



DOI: 10.5862/JPM.230.7

УДК: 57.043

*В.Ю. Паневин¹, А.Н. Софронов¹,
Д.А. Фирсов¹, А.Л. Тер-Мартirosян^{2,3}*

¹ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого;

² ЗАО «Полупроводниковые приборы», г. Санкт-Петербург;

³ Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики

ЦИФРОВАЯ СИСТЕМА ВИЗУАЛИЗАЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ДЛЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В СТОМАТОЛОГИИ

В работе предложена новая компактная система визуализации пространственного распределения интенсивности флуоресценции фотосенсибилизатора при проведении антибактериальной фотодинамической терапии. Система представляет собой малогабаритную интраоральную камеру со встроенным лазерным излучателем. Длина волны лазерного излучения соответствует коротковолновому пику поглощения фотодитазина, что обеспечивает эффективное возбуждение его флуоресценции. Камера со встроенным спектрально-селективным фильтром регистрирует распределение интенсивности флуоресценции. Разработанная система может позволить проводить диагностику остаточного числа патогенных бактерий по флуоресцентным изображениям в процессе антибактериальной фотодинамической терапии в стоматологии.

СТОМАТОЛОГИЯ, АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ, ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ, ИНТРАОРАЛЬНАЯ КАМЕРА.

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) как метод лечения онкологических заболеваний различных локализаций интенсивно развивается в последнее время. Указанный метод основан на выделении активного кислорода в результате фотохимической реакции на клеточном уровне с участием фотосенсибилизатора. Последний является в данном случае препаратом, фармакокинетика которого обуславливает избирательное накопление в митохондриях и мембранах патологических клеток. При воздействии на фотосенсибилизированную ткань оптического излучения происходит переход нетоксичного триплетного кислорода в синглетный, который обладает выраженным цитотоксичным действием, приводящим к разрушению клеточных мембран опухолевых клеток [1, 2].

Эффективность ФДТ во многом опре-

деляется физико-химическими, фармакодинамическими и фармакокинетическими свойствами фотосенсибилизатора. В настоящее время существует несколько групп фотосенсибилизирующих препаратов, в частности на основе порфиринов и хлоринов. Наиболее конкурентоспособными из них по совокупности своих медико-биологических и оптико-физических свойств являются фотосенсибилизаторы на основе производных хлорина e_6 , в частности коммерчески доступный отечественный препарат Фотодитазин® [3].

Вместе с тем, эффективность метода ФДТ в сильной степени зависит от спектрального состава оптического излучения, возбуждающего фотохимическую реакцию фотосенсибилизатора. Согласование спектрального состава излучения со спектром поглощения фотосенсибилизатора позволяет существенно улучшить эффективность оптического возбуждения последнего и

снизить побочные эффекты от облучения здоровой ткани. Достижения последних лет в области полупроводниковой оптоэлектроники дают возможность такого согласования практически для любого фотосенсибилизатора, благодаря разработке недорогих компактных мощных источников лазерного излучения на основе полупроводниковых лазерных диодов [4].

Одним из существенных достоинств метода ФДТ является тот факт, что фотохимическая реакция сопровождается флуоресценцией как фотосенсибилизатора, так и синглетного кислорода, выделяющегося в результате реакции. Анализ флуоресценции позволяет проводить диагностику *in situ*, т. е. непосредственно в процессе проведения фотодинамической терапии; кроме того, он дает возможность производить раннюю диагностику онкологических заболеваний. Первичная визуализация происходящей фотохимической реакции возможна по анализу интенсивности и пространственного распределения фотолюминесценции синглетного кислорода. Однако спектр его флуоресценции расположен в ближней инфракрасной области с максимумом на длине волны 1270 нм [5, 6]. Ранее были представлены системы визуализации фотолюминесценции кислорода на основе чувствительных в ближнем инфракрасном диапазоне камер на основе InGaAs и спектрально-селективных фильтров [5, 6]. Однако подобные системы весьма дороги и используются в основном для фундаментальных исследований.

В отличие от спектра люминесценции синглетного кислорода, спектральные особенности флуоресценции фотодитазина лежат в видимой области, где для визуализации с успехом могут применяться кремниевые фоточувствительные ПЗС- и КМОП-матрицы, которые существенно дешевле матриц на основе InGaAs. Как показали исследования, проведенные с помощью двухканальной системы визуализации в видимой и ближней инфракрасной областях [5], между интенсивностями фотолюминесценции синглетного кислорода и фотосенсибилизатора имеется корреляция, что позволяет проводить диагностику по

фотолюминесценции фотосенсибилизатора в видимой области. Такая система, включающая монохромную кремниевую камеру, светодиодный осветитель и программное обеспечение для визуализации и анализа пространственного распределения фотолюминесценции фотодитазина, в настоящее время уже разработана [7, 8], успешно прошла клинические испытания в качестве средства диагностики злокачественных новообразований наружных локализаций и разрешена к применению на территории РФ [9].

Несмотря на то, что изначально метод ФДТ разрабатывался, главным образом, для лечения злокачественных новообразований с наружной локализацией, последнее время он находит применение и в других областях медицины, например в стоматологии, в медицинской косметологии в качестве антивозрастной терапии и т. п. Так, в стоматологии под фотодинамической терапией подразумевается антибактериальная фотодинамическая терапия (АФТ), так как она позволяет бороться с патогенной бактериальной флорой в полости рта. В последнее время появились публикации об успешном применении АФТ для лечения воспалительных заболеваний пародонта [10] и фотоактивируемой дезинфекции в эндодонтии и пародонтологии [11]. При этом в литературе не встречается данных об использовании основного преимущества фотодинамики – флуоресцентной диагностики для контроля в процессе АФТ, поскольку имеющиеся на настоящий момент системы визуализации для ФДТ [5 – 7] не могут применяться в стоматологии в силу своих больших габаритов.

В данной работе предложена новая оригинальная компактная система визуализации фотохимической реакции, которую можно использовать для флуоресцентной диагностики в процессе антибактериальной фотодинамической терапии в стоматологии.

Оптические свойства фотодитазина

Для разрабатываемой системы флуоресцентной диагностики при АФТ в стоматологии был выбран по совокупности своих

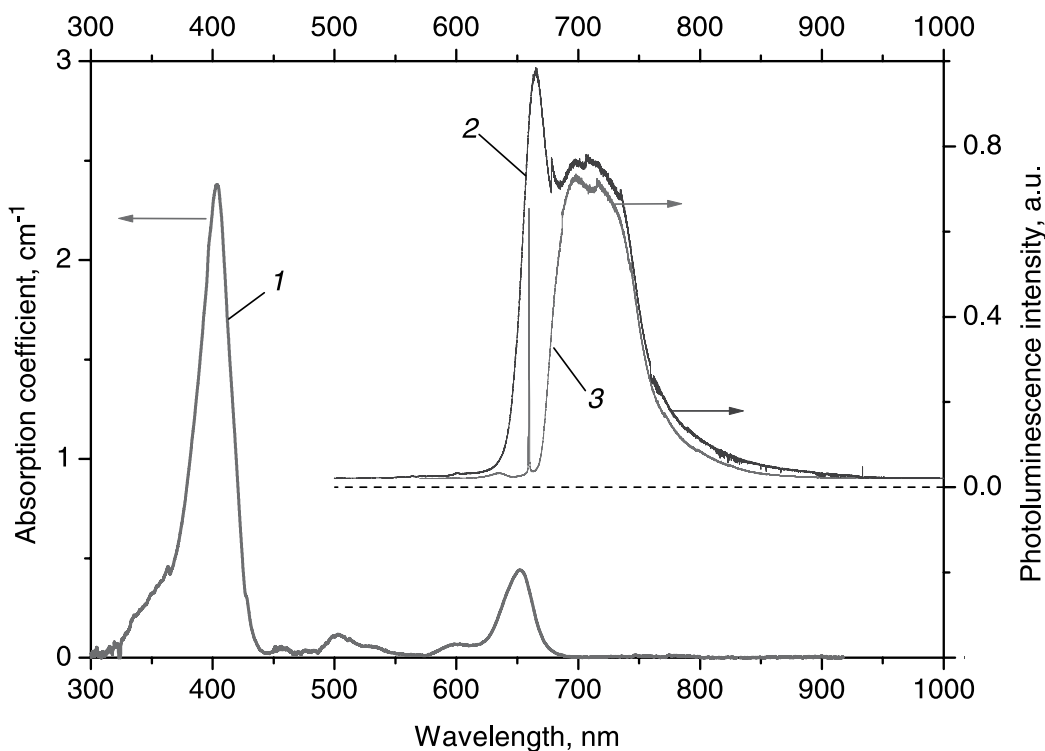


Рис. 1 [12]. Спектры оптического поглощения (кривая 1) и флуоресценции (2, 3) раствора фотодитазина с концентрацией 0,71 мл/л при комнатной температуре. Длины волн возбуждающего излучения составляли 406,0 нм (2) и 659,6 нм (3)

свойств фотодитазина в качестве фотосенсибилизатора. Его оптические свойства, в частности спектр оптического поглощения, хорошо известны. Фотодитазин имеет линию поглощения на длине волны 653 нм, ряд слабых особенностей в области 500 и 600 нм, а также сильную линию поглощения с максимумом на длине волны 403 нм. Спектры флуоресценции фотодитазина при возбуждении излучением с разными длинами волн были измерены и подробно обсуждались ранее в работе [12]. Результаты этой работы представлены на рис. 1 в виде спектра поглощения раствора фотодитазина и спектров его фотолюминесценции при возбуждении световым излучением с длинами волн 650 и 405 нм.

Одним из важных параметров ФДТ в онкологии является глубина проникновения возбуждающего оптического излучения в биологические ткани. Для указанных целей традиционно используется линия поглощения фотодитазина на длине волны 653 нм,

поскольку излучение с такой длиной волны имеет довольно существенную глубину проникновения. При этом возникают довольно серьезные требования к оптическим элементам, осуществляющим спектральную фильтрацию полезного сигнала фотолюминесценции от паразитного сигнала рассеянного возбуждающего излучения. Так, в случае использования полосовых оптических фильтров для блокировки возбуждающего излучения перепад оптической плотности в узком (около 10 нм) спектральном интервале между длинноволновым краем пика поглощения и коротковолновым краем спектра фотолюминесценции должен быть не менее 3.

Как видно из спектров поглощения, приведенных на рис. 1, коэффициент поглощения на длине волны 403 нм, по крайней мере, в пять раз превышает таковой на длине волны 653 нм. Это может приводить к более эффективному возбуждению фотосенсибилизатора коротковолновым излуче-

нием, однако в онкологии излучение в области 400 нм практически не используется в силу малой глубины проникновения.

В стоматологических применениях АФТ проводится на поверхности тканей, что снимает требования к большой глубине проникновения и открывает возможности для использования лазерных излучателей с длиной волны в области 400 нм для эффективного возбуждения фотосенсибилизатора. Такое излучение не только повышает эффективность возбуждения, но и серьезно упрощает спектральную селекцию флуоресценции и рассеянного возбуждающего излучения. Кроме того, спектр флуоресценции при возбуждении коротковолновым излучением имеет дополнительную полосу излучения в области 630 – 680 нм по сравнению со спектром, который возбуждается длинноволновым излучением, а это увеличивает интегральную интенсивность флуоресценции.

Устройство системы визуализации фотохимической реакции

В разработанной системе визуализации фотохимической реакции для флуоресцентной диагностики в процессе АФТ применен лазерный излучатель, в составе которого используется полупроводниковый лазерный диод на основе нитрида галлия с длиной волны излучения 405 нм в стандартном корпусе ТО-18. Плата питания лазерного диода выполнена на основе прецизионного интегрального стабилизатора тока, обеспечивающего стабильную выходную оптическую мощность лазерного излучения до 10 мВт. Этого значения мощности достаточно для диагностического облучения фотосенсибилизатора и возбуждения его фотолюминесценции.

В качестве фоточувствительного компонента в системе использован малогабаритный кремниевый КМОП-сенсор изображения (фоточувствительная комплементарная матричная структура металл-оксид-полупроводник). Применение современных приборов такого типа с высокой степенью интеграции аналоговой и цифровой схемотехники, с цифровыми управляющими входами и цифровым выводом

данных обеспечивает простоту их сопряжения со специализированными контроллерами и малые габариты результирующего устройства. В системе применен специализированный контроллер, преобразующий «сырые» данные с сенсора в видеопоток по стандарту UVC, передающийся в компьютер по интерфейсу USB.

Спектр чувствительности сенсора определяется, главным образом, фундаментальными свойствами кремния и ограничен с длинноволновой стороны (длина волны около 1 мкм) шириной запрещенной зоны кремния, а с коротковолновой стороны (около 400 нм) – совокупным действием поверхностной рекомбинации и ограниченной глубины проникновения света. Для блокировки возбуждающего излучения применен оптический фильтр с границей пропускания на длине волны 550 нм. Таким образом, спектральная фоточувствительность системы согласована со спектром фотолюминесценции фотодитазина.

Система размещена в малогабаритном корпусе, представляющем собой, фактически, интраоральную камеру с встроенным излучателем. Поле зрения камеры на рабочем расстоянии до объекта (около 15 мм) составляет 1 см². Конструкция системы обеспечивает согласование поля зрения камеры и области, облучаемой диагностическим излучением. Питание всей системы осуществляется по USB.

Принцип работы системы визуализации фотохимической реакции

Разработанная в данной работе система визуализации фотохимической реакции позволяет осуществить захват, выполнить оцифровку, и передать флуоресцентное изображение участка интраорального пространства на монитор персонального компьютера в режиме реального времени. При этом оператор сможет проводить как визуальный контроль места локализации наиболее интенсивной фотохимической реакции, так и провести количественный анализ полученных таким образом цифровых флуоресцентных изображений. Это может позволить оператору выявить на изображении области с искомыми пороговыми или мак-

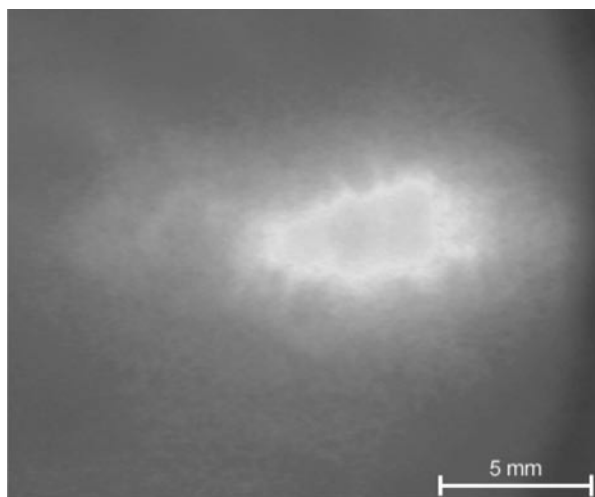


Рис. 2. Пространственное распределение интенсивности флуоресценции раствора фотодитазина, нанесенного неоднородно на поверхность бумаги.

Самые светлые области изображения соответствуют максимальной концентрации фотодитазина

симальными значениями интенсивности фотохимической реакции. Знание закономерностей, связывающих интенсивность флуоресценции в каждой точке на поверхности исследуемого объекта с локальной концентрацией фотосенсибилизатора, которая в свою очередь должна коррелировать с локальным остаточным числом патогенных микроорганизмов или патологических клеток, позволяет оператору получать объективные данные об эффективности интраоральной фотодинамической терапии непосредственно в процессе ее применения.

Пример изображения, полученного с помощью предложенной в данной работе системы визуализации фотохимической реакции, приведен на рис. 2. Оно представляет собой картину пространственно-

го распределения флуоресценции раствора фотодитазина, нанесенного на поверхность бумаги. Значение яркости каждого пикселя изображения несет информацию об интенсивности флуоресценции фотодитазина в соответствующих точках поверхности листа бумаги. В данном эксперименте раствор фотодитазина распределен по площади листа бумаги неоднородно, и поэтому на рис. 2 можно увидеть области с различной яркостью. Самые светлые области изображения соответствуют максимальной концентрации фотодитазина.

Заключение

В данной работе представлены принципы действия и устройство новой системы визуализации фотохимической реакции, которая, благодаря своей компактности, позволяет проводить манипуляции в интраоральной полости пациента стоматологического медицинского учреждения. Возможность проведения количественного анализа интенсивности фотохимической реакции по флуоресцентным изображениям позволяет проводить с помощью данной системы диагностику остаточного числа патогенных бактерий в полости рта непосредственно в режиме реального времени. Таким образом, представленная система визуализации фотохимической реакции существенно расширяет возможности стоматологии и может быть использована как при диагностике, так и при антибактериальной фотодинамической терапии стоматологических заболеваний.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства Российской Федерации (Минобрнауки России) в рамках реализации комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства (договор № 02.G25.31.0064).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[1] Henderson B.W., Dougherty T.J. How does photodynamic therapy work? // *Photochemistry and Photobiology*. 1992. Vol. 55. No. 1. Pp. 145–157.

[2] Гельфонд М.Л. Фотодинамическая терапия в онкологии // *Практическая онкология*. 2007. Т. 8. № 4. С. 204–210.

[3] Инновация в медицине. Фотодинамическая терапия. Режим доступа: <http://фотодита->

зин.рф/ Дата обращения 20.10.2015.

[4] Воробьев Л.Е., Софронов А.Н., Фирсов Д.А. и др. Лазерные диоды для фотодинамической терапии // *Научно-технические ведомости СПбГПУ. Физико-математические науки*. 2011. № 2(122). С. 80–84.

[5] Lee S., Isabelle M.E., Gabally-Kinney K.L., et al. Dual-channel imaging system for singlet oxy-

gen and photosensitizer for PDT // Biomedical Optics Express. 2011. Vol. 2. No. 5. Pp. 1233–1242.

[6] **Lisheng Lin, Huiyun Lin, Shusen Xie, et al.** Imaging singlet oxygen luminescence in blood vessels // SPIE Newsroom. DOI: 10.1117/2.1201406.005511. 2014. URL: <http://spie.org/x108772.xml>

[7] **Аникеева М.С., Софронов А.Н., Дремов С.С., Тер-Мартirosян А.Л.** Цифровая система визуализации флуоресценции для фотодинамической терапии // Научно-технические ведомости СПбГПУ. Информатика. Телекоммуникации. Управление. 2012. № 6 (162). С. 159–164.

[8] **Тер-Мартirosян А.Л., Гельфонд М.Л., Дремов С.С., Софронов А.Н.**, Патент РФ № 2551634. Устройство для флуоресцентной диагностики злокачественных новообразований. Оpubл.: 27.05.2015. Бюл. № 15.

[9] Прибор медицинский «Флуовизор®». Рег. уд. от 15.07.2015 г. № РЗН 2015/2870.

[10] **Бобров А.П., Бадмаева А.Н., Кузнецов А.В.** Применение фотодитазина при лечении воспалительных заболеваний пародонта, вызванных зубными протезами // Российский биотерапевтический журнал. 2008. Т. 7. № 4. С. 44–46.

[11] **Янушевич О.О., Айвазова Р.А., Соколова Е.Ю.** Фотоактивируемая дезинфекция как альтернатива традиционным методам антисептического воздействия в эндодонтии, пародонтологии и гастроэнтерологии // Эндодонтия Today. 2014. Вып. 3. С. 3–8.

[12] **Винниченко М.Я., Софронов А.Н., Фирсов Д.А. и др.** Исследование оптических свойств фотодитазина для расширения возможностей фотодинамической терапии // Научно-технические ведомости СПбГПУ. Физико-математические науки. 2014. № 3 (201). С. 110–117.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

ПАНЕВИН Вадим Юрьевич — старший преподаватель кафедры физики полупроводников и нанoeлектроники Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого.

195251, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29
pvyu@rphf.spbstu.ru

СОФРОНОВ Антон Николаевич — кандидат физико-математических наук, доцент кафедры физики полупроводников и нанoeлектроники Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого.

195251, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29
Sofronov@rphf.spbstu.ru

ФИРСОВ Дмитрий Анатольевич — доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой физики полупроводников и нанoeлектроники Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого.

195251, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29
DmFir@rphf.spbstu.ru

ТЕР-МАРТИРОСЯН Александр Леонович — доктор технических наук, генеральный директор Закрытого акционерного общества «Полупроводниковые приборы», ведущий инженер кафедры световых технологий и оптоэлектроники Санкт-Петербургского национального исследовательского университета информационных технологий, механики и оптики.

194156, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, пр. Энгельса, 27,
197101, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49
sales@atcsd.ru

Panevin V.Yu., Sofronov A.N., Firsov D.A., Ter-Martirosyan A.L. DIGITAL SYSTEM OF FLUORESCENCE VISUALIZATION FOR ANTIBACTERIAL PHOTODYNAMIC THERAPY IN DENTISTRY.

In the present work the novel compact system for visualization of the spatial intensity distribution of the photosensitizer fluorescence for the antibacterial photodynamic therapy in dentistry is suggested. The compact intraoral system includes visible imaging camera and violet laser diode. The wavelength of the laser radiation is matched to the short-wavelength absorption peak of the photoditazin, so the effective excitation of its fluorescence is ensured. The built-in spectral-selective optical filter allows the camera to detect only the spatial distribution of the fluorescence intensity while the excitation radiation is blocked. Intraoral fluorescent

images obtained with the suggested system can be used for diagnosis of residual amount of pathogens.

DENTISTRY, ANTIBACTERIAL PHOTODYNAMIC THERAPY, FLUORESCENCE VISUALIZATION, INTRAORAL CAMERA.

REFERENCES

- [1] **B.W. Henderson, T.J. Dougherty**, How does photodynamic therapy work? *Photochemistry and Photobiology*. 55 (1) (1992) 145–157.
- [2] **M.L. Gelfond**, Fotodinamicheskaya terapiya v onkologii [Photodynamic therapy for cancer], *Prakticheskaya onkologiya*. 8(4) (2007) 204–210.
- [3] Innovation in Medicine, Photodynamic Therapy, URL: <http://fotoditazin.com/Data:20.10.2015>.
- [4] **L.Ye. Vorobyev, A.N. Sofronov, D.A. Firsov, et al.**, Laser diodes for photodynamic therapy, *St.Petersburg State Polytechnical University Journal. Physics and Mathematics*. No. 2(122) (2011) 80–84.
- [5] **S. Lee, M.E. Isabelle, K.L. Gabally-Kinney, et al.**, Dual-channel imaging system for singlet oxygen and photosensitizer for PDT, *Biomedical Optics Express*. 2(5) (2011) 1233–1242.
- [6] **Lisheng Lin, Huiyun Lin, Shusen Xie, et al.**, Imaging singlet oxygen luminescence in blood vessels, *SPIE Newsroom*. DOI: 10.1117/2.1201406.005511. 2014. URL: <http://spie.org/x108772.xml>.
- [7] **M.S. Anikeyeva, A.N. Sofronov, S.S. Dremov, A.L. Ter-Martirosyan**, Digital system for fluorescence visualization for photodynamic therapy, *St.Petersburg State Polytechnical University Journal. Computer Science. Telecommunications and Control Systems*. No. 6 (162) (2012) 159–164.
- [8] **A.L. Ter-Martirosyan, M.L. Gelfond, S.S. Dremov, A.N. Sofronov**, Patent RF No. 2551634, Device for the fluorescent diagnostics of the cancerous tumors, Publ.: 27.05.2015 Bull. No 15.
- [9] Medical Device «Fluovisor®», reg. cert. No. RZN 2015/2870, 15.07.2015
- [10] **A.P. Bobrov, A.N. Badmayeva, A.V. Kuznetsov**, Primenenie fotoditazina pri lechenii vospalitelnykh zabolevaniy parodonta, vyzvannykh zubnymi protezami [Photoditazin in the treatment of prosthetic gingivitis and periodontitis], *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal*. 7 (4) (2008) 44 – 46.
- [11] **O.O. Yanushevich, R.A. Ayzazova, E.Yu. Sokolova**, Fotoaktiviruemaya dezinfektsiya kak alternativa traditsionnym metodam antisepticheskogo vozdeystviya v endodontii, paradontologii i gastroenterologii [Photoactivated decontamination as an alternative method of treatment in endodontics, periodontology and gastroenterology], *Endodontiya Today*. No. 3 (2014) 3–8.
- [12] **M.Ya. Vinnichenko, A.N. Sofronov, D.A. Firsov, et al.**, Investigation of photoditazin optical properties for expanding possibilities of photodynamic therapy, *St.Petersburg State Polytechnical University Journal. Physics and Mathematics*. No. 3(201) (2014) 110–117.

THE AUTHORS

PANEVIN Vadim Yu.

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University
29 Politechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russian Federation
pvyu@rphf.spbstu.ru

SOFRONOV Anton N.

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University
29 Politechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russian Federation
Sofronov@rphf.spbstu.ru

FIRSOV Dmitry A.

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University
29 Politechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russian Federation
DmFir@rphf.spbstu.ru

TER-MARTIROSYAN Alexander L.

Joint-stock company 'ATC-Semiconductor Devices';
Saint-Petersburg National Research University
of Information Technologies, Mechanics and Optics
P.O. Box 29, St.Petersburg, 194156, Russian Federation
49 Kronverskiy Av., St.Petersburg, 197101, Russian Federation
sales@atcsd.ru