bcl-xL)	Апоптоз Apoptosis

**Фотодинамическая терапия в лечении первичных злокачественных глиом**

Клинические работы в области изучения эффективности ФДТ злокачественных опухолей головного мозга с применением различных классов ФС многочисленны. Первые пилотные исследования с производными гематопорфиринов были проведены еще в конце 1980-х годов на неоднородных и немногочисленных группах пациентов [22]. В ряде крупных научно-исследовательских центров и клиник США, Японии и Германии изучалась возможность проведения ФДТ с фотофрином I и II в лечении злокачественных опухолей мозга. В полученных результатах отмечено увеличение медианы общей выживаемости и продолжительности безрецидивного периода, что свидетельствует об эффективности проводимой методики [23].

ФДТ с фотофрином I и фотофрином II сопряжена со значительными ограничениями, обусловленными низкой проникающей способностью лазерного излучения в опухолевые ткани (от 1 до 5 мм). Поэтому ФДТ с использованием ФС первого поколения показана только при лечении опухолей размером не более 5 мм. При этом в перечисленных исследованиях использовался широкий диапазон световых доз лазерного излучения, который варьировался от 15 до 150 Дж/см<sup>2</sup>, что не позволяет осуществить анализ эффективности лечения по причине разнородности групп исследований. Помимо этого, оба препарата обла-

дают длительным и выраженным периодом кожной фототоксичности, составляющим 2–3 мес, что также ограничивает их использование [24].

Тем не менее, ряд авторов отмечает существенное увеличение эффективности ФДТ с производными гематопорфирина при использовании высоких доз лазерного излучения. Так, S.S. Stylli с коллегами сообщили о результатах лечения методом ФДТ 136 пациентов со злокачественными опухолями мозга: у пациентов с первичной формой глиобластомы медиана выживаемости составила 14,3 мес, при этом 25% из них прожили больше 36 мес. В качестве ФС исследователи использовали фотофрин I в дозе 5 мг/кг, плотность энергии лазерного излучения составила в среднем 230 Дж/см<sup>2</sup>. Авторы отметили, что пациенты, получившие дозу облучения больше усредненной, прожили дольше [25].

На основании всего вышесказанного, можно сделать вывод о том, что ФДТ с порфириновыми ФС является эффективным методом лечения первичных опухолей мозга незначительных размеров.

A. Johanson с коллегами опубликовали результаты клинического исследования эффективности ФДТ с 5-аминолевулиновой кислотой у 29 пациентов со злокачественными глиомами. Фотооблучение ложа удаленной опухоли осуществляли с использованием ксеноновой лампы мощностью 300 Вт и дозах 100–200 Дж/см<sup>2</sup> после предварительного введения 5-АЛК

**Таблица 2**  
Глубина некрозов в опухолевой ткани при ФДТ с различными ФС  
**Table 2**  
Depth of necrosis in tumor tissue during PDT with various PS

Автор, год публикации Author, publication year	Фотосенсибилизатор, доза (мг/кг) Photosensitizer, dose (mg/kg)	Длина волны (λ), нм Wave-length (λ), nm	Доза света, Дж/см <sup>2</sup> Light dose, J/cm <sup>2</sup>	Биологические Ткани Biological tissues	Глубина некроза, мм Depth of necrosis, mm
C. Perria, 1981 [16]	гематопорфирин, 5 hematoporphyrin, 5	633	9	злокачественная глиома malignant glioma	15
M.O. Kaye, 1987 [17]	гематопорфирин, 20–40 hematoporphyrin, 20–40	630	200–400	глиома С6 glioma C6	4–7
M.O. Deresky, 1991 [18]	фотофрин II, 12,5 photofrin II, 12.5	632	140	нормальный головной мозг normal brain	3–5
S.H. Tudge, 1999 [19]	гематопорфирин, 1 hematoporphyrin, 1	630	800	глиома С6 glioma C6	2,2
S.J. Madsen, 2001 [20]	5-аминолевулиновая кислота, 100 5-aminolevulinic acid, 100	630	50	глиома С6 (сфероиды) glioma C6 (spheroids)	0,9–1,2
B. Olzowy, 2002 [21]	5-аминолевулиновая кислота, 100 5-aminolevulinic acid, 100	635	200	глиома С6 glioma C6	2,7

в дозе 20 мг/кг. Авторами получены хорошие результаты лечения данной патологии: медиана общей выживаемости составила 15 мес, а длительность безрецидивного периода – 6 мес [26].

В Европе в качестве фотосенсибилизатора широко используется фоскан (Foscan®, мета-тетрагидроксифенил-хлорин (mTHPC), Scotia Pharmaceuticals, Великобритания), обладающий высокой противоопухолевой эффективностью при использовании в низких дозах (0,1–0,2 мг/кг) и невысокой плотности энергии лазерного облучения (10–20 Дж/см<sup>2</sup>).

В 2006–2008 гг. Н. Kostron сравнил эффективность хирургического лечения с последующим сеансом ФДТ при использовании двух ФС: фотофрина II и фоскана, в группе из 26 пациентов с низкодифференцированными глиобластомами IV степени злокачественности. Фотосенсибилизаторы вводили внутривенно в дозах 2,5 мг/кг и 0,15 мг/кг, соответственно, за 24–48 ч до осуществления операции и сеанса ФДТ. Плотность энергии лазерного облучения составила 20 до 240 Дж/см<sup>2</sup> в случае использования фотофрина II и 20 Дж/см<sup>2</sup> – при применении фоскана. Всем пациентам дополнительно были проведены курсы послеоперационной лучевой терапии в суммарной очаговой дозе (СОД) 55–60 Гр и химиотерапии. Медиана без прогрессирования основного заболевания при использовании фотофрина при ФДТ составила 13 мес, медиана выживаемости – 19 мес. Медиана выживаемости пациентов, пролеченных методом ФДТ с фосканом, составила 9 мес, что существенно ниже, чем результаты, полученные при использовании фотофрина II [27].

В исследовании V. Vanaclocha ФДТ с ФС фотофрина и фоскана была проведена 20 пациентам с первичными формами глиобластомы и 10 пациентам с анапластическими астроцитомами. Дозы света составили при этом 75 Дж/см<sup>2</sup> ( $\lambda=630$  нм) и 20 Дж/см<sup>2</sup> ( $\lambda=652$  нм), соответственно. Лазерное облучение ложа удаленной опухоли и стенок послеоперационной полости производилось спустя 48 ч после внутривенного введения фотофрина в дозе 2 мг/кг и 96 ч – фоскана в дозе 0,15 мг/кг. В качестве адъювантного лечения пациентам проводили дистанционную лучевую терапию в СОД 60 Гр и химиотерапию с препаратом темозоломид. При прогрессировании заболевания, в схему лечения добавляли внутриартериальное введение цисплатина и антиангиогенную терапию бевацизумабом. Послеоперационная летальность, связанная с выраженным отеком вещества головного мозга, составила 4,2%. Симптомы неврологического дефицита (гемипарез были выявлены у 10,4% пациентов. Медиана безрецидивной и общей выживаемости для пациентов с глиобластомами составила 10 мес (при 95% доверительном интервале (ДИ) 5,7–14,3 мес) при использовании фотофрина и 17 мес (95% ДИ 15,2–17,8

мес) – фоскана, с анапластической астроцитомой – 26 мес (95% ДИ 4,5–47,5 мес) и 66 мес (95% ДИ 2,9–129,1 мес), соответственно [28].

В последние годы появились результаты исследований с ФС, относящимися к группе хлоринов. К их основным преимуществам относят быстрое выведение из организма пациентов и короткий период кожной фототоксичности.

Г.С. Тиглиевым с соавторами проведена клиническая апробация метода интраоперационной ФДТ с фотодитазином у 15 пациентов со злокачественными опухолями головного мозга. Фотодитазин вводился внутривенно в дозе 1 мг/кг за 1,5–2 ч до оперативного вмешательства. В качестве источника светового излучения использовали лазер Аткус-2 ( $\lambda=660$  нм) при плотности энергии лазерного излучения 150–350 Дж/см<sup>2</sup>. В послеоперационном периоде пациентам проводили лучевую терапию (СОД 40–60 Гр). Авторы пришли к выводу, что ФДТ может применяться с приемлемой степенью риска в лечении нейроонкологических пациентов [29].

У. Muragaki представил результаты II фазы клинических исследований эффективности интраоперационной ФДТ (плотность энергии лазерного облучения составила 27 Дж/см<sup>2</sup>, плотность мощности – 150 мВт/см<sup>2</sup>) с талапорфином натрия (Laserphyrin®), вводимого в дозе 40 мг/кг, у 27 пациентов с первичными и рецидивными формами глиобластом. Показатели годичной выживаемости при таком лечении составили 95,5%, 6-месячного периода до прогрессирования заболевания – 91% и 6-месячного периода до возникновения локального рецидива – 91%. Авторами подтверждена высокая эффективность предложенного метода лечения и безопасность его использования в клинических условиях [30].

По данным J. Akimoto, применение ФДТ с этим же ФС позволяет достигнуть следующих показателей выживаемости: одногодичная выживаемость – 100%, двухгодичная выживаемость – 50%, медиана общей выживаемости – 24,8 мес. Вместе с тем, после внутривенного введения талапорфина натрия у 18,5% пациентов была отмечена дисфункция печени III степени и в более чем в половине случаев – проявления кожной фототоксичности препарата [31].

В Республике Беларусь на основе хлорина e<sub>6</sub> разработано лекарственное средство фотолон®. Его преимуществами перед остальными ФС являются избирательное накопление в опухолевой ткани, высокая лечебная и диагностическая эффективность, быстрое выведение из организма, короткий период повышенной кожной фототоксичности и высокая стабильность химической структуры.

А.А. Боровский и соавторы представили результаты использования ФДТ с фотолоном у 49 пациентов со злокачественными глиомами. Лазерное облучение

проводили после частичной резекции опухоли однократно через 15–20 мин от начала введения ФС в дозе 1,6–2,5 мг/кг массы тела пациентов до достижения общей поглощенной световой дозы 50–250 Дж/см<sup>2</sup>. В исследуемой группе кумулятивная доля выживших в течение 1 года составила 57%, медиана выживаемости – 64 нед, бессобытийная выживаемость – 40 нед. В группе сравнения кумулятивная доля выживших в течение 1 года составила 27%, медиана выживаемости – 38 нед, бессобытийная выживаемость – 26 нед ( $p < 0,05$ ). Авторы пришли к выводу, что интраоперационная ФДТ с фотолоном может быть использована в качестве эффективного компонента адъювантной терапии злокачественных опухолей головного мозга [32].

Таким образом, в представленных выше публикациях была доказана эффективность ФДТ опухолей головного мозга с использованием в качестве ФС фотофрина II, 5-АЛК, фоскана, фотодитазина, фотолона и ряда других [26–32]. Применение этого метода позволяет повысить показатели общей выживаемости данной категории пациентов и улучшить качество их жизни. Результаты наиболее значимых клинических исследований в области ФДТ первичных злокачественных глиом представлены в табл. 3.

Основные преимущества ФДТ в лечении первичных злокачественных опухолей головного мозга связаны с тем, что во-первых, это локальная форма терапии, которая обладает низкой системной токсичностью; во-вторых, до сих пор не получено данных о возможности развития устойчивости пораженных клеток при повторном использовании ФДТ, что очень важно, так как для достижения высокого терапевтического эффекта необходимо длительное или многократное лазерное облучение инфильтрирующих опухолевых клеток, не удаленных во время хирургического лечения; вместе с тем, стоит отметить, что применение ФДТ в качестве монотерапии не является панацеей при данной патологии. Поэтому актуальным и эффективным подходом является включение ФДТ в схемы комбинированного и комплексного лечения пациентов с первичными формами злокачественных глиом. С целью увеличения радикальности удаления первичных глиом и повышения противоопухолевой эффективности ФДТ рационально использовать 5-АЛК-ассоциированный видеофлуоресцентный контроль.

#### **Флуоресцентная диагностика и контроль объема резекции опухоли с 5-аминолевулиновой кислотой**

Значительный интерес к флуоресцентным методам диагностики повысился в последние годы в связи с появлением нового соединения для флуоресцентной диагностики и ФДТ – 5-аминолевулиновой кислоты. Основные доклинические исследования с использованием 5-АЛК начаты в 1987 г., когда учеными

J. Kennedy, R. Pottier [37] и Z. Malik [38] был открыт переход 5-АЛК в фотоактивный протопорфирин IX (ПП-IX) и способность его накопления в опухоли. 5-АЛК участвует в биосинтезе гема и является предшественником ПП-IX, пики поглощения которого совпадают с пиками поглощения остальных порфиринов. 5-АЛК обладает интенсивной флуоресценцией на длинах волн 635 и 700 нм и фотодинамической активностью. Определяющей реакцией биосинтеза гема является реакция образования 5-АЛК, катализируемая 5-АЛК-синтетазой. Синтез 5-АЛК регулируется количеством внутриклеточного гема через систему отрицательной обратной связи [39].

Основным преимуществом 5-АЛК является быстрое выведение вещества из биологических тканей при системном введении и связанная с ним низкая кожная фототоксичность, продолжительность которой не превышает 24 ч [40].

С целью повышения радикальности выполнения оперативного удаления рецидивных опухолей с минимальной травматизацией неизмененных тканей показано использование видеофлуоресцентной диагностики с 5-АЛК, основанной на способности к флуоресценции протопорфирина IX, накопление которого в опухолевой ткани обусловлено проникновением вещества через гематоэнцефалический барьер [41–43].

В Германии завершена III фаза многоцентрового клинического исследования интраоперационной флуоресцентной диагностики при флуоресцентном контроле краев резекции у 350 пациентов с первичными и рецидивными формами злокачественных глиом с применением 5-АЛК в дозе 20 мг/кг. Авторами было доказано, что флуоресцентная навигация позволяет увеличить количество удаляемой опухолевой ткани, что по данным магнитно-резонансной томографии (МРТ) увеличивает количество полной резекции опухолевой ткани практически в 2 раза (с 35% до 65%). Достигнутая радикальность оперативных вмешательств увеличивает медиану выживаемости пациентов и 6-месячный безрецидивный период после операции с 21% до 41% [33].

По данным W. Stummer, при контрольном МРТ исследовании отсутствие признаков опухолевого роста наблюдалось у 63% пациентов с рецидивными глиомами, в 37% случаев часть флуоресцирующей ткани не удалялась во избежание развития серьезных неврологических нарушений. На основании анализа 89 биопсий чувствительность и специфичность выявления патологически измененных тканей составила 85% и 100%, соответственно [44].

A.K. Hickmann сообщил о высокой чувствительности флуоресцентной спектроскопии при лечении 58 пациентов с глиомами III и IV степени злокачественности (у 46 из 53 пациентов (86,8%)). В 80,9% случаев

**Таблица 3**  
 Результаты применения ФДТ в клинической нейроонкологии при первичной форме глиобластомы  
**Table 3**  
 The results of PDT in clinical neurooncology on primary glioblastoma form

Авторы, год публикации Authors, publication year	Число пациентов Number of patients	ФС, доза (мг/кг) PS, dose (mg/kg)	Доза света, Дж/см <sup>2</sup> Light dose, J/cm <sup>2</sup>	Медиана общей выживаемости, мес Overall survival median, months
S. Stylli, 2005 [25]	78	фотофрин I, 5 photofrin I, 5	70–240	14,3
W. Stummer, 2006 [33]	122	5-АЛК, 20 5-ALA, 20	100	15,2
H. Kostron, 2006 [27]	26	фоскан, 0,15 foscan, 0.15	20	8,5
P.J. Muller, 2006 [34]	43	фотофрин II, 2 photofrin II, 2	120	11
M.S. Eljamel, 2008 [35]	13	5-АЛК, 20 фотофрин II, 2 5-ALA, 20 photofrin II, 2	100	12,2
M. Lyons, 2012 [36]	17	5-АЛК, 20 фотофрин II, 2 5-ALA, 20 photofrin II, 2	100	18,2
J. Akimoto, 2012 [31]	14	талапорфин натрия, 40 talaporfin sodium, 40	27	26
Y. Muragaki, 2013 [30]	13	талапорфин натрия, 40 talaporfin sodium, 40	27	24,8

5-АЛК – 5-аминолевулиновая кислота  
 5-ALA – 5-aminolevulinic acid

применение видеофлуоресцентной диагностики с 5-АЛК и последующей за ней резекции не приводила к развитию симптомов неврологического дефицита. Показатели общей выживаемости в этом случае были выше, чем в группе, где ограничивались только хирургическим лечением ( $p=0,025$ ) [45].

На основании всего вышесказанного, можно сделать вывод, что флуоресцентная диагностика с 5-АЛК обладает высокой чувствительностью и специфичностью. Применение интраоперационного флуоресцентного контроля резекции позволит достичь более полного удаления опухолей, а последующее применение ФДТ позволит улучшить показатели выживаемости пациентов с первичными злокачественными глиомами при минимальном риске возникновения неврологической симптоматики.

**Фотодинамическая терапия рецидивных форм злокачественных глиом**

В ряде исследований была подтверждена эффективность ФДТ в лечении рецидивных форм злокачественных глиом с использованием фотофрина II, 5-АЛК, гиперецина, фоскана, фотодитазина, фотолонна и ряда других ФС [26,27,30,32,33].

На данный момент имеется немногочисленный опыт в использовании данного направления в лечении рецидивов глиом. W. Stummer и коллеги сообщили о длительном безрецидивном периоде (56 мес) у пациента, пролеченного методом ФДТ с 5-АЛК в дозе 20 мг/кг. Фотооблучение ложа удаленной рецидивной опухоли производили через 24 ч после введения 5-АЛК с использованием диодного лазера ( $\lambda=633$  нм) [42].

P.J. Muller представил результаты применения ФДТ с фотофрином II в дозе 5 мг/кг при лечении 32 пациентов с супратенториальными рецидивными глиомами. Фотооблучение осуществлялось через 12–36 ч после введения препарата с дозами света от 8 до 110 Дж/см<sup>2</sup> (общая доза – от 440 до 4500 Дж). Одно- и двухгодичная выживаемость составила 18% и 0%, соответственно. Медиана выживаемости после повторной операции и ФДТ составила 7,5 мес [46].

По данным M.H. Schmidt и соавт. медиана времени до прогрессирования опухолевого процесса после ФДТ с фотофрином II в дозах 0,75–2 мг/кг и плотности энергии лазерного облучения 100 Дж/см<sup>2</sup> у 20 пациентов с рецидивными глиомами составила 67 нед [47].

T.J. Beck с соавт. использовали интерстициальный тип лазерного облучения при ФДТ с 5-АЛК у 10 паци-

ентов с рецидивными глиомами небольших размеров. В результате лечения не было отмечено осложнений и побочных эффектов, а медиана выживаемости составила 15 мес [48].

J. Schroeteler сообщила о 5 пациентах с рецидивами глиом, пролеченных методом ФДТ с применением 5-АЛК в дозе 20 мг/кг. Фотооблучение производилось через 4–6 ч после введения препарата при плотности мощности излучения 200 мВт/см<sup>2</sup>. В послеоперационном периоде 3 пациента получали темозоломид, 1 – бевацизумаб и 1 – ломустин. Медиана выживаемости при таком лечении составила 13 мес [49].

Метод ФДТ может быть рассмотрен как одна из альтернативных опций в лечении рецидивов злокачественных глиом. Однако существует ряд ограничений использования лазерного излучения, основным из которых является его незначительная глубина проникновения в биологические ткани, что требует поиска новых альтернативных подходов для решения данной проблемы.

#### **Фотодинамическая терапия в лечении метастатических опухолей головного мозга**

Метастатическое поражение головного мозга является серьезной проблемой современной нейроонкологии. Так, по разным данным, только в США регистрируется от 98 000 до 170 000 новых случаев в год [50]. Более 65% всех метастатических поражений головного мозга проявляются при жизни онкологических пациентов, при этом у 89–93% из них выявленные интракраниальные образования являются внутримозговыми метастазами [51].

В настоящее время медиана выживаемости у пациентов без лечения составляет в среднем 1 мес, при проведении терапии кортикостероидами – 2 мес, после облучения всего головного мозга – 2–7 мес, при использовании стереотаксической радиохирургии – 5–14 мес, при использовании хирургии или радиохирургии в сочетании с облучением всего головного мозга – 6–15 мес [5].

Неудовлетворительные результаты применения стандартных подходов в схемах лечения метастазов злокачественных опухолей в головном мозге требуют поиска альтернативных методов лечения. Одним из таковых является ФДТ, чье включение в схемы комплексного лечения, по мнению ряда авторов, позволяет увеличить показатели выживаемости пациентов с данной патологией [5, 52–57].

В МНИОИ им. П.А. Герцена с 2007 по 2013 гг. было пролечено 268 пациентов с метастатическим поражением головного мозга. При этом, данная патология была представлена метастазами рака легкого в 34% случаев, молочной железы – в 26%, рака почки – в 11%, меланомы кожи – в 9,3%, колоректального рака – в 7,8%, без выявления первичного очага – в 4,5%. С це-

лью контроля радикальности удаления опухоли у 93 (34,7%) пациентов авторы применяли флуоресцентную навигацию («D-Light AF System», Karl Storz, Германия), у 66 (24,6%) – интраоперационно проводился сеанс ФДТ с препаратом аласенс, который вводился перорально в дозе 20 мг/кг за 3–4 ч до предполагаемого времени проведения флуоресцентной навигации и ФДТ ( $\lambda=635$  нм).

Медиана общей выживаемости зависела от локализации первичной опухоли и составила у больных раком лёгкого – 16 мес, раком молочной железы – 12 мес, раком почки – 12,4 мес, меланомой – 7 мес, колоректальном раком – 8,3 мес, с метастазами из невыявленного первичного очага – 5 мес. При комбинированном лечении (операция + облучение всего головного мозга) медиана выживаемости составляла 9–10,5 мес, при лекарственной терапии – 11 мес, при комплексном подходе – 12 мес.

На основании полученных данных, авторы констатировали тот факт, что медиана безрецидивной выживаемости (11 мес) достоверно зависела от применения ФДТ ( $p=0,00018$ ) и не имела достоверной связи с проведением флуоресцентной навигации ( $p=0,14754$ ) [52].

В другом исследовании, проведенном на базе этого центра, интраоперационная флуоресцентная навигация и ФДТ применена у 34 пациентов с внутримозговыми метастазами (основная группа). Контрольную группу составили 40 пациентов, которым удаление внутримозгового метастаза проводилось без применения флуоресцентной диагностики и ФДТ. После завершения хирургического этапа под контролем флуоресцентной навигации выполняли ФДТ с 5-АЛК в дозе 20 мг/кг с равномерным облучением стенок послеоперационной полости, используя диодный лазер ЛФТ-630/675–01-БИОСПЕК ( $\lambda=635$  нм, Россия) и цилиндрический диффузор длиной 2 см, размещенный внутри прозрачного баллона, соответствующего диаметру послеоперационной полости. Экспозиционная доза света составила 80–100 Дж/см<sup>2</sup>, плотность мощности – 50–150 мВт/см<sup>2</sup>. Авторами была доказана высокая чувствительность (96,7%) и специфичность (100%) флуоресцентной навигации. По данным магнитно-резонансной и компьютерной томографии головного мозга с контрастным усилением, тотального удаления внутримозговых метастазов в контрольной группе удалось достичь у 79,5% пациентов, в основной группе – у 100%. В раннем послеоперационном периоде в группе с флуоресцентной диагностикой и ФДТ осложнения в виде отека вещества головного мозга вокруг зоны операции отмечены у 2 (5,9%) пациентов.

Медиана выживаемости в группе с флуоресцентной диагностикой и ФДТ составила 9,5 мес, в контрольной группе – 7 мес ( $p=0,000468$ ); в RPA-классе 1 (индекс Карновского > 70, наличие экстракраниаль-

ных метастазов – нет, возраст < 65 лет), в основной группе – 13 мес, в контрольной группе – 7,5 мес; в RPA-классе 2 (индекс Карновского > 70, наличие экстракраниальных метастазов – есть, возраст > 65 лет) – 10,5 и 7 мес, соответственно; в RPA-классе 3 (индекс Карновского < 70, наличие экстракраниальных метастазов – есть, возраст – любой) – соответственно 6 и 5 мес. Медиана безрецидивного периода составила в основной группе 8 мес, в контрольной – 4,5 мес ( $p=0,00011$ ), в RPA-классе 1 – 12,5 и 7,5 мес, в RPA-классе 2 – 9,5 и 5 мес, в RPA-классе 3 – 6,5 и 3 мес, соответственно

По мнению авторов, разработанная методика является безопасной и высокоэффективной опцией в лечении метастатических очагов злокачественных опухолей головного мозга. Применение флуоресцентной навигации и ФДТ приводит к увеличению тотальности удаления на 20,45%, повышению длительности безрецидивного периода на 3,5 мес, срока выживаемости на 2,5 мес и уменьшению количества локальных рецидивов опухоли на 29,1% [53].

Этим же авторским коллективом представлено описание клинических наблюдений длительного безрецидивного периода после проведенной флуоресцентной диагностики и ФДТ метастатического поражения головного мозга у больных раком яичников (15 мес), раком почки (23 мес) и аденокарциномой молочной железы (23 мес) [54-56].

Исследовательским коллективом из ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН (Томск) представлены результаты клинического наблюдения комбинированного лечения солитарного метастаза аденокарциномы легкого в головной мозг после длительного безрецидивного периода (10 лет). Интраоперационную ФДТ осуществляли через 2 ч после полного удаления патологического очага и введения фотосенсибилизатора фотодитазин в дозе 0,9 мг/кг. Лазерное облучение проводилось с использованием лазера «Латус Т» ( $\lambda=662$  нм) в экспозиционной дозе света 150 Дж/см<sup>2</sup>. Интраоперационно после сеанса ФДТ развился отек головного мозга с пролабированием в трепанационный дефект, что потребовало выполнения пластики твердой мозговой оболочки. Послеоперационный период протекал без осложнений. По данным контрольной МРТ головного мозга через 9 мес после лечения, признаков продолженного роста метастатического очага не выявлено.

По мнению авторов, применение интраоперационной ФДТ при метастатическом поражении головного мозга позволяет добиться хорошего эффекта, не удлиняет послеоперационный период, не ухудшает состояние пациента и не снижает качество его жизни [57].

#### **Интраоперационная соно-фотодинамическая терапия рецидивных форм глиобластомы**

Интраоперационная сонофотодинамическая терапия (иСФДТ) является актуальным направлением

научных исследований в современной экспериментальной и клинической нейроонкологии. В работах, посвященных проблеме изучения ключевых механизмов совместной реализации сонодинамического и фотодинамического эффектов в опухолевой клетке, авторами отмечено, что ключевым звеном в развитии необратимых изменений деструктивного характера в опухоли являются апоптоз, аутофагия и некроз. По мнению N. Yumita, основную роль в развитии запрограммированной гибели клетки играют процессы соно- и фотоинициированного окисления [58]. Соно- и фотохимические реакции включают прямое взаимодействие возбужденной ультразвуковым и лазерным излучениями молекулы ФС с субстратом и образование переходных радикалов, которые вступают в реакцию с кислородом. Сложный каскад взаимодействий инициирует образование свободных радикалов, таких как синглетный кислород ( $^1O_2$ ), гидроксил-радикал ( $\cdot OH$ ), гидроген-пероксид ( $H_2O_2$ ) и супероксид-анион радикал ( $O_2\cdot^-$ ), вызывающих развитие окислительного стресс-синдрома. Основополагающим моментом при развитии апоптоза является нарушение целостности мембран митохондрий, которое приводит к быстрому высвобождению митохондриального цитохрома С в цитозоль с последующей активацией апоптосома и прокаспазы-3 [59].

На данный момент, в доступных источниках литературы были найдены результаты одного исследования, посвященного использованию иСФДТ в лечении глиом. В обзоре, опубликованном J.N. Kenyon в 2009 г., имеет место обобщение опыта использования предложенного метода лечения у 115 пациентов с различными формами злокачественных опухолей. Среди общей когорты пациентов только у 2 был рецидив глиобластомы после предшествующего хирургического и лучевого лечения. Медиана выживаемости после проведенного специального лечения, включающего оперативное удаление рецидивной опухоли и сеанс иСФДТ с Sonnelux-1 (металло-комплекс хлорина), составила 5 и 18 мес. Выраженных нежелательных явлений и осложнений лечения авторами отмечено не было [60].

Первые результаты, полученные при применении иСФДТ с ФС фотолон в рамках пилотного проекта (РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова), показывают хорошую переносимость метода и безопасность его использования. Данные МРТ-исследований свидетельствуют о возможности стабилизации опухолевого роста. На данный момент отмечено статистически значимое увеличение медианы общей выживаемости пациентов контрольной группы (14,1 мес) по сравнению с опытной группой (23,9 мес,  $p=0,004$ ). Выявлена тенденция к увеличению продолжительности медианы бессобытийной выживаемости в группе с использованием иСФДТ (8,2 мес) по сравнению с контрольной (5,9 мес,  $p=0,012$ ).

По нашему мнению, комбинация различных технологических решений позволяет подобрать адекватную схему лазерного и ультразвукового облучения ложа удаленной опухоли любой локализации и в перспективе сделать разработанный метод неотъемлемой частью схемы комплексного лечения пациентов с первичными и рецидивными формами злокачественных глиом. Для определения противоопухолевой эффективности метода необходимо проведение дальнейших исследований.

## Заключение

Резюмируя все выше сказанное, можно прийти к выводу, что ФДТ занимает важное место в схемах лечения пациентов с первичными и рецидивными, а также метастатическими формами злокачественных новообразований головного мозга. В последние годы достигнуты определенные успехи в лечении пациентов с данной тяжелой патологией. Применяемые методы лечения, в лучшем случае, увеличивают продолжительность жизни до возникновения рецидива.

В связи с этим, результаты представленных исследований в области применения ФДТ в клинической нейроонкологии, позволяют отнести данное направление к высокоэффективным опциям лечения. По данным различных авторов, включение фотодинамической терапии в схемы комбинированного и комплексного лечения пациентов со злокачественными опухолями головного мозга позволяет достигнуть медианы общей выживаемости от 11 до 26 мес для пациентов с первичной формой глиобластомы, от 7,5 до 15 мес – с рецидивами глиобластомы. Достигнуты определенные результаты в лечении пациентов с метастатическим поражением головного мозга.

Как итог, ключевыми аспектами дальнейшего развития ФДТ в клинической нейроонкологии являются разработка новых фотосенсибилизирующих агентов и внедрение прорывных лазерных технологий в совокупности оптимизацией подходов в лечении пациентов со злокачественными опухолями головного мозга.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Carlsson S.K., Brothers S.P., Wahlestedt C. Emerging treatment strategies for glioblastoma multiforme // *EMBO Mol Med.* – 2014. – Vol. 6, No. 11. – P. 1359–1370.
2. Patel M.A., Kim J.E., Ruzevick J., et al. The future of glioblastoma therapy: synergism of standard of care and immunotherapy // *Cancers.* – 2014. – Vol. 6, No. 4. – P. 1953–1985.
3. Thomas A.A., Brennan C.W., DeAngelis L.M., Omuro A.M. Emerging therapies for glioblastoma // *JAMA Neurol.* – 2014. – Vol. 71, No. 11. – P. 1437–1444.
4. Stupp R., Mason W.P., van den Bent M.J., et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma // *N. Eng. J. Med.* – 2005. – Vol. 352 (10) – P. 987–996.
5. Куржупов М.И., Филоненко Е.В., Лошаков В.А., Зайцев А.М. Фотодинамическая терапия в нейроонкологии // *Рос. онкол. журн.* – 2010. – № 4. – С. 45–48.
6. Stummer W., Pichlmeier U., Meinel T., et al. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomized controlled multicentre phase III trial // *Lancet Oncol.* – 2006. – Vol. 7. – P. 392–401.
7. Muragaki Y., Akimoto J., Maruyama T., et al. Phase II clinical study on intraoperative photodynamic therapy with talaporfin sodium and semiconductor laser in patients with malignant brain tumors // *Neurosurg.* – 2013. – Vol. 119, No. 4. – P. 845–852.
8. Quirk B.J., Brandal G., Donlon S., et al. Photodynamic therapy (PDT) for malignant brain tumors – Where do we stand? // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* – 2015. – Vol. 12(3). – P. 530–544.
9. Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W., et al. Photodynamic therapy // *J. Nat. Cancer Inst.* – 1998. – Vol. 90, No. 12. – P. 889–905.
10. Castano A.P., Mroz P., Hamblin M.R. Photodynamic therapy and anti-tumor immunity // *Nature Rev. (Cancer).* – 2006. – Vol. 6. – P. 535–545.
11. Abdel-Kader M.H. Photodynamic therapy. From theory to application. – Verlag, Berlin, Heidelberg: Springer, 2014. – 312 p.
12. Rapozzi V.G., Jori R. Resistance to photodynamic therapy in cancer. – Switzerland: Springer International Publishing, 2015. – 248 p.

## REFERENCES

1. Carlsson S.K., Brothers S.P., Wahlestedt C. Emerging treatment strategies for glioblastoma multiforme, *EMBO Mol Med*, 2014, Vol. 6, No. 11, pp. 1359–1370.
2. Patel M.A., Kim J.E., Ruzevick J., Li G., Lim M. The future of glioblastoma therapy: synergism of standard of care and immunotherapy, *Cancers*, 2014, Vol. 6, No. 4, pp. 1953–1985.
3. Thomas A.A., Brennan C.W., DeAngelis L.M., Omuro A.M. Emerging therapies for glioblastoma, *JAMA Neurol*, 2014, Vol. 71, No. 11, pp. 1437–1444.
4. Stupp R., Mason W.P., van den Bent M.J., Weller M., Fisher B., Taphoorn M.J., Belanger K., Brandes A.A., Marosi C., Bogdahn U., Curschmann J., Janzer R.C., Ludwin S.K., Gorlia T., Allgeier A., Lacombe D., Cairncross J.G., Eisenhauer E., Mirimanoff R.O. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma, *N. Eng. J. Med.*, 2005, Vol. 352(10), pp. 987–996.
5. Kurzhupov M.I., Filonenko E.V., Loshakov V.A., Zaytsev A.M. Photodynamic therapy in neurooncology, *Ros. onkol. zhurn.*, 2010, No. 4, pp. 45–48. (in Russian)
6. Stummer W., Pichlmeier U., Meinel T., Wiestler O.D., Zanella F., Reulen H.J. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomized controlled multicentre phase III trial, *Lancet Oncol*, 2006, Vol. 7, pp. 392–401.
7. Muragaki Y., Akimoto J., Maruyama T., Iseki H., Ikuta S., Nitta M., Maebayashi K., Saito T., Okada Y., Kaneko S., Matsumura A., Kuroiwa T., Karasawa K., Nakazato Y., Kayama T. Phase II clinical study on intraoperative photodynamic therapy with talaporfin sodium and semiconductor laser in patients with malignant brain tumors, *Neurosurg*, 2013, Vol. 119, No. 4, pp. 845–852.
8. Quirk B.J., Brandal G., Donlon S., Vera J.C., Mang T.S., Foy A.B., Lew S.M., Girotti A.W., Jogonal S., LaViolette P.S., Connelly J.M., Whelan H.T. Photodynamic therapy (PDT) for malignant brain tumors – Where do we stand? *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 2015, Vol. 12(3), pp. 530–544.
9. Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W., Jori G., Kessel D., Korbelik M., Moan J., Peng Q. Photodynamic therapy, *J. Nat. Cancer Inst.*, 1998, Vol. 90, No. 12, pp. 889–905.

- Bacellar I.O., Tsubone T.M., Pavani C., Baptista M.S. Photodynamic efficiency: from molecular photochemistry to cell death // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – Vol. 15. – P. 20523–20559.
- Agostinis P., Berg K., Cengel K.A., et al. Photodynamic therapy of cancer: an update // *CA Cancer J. Clin.* – 2011. – Vol. 61(4). – P. 250–281.
- Kostron H., Obwegeser A., Jakober R., et al. Experimental and clinical results of mTHPC (Foscan)-mediated photodynamic therapy for malignant brain tumors // *SPIE Proceedings.* – 2009. – Vol. 3247. – 0277 – 786X.
- Perria C., Capuzzo T., Cavagnaro G., et al. First attempts at the photodynamic treatment of human gliomas // *J. Neurosurg. Sci.* – 1980. – Vol. 24(3–4). – P. 119–129.
- Kaye A.H., Morstyn G. Photoradiation therapy causing selective tumor kill in a rat glioma model // *Neurosurg.* – 1987. – Vol. 20, No. 3. – P. 408–415.
- Dereski M.O., Chopp M., Garcia J.H., Hetzel F.W. Depth measurements and histopathological characterization of photodynamic therapy generated normal brain necrosis as a function of incident optical energy dose // *Photochem. Photobiol.* – 1991. – Vol. 54(1). – P. 109–112.
- Tudge S.H., Kaye A.H., Hill J.S. Modulation of light delivery in photodynamic therapy of brain tumours // *J. Clin. Neurosci.* – 1999. – Vol. 6(3). – P. 227–232.
- Madsen S.J., Sun C., Tromberg B.J., Hirschberg H. Development of a novel indwelling balloon applicator for optimizing light delivery in photodynamic therapy // *Laser Surg. Med.* – 2001. – Vol. 29. – P. 406–412.
- Olzowy B., Hundt C.S., Stocker S., et al. Photoirradiation therapy of experimental malignant glioma with 5-aminolevulinic acid // *Neurosurg.* – 2002. – Vol. 97. – P. 970–976.
- Perria C. Photodynamic therapy for human gliomas by hematoporphyrin and helium-neon laser // *IRCS Med. Science.* – 1981. – Vol. 9. – P. 57–58.
- Muller P.J., Wilson B.C. Photodynamic therapy for malignant newly diagnosed supratentorial gliomas // *J. Clin. Laser Med. Surg.* – 1996. – Vol. 14(5). – P. 263–270.
- Muller P.J., Wilson B.C. Photodynamic therapy for malignant malignant brain tumors // *Can. J. Neurol. Sci.* – 1990. – Vol. 17. – P. 193–198.
- Stylli S.S., Kaye A.H., MacGregor L., et al. Photodynamic therapy of high grade glioma – long term survival // *J. Clin. Neurosci.* – 2005. – Vol. 12(4). – P. 389–398.
- Johansson A., Palte G., Schnell O., et al. 5-Aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX levels in tissue of human malignant brain tumors // *Photochem. Photobiol.* – 2010. – Vol. 86(6). – P. 1373–1378.
- Kostron H., Fiegele T., Akatuna E. Combination of «FOSCAN» mediated fluorescence guided resection and photodynamic treatment as new therapeutic concept for malignant brain tumors // *Med. Laser Applic.* – 2006. – Vol. 21. – P. 285–290.
- Vanaclocha V., Sureda M., Azinovic I., et al. Photodynamic therapy in the treatment of brain tumours. A feasibility study // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* – 2015. – Vol. 12(3). – P. 422–427.
- Тиглиев Г.С., Олюшин В.Е., Чеснокова Е.А. и др. Фотодинамическая терапия в нейроонкологии: первый опыт проведения и краткий обзор литературы // *Рос. биотер. журн.* – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 83–90.
- Muragaki Y., Akimoto J., Maruyama T., et al. Phase II clinical study on intraoperative photodynamic therapy with talaporfin sodium and semiconductor laser in patients with malignant brain tumors // *J. Neurosurg.* – 2013. – Vol. 119(4). – P. 845–852.
- Akimoto J., Haraoka J., Aizawa K. Preliminary clinical report on safety and efficacy of photodynamic therapy using talaporfin sodium for malignant gliomas // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* – 2012. – Vol. 9(2). – P. 91–99.
- Castano A.P., Mroz P., Hamblin M.R. Photodynamic therapy and anti-tumor immunity, *Nature Rev. (Cancer)*, 2006, Vol. 6, pp. 535–545.
- Abdel-Kader M.H. *Photodynamic therapy. From theory to application.* Verlag, Berlin, Heidelberg, Springer Publ., 2014. 312 p.
- Rapozzi V.G., Jori R. *Resistance to photodynamic therapy in cancer.* Switzerland, Springer International Publishing, 2015. 248 p.
- Bacellar I.O., Tsubone T.M., Pavani C., Baptista M.S. Photodynamic efficiency: from molecular photochemistry to cell death, *Int. J. Mol. Sci.*, 2015, Vol. 15, pp. 20523–20559.
- Agostinis P., Berg K., Cengel K.A., Foster T.H., Girotti A.W., Gollnick S.O., Hahn S.M., Hamblin M.R., Juzeniene A., Kessel D., Korbelik M., Moan J., Mroz P., Nowis D., Piette J., Wilson B.C., Golab J. Photodynamic therapy of cancer: an update, *CA Cancer J. Clin.*, 2011, Vol. 61(4), pp. 250–281.
- Kostron H., Obwegeser A., Jakober R., Zimmermann A., Rueck A.C. Experimental and clinical results of mTHPC (Foscan)-mediated photodynamic therapy for malignant brain tumors, *SPIE Proceedings*, 2009, Vol. 3247, 0277, 786X.
- Perria C., Capuzzo T., Cavagnaro G., Datti R., Francaviglia N., Rivano C., Tercero V.E. First attempts at the photodynamic treatment of human gliomas, *J. Neurosurg. Sci.*, 1980, Vol. 24(3–4), pp. 119–129.
- Kaye A.H., Morstyn G. Photoradiation therapy causing selective tumor kill in a rat glioma model, *Neurosurg.*, 1987, Vol. 20, No. 3, pp. 408–415.
- Dereski M.O., Chopp M., Garcia J.H., Hetzel F.W. Depth measurements and histopathological characterization of photodynamic therapy generated normal brain necrosis as a function of incident optical energy dose, *Photochem. Photobiol.*, 1991, Vol. 54(1), pp. 109–112.
- Tudge S.H., Kaye A.H., Hill J.S. Modulation of light delivery in photodynamic therapy of brain tumours, *J. Clin. Neurosci.*, 1999, Vol. 6(3), pp. 227–232.
- Madsen S.J., Sun C., Tromberg B.J., Hirschberg H. Development of a novel indwelling balloon applicator for optimizing light delivery in photodynamic therapy, *Laser Surg. Med.*, 2001, Vol. 29, pp. 406–412.
- Olzowy B., Hundt C.S., Stocker S., Bise K., Reulen H.J., Stummer W. Photoirradiation therapy of experimental malignant glioma with 5-aminolevulinic acid, *Neurosurg.*, 2002, Vol. 97, pp. 970–976.
- Perria C. Photodynamic therapy for human gliomas by hematoporphyrin and helium-neon laser, *IRCS Med. Science*, 1981, Vol. 9, pp. 57–58.
- Muller P.J., Wilson B.C. Photodynamic therapy for malignant newly diagnosed supratentorial gliomas, *J. Clin. Laser Med. Surg.*, 1996, Vol. 14(5), pp. 263–270.
- Muller P.J., Wilson B.C. Photodynamic therapy for malignant malignant brain tumors, *Can. J. Neurol. Sci.*, 1990, Vol. 17, pp. 193–198.
- Stylli S.S., Kaye A.H., MacGregor L., Howes M., Rajendra P. Photodynamic therapy of high grade glioma – long term survival, *J. Clin. Neurosci.*, 2005, Vol. 12(4), pp. 389–398.
- Johansson A., Palte G., Schnell O., Tonn J.C., Herms J., Stepp H. 5-Aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX levels in tissue of human malignant brain tumors, *Photochem. Photobiol.*, 2010, Vol. 86(6), pp. 1373–1378.
- Kostron H., Fiegele T., Akatuna E. Combination of «FOSCAN» mediated fluorescence guided resection and photodynamic treatment as new therapeutic concept for malignant brain tumors, *Med. Laser Applic.*, 2006, Vol. 21, pp. 285–290.
- Vanaclocha V., Sureda M., Azinovic I., Rebollo J., Cañón R., Sapena N.S., Cases F.G., Brugarolas A. Photodynamic therapy in the treatment of brain tumours. A feasibility study, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 2015, Vol. 12(3), pp. 422–427.
- Tiglyev G.S., Olyushin V.E., Chesnokova E.A., Ulitin A.YU., Gel'fond M.L., Vasil'ev D.V. Photodynamic therapy in neurooncology: first experience and brief literature review, *Ros. bioter. zhurn.*, 2004, Vol. 3, No. 1, pp. 83–90. (in Russian)
- Muragaki Y., Akimoto J., Maruyama T., Iseki H., Ikuta S., Nitta M., Maebayashi K., Saito T., Okada Y., Kaneko S., Matsumura A., Kuroiwa T., Karasawa K., Nakazato Y., Kayama T. Phase II clinical study on intraoperative photodynamic therapy with talaporfin sodium and semiconductor laser in patients with malignant brain tumors, *J. Neurosurg.*, 2013, Vol. 119(4), pp. 845–852.

32. Боровский А.А. Эффективность интраоперационной фотодинамической терапии с препаратом фотолон у пациентов с глиобластомой // *Рос. биотер. журн.* – 2016. – Т. 15, № 1. – С. 15–16.
33. Stummer W., Pichlmeier U., Meinel T. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial // *Lancet Oncol.* – 2006. – Vol. 7. – P. 392–401.
34. Muller P., Wilson B. Photodynamic therapy of brain tumors—a work in progress // *Lasers Surg Med.* – 2006. – Vol. 38(5). – P. 384–389.
35. Eljamel M.S., Goodman C., Moseley H. ALA and photofrin fluorescence-guided resection and repetitive PDT in glioblastoma multiforme: a single centre Phase III randomized controlled trial // *Lasers Med. Sci.* – 2008. – Vol. 23. – P. 361–367.
36. Lyons M., Phang I., Eljamel S. The effects of PDT in primary malignant brain tumours could be improved by intraoperative radiotherapy // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* – 2012. – Vol. 9. – P. 40–45.
37. Kennedy J.C., Pottier R.H., Pross D.C. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience // *J. Photochem. Photobiol. B.* – 1990. – Vol. 6. – P. 143–148.
38. Malik Z., Lugaci H. Destruction of erythrocytic cells by photoactivation of endogenous porphyrines // *Br. J. Cancer.* – 1987. – Vol. 56. – P. 589–595.
39. Wharen R.E., Anderson R.E., Laws E.R. Quantification of hematoporphyrin derivative in human gliomas, experimental central nervous system tumors and normal tissue // *Neurosurg.* – 1983. – Vol. 12. – P. 446–450.
40. Tsai J.C., Hsiao Y.Y., Teng L.J., et al. Comparative study on the ALA photodynamic effects of human glioma and meningioma cells // *Lasers Surg. Med.* – 1999. – Vol. 24. – P. 296–305.
41. Schucht P., Beck J., Abu-Isa J., et al. Gross total resection rates in contemporary glioblastoma surgery: results of an institutional protocol combining 5-aminolevulinic acid intraoperative fluorescence imaging and brain mapping // *J. Neurosurg.* – 2012. – Vol. 71(5). – P. 927–935.
42. Archavlis E., Tselis N., Birn G., et al. Salvage therapy for recurrent glioblastoma multiforme: a multimodal approach combining fluorescence-guided resurgery, interstitial irradiation, and chemotherapy // *Neurol. Res.* – 2014. – Vol. 36(12). – P. 1047–1055.
43. Kamp M.A., Felsberg J., Sadat H., et al. 5-ALA-induced fluorescence behavior of reactive tissue changes following glioblastoma treatment with radiation and chemotherapy // *Acta Neurochir. (Wien)*. – 2015. – Vol. 157(2). – P. 207–213.
44. Stummer W., Hassan A., Kemptski O. Photodynamic therapy within edematous brain tissue: consideration sensitizer dose and time point of laser irradiation // *J. Photochem. Photobiol. B.* – 1996. – Vol. 36(2). – P. 179–181.
45. Hickmann A.K., Nadjji-Ohl M., Hopf N.J. Feasibility of fluorescence-guided resection of recurrent gliomas using five-aminolevulinic acid: retrospective analysis of surgical and neurological outcome in 58 patients // *J. Neurooncol.* – 2015. – Vol. 122(1). – P. 151–160.
46. Stummer W., Beck T., Beyer W., et al. Long-sustaining response in a patient with non-resectable, distant recurrence of glioblastoma multiforme treated by interstitial photodynamic therapy using 5-ALA: case report // *J. Neurooncol.* – 2008. – Vol. 87(1). – P. 103–109.
47. Muller P.J., Wilson B.C. Photodynamic therapy for recurrent supratentorial gliomas // *Semin. Surg. Oncol.* – 1995. – Vol. 11(5). – P. 346–354.
48. Beck T.J., Kreth F.W., Beyer W., et al. Interstitial photodynamic therapy of nonresectable malignant glioma recurrences using 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX // *Lasers Surg. Med.* – 2007. – Vol. 39(5). – P. 386–393.
49. Schroeteler J., Schipmann S., Molina E.S. 5-ALA-based Photodynamic therapy in recurrent malignant glioma – a pilot study // *Neuro-Oncol.* – 2014. – Vol. 16, suppl. 5. – P. 19.
51. Akimoto J., Haraoka J., Aizawa K. Preliminary clinical report on safety and efficacy of photodynamic therapy using talaporfin sodium for malignant gliomas, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 2012, Vol. 9(2), pp. 91–99.
52. Borovskiy A.A. Effectiveness of intraoperative photodynamic therapy with Photolon in patients with glioblastoma, *Ros. bioter. zhurn.*, 2016, Vol. 15, No. 1, pp. 15–16. (in Russian)
53. Stummer W., Pichlmeier U., Meinel T. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial, *Lancet Oncol.*, 2006, Vol. 7, pp. 392–401.
54. Muller P., Wilson B. Photodynamic therapy of brain tumors—a work in progress, *Lasers Surg Med.*, 2006, Vol. 38(5), pp. 384–389.
55. Eljamel M.S., Goodman C., Moseley H. ALA and photofrin fluorescence-guided resection and repetitive PDT in glioblastoma multiforme: a single centre Phase III randomized controlled trial, *Lasers Med. Sci.*, 2008, Vol. 23, pp. 361–367.
56. Lyons M., Phang I., Eljamel S. The effects of PDT in primary malignant brain tumours could be improved by intraoperative radiotherapy, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 2012, Vol. 9, pp. 40–45.
57. Kennedy J.C., Pottier R.H., Pross D.C. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience, *J. Photochem. Photobiol. B.*, 1990, Vol. 6, pp. 143–148.
58. Malik Z., Lugaci H. Destruction of erythrocytic cells by photoactivation of endogenous porphyrines, *Br. J. Cancer.*, 1987, Vol. 56, pp. 589–595.
59. Wharen R.E., Anderson R.E., Laws E.R. Quantification of hematoporphyrin derivative in human gliomas, experimental central nervous system tumors and normal tissue, *Neurosurg.*, 1983, Vol. 12, pp. 446–450.
60. Tsai J.C., Hsiao Y.Y., Teng L.J., Chen C.T., Kao M.C. Comparative study on the ALA photodynamic effects of human glioma and meningioma cells, *Lasers Surg. Med.*, 1999, Vol. 24, pp. 296–305.
61. Schucht P., Beck J., Abu-Isa J., Anderegg L., Murek M., Seidel K., Stieglitz L., Raabe A. Gross total resection rates in contemporary glioblastoma surgery: results of an institutional protocol combining 5-aminolevulinic acid intraoperative fluorescence imaging and brain mapping, *J. Neurosurg.*, 2012, Vol. 71(5), pp. 927–935.
62. Archavlis E., Tselis N., Birn G., Ulrich P., Zamboglou N. Salvage therapy for recurrent glioblastoma multiforme: a multimodal approach combining fluorescence-guided resurgery, interstitial irradiation, and chemotherapy, *Neurol. Res.*, 2014, Vol. 36(12), pp. 1047–1055.
63. Kamp M.A., Felsberg J., Sadat H., Kuzibaev J., Steiger H.J., Rapp M., Reifenberger G., Dibue M., Sabel M. 5-ALA-induced fluorescence behavior of reactive tissue changes following glioblastoma treatment with radiation and chemotherapy, *Acta Neurochir. (Wien)*, 2015, Vol. 157(2), pp. 207–213.
64. Stummer W., Hassan A., Kemptski O. Photodynamic therapy within edematous brain tissue: consideration sensitizer dose and time point of laser irradiation, *J. Photochem. Photobiol. B.*, 1996, Vol. 36(2), pp. 179–181.
65. Hickmann A.K., Nadjji-Ohl M., Hopf N.J. Feasibility of fluorescence-guided resection of recurrent gliomas using five-aminolevulinic acid: retrospective analysis of surgical and neurological outcome in 58 patients, *J. Neurooncol.*, 2015, Vol. 122(1), pp. 151–160.
66. Stummer W., Beck T., Beyer W., Mehrkens J.H., Obermeier A., Etrman N., Stepp H., Tonn J.C., Baumgartner R., Herms J., Kreth F.W. Long-sustaining response in a patient with non-resectable, distant recurrence of glioblastoma multiforme treated by interstitial photodynamic therapy using 5-ALA: case report, *J. Neurooncol.*, 2008, Vol. 87(1), pp. 103–109.
67. Muller P.J., Wilson B.C. Photodynamic therapy for recurrent supratentorial gliomas, *Semin. Surg. Oncol.*, 1995, Vol. 11(5), pp. 346–354.
68. Beck T.J., Kreth F.W., Beyer W., Mehrkens J.H., Obermeier A., Stepp H., Stummer W., Baumgartner R. Interstitial photodynamic therapy of nonresectable malignant glioma recurrences using 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX, *Lasers Surg. Med.*, 2007, Vol. 39(5), pp. 386–393.

50. Pollock B.E., Brown P.D., Foote R.L., et al. Properly selected patients with multiple brain metastases may benefit from aggressive treatment of their intracranial disease // *J. Neurooncol.* – 2003. – Vol. 61(1). – P. 73–80.
51. Posner J.B., Chernik N.L. Intracranial metastases from systemic cancer // *Adv. Neurol.* – 1978. – Vol. 19. – P. 579–592.
52. Зайцев А.М., Куржупов М.И., Потапова Е.А., Кирсанова О.Н. Лечение метастатического поражения головного мозга // *Исследования и практика в медицине.* – 2015. – Т. 2, № 2. – С. 8–14.
53. Куржупов М.И., Лошаков В.А., Филоненко Е.В. и др. Интраоперационная флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия у больных с метастатическим поражением головного мозга // *Вопр. нейрохир.* – 2012. – Т. 76, № 2. – С. 50–57.
54. Решетов И.В., Зайцев А.М., Филоненко Е.В., Куржупов М.И. Наблюдение эффективного комбинированного лечения внутримозговых метастазов рака яичника // *Рос. онкол. журн.* – 2012. – № 3. – С. 39–41.
55. Куржупов М.И., Зайцев А.М., Филоненко Е.В. Длительный безрецидивный период у больного с метастазом рака почки после хирургического удаления и интраоперационной фотодинамической терапией // *Рос. онкол. журн.* – 2011. – № 1. – С. 41–42.
56. Зайцев А.М., Куржупов М.И., Решетов И.В., Филоненко Е.В. Комбинированное лечение (ФДТ и ДЛТ) метастатического поражения головного мозга при раке молочной железы // *Онкохирургия.* – 2013. – Т. 5, № 3. – С. 35–38.
57. Рябова А.И., Новиков В.А., Завьялов А.А. и др. Опыт лечения позднего церебрального метастаза рака легкого с применением фотодинамической терапии // *Сиб. онкол. журн.* – 2013. – № 5. – С. 66–69.
58. Yumita N., Iwase Y., Nishi K., et al. Involvement of reactive oxygen species in sonodynamically induced apoptosis using a novel porphyrin derivative // *Theranostics.* – 2012. – Vol. 2(9). – P. 880–888.
59. Wang H., Wang X., Zhang S. Sinoporphyrin sodium, a novel sensitizer, triggers mitochondrial-dependent apoptosis in ECA-109 cells via production of reactive oxygen species // *Int. J. Nanomedicine.* – 2014. – Vol. 9. – P. 3077–3090.
60. Kenyon J.N., Fulle R.J., Lewis T.J. Activated cancer therapy using light and ultrasound – a case series of sonodynamic photodynamic therapy in 115 patients over a 4 year period // *Current Drug Therapy.* – 2009. – Vol. 4. – P. 179–193.
49. Schroeteler J., Schipmann S., Molina E.S. 5-ALA-based Photodynamic therapy in recurrent malignant glioma – a pilot study, *Neuro-Oncol.*, 2014, Vol. 16, suppl. 5, pp. 19.
50. Pollock B.E., Brown P.D., Foote R.L., Stafford S.L., Schomberg P.J. Properly selected patients with multiple brain metastases may benefit from aggressive treatment of their intracranial disease, *J. Neurooncol.*, 2003, Vol. 61(1), pp. 73–80.
51. Posner J.B., Chernik N.L. Intracranial metastases from systemic cancer, *Adv. Neurol.*, 1978, Vol. 19, pp. 579–592.
52. Zaytsev A.M., Kurzhupov M.I., Potapova E.A., Kirsanova O.N. Treatment of metastatic brain lesions, *Issledovaniya i praktika v meditsine*, 2015, Vol. 2, No. 2, pp. 8–14. (in Russian)
53. Kurzhupov M.I., Loshakov V.A., Filonenko E.V., Zaytsev A.M., Khanmurzaeva A.G. Intraoperative fluorescence diagnostics and photodynamic therapy in patients with metastatic brain lesion, *Vopr. neyrokhir.*, 2012, Vol. 76, No. 2, pp. 50–57. (in Russian)
54. Reshetov I.V., Zaytsev A.M., Filonenko E.V., Kurzhupov M.I. Observation of effective combined treatment of intracerebral metastases of ovarian cancer, *Ros. onkol. zhurn.*, 2012, No. 3, pp. 39–41. (in Russian)
55. Kurzhupov M.I., Zaytsev A.M., Filonenko E.V. Long-term relapse-free period in a patient with metastatic kidney cancer after surgical removal and intraoperative photodynamic therapy, *Ros. onkol. zhurn.*, 2011, No. 1, pp. 41–42. (in Russian)
56. Zaytsev A.M., Kurzhupov M.I., Reshetov I.V., Filonenko E.V. Combined treatment (PDT and EBRT) of metastatic brain lesion in breast cancer, *Onkokhirurgiya*, 2013, Vol. 5, No. 3, pp. 35–38. (in Russian)
57. Ryabova A.I., Novikov V.A., Zav'yalov A.A., Dobrodeev A.Yu., Glushchenko S.A., Perel'muter V.M., Frolova I.G., Bober' E.E., Surkova P.V., Men'shikov K.Yu. Experience in the treatment of late cerebral metastasis of lung cancer using photodynamic therapy, *Sib. onkol. zhurn.*, 2013, No. 5, pp. 66–69. (in Russian)
58. Yumita N., Iwase Y., Nishi K., Komatsu H., Takeda K., Onodera K., Fukai T., Ikeda T., Umemura S., Okudaira K., Momose Y. Involvement of reactive oxygen species in sonodynamically induced apoptosis using a novel porphyrin derivative, *Theranostics*, 2012, Vol. 2(9), pp. 880–888.
59. Wang H., Wang X., Zhang S. Sinoporphyrin sodium, a novel sensitizer, triggers mitochondrial-dependent apoptosis in ECA-109 cells via production of reactive oxygen species, *Int. J. Nanomedicine*, 2014, Vol. 9, pp. 3077–3090.
60. Kenyon J.N., Fulle R.J., Lewis T.J. Activated cancer therapy using light and ultrasound – a case series of sonodynamic photodynamic therapy in 115 patients over a 4 year period, *Current Drug Therapy*, 2009, Vol. 4, pp. 179–193.

# ЭНДОСКОПИЧЕСКАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЬНОГО С МЕТАСТАЗАМИ РАКА ЛЕГКОГО В БИФУРКАЦИОННЫЕ ЛИМФАТИЧЕСКИЕ УЗЛЫ (КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ)

В.М. Легостаев, О.Ю. Бабенков, Г.В. Балицкий

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

## Резюме

Описанный авторами клинический пример демонстрирует целесообразность применения фотодинамической терапии (ФДТ) как метода выбора лечения рецидивов заболевания у неоперабельных пациентов раком легкого с неэффективным химиолучевым лечением. Пациенту с диагнозом центральный рак нижней доли правого легкого pT4N0M0 после 2 курсов неoadъювантной химиотерапии в октябре 2015 г. была выполнена операция: расширенная комбинированная нижняя билобэктомия легкого справа, с резекцией перикарда и левого предсердия. Затем было проведено 4 курса адъювантной химиотерапии (цисплатин+винорельбин) и курс лучевой терапии на область средостения до СОД 45 Гр. Через 2 мес выявлено метастатическое поражение бифуркационных лимфоузлов с прорастанием слизистой оболочки бифуркации трахеи, вовлечением дистального отдела трахеи, проксимальных отделов правого и левого главных бронхов. Результат гистологического исследования биоптата: плоскоклеточный рак без орогования, G2. С декабря 2016 по июнь 2017 гг. пациенту проведено 5 курсов ФДТ, в результате которых удалось добиться значительного циторедуктивного эффекта и стабилизации опухолевого процесса. Планируется продолжение лечения методом ФДТ.

**Ключевые слова:** фотодинамическая терапия, опухоль бифуркации трахеи, фотодитазин.

**Для цитирования:** Легостаев В.М., Бабенков О.Ю., Балицкий Г.В. Эндоскопическая фотодинамическая терапия больного с метастазами рака легкого в бифуркационные лимфатические узлы (клиническое наблюдение) // *Biomedical Photonics*. – 2018 – Т. 7, № 2. – С. 50–54. doi: 10.24931/2413–9432–2018–7–2–50–54.

**Контакты:** Легостаев В.М., e-mail: legostaev\_vladis@mail.ru

## ENDOSCOPIC PHOTODYNAMIC THERAPY OF A PATIENT WITH LUNG CANCER METASTASIS IN BIFURCATION LYMPH NODES (CLINICAL OBSERVATION)

Legostaev V.M., Babenkov O.Y., Balitskiy G.V.

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

### Abstract

This clinical case demonstrates the feasibility of photodynamic therapy (PDT) as a method of choosing the treatment of recurrent lung cancer in inoperable patients with ineffective chemoradiotherapy. An operation was performed on the patient with a diagnosis of pT4N0M0 central cancer of the lower lobe of the right lung after 2 courses of neoadjuvant chemotherapy in October 2015: an expanded combined lower bilobectomy of the right lung, with resection of the pericardium and left atrium. Then 4 courses of adjuvant chemotherapy (cisplatin + vinorelbine) and a course of radiotherapy on the mediastinum area up to a total dose of 45 Gy were carried out. After 2 months, a metastatic lesion of bifurcation lymph nodes with invasion of the mucosa of the tracheal bifurcation, involving the distal trachea, proximal right and left main bronchi was detected. The result of histological analysis: G2 squamous cell carcinoma without keratinization. From Dec 2016 to Jun 2017, the patient underwent 5 courses of PDT, as a result of which a significant cytoreductive effect and stabilization of the process were achieved. The continuation of the PDT treatment is planned.

**Keywords:** photodynamic therapy, tumor of tracheal bifurcation, photoditazine.

**For citations:** Legostaev V.M., Babenkov O.Y., Balitskiy G.V. Endoscopic photodynamic therapy of a patient with lung cancer metastasis in bifurcation lymph nodes (clinical observation), *Biomedical Photonics*, 2018, T. 7, No. 2, pp. 50–54. (in Russian). doi: 10.24931/2413–9432–2018–7–2–50–54.

**Contacts:** Legostaev V.M., e-mail: legostaev\_vladis@mail.ru

## Введение

В структуре онкологической заболеваемости Российской Федерации рак легкого занимает одну из лидирующих позиций. Более чем у 60% первично выявленных в России больных диагностируется рак легкого III–IV стадии. Одногодичная летальность этой категории больных составляет 57–64%, что значительно выше аналогичных показателей при злокачественных новообразованиях других локализаций [1,2]. В течение первого года умирают 80% и только 10% больных раком легкого переходят рубеж 5-летней выживаемости. Несмотря на совершенствование методов лечения рака легкого, заметной тенденции к улучшению показателей отдаленной выживаемости не наблюдается [3, 4]. При изучении причин смертности больных раком легкого после радикальных хирургических операций выявлено, что более чем у трети пациентов наблюдалось развитие местного рецидива, что являлось непосредственной причиной дальнейшего прогрессирования заболевания и неблагоприятного исхода [5,6]. Стандартным методом выбора лечения рецидивов рака легкого является химиолучевая терапия. Однако до сегодняшнего дня нерешенным остается вопрос о дальнейшем лечении пациента, если возможности вышеперечисленных методов лечения исчерпаны.

В отделении эндоскопии Российского научно-исследовательского онкологического института (РНИОИ) успешно применяется метод фотодинамической терапии (ФДТ). Данный метод используется для лечения первично выявленных злокачественных опухолей легкого, а также – для рецидивных или резидуальных новообразований. Рассмотрим клиническое наблюдение, которое демонстрирует целесообразность применения ФДТ, как метода выбора терапии при прогрессировании рака легкого у пациента с неэффективным химиолучевым лечением.

Больной А. обратился в РНИОИ в августе 2015 г. с жалобами на кашель, одышку при физической нагрузке, слабость, лихорадку до 39°C в течение 3-х нед.

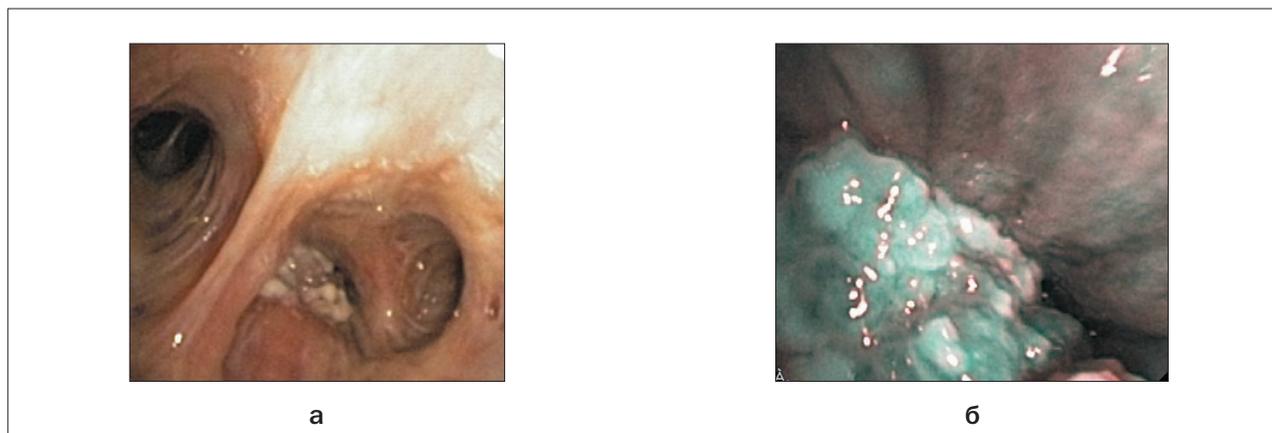
В РНИОИ выполнена спиральная компьютерная томография (СРКТ), выявлена гиповентиляция нижней доли правого лёгкого, центральная опухоль 3х2,3 см, размеры лимфоузлов средостения: ретрокавальные до 1,1 см, бронхопульмональные справа до 1,2 см.

При видеобронхоскопии выявлен и верифицирован центральный рак нижней доли правого легкого с локализацией на уровне нижнедолевого бронха (плоскоклеточный рак без ороговения, G3), смешанная форма роста (рис. 1).

После 2 курсов неоадъювантной химиотерапии в октябре 2015 г. пациенту была выполнена операция: расширенная комбинированная нижняя билобэктомия легкого справа, с резекцией перикарда и левого предсердия. Окончательный диагноз: центральный рак нижней доли правого легкого pT4N0M0 G3, стадия 3A, клиническая группа 2.

Дальнейшее лечение включало 4 курса адъювантной химиотерапии (цисплатин+винорельбин) и лучевую терапию на область средостения с СОД 45 Гр.

В декабре 2016 г. на контрольной СРКТ выявлено увеличение лимфоузлов до 2,6х1,5 см кпереди от бифуркации трахеи. По результатам видеобронхоскопии в области переднего треугольника карины, дистального отдела трахеи с вовлечением проксимальных отделов правого и левого главных бронхов обнаружен участок приподнятой, мелкобугристой опухолевой инфильтрации с налетом фибрина, общим размером около 2,5х2,5 см. Просвет трахеи и главных бронхов сужен незначительно. Слизистая культи промежуточного бронха гладкая, бледная. Остальные бронхи правого и левого легкого дифференцируют



**Рис. 1.** Эндобронхиальная опухоль:  
а – осмотр в белом свете;  
б – осмотр в режиме узкоспектральной эндоскопии

**Fig. 1.** Endobronchial tumor:  
а – investigation in white light;  
б – investigation in the narrow spectral band imaging mode

ся, слизистая их бледная, шпоры острые. В режиме аутофлуоресценции (при использовании аппарата Olympus Lusera Spectrum 260) инфильтрация в области карины окрашивается в светло-фиолетовый цвет. Выполнена биопсия опухоли. Заключение: признаки метастатического поражения бифуркационных лимфоузлов с прорастанием бифуркации, вовлечением дистального отдела трахеи, проксимальных отделов правого и левого главных бронхов (рис. 2). Результат гистологического анализа: плоскоклеточный рак без ороговения, G2.

В связи с неэффективностью химиолучевого лечения в декабре 2016 г. пациенту была выполнена эндоскопическая ФДТ. Для ФДТ использовали препарат фотодитазин (ООО «ВЕТА-ГРАНД», Россия, регистрационное удостоверение №ЛС 001246 от 18.05.2012) в дозе 100 мг, который вводили внутривенно за 3 ч до облучения. Параметры облучения в каждом курсе ФДТ менялись. В первом курсе для облучения карины и дистального отдела трахеи использовали лазерный аппарат Актус, цилиндрический диффузор длиной 1,0 см и микролинзу. Доза световой энергии – 200 Дж/см<sup>2</sup>. Мощность лазерного излучения на выходе – 1000 мВт. Режим импульсный:  $T_i = 300$  мс,  $T_p = 700$  мс.

При контрольном осмотре через 1 мес на СРКТ в стенке бифуркации трахеи обнаружена опухоль размером 2,5x2 см. При эндоскопическом исследовании в области переднего треугольника карины, дистального отдела трахеи, с вовлечением проксимальных отделов правого и левого главных бронхов, выявлена остаточная опухоль с обильным налетом фибрина, общим размером около 2,0x2,0 см. Просвет трахеи и главных бронхов сужен незначительно. Заключение: состояние после первого курса ФДТ опухоли бифуркации, с вовлечением дистального отдела трахеи, проксимальных отделов правого и левого главных

бронхов. Незавершенная фаза некроза опухоли, определяется остаточная опухоль (рис. 3а).

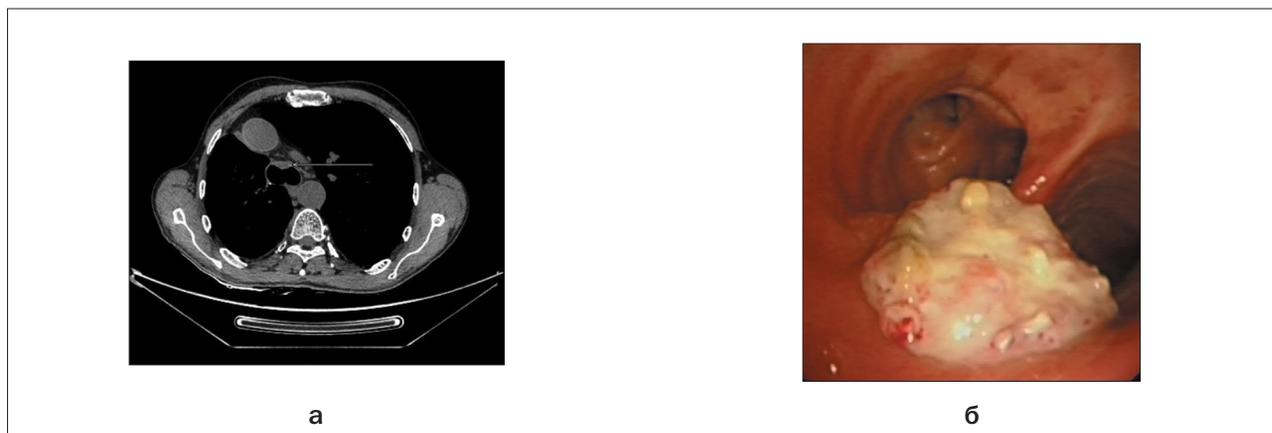
В феврале 2017 г. пациенту выполнен второй курс ФДТ: доза энергии – 300 Дж/см<sup>2</sup>, с использованием цилиндрического диффузора длиной 1,5 см и микролинзы. Мощность используемого лазера Актус составила 1500 мВт, облучение проведено в импульсном режиме:  $T_i = 380$  мс,  $T_p = 630$  мс.

В марте 2017 г. при контрольной видеобронхоскопии выявлена выраженная положительная динамика: экзофитный компонент опухоли трахеи уменьшился в размере примерно на 70–80%. При этом сохранена плоская инфильтрация слизистой в области нижней трети трахеи и проксимальных отделов обоих главных бронхов. Передняя половина бифуркации расширена, инфильтрирована. Перифокальная аутофлуоресценция трахеи отсутствует (рис. 3б).

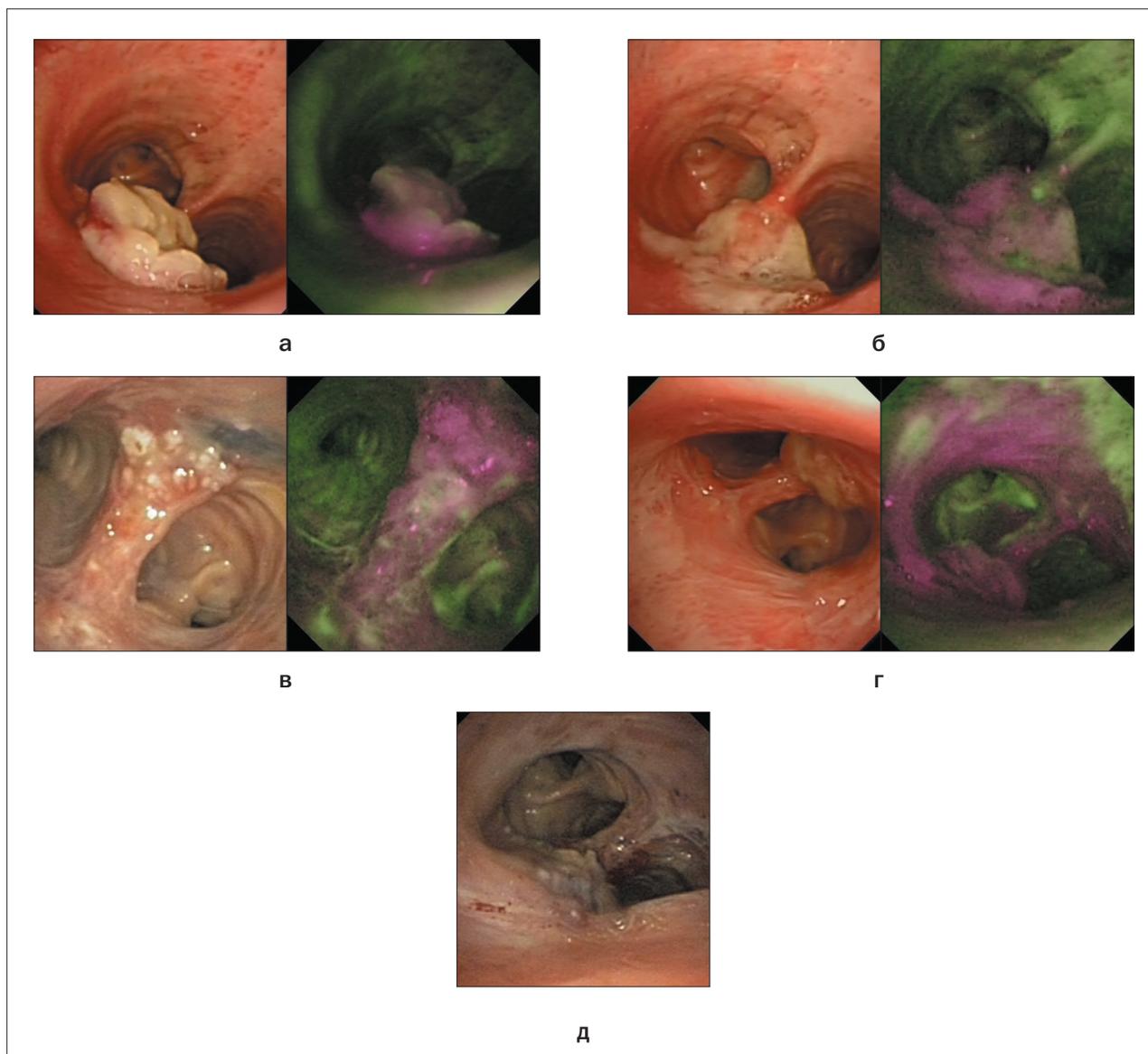
В марте 2017 г. был выполнен третий курс ФДТ с использованием лазера Эломед, цилиндрического диффузора длиной 2,0 см (мощность лазера 2000 мВт) и микролинзы (мощность лазера 1000 мВт) выполнено облучение резидуальной опухоли трахеобронхиального дерева, доза энергии 300 Дж/см<sup>2</sup>. Режим импульсный:  $T_i = 500$  мс,  $T_p = 500$  мс.

На контрольной СРКТ увеличения внутригрудных лимфоузлов и поражения трахеи не определяется. При видеобронхоскопии, выполненной через 1 мес после последнего курса ФДТ, отмечена выраженная положительная динамика: экзофитный компонент опухоли заметно уменьшился, на его месте имеется остаточная бугристая инфильтрация слизистой (рис. 3в). Просветы бронхов свободны.

В мае 2017 г. выполнен четвертый курс ФДТ: доза энергии – 150 Дж/см<sup>2</sup>, с использованием микролинзы при мощности лазера Эломед ( $\lambda = 662$  нм) – 1000 мВт в непрерывном режиме.



**Рис. 2.** Метастатическая опухоль бифуркации трахеи:  
а – снимок СРКТ;  
б – эндоскопическая картина: осмотр в белом свете  
**Fig. 2.** Metastatic tumor of tracheal bifurcation:  
а – SCRT image;  
б – endoscopic image: investigation in white light



**Рис. 3.** Динамика опухолевого процесса после курсов ФДТ:  
а – через 1 мес после первого курса ФДТ, осмотр в белом свете и в режиме аутофлуоресценции;  
б – через 1 мес после второго курса ФДТ, осмотр в белом свете и в режиме аутофлуоресценции;  
в – через 1 мес после третьего курса ФДТ, осмотр в белом свете и в режиме аутофлуоресценции;  
г – через 41 день после четвертого курса ФДТ, осмотр в белом свете и в режиме аутофлуоресценции;  
д – через 14 дней после пятого курса ФДТ

**Fig. 3.** Dynamics of tumor process after PDT courses:  
а – 1 month after the first course, investigation in white light and in the autofluorescence mode;  
б – 1 month after the second course, investigation in white light and in the autofluorescence mode;  
в – 1 month after the third course, in white light and in the autofluorescence mode;  
г – 41 days after the fourth course, in white light and in the autofluorescence mode;  
д – 14 days after the fifth course

Через 41 день пациенту была выполнена контрольная бронхоскопия, по результатам которой выявлена положительная динамика: инфильтрация в области карины стала преимущественно стелющегося характера. При осмотре в режиме аутофлуоресценции отмечено выраженное розово-фиолетовое свечение в области карины и устьев обоих главных бронхов и нижней трети трахеи (рис. 3г).

В июне 2017 г. выполнен пятый курс ФДТ: доза энергии –  $150 \text{ Дж/см}^2$ , с использованием микролинзы и цилиндрического диффузора длиной 1,0 см, при мощности лазера 1000 мВт. Режим импульсный:  $T_i=500 \text{ мс}$ ,  $T_p=500 \text{ мс}$ .

На контрольной бронхоскопии через 15 дней после ФДТ отмечена положительная динамика: исчезла опухолевая инфильтрация области устья левого главного бронха, в области переднего треугольника карин-

ны инфильтрация уменьшилась, сохраняются признаки фотохимических процессов в опухоли (рис. 3д).

В последующем пациенту планируется продолжение проведения многокурсовой ФДТ. Следующим этапом пациенту будет выполнена контрольная видеобронхоскопия с последующим проведением очередного курса ФДТ.

Данный случай позволяет утверждать, что при рецидиве заболевания у больных раком легкого при исчерпанных возможностях химиолучевого лечения, фотодинамическая терапия позволяет добиться значимого циторедуктивного эффекта и стабилизации опухолевого процесса.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Барчук А.С. Стандарты лечения немелкоклеточного рака легкого // Вестн. РОНЦ им. Н.Н. Блохина. – 2003. – Т. 14, № 1. – С. 3–7.
2. Лактионов К.К., Давыдов М.И., Полоцкий Б.Е. Прогностические и предсказывающие факторы у больных немелкоклеточным раком легкого // Практическая онкология. – 2006. – № 27. – С. 21–24.
3. Мерабишвили В.М. Злокачественные новообразования в мире, России, Санкт-Петербурге. – СПб.: ООО «Издательско-полиграфическая компания «КОСТА», 2007. – 424 с.
4. Злокачественные новообразования в России в 2006 году (заболеваемость и смертность) / под ред. Чиссова В.И., Старинского В.В., Петровой Г.В. – М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологий», 2008. – 248 с.
5. Арсеньев И.А. Аджьювантная химиотерапия и лучевая терапия операбельного немелкоклеточного рака легкого // Практическая онкология. – 2006. – Т. 7, № 3. – С. 154–160.
6. Чиссов В.И., Трахтенберг А.Х., Колбанов К.И. Ошибки в диагностике и лечении рака легкого // Терапевтический архив. – 2001. – № 10. – С. 5–10.

## REFERENCES

1. Barchuk A.S. Standards for treatment of non-small cell lung cancer, *Vestn. RONTs im. N.N. Blokhina*, 2003, Vol. 14, No. 1, pp. 3–7. (in Russian)
2. Laktionov K.K., Davydov M.I., Polotskiy B.E. Prognostic and predictive factors in patients with non-small cell lung cancer, *Prakticheskaya onkologiya*, 2006, No. 27, pp. 21–24. (in Russian)
3. Merabishvili V.M. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v mire, Rossii, Sankt-Peterburge* [Malignant neoplasms in the world, Russia, St. Petersburg]. Saint-Petersburg, OOO Izdatel'sko-poligraficheskaya kompaniya KOSTA Publ., 2007. 424 p.
4. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2006 godu (zabolevaemost' i smertnost')* [Malignant neoplasms in Russia in 2006 (morbidity and mortality)], by eds. Chissov V.I., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Moscow, FGU MNI OI im. P.A. Gertsena Rosmedtekhologii Publ., 2008. 248 p.
5. Arsen'ev I.A. Adjuvant chemotherapy and radiation therapy for operable non-small cell lung cancer, *Prakticheskaya onkologiya*, 2006, Vol. 7, No. 3, pp. 154–160. (in Russian)
6. Chissov V.I., Trakhtenberg A.Kh., Kolbanov K.I. Errors in the diagnosis and treatment of lung cancer, *Terapevticheskiy arkhiv*, 2001, No. 10, pp. 5–10. (in Russian)

## ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЕЙ

**Н**астоящие правила разработаны в соответствии с «Едиными требованиями к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», которые разработаны Международным комитетом редакторов медицинских журналов (International Committee of Medical Journal Editors).

Каждая статья должна сопровождаться официальным направлением учреждения, в котором выполнена работа.

Представленные в работе данные должны быть оригинальными. Не допускается направление в редакцию работ, которые уже напечатаны в других изданиях или посланы для публикации в другие редакции.

Рукопись представляется в редакцию в распечатанном виде в 2-х экземплярах (статья должна быть напечатана на одной стороне листа и подписана всеми авторами) и в электронном виде на носителе типа CD-R (RW), DVD-R (RW), USB-flash или по e-mail (в последнем случае к материалам, подаваемым в редакцию, должна быть приложена распечатка отправленного письма). Представляемая в редакцию распечатка статьи, включая иллюстративный материал, должна быть полностью идентичной электронному варианту. Носители автору не возвращаются.

Текст статьи набирается в текстовом редакторе (тип файла формата MS Word 97/2003/XP/2007) с расширением «.doc» кеглем 12 пунктов через 1,5 интервала, желательно шрифтом Times New Roman Cyr, перенос слов не делается. Размеры полей: верхнее и нижнее – 20 мм, левое – 30 мм, правое – 20 мм. Рекомендуемый объем статьи, включая таблицы и литературу – в пределах 12 страниц формата A4. Все страницы должны быть пронумерованы (нумерация страниц начинается с титульной).

Оригинальные статьи согласно общепринятым международным правилам должны содержать следующие разделы: титульная страница, вступление, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение, литература.

Титульная страница должна содержать: название статьи; фамилию и инициалы каждого автора с указанием должности, ученой степени и звания, названия организации, а также отделения, кафедры или лаборатории, города и страны; контактную информацию для общения читателей с автором для публикации в свободном доступе (почтовый адрес, телефон, e-mail); аннотацию объемом до 150 слов; ключевые слова на русском языке. На английском языке необходимо продублировать: фамилию и инициалы автора(ов), название статьи, аннотацию, ключевые слова.

Дополнительно следует указать фамилию, имя и отчество автора, ответственного за контакты с редакцией, его телефон и адрес электронной почты.

В тексте следует использовать только общепринятые сокращения (аббревиатуры). Не следует применять сокращения в названии статьи. Полный термин, вместо которого вводится сокращение, следует расшифровывать при первом упоминании его в тексте (не требуют расшифровки стандартные единицы измерения и символы).

При представлении результатов статистического анализа данных обязательным является указание использованного программного пакета и его версии, названий использованных статистических методов, приведение описательной статистики и точных уровней значимости при проверке статистических гипотез. Для основных результатов исследования рекомендуется рассчитывать доверительные интервалы.

Единицы измерения физических величин, гематологические, биохимические и другие показатели величин, применяемые в медицине, должны представляться в единицах метрической системы (Международной системы единиц – СИ). При названии различных соединений необходимо использовать терминологию ИЮПАК.

Таблицы, рисунки и текст должны дополнять друг друга, а не дублировать.

Иллюстративный материал (фотографии, рисунки, чертежи, диаграммы) представляются в 2-х экземплярах, каждый – на отдельном листе. Приемлемыми для верстки журнала являются форматы – TIFF, EPS, CDR или JPEG с коэффициентом сжатия не менее 8 с разрешением 300 dpi при размере не менее 6 x 9 см. Если рисунки подготовлены в CorelDraw, шрифты необходимо перевести в кривые. Единой считается версия CorelDraw 9.0 со шрифтами в кривых. Фотографии должны быть контрастными, рисунки – четкими. На микрофотографиях необходимо указать метод окраски, увеличение. На оборотной стороне каждого рисунка ставится его номер, фамилия первого автора статьи и название статьи. Подписи к рисункам приводятся на отдельном листе (также 2 экземпляра) с указанием названия статьи и фамилии автора.

Таблицы нумеруются в соответствии с порядком их цитирования в тексте. Каждая таблица должна иметь краткое название и иметь ссылки в тексте. Заголовки граф должны точно соответствовать их содержанию. Используемые в таблице сокращения подлежат расшифровке в конце таблицы.

Библиография должна быть приведена в конце статьи и оформлена в соответствии с ГОСТ Р 7.0.5-2008,

в самом же тексте следует указывать только номер ссылки в квадратных скобках цифрами. Ссылки нумеруются в порядке цитирования. В список литературы не включают неопубликованные работы. Не допускаются ссылки на диссертации, тезисы, сборники конференций и авторефераты диссертаций.

За точность библиографии несет ответственность автор. Не рекомендуется указывать более 30 источников.

Пример оформления списка литературы:

1. Миронов А.Ф. Фотодинамическая терапия – новый эффективный метод диагностики и лечения злокачественных опухолей // Соросовский образовательный журнал. – 1996. – № 8. – С. 32–40.
2. Кармакова Т.А., Филоненко Е.В., Феофанов А.В. и соавт. Динамика накопления и распределение АЛК-индуцированного протопорфирина IX в ткани базальноклеточного рака // Российский биотерапевтический журнал. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 26.
3. Фут К. Свободные радикалы в биологии // пер. с англ. – М.: Мир, 1979. – Т. 2. – С. 96 – 150.
4. Castano A.P. et al. Mechanisms in photodynamic therapy: part one – photosensitizers, photochemistry and cellular localization // Photodiag. Photodynam. Ther. – 2004. – Vol. 1. – P. 279–293.

Все статьи, поступающие в редакцию, проходят многоступенчатое рецензирование, замечания рецензентов направляются автору без указания имен

рецензентов. После получения рецензий и ответов автора редколлегия принимает решение о публикации (или отклонении) статьи.

Редакция оставляет за собой право отклонить статью с направлением автору мотивированного отказа в письменной форме. Отклоненные рукописи авторам не возвращаются. Очередность публикации статей устанавливается в соответствии с редакционным планом издания журнала.

Редакция журнала оставляет за собой право сокращать и редактировать материалы статьи. Небольшие исправления стилистического, номенклатурного или формального характера вносятся в статью без согласования с автором. Если статья перерабатывалась автором в процессе подготовки к публикации, датой поступления считается день поступления окончательного текста.

Публикация статей в журнале бесплатная.

Обращаем внимание авторов: аннотации и ключевые слова публикуются в переводе на английский язык и распространяются в российских и международных информационных базах.

Статьи следует направлять по адресу:  
pdt-journal@mail.ru

*Примечание.* Представление статьи для публикации в журнале подразумевает согласие автора(ов) с опубликованными правилами.