

Корчагина К.С.¹, Гамаюнов С.В.¹, Турчин И. В.², Иванов С. А.¹УДК 616-006.
DOI 10.25694/URMJ.2020.04.29

Флуоресцентная визуализация немеланомных злокачественных новообразований кожи - ретроспективное клиническое исследование

¹ Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба, филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации; ² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики Российской академии наук»

Korchagina K.S., Gamayunov S.V., Turchin I.V., Ivanov S. A.

Fluorescent imaging of non-melanoma skin malignancies-a retrospective clinical study

Резюме

Предпосылки и цель: Фотодинамическая терапия (ФДТ) - высокотехнологичный метод современной медицины. Одним из направлений для планирования и мониторинга ФДТ, а также прогноза ответа на терапию является флуоресцентная визуализация. Дизайн и методы исследования: в ретроспективное клиническое исследование были включены 402 пациента с немеланомными опухолями кожи. Непосредственно перед процедурой ФДТ и сразу после нее выполнялась флуоресцентная диагностика методом поверхностной визуализации. Основными анализируемыми параметрами флуоресценции были флуоресцентная контрастность (ФК) опухоли и ее изменение во время лечения ФДТ (фотообесцвечивание, ФВ, dFC). В последующем проводился анализ корреляции между клиническим результатом (ответ опухоли и частота рецидивов) и измеренными параметрами флуоресценции. Результаты: обнаружено, что FC или dFC ниже рассчитанных пороговых значений независимо коррелируют с возникновением рецидивов ($p < 0,05$) и незначительно ассоциированы с неудовлетворительным непосредственным ответом опухоли на терапию. Заключение: исходный уровень FC и его изменение после сеанса ФДТ могут служить предикторами рецидива заболевания. Эти данные могут быть использованы для индивидуализации процедуры ФДТ и, как следствие, улучшения клинических результатов

Ключевые слова: фотодинамическая терапия; фотосенсибилизатор; флуоресцентная визуализация; мониторинг терапии; фотообесцвечивание; флуоресцентная контрастность

Для цитирования: Корчагина К.С., Гамаюнов С.В., Турчин И. В., Иванов С. А. Флуоресцентная визуализация немеланомных злокачественных новообразований кожи - ретроспективное клиническое исследование, Уральский медицинский журнал, №04 (187) 2020, с. 173—180, DOI 10.25694/URMJ.2020.04.29

Summary

Background and objective: Photodynamic therapy (PDT) is a high-tech method of modern medicine. One of the ways of planning and monitoring of PDT, as well as assessments of disease prognoses and responses to therapy, is fluorescence imaging.

Study design and methods: 402 patients with non-melanoma skin tumors were included in a retrospective clinical study. Immediately before the PDT procedure and immediately after it, fluorescence diagnostics were performed using surface imaging. The main fluorescence parameters were the fluorescence contrast (FC) of the tumor and its change during PDT treatment (photobleaching, dFC). Subsequently, an analysis was made of the correlation between the clinical result (tumor response and relapse rate) and the measured fluorescence parameters. Results: it was found that FC or dFC below the calculated threshold values independently correlate with the occurrence of relapses ($p < 0.05$) and are slightly associated with an unsatisfactory response of the tumor to therapy. Conclusion: the initial level of FC and its change after a PDT session can serve as predictors of disease recurrence. These data can be used to individualize the PDT procedure and, as a result, improve the clinical results

Key words: photodynamic therapy; photosensitizer; fluorescence imaging; therapy monitoring; photobleaching; fluorescence contrast

For citation: Korchagina K.S, Gamayunov S.V., Turchin I.V., Ivanov S. A., Fluorescent imaging of non-melanoma skin malignancies-a retrospective clinical study, Ural Medical Journal, №04 (187) 2020, p. 173—180, DOI 10.25694/URMJ.2020.04.29

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является современным методом лечения при широком спектре нозологий, включая онкологические заболевания [1–5]. Учитывая, что результаты ФДТ, как и других методов лечения онкологических заболеваний, обычно оцениваются через несколько недель, когда имеет место или полная резорбция или прогрессия опухоли, поиск ранних предиктивных маркеров становится особенно актуальным направлением.

Для решения данной задачи разрабатываются различные подходы. Наиболее перспективными среди них считается внедрение оптических методов [6–15], а именно флуоресцентной визуализации и спектроскопии, которые реализуют тераностические принципы [10–15]. Вышеуказанные подходы позволяют проводить диагностику границ поражения, а также осуществлять мониторинг фотовыгорания ФС во время ФДТ по регистрации его эмиссии.

Целью данного исследования было оценить возможности и ограничения флуоресцентной визуализации для мониторинга ФДТ на модели немеланомного рака кожи и проанализировать корреляцию параметров флуоресценции (ФК и ФВ) с клиническим исходом процедуры ФДТ (непосредственный ответ опухоли и частота рецидивов).

Материалы и методы

2 Дизайн и методы исследования

2.1 Пациенты

Исследование включало 402 пациента с гистологически подтвержденным базальноклеточным (БКК) или плоскоклеточным (ПКР) раком кожи, проходивших лечение методом ФДТ в период с июня 2011 года по июль 2015 года. Поскольку исследование носило ретроспективный характер, полученные данные флуоресценции не влияли на тактику лечения.

Критерии включения:

- подписанное информированное согласие;
- возраст пациента старше 18 лет;
- отсутствие предыдущего лечения (первичная опухоль);

Критерии исключения:

- наличие ярко выраженного (> 1 см) экзофитного компонента и / или явных клинических симптомов опухоли;
- инвазия опухоли в более глубокие структуры (мышцы, хрящи, кости);
- лучевая терапия и / или химиотерапия и / или хирургическое лечение опухоли в анамнезе (рецидив опухоли);
- местнораспространенный процесс (вовлечение регионарных лимфатических узлов и / или отдаленные метастазы);
- наличие выраженной сопутствующей патологии (ECOG \geq 3);
- невозможность измерения размера опухоли.

Распределение пациентов, включенных в исследование, по возрасту, полу и локализации опухоли представлены в таблице 1.

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, протокол № 14 от 03 декабря 2013 и локальным этическим комитетом ГБУЗ НО НОКОД, протокол №1 от 18 мая 2015.

2.2 Фотодинамическая терапия

2.2.1 Протокол лечения

Для проведения ФДТ использовался фотосенсибилизатор (ФС) - N-диметил-глюкоаминовая соль Хлорина Е6 (Фотодитазин®) в дозе 1,0 мг / кг. Лазерное облучение опухоли проводилось с использованием полупроводникового источника лазерного излучения с длиной волны 662 нм. Плотность мощности лазерного излучения на поверхности ткани была постоянной для всех пациентов и составляла в среднем 0,30 Вт/см² (0,28-0,32 Вт/см²),

Таблица 1. Распределение пациентов по полу, возрасту, локализации опухоли и гистологическому типу

Параметр	Количество пациентов	%
Пол		
Мужчины	41	10,2
Женщины	361	89,8
Возраст		
18–70 лет	229	57,0
70–80 лет	117	29,1
80–91 лет	56	13,9
Локализация опухоли		
Голова и шея	380	94,5
Туловище	15	3,7
Конечности	7	1,8
Гистологический тип		
Базальноклеточный рак	347	86,3
Плоскоклеточный рак	55	13,7
Общее количество	402	100

плотность дозы - 200 Дж / см². Во избежание повреждения окружающих опухоль здоровых тканей предпринималось их экранирование во время сеанса облучения черной тканью.

2.2.2 Оценка клинического исхода

Клиническая эффективность методики оценивалась по непосредственному ответу опухоли на лечение и частоте рецидивов в отдаленные сроки. Пациенты, включенные в исследование, оставались под динамическим наблюдением с контрольными визитами через каждые 2 месяца. Общий срок наблюдения составил 6–53 месяца (в среднем 28 месяцев). Оценка непосредственного ответа опухоли проводилась через 2 месяца после лечения по модифицированным критериям оценки ответа солидных опухолей (RECIST) [16]. Для этого измерялись два самых больших диаметра опухоли с использованием штангенциркуля, при этом размер рассчитывался как сумма этих 2-х длин. Аналогично проводилось измерение опухоли после лечения. Согласно шкале RECIST ответ опухоли оценивали как полный, частичный и отсутствие эффекта. Причем в последнюю группу включались пациенты, как с прогрессирующим, так и со стабилизацией заболевания (увеличение или отсутствие изменения размера опухоли). В течение всего периода наблюдения наличие/отсутствие рецидива оценивалось при внешнем медицинском обследовании и, при необходимости, выполнении дерматоскопии. При подозрении на повторный рост опухоли выполнялась инцизионная биопсия со стандартным гистологическим исследованием.

2.3 Флуоресцентный мониторинг фотодинамической терапии

2.3.1 Процедура флуоресцентной визуализации

Флуоресцентную визуализацию опухоли проводили через 2 ч после инъекции ФС в период максимальной концентрации лекарственного средства в опухоли и сразу после лазерного облучения с использованием бесконтактной системы визуализации (Fluovizor; Аткус, Санкт-Петербург, Россия). Возбуждение «Фотодитазина» в ткани осуществлялось светодиодным источником из-

лучения (LED) с длиной волны 660 нм. Флуоресценция регистрировалась цифровой CCD камерой. Фоновое освещение в кабинете фотодинамической терапии минимизировано за счет применения максимального оконного затемнения. После проведения процедуры ФДТ пациенты в течение суток соблюдали строгий световой режим.

2.3.2 Оценка параметров флуоресценции

Программное обеспечение позволяло вручную оконтурить необходимую площадь интереса на полученном флуоресцентном изображении с последующим автоматическим расчетом усредненной интенсивности флуоресценции данного поля в относительных единицах. Данный подход по усреднению значений на всем интересующем участке осуществлялся как для опухоли, так и для нормальной ткани (Рисунок 1). Флуоресцентную контрастность (ФК, FC) определяли как отношение средней интенсивности флуоресценции опухоли (It) к средней флуоресценции окружающих здоровых тканей (IN):

$$FC = \frac{I_t}{I_N}$$

(1)

Фотовыгорание (ФВ, dFC) рассчитывалось как относительное изменение флуоресцентной контрастности, измеренного непосредственно перед (FC₀) и после (FC₁) лазерного воздействия:

$$dFC = \frac{1 - FC_1}{FC_0} \times 100\% = \frac{1 - I_{t1}/I_{N1}}{I_{t0}/I_{N0}} \times 100\%$$

(2)

Значение FC условно может рассматриваться как индикатор селективности накопления лекарственного средства в опухоли по отношению к окружающей ткани. Параметр dFC косвенно характеризует эффективность проведенного терапевтического облучения. Использование нормированных данных обеспечивает независимость полученных параметров флуоресценции от расстояния до объекта, а также усиления и экспозиции CCD - камеры. Уровень флуоресценции в нормальных тканях оставался на одном и том же уровне до и после ФДТ, поскольку они были защищены от облучения. Это значит, что изменения

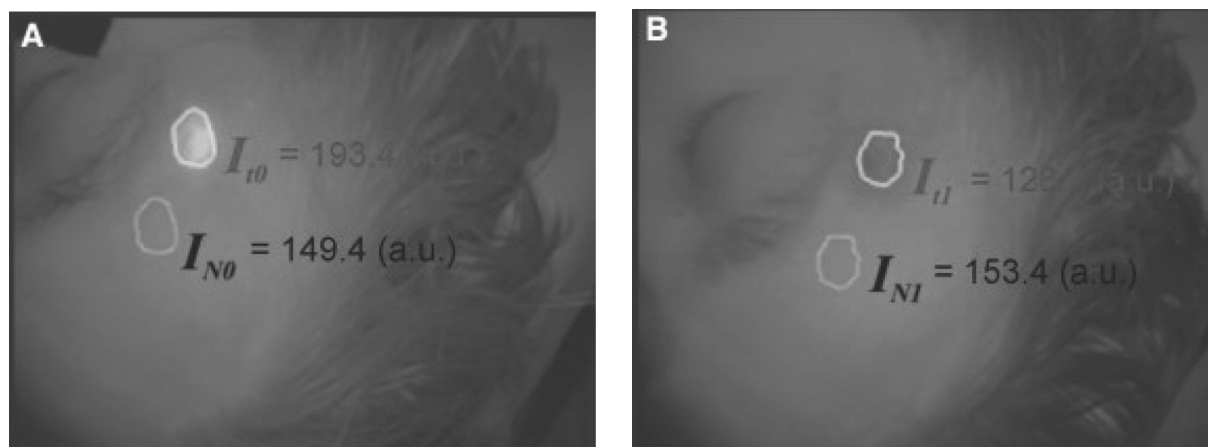


Рисунок 1. Флуоресцентные изображения пациента до (А) и после (В) фотодинамической терапии. It0 и It1 - средние интегральные интенсивности флуоресценции опухоли и IN0 и IN1 - средние интегральные интенсивности флуоресценции нормальной ткани

ФС были вызваны фотообесцвечиванием ФС в процессе фотодинамических реакций и не были связаны с внешними условиями.

2.4 Статистический анализ данных

Целью статистического анализа было изучить корреляцию параметров FC и / или dFC с эффективностью ФДТ (непосредственный опухолевый ответ, частота рецидивов) и, следовательно, показать их роль, как предикторов клинического исхода ФДТ. Для последующей статистической оценки все пациенты были разделены на две группы: с FC ниже определенного порогового значения FCth (= низкий уровень флуоресцентной контрастности) и с FC выше порогового значения (= высокий уровень флуоресцентной контрастности). В качестве порогового значения была выбрана медиана FC.

Достоверность различий выборочных совокупностей оценивались с использованием непараметрических критериев. Оценка различий качественных признаков проводилась путем построения таблиц сопряженности и вычислением критерия хи-квадрат (χ^2) с поправкой Йетса при множественных сравнениях. Значение χ^2 также позволяет рассчитать уровень p, которое описывает вероятность того, что полученные сравниваемые данные независимы. В данной статье различия считались достоверными при $p < 0.05$.

Также были рассчитаны чувствительность (Se) и специфичность (Sp) для использования FC как предикто-

ра клинического исхода. Для расчета этих показателей случаи «частичного ответа» и «отсутствия ответа» были объединены в одну категорию как «неудовлетворительный клинический результат». Наличие рецидивов также расценивалось как неудовлетворительный результат. Аналогичные подходы были применены для фотообесцвечивания ФС.

Результаты и обсуждение

3.1 Клинические результаты

Клинические результаты проведенного лечения представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, частота полных ответов опухоли была выше для базальноклеточной карциномы (85,0% полных ответов) по сравнению с плоскоклеточным раком (76,4%). Однако, частота возникновения рецидивов у пациентов обеих групп (10,4% в группе пациентов с БКК против 9,1% в группе пациентов с ПКР) была сопоставима. Полученные различия в непосредственном ответе опухоли на лечение, а также в количестве рецидивов между группами БКК и ПКР не достигли статистически достоверной разницы ($p = 0,1$) и ($p = 0,77$) соответственно. Исходя из полученных данных, в дальнейшем статистическом анализе стратификация опухоли по гистологическому типу не учитывалась.

3.2 Параметры флуоресценции и корреляция с клиническим исходом

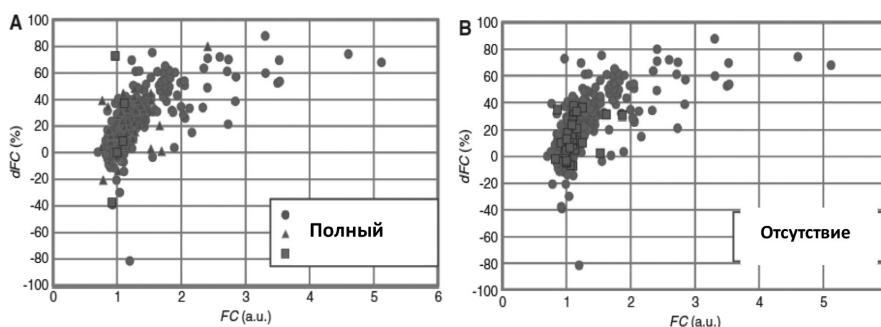


Рисунок 2. Точечная диаграмма распределение непосредственных результатов фотодинамической терапии (полный ответ, частичный ответ, отсутствие ответа) (А) и отдаленных результатов (возникновение рецидива и отсутствие рецидива) (В) в зависимости от уровня флуоресцентной контрастности (FC) и фотовыгорания (dFC)

Таблица 2. Клинические результаты фотодинамической терапии в зависимости от гистологического типа опухоли и в общей группе пациентов

Клинические результаты	Пациенты с БКК		Пациенты с ПКР		Все пациенты	
	(количество)	(%)	(количество)	(%)	(количество)	(%)
Ответ опухоли						
Полный ответ	295	85.0	42	76.4	337	83.8
Частичный ответ	50	14.4	9	16.4	59	14.7
Отсутствие ответа	2	0.6	4	7.2	6	1.5
Общее количество	347	100.0	55	100.0	402	100.0
Рецидив						
Да	36	10.4	5	9.1	41	10.2
Нет	311	89.6	50	90.9	361	89.8
Общее количество	347	100.0	55	100.0	402	100.0

Примечание: БКК, Базальноклеточный рак кожи; ПКР, плоскоклеточный рак кожи

Таблица 3: Результаты статистического анализа результатов лечения в зависимости от показателя флуоресцентной контрастности (FC)

Клинические результаты	Флуоресцентная контрастность FC		Статистический анализ			
	FC ≤ FCth (число пациентов)	FC > FCth	P - value	χ ²	Se	Sp
Ответ опухоли (3 категории)			0.03	9.2	NA	NA
Полный ответ	15	17	*			
Частичный ответ	9	8				
Отсутствие ответа	36	23	0.01	6.6	0.65	0.53
Ответ опухоли (2 категории)			*			
Полный ответ	15	17				
Отсутствие ответа	9	8				
Общее количество	20	20	0.002*	9.8	0.73	0.52
Рецидив	42	23				
Да	1	1				
Нет	30	11				
Общее количество	20	20				
Нет	17	19				
Общее количество	1	0				
Общее количество	20	20				
	1	1				

Примечание: NA, не применимо. *Статистически значимо

Таблица 4. Результаты статистического анализа результатов лечения в зависимости от показателя флуоресцентной контрастности (dFC)

Клинические результаты	Фотовыгорание FC (число пациентов)		Статистический анализ			
	dFC ≤ dFCth	dFC > dFCth	P - value	χ ²	Se	Sp
Ответ опухоли (3 категории)			0.4 n.s.	2.9	NA	NA
Полный ответ	161	176				
Частичный ответ	36	23				
Отсутствие ответа	4	2				
Общее количество	201	201				
Ответ опухоли (2 категории)			0.05 n.s.	3.8	0.60	0.52
Полный ответ	161	176				
Неудовлетворительный ответ	40	25				
Общее количество	201	201				
Рецидив			0.0005**	12	0.76	0.52
Да	31	10				
Нет	170	191				
Общее количество	201	201				

Примечание: NA, не применимо. n.s., статистически не значимо. ** высоко статистически значимо

При анализе данных минимальные и максимальные значения для FC составили 0,7 и 5,1, а для dFC – 82% и 88% соответственно (рис. 2). Для того чтобы выделить группы с высоким (FC > FCth) и низким (FC ≤ FCth) уровнем флуоресцентной контрастности, и аналогичных групп (dFC > dFCth и dFC ≤ dFCth) для фотообесцвечивания для статистического анализа, в качестве пороговых были определены соответствующие срединные значения: FCth = 1.12 и dFCth = 20,1%.

Как видно из таблиц 3 и 4, количество случаев неудовлетворительного ответа опухоли (частичный ответ, отсутствие ответа) было выше при низких значениях FC (n = 42), а также низком dFC (n = 40). Однако эта разница была статистически значимой только для параметра ФК (p = 0,03).

Также следует отметить, что всем клиническим наблюдениям, отнесенным к группе «отсутствие ответа опухоли» соответствовал низкий уровень флуоресцентной контрастности. При анализе отдаленных результатов лечения количество рецидивов было больше для групп пациентов с низкой FC (n = 30) и низким dFC (n = 31). Различия были статистически значимыми для обоих параметров (FC, p = 0,002, dFC, p = 0,0005). Полученные данные позволяют предположить, что уровень FC ниже порогового значения (FC ≤ FCth) можно использовать в качестве предиктора с точки зрения неудовлетворительного клинического результата (частичный ответ или отсутствие ответа опухоли на лечение) и/или наличие рецидива. С другой стороны, низкое значение dFC (dFC ≤

dFCth) может служить только как предиктор возникновения рецидивов. Чтобы охарактеризовать качество такого прогноза, были оценены чувствительность и специфичность. Таблицы 3 и 4 показывают сопоставимые значения для FC и dFC, демонстрируя гораздо лучшую чувствительность в отношении возникновения рецидива, чем для ответа опухоли. Что касается параметров, представленных в таблице 1, не выявлено статистически значимой корреляции между этими данными и значения флуоресценции ($p > 0,05$ для всех параметров).

4. Дискуссия

Настоящее исследование демонстрирует применение метода флуоресцентной визуализации для оценки флуоресцентной контрастности опухоли до лазерного воздействия и фотовыгорания после ФДТ с производными Хлорина Е6. Представленные результаты показывают, что FC и dFC ниже определенного порога могут служить предикторами рецидива с показателями чувствительности и специфичности равными $Se = 73\text{--}76\%$; $Sp = 52\%$ соответственно. Отмечено, что случаи удовлетворительного (полный ответ) и неудовлетворительного (частичный ответ и отсутствие ответа) опухоли на лечение в значительной степени зависели от флуоресцентной контрастности ($p = 0,01$), тогда как корреляция с фотообесцвечиванием отсутствовала ($p = 0,05$). Количество рецидивов демонстрировали значимые различия в зависимости от фотообесцвечивания ($p = 0,0005$) и более сильную статистическую зависимость (по сравнению с ответом опухоли) от флуоресцентной контрастности ($p = 0,002$). Следовательно, параметр фотовыгорания может считаться предиктором для возникновения рецидивов с чувствительностью ($Se = 76\%$) выше, чем для флуоресцентной контрастности ($Se = 73\%$).

Результаты, полученные в этом исследовании, сложно сравнивать с аналогичными работами других авторов. Это связано с рядом причин: 1) большая часть исследований посвящены мониторингу других видов FC (порфирины и фталоцианины); 2) флуоресцентная диагностика выполнялась с использованием точечных спектроскопических измерений; 3) большинство исследований были выполнены на экспериментальных животных и клеточных культурах. Насколько нам известно, это первая публикация, посвященная использованию флуоресцентной визуализации для мониторинга ФДТ с FC на основе Хлорина Е6 в клинической практике. Результаты других исследовательских групп, полученные для порфиринов и фталоцианинов [6, 10, 11, 14, 15, 17–20] или при использовании спектроскопических измерений [12, 13] показывают противоречивые выводы относительно значения параметров флуоресценции для прогнозирования результатов ФДТ. Несколько исследований с FC на основе Хлорина Е6 показали корреляцию между данными флуоресценции и эффективностью ФДТ [10, 15, 17, 19, 21]. При этом большинство авторов придают большое прогностическое значение параметру фотовыгорания [10, 15, 19, 21]. Отдельные работы показывают, что параметры флуоресценции не могут рассматриваться как предикторы эффективности ФДТ [11, 14, 20]. Однако, мы не

нашли ни одной публикации со статистическим анализом корреляции между клиническим исходом и параметрами флуоресценции.

Это исследование позволило не только получить данные о взаимосвязи параметров флуоресценции с эффективностью ФДТ, но и также оценить достоинства, недостатки и ограничения используемого оборудования. Пространственное усреднение флуоресцентного сигнала по всей области опухоли и аналогичной области здоровой ткани помогает получить более объективные данные. Это главное преимущество методики визуализации по сравнению с точечными спектроскопическими измерениями, которые не позволяют учитывать гетерогенность оптических свойства исследуемой ткани.

Следует отметить, что неинвазивный оптический имиджинг является лишь косвенной мерой концентрации FC в биоткани, что связано с высокой гетерогенностью и изменчивостью оптических характеристик последней (коэффициенты рассеяния и поглощения). В настоящее время для измерения оптических характеристик ткани используются точечные измерительные волоконные детекторы [22, 23] или CCD-камеры, причем некоторые из них оснащенные мультиспектрально разделенными источниками света и приемными каналами для получения спектроскопических данных. К сожалению, использование нескольких приемных каналов усложняют систему и удорожает оборудование, ограничивая его применение в клинической практике.

Заключение

Это исследование показывает целесообразность использования флуоресцентной визуализации в клинической практике для прогнозирования результатов лечения немеланомных опухолей кожи методом ФДТ. Было обнаружено, что фотовыгорание и флуоресцентная контрастность статистически значимо коррелируют с возникновением рецидива опухоли. Использование данных, полученных при флуоресцентной визуализации, можно рассматривать как шаг к индивидуализации методики ФДТ. ■

Корчагина Ксения Сергеевна, научный сотрудник, соискатель ученой степени кандидата медицинской наук, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба, филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Гамаюнов Сергей Викторович, к.м.н., заведующий отделением Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба, филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Турчин Илья Викторович, канд. физ.-мат. н., заведующий отделением Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики Российской академии наук»

Иванов Сергей Анатольевич, д.м.н., профессор РАН, директор Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба, филиал федерального государ-

ственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Литература:

1. Palumbo G. Photodynamic therapy and cancer: a brief sightseeing tour. *Expert Opin Drug Deliv* 2007;4(2):131–48.
2. Foley P, Freeman M, Menter A, Siller G, El-Azhary RA, Gebauer K, Lowe NJ, Jarratt MT, Murrell DF, Rich P, Pariser DM, Oseroff AR, Barnetson R, Anderson C, Kossard S, Gibson LE, Tope WD. Photodynamic therapy with methyl aminolevulinate for primary nodular basal cell carcinoma: results of two randomized studies. *Int J Dermatol* 2009;48(11):1236–45.
3. Agostinis P, Berg K, Cengel KA, Foster TH, Girotti AW, Gollnick SO, Hahn SM, Hamblin MR, Juzeniene A, Kessel D, Korbelik M, Moan J, Mroz P, Nowis D, Piette J, Wilson BC, Golab J. Photodynamic therapy of cancer: an update. *CA Cancer J Clin* 2011;61(4):250–81.
4. Allison RR, Moghissi K. Oncologic photodynamic therapy: clinical strategies that modulate mechanisms of action. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2013;10(4):331–41.
5. Azzouzi AR, Lebdaï S, Benzaghoul F, Stief C. Vascular-targeted photodynamic therapy with TOOKAD® Soluble in localized prostate cancer: standardization of the procedure. *World J Urol* 2015;33(7):937–44.
6. Lee TK, Baron ED, Foster TH. Monitoring Pc 4 photodynamic therapy in clinical trials of cutaneous T-cell lymphoma using noninvasive spectroscopy. *J Biomed Opt* 2008;13(3):030507.
7. Khurana M, Moriyama EH, Mariampillai A, Wilson BC. Intravital high-resolution optical imaging of individual vessel response to photodynamic treatment. *J Biomed Opt* 2008;13(4):040502.
8. Standish BA, Lee KK, Jin X, Mariampillai A, Munce NR, Wood MF, Wilson BC, Vitkin IA, Yang VX. Interstitial Doppler optical coherence tomography as a local tumor necrosis predictor in photodynamic therapy of prostatic carcinoma: an in vivo study. *Cancer Res* 2008;68(23):9987–95.
9. Mallidi S, Watanabe K, Timerman D, Schoenfeld D, Hasan T. Prediction of tumor recurrence and therapy monitoring using ultrasound-guided photoacoustic imaging. *Theranostics* 2015;5(3):289–301.
10. Ascencio M, Collinet P, Farine MO, Mordon S. Protoporphyrin IX fluorescence photobleaching is a useful tool to predict the response of rat ovarian cancer following hexaminolevulinate photodynamic therapy. *Lasers Surg Med* 2008;40(5):332–41.
11. Kruijt B, de Bruijn HS, van der Ploeg-van den Heuvel A, de Bruin RW, Sterenborg HJ, Amelink A, Robinson DJ. Monitoring ALA-induced PpIX photodynamic therapy in the rat esophagus using fluorescence and reflectance spectroscopy. *Photochem Photobiol* 2008;84(6):1515–27.
12. Sunar U, Rohrbach D, Rigual N, Tracy E, Keymel K, Cooper MT, Baumann H, Henderson BH. Monitoring photobleaching and hemodynamic responses to HPPH-mediated photodynamic therapy of head and neck cancer: a case report. *Opt Express* 2010;18(14):14969–78.
13. Karakullukcu B, Kanick SC, Aans JB, Sterenborg HJCM, Tan IB, Amelink A, Robinson DJ. Integration of fluorescence differential path-length spectroscopy to photodynamic therapy of the head and neck tumors is useful in monitoring clinical outcome. *Front Phys* 2015;3:1–10.
14. Baran TM, Foster TH. Fluence rate-dependent photobleaching of intratumorally administered Pc 4 does not predict tumor growth delay. *Photochem Photobiol* 2012;88(5):1273–9.
15. Anbil S, Rizvi I, Celli JP, Alagic N, Hasan T. A photobleaching-based PDT dose metric predicts PDT efficacy over certain BPD concentration ranges in a three-dimensional model of ovarian cancer. *SPIE Proc* 2013;8568:85680S.
16. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Moonen M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D, Verweij J. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009;45(2):228–47.
17. Tyrrell J, Campbell SM, Curnow A. Monitoring the accumulation and dissipation of the photosensitizer protoporphyrin IX during standard dermatological methyl-aminolevulinate photodynamic therapy utilizing non-invasive fluorescence imaging and quantification. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2011;8(1):30–8.
18. Rollakanti KR, Kanick SC, Davis SC, Pogue BW, Maytin EV. Techniques for fluorescence detection of protoporphyrin IX in skin cancers associated with photodynamic therapy. *Photonics Lasers Med* 2013;2(4):287–303.
19. Tyrrell JS, Campbell SM, Curnow A. The relationship between protoporphyrin IX photobleaching during real-time dermatological methyl-aminolevulinate photodynamic therapy (MAL-PDT) and subsequent clinical outcome. *Lasers Surg Med* 2010;42(7):613–9.
20. Liu B, Farrell TJ, Patterson MS. Comparison of noninvasive photodynamic therapy dosimetry methods using a dynamic model of ALA-PDT of human skin. *Phys Med Biol* 2012;57(3):825–41.
21. Leblond F, Davis SC, Valdés PA, Pogue BW. Pre-clinical wholebody fluorescence imaging: Review of instruments, methods and applications. *J Photochem Photobiol B* 2010;98(1):77–94.
22. Brydegaard M, Haj-Hosseini N, Wardell K, Andersson-

Engels S. Photobleaching-insensitive fluorescence diagnostics in skin and brain tissue. *IEEE Photon J* 2011;3(3):407–21. Brought to you by | University of California - Santa Barbara Authenticated Download Date | 4/27/16 10:29 AM S. Gamayunov et al.: Fluorescence imaging for photodynamic therapy of

non-melanoma skin malignancies 11
23. Xie H, Xie Z, Mousavi M, Bendsoe N, Brydegaard M, Axelsson J, Andersson-Engels S. Design and validation of a fiber optic point probe instrument for therapy guidance and monitoring. *J Biomed Opt* 2014;19(7):71408.