

Комплементарный бимодальный подход к мониторингу фотодинамической терапии глиом с применением таргетных наноконструктов: численное моделирование

М.Ю.Кириллин, Д.А.Куракина, В.В.Перекатова, А.Г.Орлова, Е.А.Сергеева, А.В.Хилов, П.В.Субочев, И.В.Турчин, Ш.Маллиди, Т.Хасан

Предложен новый подход к мониторингу фотодинамической терапии (ФДТ) глиобластом с применением таргетных наноконструктов, содержащих фотосенсибилизатор (ФС) (производные бензопорфирина (BPD)) и краситель IRDye800, антитела для эффективного накопления препарата в опухоли и химиотерапевтический препарат для комбинированного воздействия на клетки опухоли. Применение красителя IRDye800 обусловлено смещением его спектров поглощения и флуоресценции в ближний ИК диапазон относительно спектров BPD, что обеспечивает повышение глубины визуализации. Мониторинг ФДТ основан на одновременном использовании флуоресцентной и оптоакустической (ОА) визуализаций. Флуоресцентная визуализация позволяет наблюдать флуоресцентные метки с высокой молекулярной чувствительностью, а также отслеживать эффективность ФДТ по фотовыгоранию ФС. ОА визуализация позволяет исследовать сосудистый рисунок опухолевого окружения, а также оценивать глубину залегания опухоли. На примере результатов численного моделирования методом Монте-Карло продемонстрированы возможности комплементарного подхода и показано, что оба метода позволяют локализовать опухоль радиусом 1 мм на глубинах от 100 мкм до 2 мм.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, оптоакустическая визуализация, флуоресцентная визуализация, таргетные наноконструкты, метод Монте-Карло.

1. Введение

Глиобластома – наиболее агрессивная и часто встречающаяся злокачественная опухоль мозга, выявляемая в 16% случаев среди всех новообразований нервной системы. Медианное значение выживаемости для больных с диагнозом глиобластома остается низким и составляет менее 15 месяцев. Возможности хирургического лечения новообразований данного типа имеют ряд значительных ограничений, связанных с инвазией опухолевых клеток в окружающие нормальные ткани [1]. Повышение эффективности лечения возможно при максимальном удалении опухоли и уничтожении жизнеспособных опухолевых клеток из перитуморальной зоны с минимальным повреждением прилежащих к опухоли функционально значимых зон мозга. Одним из подходов к лечению опухолей трудных локализаций является фотодинамическая терапия (ФДТ), основанная на накоплении в опухоли фотосенсибилизирующего вещества, способствующего генерации цитотоксичного синглетного кислорода при облучении на определенной длине волны оптического диапазона [2]. Она может применяться как самостоятельно, так и в комбинации с другими подходами, используемыми, например, для уничтожения раковых клеток в ложе опухоли после хирургического удаления.

М.Ю.Кириллин, Д.А.Куракина, В.В.Перекатова, А.Г.Орлова, Е.А.Сергеева, А.В.Хилов, П.В.Субочев, И.В.Турчин. Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН, Россия, 603950 Н.Новгород, ул. Ульянова, 46; e-mail: mkirillin@yandex.ru

S.Mallidi, T.Hasan. Wellman Center for Photomedicine, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA02114, USA

Поступила в редакцию 8 августа 2018 г., после доработки – 18 октября 2018 г.

В настоящее время с целью более точного определения границ злокачественных новообразований и выбора необходимого объема их резекции используется метод флуоресцентной диагностики [3]. Он основан на способности фотосенсибилизаторов (ФС) избирательно накапливаться в опухолевой ткани и флуоресцировать при взаимодействии с оптическим излучением определенной длины волны. Показано, что применение флуоресцентной визуализации в хирургии опухолей головного мозга позволяет повысить безрецидивную выживаемость [4, 5]. Эффективность применения флуоресцентной визуализации определяется селективностью накопления ФС в опухоли. Традиционно такая селективность обусловлена повышенным притоком ФС в новообразование вследствие его большой кровенаполненности, облегченным выходом ФС из высокопроницаемых кровеносных сосудов опухоли и слабым оттоком ФС, связанным с недоразвитием ее лимфатических сосудов [6]. Однако это не всегда является механизмом обеспечения высокого контраста накопления ФС в опухоли, особенно в опухолях мозга. Глиомы характеризуются меньшей васкуляризацией по сравнению с злокачественными новообразованиями других локализаций.

Одним из основных направлений повышения селективности накопления ФС в опухолевой ткани является разработка таргетных препаратов. Данный подход применяется для увеличения эффективности воздействия на опухоль и минимизации повреждения окружающих нормальных тканей [7–9]. Объединение в единой структуре антител, фотосенсибилизаторов и противоопухолевых препаратов открывает возможности для создания многокомпонентных агентов, реализующих принцип таргетности и используемых для адресной доставки, флуоресцентной диагностики и комплексной фотодинамической терапии и химиотерапии [10].

В клинической практике метод флуоресцентной визуализации используется для уточнения границ новообразования, мониторинга накопления и фотовыгорания ФС и демонстрирует преимущества даже по сравнению с такими методами, как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) и магниторезонансная томография (МРТ) [11]. В экспериментальной онкологии данный метод нашел применение при тестировании новых контрастирующих и фотодинамических агентов и разработке новых протоколов ФДТ [12–16].

Новые возможности для планирования и мониторинга лечения опухолей открывает активно развивающийся в последние годы гибридный метод визуализации – оптоакустическая (ОА) визуализация [17, 18]. ОА визуализация позволяет получать трехмерные изображения структуры тканей благодаря поглощению оптического излучения в эндогенных (кровь, вода, жир, липиды) и экзогенных (флуоресцентные белки, квантовые точки, химические красители) хромофорах, сочетая в себе преимущества оптических (высокий контраст) и ультразвуковых (высокое пространственное разрешение) методов [19–21]. Возможность выбора длины волны зондирования в ОА визуализации обеспечивает селективность визуализации определенного хромофора. Таким образом, при выборе нескольких определенных длин волн зондирования ОА визуализация позволяет комплементарно визуализировать как саму опухоль по ее сосудистому окружению, так и распределение ФС.

Производные бензопорфирина (BPD) – одобренного к медицинскому применению фотосенсибилизатора – показали свою эффективность для ФДТ экспериментальных глиобластом [17]. Ограничением для анализа его накопления в опухоли представляется низкий квантовый выход флуоресценции [22]. Использование многокомпонентных комплексов, включающих BPD в качестве фотодинамического препарата и дополнительного контрастирующего агента для флуоресцентной и ОА визуализации, позволит снять эти ограничения. Для этого может быть использован инфракрасный краситель IRDye800, который широко применяется для доклинической флуоресцентной визуализации [23–25] и апробирован для оптоакустических исследований [26].

В настоящей работе предложена концепция нового комплементарного подхода к мониторингу ФДТ глиобластом с применением таргетных наноконструктов. Подход основан на одновременном использовании ОА и флуоресцентной визуализации. При этом наноконструкты содержат BPD, служащие флуоресцентными метками и фотосенсибилизаторами, краситель IRDye800, служащий контрастирующим агентом для флуоресцентной и ОА визуализации, антитела для эффективного накопления препарата в опухоли и химиотерапевтический препарат для комбинированного воздействия на клетки опухоли. Возможности комплементарного подхода продемонстрированы результатами численного моделирования методом Монте-Карло.

2. Материалы и методы

2.1. Моделирование флуоресцентной и ОА визуализации

Для оценки возможности комплементарного исследования мозга лабораторного животного методами флуоресцентной и ОА визуализации был модифицирован про-

граммный комплекс для моделирования методом Монте-Карло, разработанный нами ранее [16, 27, 28]. Комплекс реализован в среде MATLAB, и все участвующие в моделировании фотоны описываются параметрами, записанными в массивы, размерность которых равна количеству запущенных фотонов.

Для моделирования изображения, получаемого при флуоресцентной визуализации, перед моделированием задается трехмерная карта распределения флуорофора в среде. В вокселях, содержащих флуорофор, локальные оптические свойства (коэффициенты поглощения и рассеяния) вычисляются как суммы парциальных оптических свойств основной среды (биоткани) и флуорофора. На первом этапе моделирования с помощью метода Монте-Карло вычисляется карта парциального поглощения флуорофором зондирующего излучения с заданной конфигурацией облучения. На втором этапе полученная карта парциального поглощения служит распределенным источником флуоресценции. Распространение флуоресцентного отклика в среде моделируется на втором этапе также с помощью метода Монте-Карло. При этом испускание фотонов флуорофором считается равновероятным по направлению. При моделировании считалось, что квантовый выход флуоресценции равен единице, однако результаты для других его значений могут быть получены путем введения соответствующего мультипликативного фактора. Результатом моделирования является трехмерное распределение в биоткани интенсивности флуоресценции, источником которой является заданное объемное распределение флуорофора. Распределение интенсивности флуоресценции на поверхности среды является флуоресцентным откликом, регистрируемым камерой при флуоресцентной визуализации.

При моделировании ОА визуализации на первом этапе, аналогично случаю флуоресцентной визуализации, рассчитывается карта поглощения зондирующего излучения в среде. Однако при этом рассчитывается карта полного, а не парциального поглощения, поскольку источником ОА сигнала являются все поглощающие объекты в среде, а не только флуорофор. На втором этапе на основании полученной карты поглощения моделируется акустический отклик среды. Для моделирования используется пакет k-Wave [29], являющийся стандартом для подобных вычислений. Программный пакет k-Wave с открытым кодом используется для моделирования распространения акустических импульсов в одномерной, двумерной и трехмерной геометрии. Моделирование основано на k-пространственном псевдоспектральном методе решения акустических уравнений первого порядка для однородных и неоднородных сред. Численная модель может учитывать как линейное, так и нелинейное распространение волн, произвольное распределение неоднородностей и акустическое поглощение.

2.2. Параметры моделирования

Целью настоящей работы является исследование возможности комплементарного мониторинга глиом в мозге лабораторного животного при использовании наноконструктов, содержащих в том числе ФС на основе BPD и флуоресцентный краситель IRDye800. Благодаря высокому поглощению IRDye800 является как флуоресцентным маркером, так и контрастирующим агентом для ОА визуализации. Выбор длин волн зондирования и эмиссии

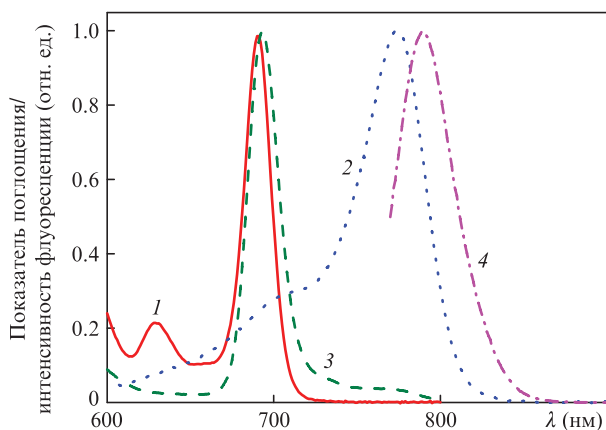


Рис.1. Спектры поглощения (1,2) и флуоресценции (3,4) для BPD (1,3) и IRDye800 (2,4).

обусловлен спектрами поглощения и флуоресценции этих компонентов наноконструктов (рис.1), а также длиной волн коммерчески доступных лазеров и фильтров, используемых при регистрации эмиссии. В качестве источников, возбуждающих флуоресценцию, выбраны компактные и относительно недорогие лазерные диоды с волоконным выходом, максимальной выходной мощностью 0.7 Вт и длинами волн излучения 690 и 785 нм (Hicurtec, Россия) для BPD и IRDye800 соответственно. Длины волн эмиссии выбраны исходя из наличия коммерчески доступных фильтров для регистрации эмиссии (Semrock, США), наиболее эффективно отсекающих возбуждающее излучение лазерных диодов при регистрации флуоресценции BPD ($\lambda_0 = 725$ нм, $\Delta\lambda = 40$ нм) и IRDye800 ($\lambda_0 = 835$ нм, $\Delta\lambda = 70$ нм). Для моделирования распространения флуоресцентного отклика выбраны длины волн 725 и 835 нм для BPD и IRDye800 соответственно, что обусловлено условиями регистрации эмиссии. Парциальные коэффициенты поглощения были рассчитаны на основе спектров поглощения BPD и IRDye800, а также информации о типичных значениях их концентрации в опухоли.

При расчетах предполагалось, что объем опухоли составляет около 0.004 мл (сферическая опухоль радиусом 1 мм) при общем объеме мыши 20 мл. Учитывалось, что поскольку агенты доставляются в опухоль наноконструктами, содержащими антитела, которые обеспечивают таргетную доставку препарата в опухоль, в ней накапливается примерно 2% введенного в лабораторное животное препарата, что количественно согласуется с данными работы [30]. Таким образом, контраст их накопления в опухоли по сравнению с окружающими здоровыми тканями составляет 100:1. Показатели поглощения μ_a исследуемых маркеров в указанных концентрациях представлены в табл.1. Предполагалось, что BPD вводился животному в дозе 13.6 нмоль, после чего препарат накапливался в опухоли с указанным выше контрастом, из чего на осно-

Табл.1. Показатели поглощения флуоресцентных красителей BPD и IRDye800 на длинах волн возбуждения и флуоресценции.

Флуоресцентный краситель	Длина волны	μ_a (мм ⁻¹)
BPD	$\lambda_{ex} = 690$ нм	0.12
	$\lambda_{em} = 725$ нм	0.001
IRDye800	$\lambda_{ex} = 785$ нм	0.228
	$\lambda_{em} = 835$ нм	0.02

Табл.2. Оптические характеристики мозга лабораторной мыши ex vivo на длинах волн возбуждения и детектирования флуоресценции BPD (690 и 725 нм соответственно) и IRDye (785 и 835 нм соответственно).

Длина волны (нм)	μ_a (мм ⁻¹)	μ_s (мм ⁻¹)	g	n
690	0.09	8.9	0.78	1.4
725	0.07	8.6	0.78	1.4
785	0.06	8.7	0.80	1.4
835	0.05	8.7	0.81	1.4

Примечание: μ_s – показатель рассеяния; g – фактор анизотропии; n – показатель преломления.

вании спектра поглощения BPD [22] вычислялся его парциальный показатель поглощения. Для вычисления парциального показателя поглощения красителя IRDye800 использовалось известное соотношение концентраций этих компонентов в наноконструктах. Эффект реабсорбции флуоресценции не учитывался, поскольку поглощение на длине волны эмиссии существенно меньше, чем на длине волны возбуждения.

В качестве параметров основной среды выбраны оптические характеристики мозга лабораторной мыши, полученные на основании спектрофотометрических измерений ткани мозга лабораторной мыши ex vivo [31] и последующего применения инверсного метода Монте-Карло. Измерения проводились с помощью спектрофотометра Analytik Jena Specord 250Plus (Германия), оснащенного интегрирующей сферой. Значения оптических параметров мозга лабораторной мыши для выбранных длин волн приведены в табл.2.

При моделировании предполагалось, что модельная опухоль имеет форму сферы радиусом 1 мм, а глубина залегания опухоли z_s (расстояние от самой близкой к поверхности точки до поверхности) варьировалась от 100 мкм до 2 мм. Как для флуоресцентной, так и для ОА визуализации считалось, что исследуемая область при зондировании засвечивается равномерно, т.е. происходит ее облучение плоской волной. Предполагалось также, что для ОА визуализации используется сферическая сфокусированная антенна радиусом R , равным 6.7 мм, с $NA = 0.6$. Моделирование ОА визуализации осуществлялось при помощи программного пакета k-Wave [29] на пространственно-временной сетке $(12.4 \times 7.6 \times 12.7$ мм) \times (10 мкс). Моделирование ОА сигналов проводилось для различных положений z_f фокуса антенны относительно поверхности объекта. Геометрия численного моделирования для двух типичных положений фокуса антенны представлена на рис.2.

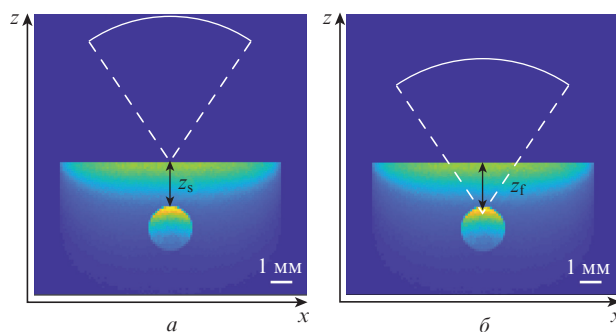


Рис.2. Типичные положения фокуса акустической антенны при ОА моделировании опухоли, расположенной на глубине $z_s = 2$ мм: фокус на поверхности ($z_f = 0$) (a) и фокус на глубине z_s ($z_f = 2$ мм).

3. Результаты и их обсуждение

3.1. Флуоресцентная визуализация

Исследование возможностей флуоресцентной визуализации в детектировании глиомы, меченной наноконструкциями, проводилось для типичных глубин залегания глиомы, варьирующихся в пределах 100 мкм–2 мм. Как

уже отмечалось выше, источником флуоресцентного сигнала являются флуорофоры, содержащиеся в наноконструкте. Поскольку в препарате содержатся два флуорофора, BPD и IRDye800, характеризующиеся различными спектрами поглощения, можно осуществлять двухволновую флуоресцентную визуализацию с возбуждением на соответствующих длинах волн. Для получения карты распределения источника флуоресценции при моделирова-

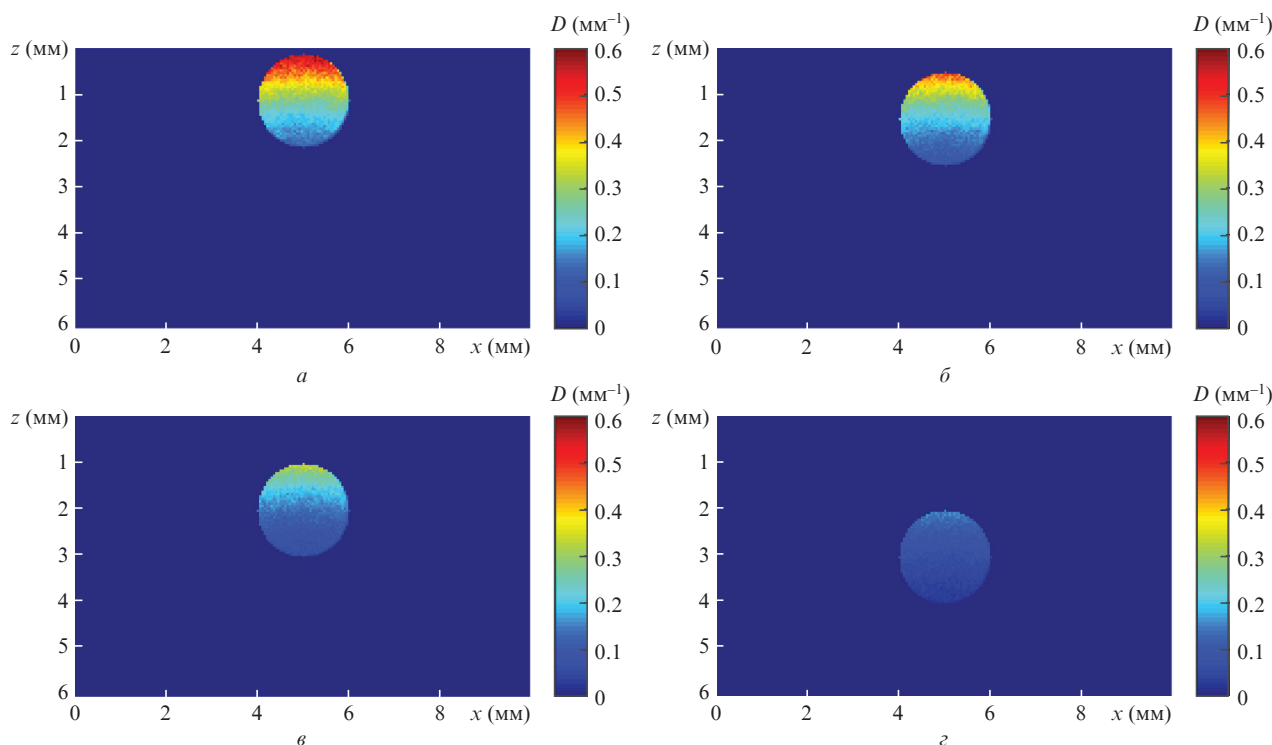


Рис.3. Парциальные карты поглощения BPD излучения на длине волн зондирования 690 нм для глубин залегания глиомы 100 мкм (*a*), 500 мкм (*б*), 1 мм (*в*) и 2 мм (*г*). На картах представлено отношение D числа фотонов, поглощенных в единице объема, к числу фотонов, падающих на единицу поверхности среды.

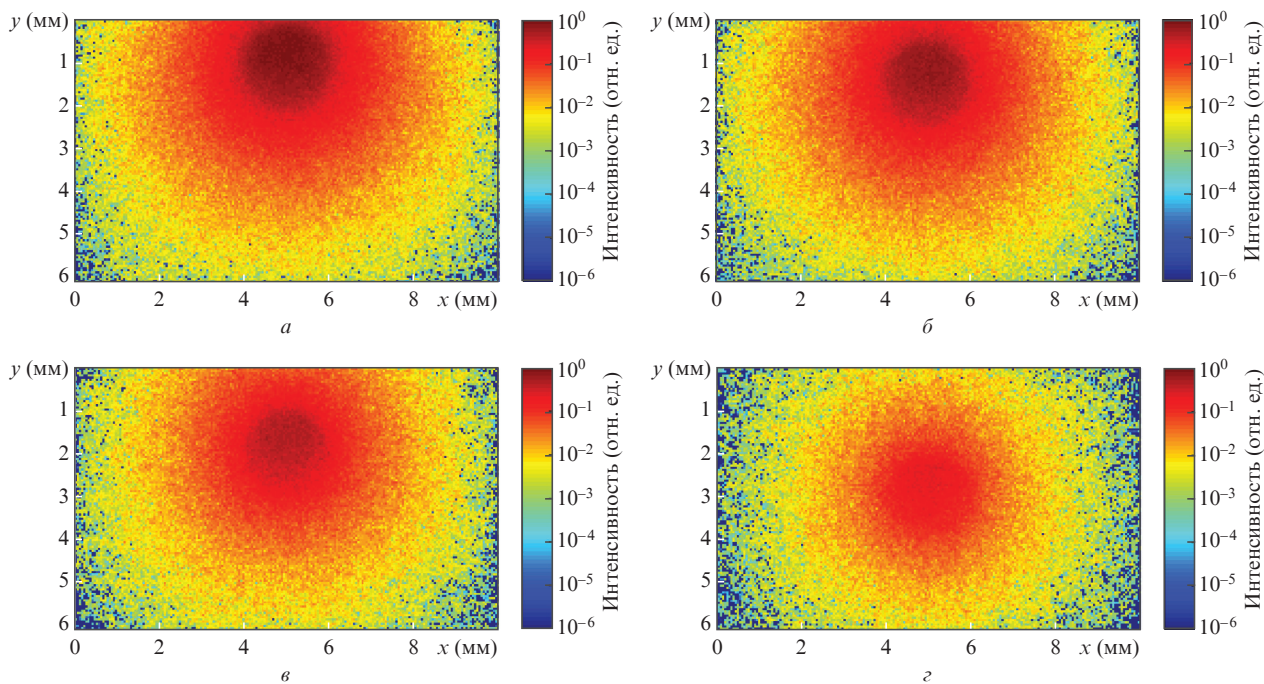


Рис.4. Карты распределения интенсивности флуоресценции BPD в биоткани для глубин залегания опухоли 100 мкм (*a*), 500 мкм (*б*) и 1 мм (*в*) и 2 мм (*г*). Интенсивность, нормированная на интенсивность зондирующего излучения, приведена в логарифмической цветовой шкале для квантового выхода флуоресценции, равного единице.

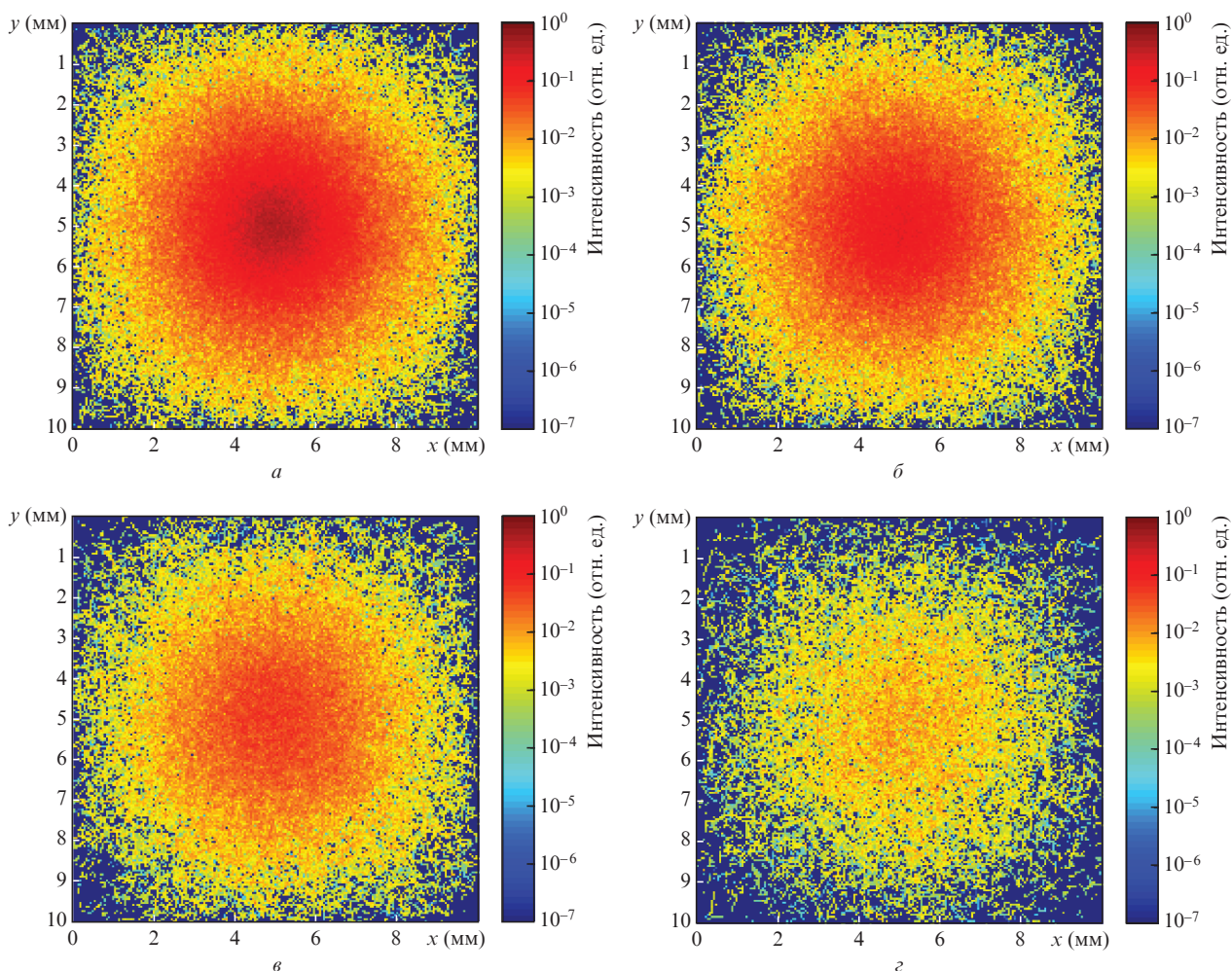


Рис.5. Флуоресцентные отклики от ВРD на поверхности образца, регистрируемые камерой системы флуоресцентной визуализации, при глубинах залегания опухоли 100 мкм (а), 500 мкм (б), 1 мм (в) и 2 мм (г). Интенсивность, нормированная на интенсивность зондирующего излучения, приведена в логарифмической цветовой шкале для квантового выхода, равного единице.

нии рассчитывается парциальная карта поглощения зондирующего излучения флуорофором. Типичные карты парциального поглощения ВРD приведены на рис.3.

Следует отметить, что благодаря значительной экстинкции зондирующего излучения в биоткани, а особенно в области глиомы, распределение поглощенной дозы в глиоме существенно неоднородно. Карты пространственного распределения интенсивности флуоресценции в биоткани для различных глубин залегания глиомы представлены на рис.4. Очевидно, что с увеличением глубины залегания опухоли уменьшается интенсивность как зонди-

рующего излучения, так и флуоресценции на поверхности образца, которая регистрируется приемной камерой системы флуоресцентной визуализации. Типичные изображения, регистрируемые камерой с полем зрения 10×10 мм, представлены на рис.5.

Как и ожидалось, сигнал флуоресценции сильно затухает с увеличением глубины залегания опухоли. Для количественного анализа были отдельно построены центральные сечения распределений зарегистрированного флуоресцентного отклика (интенсивность флуоресценции) в зависимости от глубины залегания опухоли (рис.6,а).

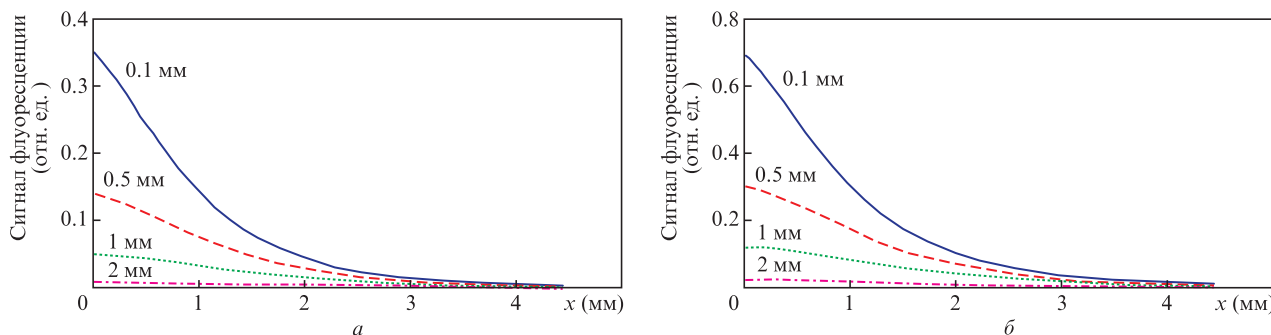


Рис.6. Центральные сечения распределений флуоресцентного отклика ВРD при возбуждении на $\lambda = 690$ нм (а) и IRDye800 при возбуждении на $\lambda = 780$ нм (б) для различных глубин залегания опухоли.

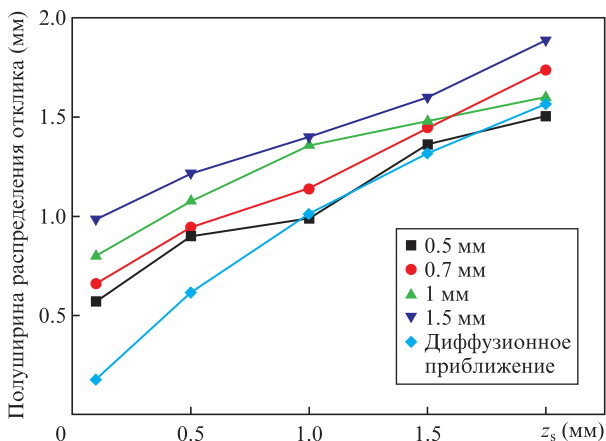


Рис.7. Зависимости полуширины на полувысоте для центральных сечений распределений флуоресцентного отклика опухоли от глубины ее залегания для различных радиусов опухоли и аналитическая зависимость в диффузионном приближении для точечного источника.

Аналогичные результаты для IRDye800 представлены на рис.6,б.

Очевидно, что распределение флуоресцентного отклика определяется как поперечным размером, так и глубиной залегания опухоли. Одним из характерных параметров, которые могут быть использованы для их определения по флуоресцентному отклику, является ширина распределения отклика по уровню 0.5. Зависимости ширины распределения отклика от глубины \$z_s\$ представлены на рис.7 для различных радиусов опухоли. Можно видеть, что эти зависимости монотонно растут с увеличением \$z_s\$, что обусловлено уширением распределения флуоресцентного отклика в результате многократного рассеяния в слое биоткани над опухолью. Другим фактором, ответственным за уширение распределения флуоресцентного отклика, является размер опухоли, что наиболее явно заметно для малых глубин \$z_s\$ (0.1 и 0.5 мм), однако для боль-

ших \$z_s\$ зависимости искажаются из-за малого количества детектированных фотонов (см., напр., рис.5,з). Аналитическая оценка зависимости сигнала от глубины залегания опухоли в предположении, что источник флуоресценции точечный и находится в центре опухоли, может быть получена в диффузионном приближении для полубесконечной среды. В этом приближении радиальная зависимость интенсивности флуоресцентного отклика на поверхности имеет следующий вид:

$$I(r) = \frac{\exp(-\alpha\sqrt{r^2 + z_s^2})}{\sqrt{r^2 + z_s^2}} - \frac{\exp(-\alpha\sqrt{r^2 + (4/3l_{tr}m + z_s)^2})}{\sqrt{r^2 + (4/3l_{tr}m + z_s)^2}}, \quad (1)$$

где $\alpha = \sqrt{2\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}$ – диффузионный показатель экстинкции; m – фактор, учитывающий усиление диффузионного поля в среде за счет полного внутреннего отражения [32]; $l_{tr} = (\mu_a + \mu'_s)^{-1}$ – транспортная длина. Зависимость ширины распределения флуоресцентного отклика от \$z_s\$ для точечного источника представлена на рис.7 вместе с результатами моделирования методом Монте-Карло. Можно видеть, что конечный размер опухоли ведет к уширению распределения, причем этот аддитивный фактор уменьшается с увеличением глубины залегания опухоли. Таким образом, информация о глубине залегания опухоли может помочь в оценке размеров опухоли на основании флуоресцентного изображения. Комплементарное применение ОА визуализации может предоставить информацию о глубине залегания опухоли и, таким образом, помочь оценить ее размеры.

3.2. Оптоакустическая визуализация

Источником ОА сигнала является поглощенное в среде зондирующее излучение, поэтому карта распределенного источника при моделировании рассчитывается как карта локального давления, получаемая из рассчитанной методом Монте-Карло карты поглощения по формуле

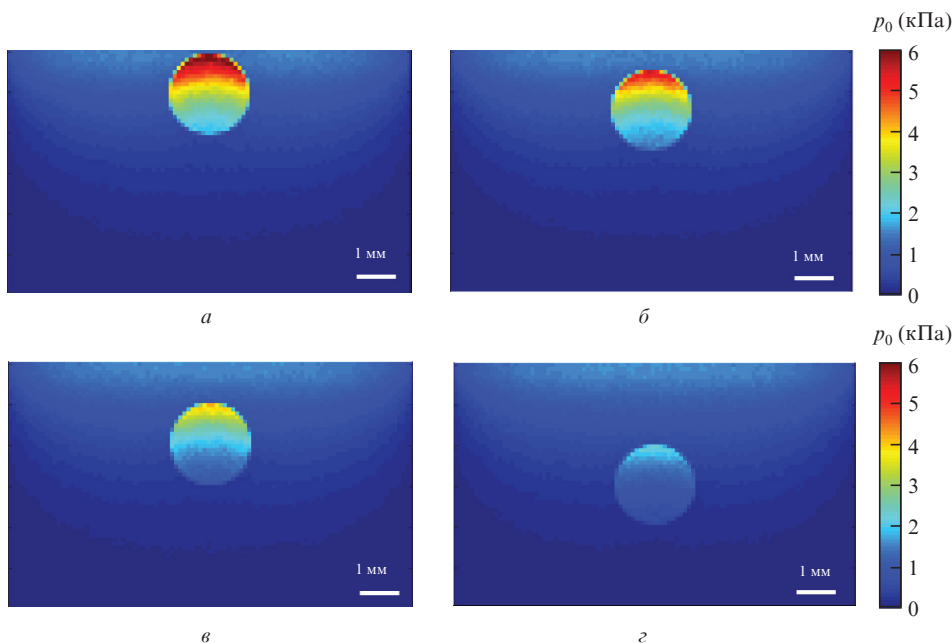


Рис.8. Карты распределения локального давления при зондировании среды, содержащей глиому, меченную красителем IRDye800 и расположенную на глубине 100 мкм (а), 500 мкм (б), 1 мм (в) и 2 мм (г), излучением на $\lambda = 800$ нм.

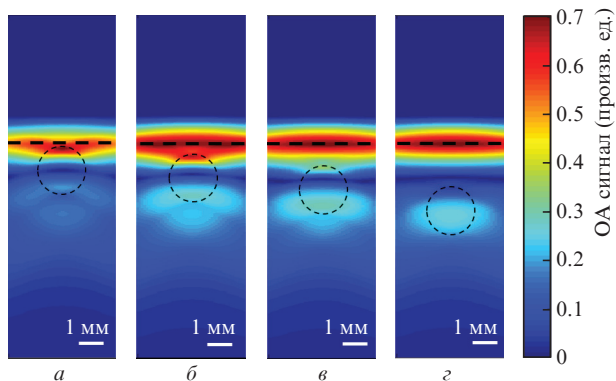


Рис.9. Исходные ОА изображения при расположении фокуса акустической антенны на глубине 1 мм (обозначена штриховой линией) для $z_s = 100$ мкм (а), 500 мкм (б), 1 мм (в) и 2 мм (г).

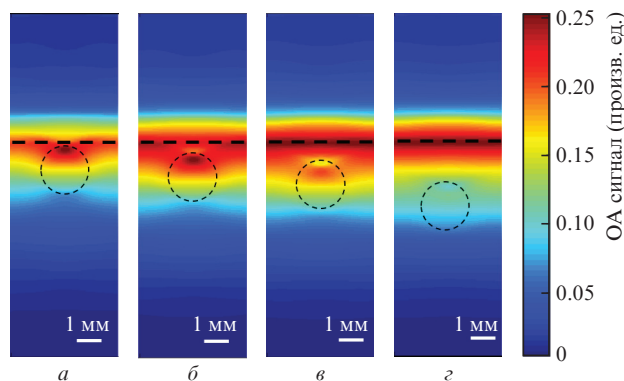


Рис.10. Реконструированные ОА изображения при расположении фокуса акустической антенны на глубине 1 мм (обозначена штриховой линией) для $z_s = 100$ мкм (а), 500 мкм (б), 1 мм (в) и 2 мм (г).

$$p_0(x, y, z) = \frac{\Gamma E_0 A(x, y, z) S}{\Delta V} \text{ [кПа]}, \quad (2)$$

где $\Gamma = 0.2$ – параметр Грюнайзена; $E_0 = 3$ мДж/см² – плотность энергии импульса зондирующего излучения; $A(x, y, z)$ – доля поглощенной энергии в вокселе (карта поглощения); $S = 0.79$ см² – площадь засветки зондирующим излучением поверхности среды; ΔV – объем вокселя. Карты локального распределения давления при зондировании среды с глиомой, меченой IRDye800, представлены на рис.8.

Следует отметить, что при равномерной засветке поверхности и равномерном распределении агента в глиоме распределение поглощенной в ней энергии является существенно неравномерным, и основная доля энергии поглощается в ближайшей к поверхности области глиомы. Таким образом, преобладающий ОА сигнал можно ожидать именно от поверхности глиомы, а не от всего ее объема. Исходные (до реконструкции) ОА изображения, полученные с помощью программы k-Wave из карт распределения давления, представлены на рис.9. Из представленных изображений можно видеть, что поглощение в поверхностном слое объекта дает преимущественный

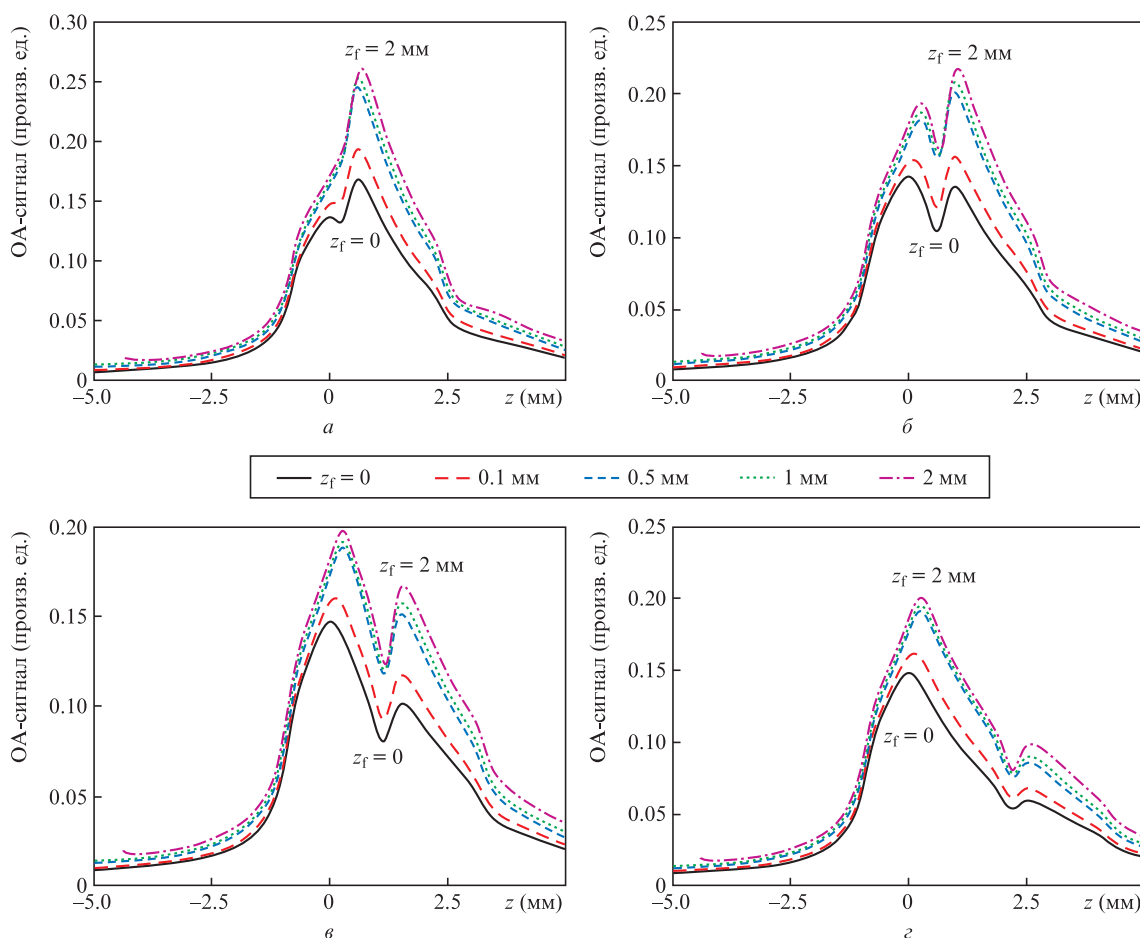


Рис.11. Центральные сечения двумерных ОА изображений для различных глубин расположения фокуса акустической антенны z_f и $z_s = 100$ мкм (а), 500 мкм (б), 1 мм (в) и 2 мм (г).

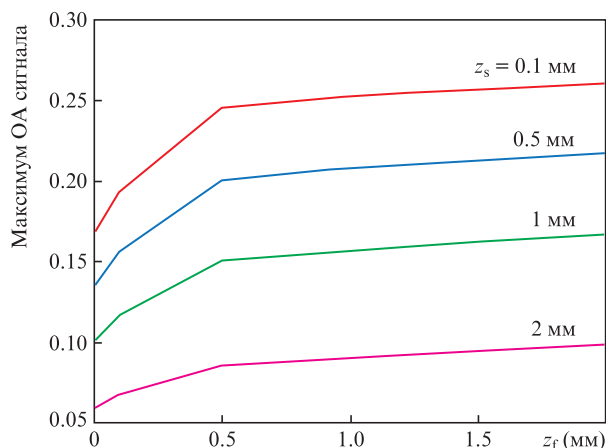


Рис.12. Зависимости от z_f максимума ОА сигнала, генерируемого верхней границей опухоли, для различных z_s .

вклад в получаемые изображения. Более того, на изображениях присутствуют типичные артефакты, обусловленные использованием сферической акустической антенны. В связи с этим обычно применяется реконструкция ОА изображений, основанная на методе синтеза апертуры [33]. Реконструированные таким образом изображения представлены на рис.10. После применения метода реконструкции можно различить сигнал от поверхности опухоли (рис.10,б,в), который уменьшается с увеличением z_s . Из полученных результатов видно, что при рассматриваемых параметрах (длина волны излучения и геометрия опухоли) ОА визуализация не обеспечивает детектирования всего объема опухоли, однако позволяет оценить глубину ее залегания.

Для более детального количественного анализа влияния положения фокуса антенны и глубины залегания опухоли на ОА сигнал были построены центральные сечения по глубине (А-сканы) реконструированных ОА изображений (рис.11), где за начало отсчета по глубине принята граница среды. Для глубины залегания опухоли 100 мкм (рис.11,а) максимальный пик представляет собой сигнал от верхней границы опухоли (для больших z_f он вырождается в единственный пик), тогда как первый пик, соответствующий сигналу от поверхности среды, выражен слабо. Для больших глубин залегания опухоли сигнал от верхней границы среды (первый пик) остается практически неизменным и, начиная с глубины фокуса 1 мм, становится выше второго пика, соответствующего границе опухоли. Следует отметить, что на всех представленных А-сканах для всех положений фокуса верхняя граница опухоли локализуется.

Зависимости от z_f ОА сигнала от границы опухоли для различных z_s представлены на рис.12. Видно, что сигнал от верхней границы опухоли монотонно возрастает с увеличением глубины расположения фокуса сферической антенны z_f .

4. Заключение

Разработана численная модель комплементарного подхода к визуализации глиом в мозге лабораторной мыши, меченных наноконструктами, которые содержат производные ВРД, служащие одновременно флуоресцентными маркерами и фотосенсибилизаторами, и краситель

IRDye800, служащий одновременно флуоресцентным маркером и контрастирующим агентом для ОА визуализации. Показано, что оба подхода позволяют локализовать опухоль радиусом 1 мм на глубинах от 100 мкм до 2 мм. К преимуществам двухволновой флуоресцентной визуализации, позволяющей одновременно наблюдать за красителями ВРД и IRDye800, относится то, что после локализации препарата в опухоли можно осуществлять флуоресцентный мониторинг фотодинамической терапии, эффективность которого будет определяться выгоранием фотосенсибилизатора ВРД. Более того, на основании измерения размера распределения полученного флуоресцентного отклика (полуширина на полувысоте) можно оценить размер опухоли. Однако моделирование показало, что точность такой оценки зависит от глубины залегания опухоли – с ее увеличением поперечные размеры отклика увеличиваются вследствие многократного рассеяния света.

Особенностью ОА мониторинга является существенная экстинкция зондирующего излучения в опухоли, меченной наноконструктами, что ведет к значительно более высокому контрасту верхней границы опухоли по сравнению, например, с ее нижней границей. Благодаря сильному поглощению зондирующего излучения на верхней границе опухоли, она обнаруживается на ОА изображении при всех рассматриваемых глубинах ее залегания и глубинах расположения фокусов акустической антенны. Кроме того, при соответствующем выборе длины волны зондирующего излучения (традиционно $\lambda = 532$ нм) ОА метод позволяет визуализировать сосудистое окружение опухоли. Таким образом, рассматриваемые методы предоставляют комплементарную информацию о размере и глубине залегания опухоли, а также о ее сосудистом окружении, и их одновременное применение позволит повысить эффективность фотодинамической терапии глиом.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (№ 17-54-33043 онко-а; моделирование флуоресцентных и оптоакустических сигналов) и РФФ (№ 14-15-00709-П; решение обратной оптоакустической задачи). В.Перекатова благодарит Американское акустическое общество за Международный Студенческий грант (ASA International Student Grant).

1. Davis M.E. *Clin. J. Oncol. Nurs.*, **20** (5), S2 (2016).
2. Dolmans D.E., Fukumura D., Jain R.K. *Nat. Rev. Cancer*, **3** (5), 380 (2003).
3. Van Meir E.G., Hadjipanayis C.G., Norden A.D., Shu H.K., Wen P.Y., Olson J. J. *CA: Cancer J. Clin.*, **60** (3), 166 (2010).
4. Stummer W., Pichlmeier U., Meinel T., Wiestler O.D., Zanella F., Reulen H.-J., Group A.-G.S. *Lancet Oncol.*, **7** (4), 392 (2006).
5. Stummer W., Tonn J.-C., Mehdorn H.M., Nestler U., Franz K., Goetz C., Bink A., Pichlmeier U. *J. Neurosurg.*, **114** (3), 613 (2011).
6. Henderson B.W., Dougherty T.J. *Photochem. Photobiol.*, **55** (1), 145 (1992).
7. Zhang S., Yang L., Ling X., Shao P., Wang X., Edwards W.B., Bai M. *Acta Biomater.*, **28**, 160 (2015).
8. Jing H., Weidensteiner C., Reichardt W., Gaedicke S., Zhu X., Grosu A.-L., Kobayashi H., Niedermann G. *Theranostics*, **6** (6), 862 (2016).
9. Obaid G., Broekgaarden M., Bulin A.-L., Huang H.-C., Kuriakose J., Liu J., Hasan T. *Nanoscale*, **8** (25), 12471 (2016).
10. Hasan T. *J. Natl. Compr. Cancer Netw.*, **10** (Suppl. 2), S-23 (2012).
11. Roessler K., Becherer A., Donat M., Cejna M., Zachenhofer I. *Neurol Res.*, **34** (3), 314 (2012).
12. Craig S.E., Wright J., Sloan A.E., Brady-Kalnay S.M. *World Neurosurg.*, **90**, 154 (2016).

13. Spring B.Q., Abu-Yousif A.O., Palanisami A., Rizvi I., Zheng X., Mai Z., Anbil S., Sears R.B., Mensah L.B. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **111** (10), E933 (2014).
14. Mitsunaga M., Nakajima T., Sano K., Choyke P.L., Kobayashi H. *Bioconjugate Chem.*, **23** (3), 604 (2012).
15. Shakhova M., Loginova D., Meller A., Sapunov D., Orlynskaya N., Shakhov A., Khilov A., Kirillin M. *J. Biomed. Opt.*, **23** (9), 091412 (2018).
16. Хиллов А.В., Логинова Д.А., Сергеева Е.А., Шахова М.А., Меллер А.Е., Турчин И.В., Кириллин М.Ю. *Современные технологии в медицине*, **9** (4), 96 (2017).
17. Mallidi S., Watanabe K., Timerman D., Schoenfeld D., Hasan T. *Theranostics*, **5** (3), 289(2015).
18. Valluru K.S., Willmann J.K. *Ultrasonography*, **35** (4), 267 (2016).
19. Taruttis A., Ntziachristos V. *Nature Photon.*, **9** (4), 219 (2015).
20. Deán-Ben X., Gottschalk S., McLarney B., Shoham S., Razansky D. *Chem. Soc. Rev.*, **46** (8), 2158 (2017).
21. Subochev P., Prudnikov M., Vorobyev V., Postnikova A., Sergeev E., Perekatova V., Orlova A., Kotomina V., Turchin I. *J. Biomed. Opt.*, **23** (9), 091408 (2018).
22. Aveline B., Hasan T., Redmond R.W. *Photochem. Photobiol.*, **59** (3), 328 (1994).
23. Kovar J.L., Volcheck W., Sevick-Muraca E., Simpson M.A., Olive D.M. *Anal. Biochem.*, **384** (2), 254 (2009).
24. Yang L., Saja H.K., Cao Z., Qian W., Bender L., Marcus A.I., Lipowska M., Wood W.C., Wang Y.A. *Theranostics*, **4** (1), 106 (2014).
25. Li Y., Du Y., Liu X., Zhang Q., Jing L., Liang X., Chi C., Dai Z., Tian J. *Mol. Imaging*, **14** (7), 356 (2015).
26. Luke G.P., Yeager D., Emelianov S.Y. *Ann. Biomed. Eng.*, **40** (2), 422 (2012).
27. Kirillin M., Perekatova V., Turchin I., Subochev P. *Photoacoustics*, **8**, 59 (2017).
28. Kirillin M.Y., Farhat G., Sergeeva E.A., Kolios M.C., Vitkin A. *Opt. Lett.*, **39** (12), 3472 (2014).
29. Treeby B.E., Cox B.T. *J. Biomed. Opt.*, **15** (2), 021314 (2010).
30. Richter A.M., Waterfield E., Jain A.K., Allison B., Sternberg E.D., Dolphin D., Levy J.G. *Br. J. Cancer*, **63**, 87 (1991).
31. Логинова Д.А., Сергеева Е.А., Крайнов А., Агрба П.Д., Кириллин М.Ю. *Квантовая электроника*, **46** (6), 528 (2016) [*Quantum Electron.*, **46** (6), 528 (2016)].
32. Крайнов А.Д., Мокеева А.М., Сергеева Е.А., Агрба П.Д., Кириллин М.Ю. *Оптика и спектроскопия*, **115** (2), 47 (2013).
33. Jaeger M., Schüpbach S., Gertsch A., Kitz M., Frenz M. *Inverse Probl.*, **23** (6), S51 (2007).