

КРОСС-ПОЛЯРИЗАЦИОННАЯ ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ ТОМОГРАФИЯ В ОЦЕНКЕ СТРУКТУРЫ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКИ

УДК 616.13–004.6–003.2–073.756.8

Поступила 12.04.2013 г.



Е.В. Губарькова, младший научный сотрудник НИИ биомедицинских технологий¹;

М.Ю. Кириллин, к.ф.-м.н., старший научный сотрудник²;

Е.А. Сергеева, к.ф.-м.н., старший научный сотрудник²;

Е.Б. Киселева, младший научный сотрудник НИИ биомедицинских технологий¹;

Л.Б. Снопина, д.б.н., зав. отделом морфологии ЦНИЛ¹;

Н.Н. Проданец, к.б.н., старший научный сотрудник отдела морфологии ЦНИЛ¹;

Е.Г. Шарабрин, д.м.н., директор НИИ ПФМ¹;

Е.Б. Шахов, к.м.н., зав. отделом¹;

С.В. Немирова, к.м.н., доцент кафедры госпитальной хирургии им. Б.А. Королева¹;

Н.Д. Гладкова, д.м.н., профессор, зам. директора по науке НИИ биомедицинских технологий,
зав. лабораторией изучения оптической структуры биотканей НИИ биомедицинских технологий¹

¹Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603000, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

²Институт прикладной физики РАН, Н. Новгород, 603155, ул. Ульянова, 46

Метод кросс-поляризационной оптической когерентной томографии (КП ОКТ) основан на получении изображений структуры ткани путем регистрации рассеянного назад излучения в исходной и ортогональной поляризациях и сопоставлении пар таких изображений. Пространственная структура коллагеновых волокон обеспечивает не только обратное рассеяние излучения, но и изменение его поляризации при прохождении через ткань (т.е. деполяризацию). Коллагеновые волокна фиброзной капсулы играют ключевую роль в определении стабильности атеросклеротической бляшки. Воспаление, наблюдающееся при атеросклерозе, является ведущим механизмом дезорганизации коллагеновых волокон, поэтому оценка деполяризующих свойств фиброзной капсулы может быть полезной для характеристики «уязвимой» к разрыву атеросклеротической бляшки.

Цель исследования — оценить эффективность применения КП ОКТ для определения состояния коллагеновых волокон фиброзной капсулы атеросклеротической бляшки, характеризующих ее «уязвимость».

Материалы и методы. Исследовано 54 образца *post mortem*: неизменной аорты человека и аорты с различными стадиями атеросклеротических бляшек. Получено 150 КП ОКТ-изображений, в которых по ОКТ-сигналу в ортогональной поляризации оценивали соотношение организованных и дезорганизованных воспалением коллагеновых волокон фиброзной капсулы. Для проведения гистомографического сопоставления использованы гистологические окраски гематоксилин-эозином и пикросириусом красным с оценкой в поляризованном свете. Численный анализ КП ОКТ-изображений применен в качестве дополнительного инструмента к их визуальной оценке.

Результаты. Показано, что КП ОКТ имеет значительные преимущества перед традиционной ОКТ в оценке состояния атеросклеротической бляшки. На ортогональном КП ОКТ-изображении дифференцируются основные структурные компоненты бляшки — фиброзная капсула и липидное ядро. Толщина фиброзной капсулы на ортогональном изображении коррелирует с толщиной фиброзной капсулы на гистологических препаратах (коэффициент корреляции Спирмена $r=0,991$; $p<0,0001$). Расчет интегрального фактора деполяризации, характеризующего функциональное состояние коллагеновых волокон фиброзной капсулы, использован для обнаружения «уязвимой» атеросклеротической бляшки. При его значении в диапазоне 0,08–0,12 с вероятностью 95% можно говорить о низком содержании высокоорганизованного коллагена в фиброзной капсуле, что может свидетельствовать о ее склонности к разрыву.

Заключение. КП ОКТ способна с высокой вероятностью оценивать функциональное состояние коллагеновых волокон фиброзной капсулы атеросклеротической бляшки. Численный анализ КП ОКТ-изображений позволяет обнаружить «уязвимые» атеросклеротические бляшки.

Ключевые слова: кросс-поляризационная оптическая когерентная томография; КП ОКТ; атеросклеротическая бляшка; «уязвимая» атеросклеротическая бляшка; численный анализ ОКТ-сигнала.

Для контактов: Гладкова Наталья Дорофеевна, тел. моб. +7 951-910-66-57; e-mail: natalia.gladkova@gmail.com

Cross-Polarization Optical Coherence Tomography in Evaluation of Atherosclerotic Plaque Structure

E.V. Gubarkova, Junior Researcher, Scientific Research Institute of Biomedical Technologies¹;
M.Yu. Kirillin, PhD, Senior Researcher²;
E.A. Sergeeva, PhD, Senior Researcher²;
E.B. Kiseleva, Junior Researcher, Scientific Research Institute of Biomedical Technologies¹;
L.B. Snopova, D.Bio.Sc., Head of the Morphology Department, Central Scientific Research Laboratory¹;
N.N. Prodanets, PhD, Senior Researcher, the Morphology Department, Central Scientific Research Laboratory¹;
E.G. Sharabrin, D.Med.Sc., Director of Scientific Research Institute of Applied and Fundamental Medicine¹;
E.B. Shakhov, PhD, Head of Division¹;
S.V. Nemirova, PhD, Associate Professor, the Department of Hospital Surgery named after B.A. Korolyov¹;
N.D. Gladkova, D.Med.Sc., Professor, Deputy Director for Science, Scientific Research Institute of Biomedical Technologies, Head of Biotissue Optical Structure Research Laboratory, Scientific Research Institute of Biomedical Technologies¹

¹Nizhny Novgorod State Medical Academy, Minin and Pozharsky Square, 10/1, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603000;

²Institute of Applied Physics of Russian Academy of Sciences, Ul'yanova St., 46, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603155

The cross-polarization optical coherence tomography (CP OCT) technique allows for tissue structure imaging by registration of backscattered radiation in initial and orthogonal polarizations and further comparison of the obtained images. Spatial structure of collagen fibers gives rise not only to backscattering of probing radiation, but also to evolution of its polarization state during propagation through the tissue (depolarization). Collagen fibers of the fibrous cap play a key role in determining the stability of atherosclerotic plaques. Inflammation observed in atherosclerosis is the principal mechanism of collagen fibers disorganization, therefore, the assessment of the depolarizing properties of the fibrous cap can characterize an atherosclerotic plaque as being “vulnerable” to rupture.

The aim of the study was to evaluate CP OCT efficiency to determine the condition of collagen fibers of an atherosclerotic plaque fibrous cap, which characterize its “vulnerability”.

Materials and Methods. 54 *post mortem* samples of intact human aorta and aorta with atherosclerotic plaques at different stages were studied. The study involved 150 CP OCT-images in which the value of OCT signal in orthogonal polarization was used to evaluate the ratio of organized and disorganized by inflammation collagen fibers within the fibrous cap. For histological imaging comparison we used hematoxylin-eosine and picosirius red staining with evaluation in polarized light. Numerical analysis of CP OCT-images was used as a complementary tool for visual assessment.

Results. We showed CP OCT to have significant advantages over the traditional OCT in the assessment of atherosclerotic plaque. In orthogonal CP OCT-image one can differentiate the main structural components of a plaque: a fibrous cap and a lipid core. The thickness of the fibrous cap in the orthogonal polarization image correlates with the thickness of the fibrous cap measured from histological preparations (correlation coefficient $r=0.991$, $p<0.0001$). The integral depolarization factor which characterizes the functional status of collagen fibers of fibrous cap has been used to differentiate the “vulnerable” atherosclerotic plaque. Its value within the range of 0.08–0.12 with 95% probability indicates low content of highly organized collagen in the fibrous cap, and hence, its tendency to rupture.

Conclusion. CP OCT is capable of assessing the functional state of collagen fibers of fibrous cap of an atherosclerotic plaque with high probability. Numerical analysis of CP-OCT images provides identification of “vulnerable” atherosclerotic plaques.

Key words: cross-polarization optical coherence tomography; CP OCT; atherosclerotic plaques; “vulnerable” atherosclerotic plaques; OCT signal numerical processing.

В настоящее время оптическая когерентная томография (ОКТ) признана мировым сообществом как инновационная медицинская диагностическая технология, которая используется для получения изображений внутренней структуры тканей тела человека. Метод ОКТ обеспечивает формирование высококонтрастных двух- и трехмерных изображений структуры тканей в режиме реального времени на глубинах до 1–2 мм с микронным разрешением (до 3 мкм). Технология основана на низкокогерентной интерферометрии в инфракрасном диапазоне длин волн (700–1300 нм). ОКТ имеет большие преимущества как диагностический метод, способный получать изображения внутренних органов и использовать эндоскопические зонды, в том числе внутрисосудистые [1, 2].

Еще в первой работе по ОКТ в 1991 г. ее изобретатели предположили, что ОКТ может быть использована для визуализации атеросклеротического процесса в сосудах [3], являясь альтернативным или дополнительным инструментом к внутрисосудистому ультразвуковому исследованию (ВС УЗИ) [4]. В отличие от ультразвукового метода, в котором регистрируется отраженный эхо-сигнал, обусловленный пространственным распределением акустического импеданса, в методе ОКТ детектируется свет, рассеянный назад от оптических неоднородностей, при этом пространственное разрешение ОКТ, как минимум, в 10 раз выше, чем у УЗИ [1].

В последние годы достигнут значительный прогресс в развитии новой версии ОКТ, основанной на

спектральной интерферометрии и названной «ОКТ в частотной области», — спектральной ОКТ. Она позволяет получать изображения с высокой скоростью, в видеорежиме [5]. В ОКТ-приборах последнего поколения технология достигла скорости получения изображений 3000–4000 кадров в секунду [6], что обеспечило возможность регистрации ОКТ-кадра в момент прохождения рентгеноконтрастного (просветляющего) агента в просвете сосуда и наблюдения структуры атеросклеротической бляшки [4, 7–9]. Достигнута возможность получения ВС ОКТ-изображений без баллонной проксимальной окклюзии сосуда путем использования изомолярного контрастного вещества иодиксанола, которое впрыскивается из специального проводника [10]. Этот прием работает в комбинации со спектральной ОКТ и внутрисосудистой системой визуализации C7XR (ImageWire; LightLab Imaging, Inc., США) [11].

ВС ОКТ является многообещающей технологией при контроле постановки и мониторинге стентов, а также при ранней диагностике связанных с этой процедурой осложнений, таких как плохо расправленный стент и диссекция интимы [12–14]. ВС ОКТ обеспечивает более точную по сравнению с ангиографией и ВС УЗИ информацию о скорости гиперплазии неоинтимы на стратах стента и об особенностях морфологических изменений в атеросклеротических бляшках при рестенозе после стентирования в зависимости от характера стентов [15].

Одной из важнейших задач ВС ОКТ является диагностика «уязвимой» атеросклеротической бляшки. Группа R. Virmani [16] предложила определять «уязвимость» бляшек (которая приводит к острому коронарному синдрому), основываясь на толщине фиброзной капсулы бляшки. Авторы продемонстрировали, что толщина склонных к разрыву фиброзных капсул составляет 23 ± 19 мкм, значение менее 64 мкм с 95% вероятностью является критичным (в пределах двух стандартных отклонений). ВС УЗИ имеет пространственное разрешение 80–90 мкм [4]. Это означает, что выявление фиброзной капсулы толщиной менее 65 мкм недостижимо для этой технологии. Пространственное разрешение ОКТ не менее 20 мкм, что дает возможность обнаружить тонкую фиброзную капсулу атеросклеротической бляшки.

Опыт использования ВС ОКТ в кардиологии показал эффективность трех прижизненных ОКТ-маркеров атеросклеротической бляшки: толщины фиброзной капсулы, концентрации макрофагов/пенистых клеток и типа бляшки — фиброзный, фиброзно-кальцинозный и липидный. Первый маркер — толщина фиброзной капсулы — признан неоспоримым, его значение продемонстрировано многими исследователями [5, 17–19]. Однако в последнее время высказывается мнение, что контраст фиброзной капсулы и липидного ядра не всегда достаточен для точного определения границ фиброзной капсулы на ОКТ-изображении [20]. Второй маркер — концентрация макрофагов в фиброзной капсуле атеросклеротической бляшки [21, 22]. Описанный группой G.J. Tearney и В.Е. Voima подход находит подтверждение и развивается, хотя имеет и противников

[20, 23]. Третий ОКТ-маркер обусловлен возможностью на ОКТ-изображении дифференцировать фиброзную, фиброзно-кальцифицированную и заполненную липидами бляшку [24]. Продемонстрированы признаки трех типов бляшек, однако получен высокий уровень ошибок в распознавании бляшки с фиброзной капсулой и липидным ядром (чувствительность 71–79%) за счет низкого контраста двух структур на изображении [20].

Содержание высокоорганизованного коллагена I типа в фиброзной капсуле определяет структурную стабильность атеросклеротической бляшки. В тонкостенной бляшке благодаря присутствию металлопротеаз, синтезируемых воспалительными клетками, происходит истощение коллагена I типа. Это делает стенку бляшки механически «уязвимой». Выявление «уязвимой» атеросклеротической бляшки остается затруднительным для традиционной ОКТ, так как нижняя граница фиброзной капсулы не всегда хорошо отличима от липидного ядра из-за близких оптических свойств этих двух тканей, что не позволяет надежно измерить толщину фиброзной капсулы [20].

Обнаружить границу между фиброзной капсулой и липидной тканью помогает поляризационно-чувствительная ОКТ (ПЧ ОКТ), в которой в дополнение к традиционному ОКТ-изображению строится карта фазовой задержки [19, 25–28]. Скорость изменения этой задержки характеризует степень организации белков и макромолекул, таких как коллаген и актин [29–31]. Увеличение скорости изменения фазовой задержки с глубиной на ПЧ ОКТ-изображениях может означать увеличение стабильности атеросклеротической бляшки [28]. Однако реализация технологии внутрисосудистой ПЧ ОКТ в клинической практике затруднительна ввиду ряда технических проблем, связанных, в частности, с поддержанием состояния поляризации света в волокне при использовании быстро вращающегося катетера. В последнее время предложено несколько способов решения подобных задач [32–36]. Проводятся пилотные исследования применимости внутрисосудистой ПЧ ОКТ у пациентов [37]. В случае успеха внутрисосудистая ПЧ ОКТ сможет дать дополнительную информацию о структурной целостности коронарных артерий [38].

Кросс-поляризационная ОКТ (КП ОКТ) — модификация ПЧ ОКТ, формирующая одновременно два изображения путем раздельной регистрации рассеянного излучения в двух каналах, параллельном и перпендикулярном поляризации зондирующего излучения. В отличие от ПЧ ОКТ, где акцент делается на поиске двулучепреломляющих свойств исследуемой ткани, проявляющихся в виде паттернов на картах фазовой задержки, КП ОКТ визуализирует деполяризацию излучения как за счет двулучепреломления, так и за счет рассеяния в исследуемой биоткани [39]. Первые КП ОКТ-устройства описаны и использованы нашей группой для визуализации зубной ткани [40], затем в прижизненных исследованиях слизистых оболочек внутренних органов [41]. Группа J.M. Schmitt применяла КП ОКТ для исследования модельных сред и кожи [39]. Сравнение картин обратного рассеяния в исходной и ортогональной поляризациях оказалось более информативным по

сравнению с анализом карт фазовой задержки для биотканей со слабым двулучепреломлением. В этих тканях организованные коллагеновые волокна не имеют регулярной структуры по глубине (анизотропные ткани, к которым могут быть отнесены не только слизистые оболочки внутренних органов, но и артериальные сосуды) [42, 43]. Работ по изучению атеросклеротической бляшки методом КП ОКТ нам найти не удалось.

Цель исследования — оценить эффективность применения КП ОКТ для определения состояния коллагеновых волокон фиброзной капсулы атеросклеротической бляшки, характеризующих ее «уязвимость».

Материалы и методы. В качестве объекта КП ОКТ-исследования были выбраны образцы *post mortem* аорты человека с атеросклеротическими бляшками, находящимися в различных стадиях атеросклероза. На полученных изображениях по ОКТ-сигналу в ортогональной поляризации оценивали соотношение организованных и дезорганизованных воспалением коллагеновых волокон фиброзной капсулы.

Всего исследовано 54 образца аортальных сосудов.

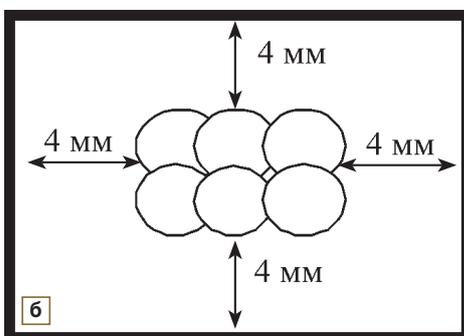
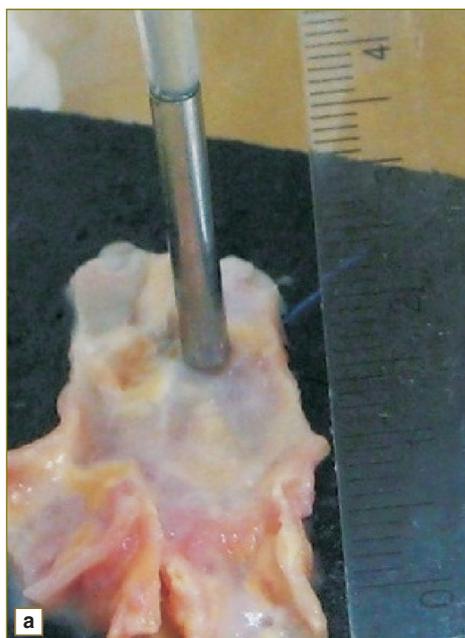


Рис. 1. Процедура КП ОКТ-исследования ткани образцов *post mortem* аорты: *a* — положение зонда при сканировании внутренней поверхности стенки аорты; *б* — схема ОКТ-сканирования

Среди них ткань неизменной стенки аорты от пациентов, умерших от заболеваний, не связанных с патологией сосудов, без признаков атеросклероза — 5 образцов аорты трупа одного молодого мужчины в возрасте 18 лет, и ткань патологически измененной стенки аорты с признаками атеросклероза от больных, умерших от сердечно-сосудистых заболеваний, — 49 образцов аорты трупов двух мужчин и пяти женщин в возрасте 60–75 лет. Всего получено и проанализировано 150 КП ОКТ-изображений.

Грудную часть аорты забирали не более чем через 24 ч после смерти, отделяли от периваскулярных тканей, разрезали на фрагменты длиной 5–7 мм и доставляли к месту исследования в марле, смоченной фосфатным буфером при температуре 4°C. Для минимизации посмертных изменений образцы исследовали в первые 1–2 ч после эксцизии. Верхние, нижние, проксимальные и дистальные концы фрагментов отмечали чернилами со стороны адвентиции для последующей ориентации в ходе приготовления гистологических препаратов.

В работе использован КП ОКТ-томограф «ОКТ 1300-У», разработанный в Институте прикладной физики РАН (компания «БиоМедТех», Нижний Новгород, Россия) [44, 45], имеющий торцевой эндоскопический зонд, наружный диаметр которого составляет 2,7 мм. В приборе используется зондирующее излучение с длиной волны 1300 нм и мощностью 3 мВт; разрешение по глубине составляет 15 мкм в свободном пространстве, продольное разрешение — 25 мкм. Прибор одновременно демонстрирует два сопряженных изображения: в исходной и в ортогональной поляризациях со строгим взаимным соответствием пространственного расположения элементов изображений. Каждое КП ОКТ-изображение имеет размер 2×2,4 мм и регистрируется в течение двух секунд [44].

Каждый фрагмент сосуда помещали на плоскую поверхность и сканировали со стороны интимы (рис. 1, *a*). ОКТ-зонд последовательно ставили вдоль сосуда с перекрытием области сканирования (с учетом того, что поперечный размер области сканирования меньше внешнего диаметра зонда) в два ряда на расстоянии 4 мм от краев среза, что позволило в дальнейшем получить непрерывную ОКТ-картину и провести «прицельное» гистологическое исследование (рис. 1, *б*).

После завершения КП ОКТ-сканирования кусочек ткани иссекали, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 7 мкм получали на санном микротоме Leica SM2000R (Leica Microsystems, Германия). Проводили гистологическую оценку материала методом световой микроскопии с окраской тканевых срезов гематоксилин-эозином, которая дает общее представление о морфологических изменениях, и со специфической гистологической окраской пикросириусом красным (ПСК) с микроскопической оценкой в скрещенных поляризаторах для исследования коллагеновых волокон (микроскоп Leica DFC245 C; Германия). ПСК, химически взаимодействуя с коллагеном, выделяет его из

окружения при оценке в поляризованном свете. Такая окраска является наиболее признанным методом морфологической оценки состояния коллагеновых волокон (степени их организации, размера, количества, взаимного расположения волокон, способности к двулучепреломлению и деполяризации), что позволяет судить о функциональном состоянии этих волокон [46]. При окраске ПСК организованные коллагеновые волокна в поляризованном свете проявляются как яркие области. Желтовато-оранжевый и красный цвета характерны для организованных толстых коллагеновых волокон (I тип коллагена, диаметр волокон 1–3 мкм), а темно-зеленый цвет — для тонких волокон (III тип коллагена, диаметр волокон 0,8 мкм). Полностью дезорганизованные коллагеновые волокна не дают свечения.

Оценка результатов выполнялась в два этапа. Задачей первого этапа была визуальная оценка КП ОКТ-изображений атеросклеротических бляшек с учетом их стадий путем сопоставления с гистологическими изображениями. На втором этапе проводилась численная обработка ОКТ-сигнала в обеих поляризациях по двум параметрам — оценивалась толщина фиброзной капсулы и соотношение уровней сигнала в исходной и ортогональной поляризациях.

Первый этап оценки. Для верификации структур на КП ОКТ-изображениях использовали цифровые фотографии гистологических срезов с размером кадра, сопоставимым с размером сканируемого участка. На основании визуальной оценки изображений атеросклеротических бляшек были сформированы наборы изображений для каждого клинического случая, включающие КП ОКТ-изображение и изображение гистологических срезов с различными окрасками.

Исследованные 49 образцов аорты человека с признаками атеросклероза были разделены по стадиям атеросклеротической бляшки согласно критериям Американской кардиологической ассоциации [47] и критериям «уязвимости» по R. Virmani [16]:

II стадия атеросклеротической бляшки — отложение пенистых клеток и нагруженных липидами гладкомышечных клеток, без внеклеточных липидов и патологического утолщения интимы — 8 образцов;

III стадия (промежуточная) — кроме пенистых клеток наличие небольшого количества внеклеточных липидных вкраплений; фиброзная капсула образована преимущественно за счет волокон коллагена I типа — 10 образцов;

IV стадия (собственно атерома) — наличие липидного ядра и фиброзной капсулы, в которой волокна коллагена I типа частично заменяются волокнами коллагена III типа или дезорганизуются за счет действия протеолитических ферментов — 10 образцов;

V стадия — липидное ядро, отчетливые слои фиброзной соединительной ткани (коллагеновые волокна в различных состояниях) — 21 образец;

Va стадия — четкое липидное ядро, покрытое одним или несколькими фиброзными слоями («уязвимая» атеросклеротическая бляшка) — 8 образцов;

Vb стадия — фиброатерома с кальцинозом — 5 образцов;

Vc стадия — фиброатерома с неоднородной по толщине выраженной фиброзной капсулой и минимальным липидным ядром — 8 образцов.

Второй этап оценки включал две процедуры:

1. Измерение толщины интимы неизменной стенки или фиброзной капсулы атеросклеротической бляшки аорты по КП ОКТ-изображениям, значение которой соотносилось с толщиной тех же структур на гистологических препаратах.

Для измерения толщины фиброзной капсулы на КП ОКТ-изображениях использовали программу Image J (Национальный институт здоровья, Вашингтон, США), позволяющую определять расстояние между выбранными точками на изображении. Рассматривалась область фиброзной капсулы атеросклеротической бляшки с наименьшей толщиной на выбранном участке. Толщиной считали вертикальное расстояние между верхней и нижней границами ОКТ-сигнала, гистологически соответствующего коллагеновым волокнам.

За толщину на гистологических препаратах, окрашенных ПСК и гематоксилин-эозином, также принималось вертикальное расстояние между верхней и нижней границами фиброзной капсулы. Толщина фиброзной капсулы оценивалась при IV, Va и Vc стадиях атеросклеротической бляшки, где фиброзная капсула хорошо сформирована. Контролем служила толщина интимы неизменной стенки аорты, которая в норме составляет 5–15 мкм и представлена ярким ОКТ-сигналом внутренней эластической мембраны [48]. Толщина оценивалась в следующих группах: 1) ткань неизменной стенки аорты (контроль); 2) IV стадия атеросклеротической бляшки — аорта с толстой равномерной фиброзной капсулой (более 65 мкм) над четким липидным ядром; 3) Va стадия атеросклеротической бляшки — аорта с тонкой фиброзной капсулой (менее 65 мкм); 4) Vc стадия атеросклеротической бляшки — аорта с толстой неоднородной по толщине фиброзной капсулой (более 65 мкм) и минимальным липидным ядром.

2. Для оценки деполяризующих свойств исследуемых тканей применен оригинальный подход — вычислялся интегральный фактор деполяризации (ИФД) [49]. ИФД — безразмерный параметр, который рассчитывается как усредненное по области изображения соотношение принятых мощностей ОКТ-сигнала в ортогональной и исходной поляризациях:

$$\text{ИФД} = \frac{1}{N} \sum_{i=1 \dots N, P_i^{\perp} > \langle P_{\text{фон}} \rangle + 2s_{\text{фон}}} \frac{P_i^{\perp} - \langle P_{\text{фон}} \rangle}{P_i^{\parallel}}$$

где P_i^{\parallel} — мощность ОКТ-сигнала в прямой поляризации в i -том пикселе после усреднения по поперечной координате; P_i^{\perp} — мощность ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации в i -том пикселе после усреднения по поперечной координате ОКТ-сигнале в ортогональной поляризации, для которых мощность ОКТ-сигнала превышает среднюю величину фонового ОКТ-сигнала $\langle P_{\text{фон}} \rangle$ на удвоенное стандартное отклонение фонового ОКТ-сигнала $2s_{\text{фон}}$.

Способ вычисления ИФД учитывает принципиальные особенности формирования КП ОКТ-изображения и лишен влияния спекл-шумов и инструментального шума. ИФД позволяет численно оценить способность ткани деполяризовать поляризованную зондирующую световую волну, тем самым оценить функциональное состояние исследуемой коллагенсодержащей ткани. Использована оригинальная программа автоматического расчета ИФД [49].

При оценке яркости свечения в поляризованном свете красных зон гистологических препаратов, окрашенных ПСК (волокон I типа коллагена), на изображениях выбирались области, соответствующие ортогональным КП ОКТ-изображениям. Оценку яркости проводили усреднением по прямоугольным областям, соответствующим положению фиброзной капсулы на ортогональном КП ОКТ-изображении.

Коэффициент корреляции Спирмена рассчитывали: а) между толщиной фиброзной капсулы на ортогональных КП ОКТ-изображениях и на гистологических препаратах, окрашенных ПСК; б) между значениями ИФД КП ОКТ-изображений и яркостью свечения коллагеновых волокон на гистологических препаратах, окрашенных ПСК (для каждой стадии атеросклеротического процесса). Учитывая малочисленность групп, статистическую значимость различий рассчитывали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Средние значения

приведены в виде $M \pm SD$, где M — среднее арифметическое, SD — среднеквадратичное отклонение.

Результаты и обсуждение.

Первый этап оценки. Сравнительный визуальный анализ 150 КП ОКТ-изображений в исходной и ортогональной поляризациях с гистологическими данными при различных окрасках показал следующее.

1. Ткань неизменной стенки аорты, состоящая преимущественно из эластических мембран, гладкомышечных волокон и незначительного количества волокон III типа коллагена (рис. 2, б, в), хорошо рассеивает зондирующее излучение в исходную и слабо — в ортогональную поляризацию (рис. 2, а). На КП ОКТ-изображении: в исходной поляризации — высокий равномерно затухающий сигнал; в ортогональной поляризации — низкий сигнал, что указывает на слабую способность ткани деполяризовать излучение (отсутствие коллагена I типа).

2. IV стадия атеросклеротической бляшки (собственно атерома) морфологически характеризуется наличием липидного некротического ядра и фиброзной капсулы, в которой преобладают организованные волокна I типа коллагена и также присутствуют дезорганизованные воспалением коллагеновые волокна (рис. 3, б, в). На КП ОКТ-изображении: в исходной поляризации уровень сигнала выше по сравнению с тканью неизменной стенки аорты благодаря наличию коллагена I

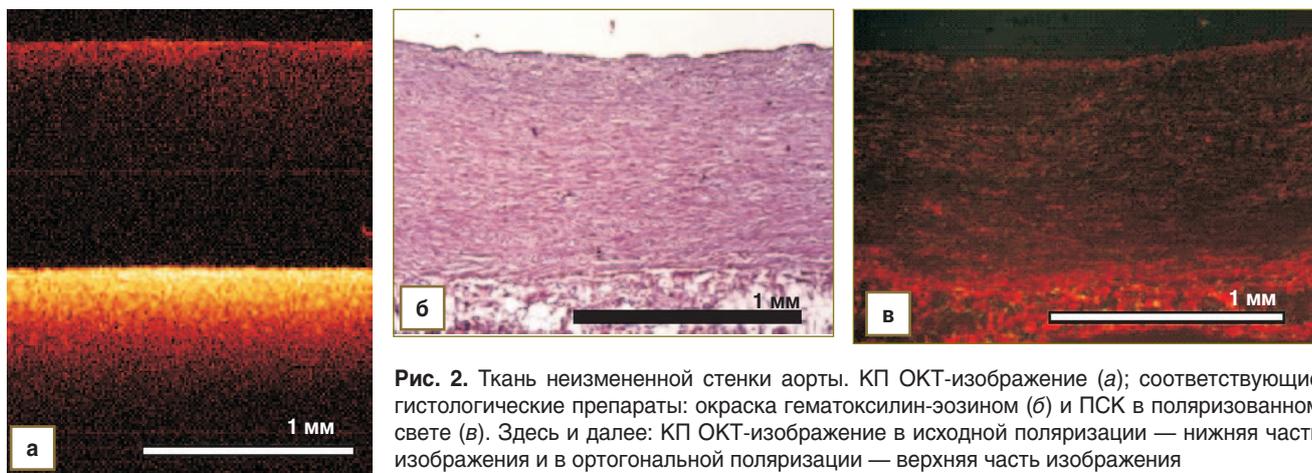


Рис. 2. Ткань неизменной стенки аорты. КП ОКТ-изображение (а); соответствующие гистологические препараты: окраска гематоксилин-эозином (б) и ПСК в поляризованном свете (в). Здесь и далее: КП ОКТ-изображение в исходной поляризации — нижняя часть изображения и в ортогональной поляризации — верхняя часть изображения



Рис. 3. Атерома аорты с толстой фиброзной капсулой. КП ОКТ-изображение (а) и гистологические препараты: окраска гематоксилин-эозином (б) и ПСК в поляризованном свете (в)

типа в фиброзной капсуле, в области липидного ядра ОКТ-сигнал ослабляется, контраст границы этих структур низкий (не превышает 3 дБ). В ортогональной поляризации визуализируется липидное ядро как область с низким уровнем сигнала под фиброзной капсулой, характеризующейся высоким уровнем сигнала: контраст границы липидного ядра и фиброзной капсулы (рис. 3, а, стрелка) существенно выше, чем в исходной поляризации (больше 8 дБ).

3. Va стадия атеросклеротической бляшки — бляшка включает четкое липидное ядро, покрытое тонкой фиброзной капсулой (рис. 4, б, в). В ортогональной поляризации наблюдаются участки тонкой фиброзной капсулы атеросклеротической бляшки (с толщиной 59 ± 9 мкм) над липидным ядром, что соответствует критерию «уязвимости» по R. Virmani (рис. 4, а). Контраст границы между фиброзной капсулой и липидным ядром в ортогональной поляризации КП ОКТ-изображений достаточный (не менее 6 дБ), чтобы измерить толщину фиброзной капсулы, по сравнению с исходной поляризацией, где контраст этих структур недостаточен для определения границы и измерения толщины фиброзной капсулы.

4. Vc стадия атеросклеротической бляшки — фиброатерома с очень толстой фиброзной капсулой и слабовыраженным липидным ядром (рис. 5, б, в). На КП ОКТ-изображении в исходной поляризации ОКТ-сигнал

превышает уровень шума на всей глубине изображения, в котором можно различить две зоны: верхняя характеризуется высоким уровнем и слабым спаданием сигнала, а нижняя — низким уровнем и наличием структуры, предположительно являющейся клубком коллагеновых волокон (рис. 5, а). Такую атеросклеротическую бляшку принято называть «стабильной», так как ее фиброзная капсула надежно отделяет некротическое ядро от просвета сосуда. Липидное ядро на КП ОКТ-изображениях практически не удается наблюдать, так как оно находится за пределами изображения (глубже, чем 1 мм).

В отдельных случаях в ортогональном КП ОКТ-изображении удается отчетливо визуализировать скопления кристаллов кальция как яркие образования преимущественно округлой формы в области фиброзной капсулы, за которыми образуется оптическая «тень» (рис. 6, а).

Рассмотренные случаи позволяют утверждать, что КП ОКТ способна дифференцировать состояние коллагеновых волокон в фиброзной капсуле атеросклеротической бляшки по ОКТ-сигналу в ортогональной поляризации. Проанализировано свечение коллагеновых волокон на гистологических препаратах при окраске ПСК в поляризованном свете: организованный коллаген I типа дает ярко-красное свечение, дезорганизованный коллаген таких свойств не проявляет. В ходе проведен-

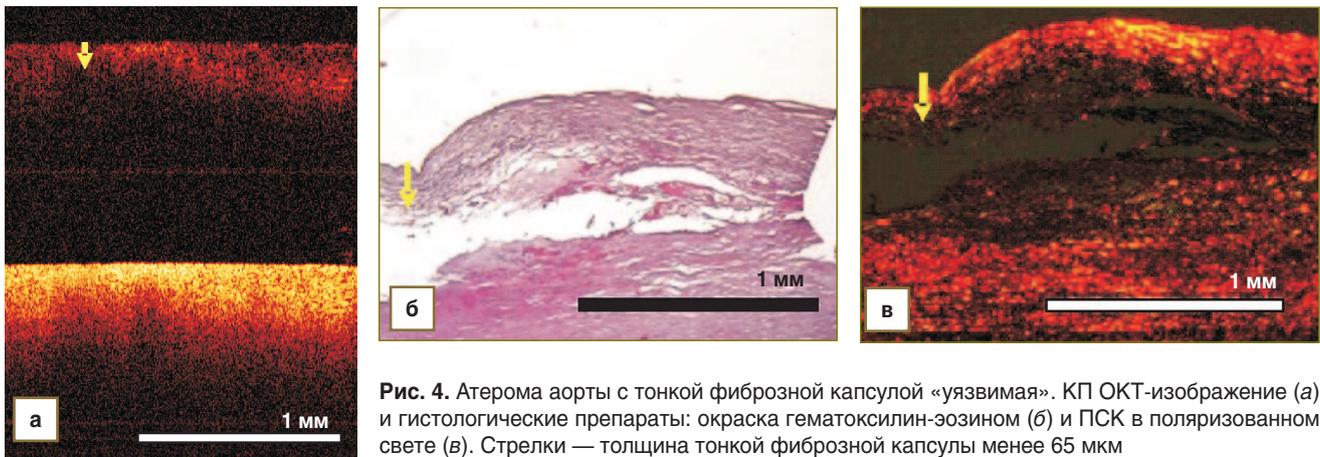


Рис. 4. Атерома аорты с тонкой фиброзной капсулой «уязвимая». КП ОКТ-изображение (а) и гистологические препараты: окраска гематоксилин-эозином (б) и ПСК в поляризованном свете (в). Стрелки — толщина тонкой фиброзной капсулы менее 65 мкм



Рис. 5. Фиброатерома аорты с очень толстой фиброзной капсулой. КП ОКТ-изображение (а) и гистологические препараты: окраска гематоксилин-эозином (б) и ПСК в поляризованном свете (в)



Рис. 6. Кристаллы кальция в фиброзной капсуле атеросклеротической бляшки. КП ОКТ-изображение — участки кальциноза указаны стрелками (а); гистологические препараты: окраска гематоксилин-эозином (б) и ПСК в поляризованном свете (в)

ного исследования были сформулированы визуальные признаки атеросклеротической бляшки на КП ОКТ-изображениях. Сравнительный визуальный анализ 150 КП ОКТ-изображений в исходной и ортогональной поляризациях с гистологическими данными показал, что КП ОКТ позволяет отличать область ткани неизменной стенки аорты от атеросклеротической бляшки, а также дифференцировать основные ее структурные компоненты: липидное ядро и фиброзную капсулу (см. рис. 3, 4, 5, 6). Контраст границы между фиброзной капсулой и липидным ядром на ортогональном КП ОКТ-изображении атеросклеротической бляшки недостаточен, чтобы провести измерение толщины фиброзной капсулы для обнаружения «уязвимых» бляшек (см. рис. 4). Это является важным показателем для выделения пациентов с высоким риском внезапной коронарной смерти.

Второй этап оценки. Численный анализ ОКТ-сигнала в ортогональных изображениях был использован в качестве дополнительного инструмента к визуальной оценке изображений. В ряде случаев этот подход способен существенно повысить диагностические возможности метода КП ОКТ в оценке состояния сосудистой стенки при атеросклерозе. Было использовано два вида численного анализа: а) оценка в ортогональной поляризации толщины патологически измененной фиброзной капсулы атеросклеротической бляшки при разных стадиях атеросклероза; б) оценка ИФД КП ОКТ-изображений.

Толщина фиброзной капсулы, измеренная по КП ОКТ-изображениям, сравнивалась с гистологическими препаратами.

Значительных различий толщины фиброзной капсулы атеросклеротической бляшки на гистологических препаратах с различной окраской (гематоксилин-эозином и ПСК) не обнаружено ($p=0,9$; критерий Манна–Уитни). Поэтому в дальнейшем для сравнения толщины капсулы на КП ОКТ-изображениях мы использовали результаты измере-

ния толщины фиброзной капсулы на гистологических препаратах, окрашенных ПСК.

Измерение толщины интимы неизменной стенки аорты и фиброзной капсулы атеросклеротической бляшки на КП ОКТ-изображениях в ортогональной поляризации не представляло трудности, так как контраст границы фиброзной капсулы и липидного ядра был достаточным. При этом в исходной поляризации сигнал занимал значительно большую область изображения, а на 10 изображениях (33,3% случаев) он превышал уровень шума по всей глубине изображения, что не позволяло точно определить толщину фиброзной капсулы. Таким образом, мы использовали измерение толщины фиброзной капсулы только в ортогональной поляризации, поскольку в исходной поляризации граница не видна, и сравнивали с толщиной фиброзной капсулы на гистологических препаратах, окрашенных ПСК (табл. 1, рис. 7).

Толщина фиброзной капсулы «уязвимых» атеросклеротических бляшек (Va стадия) составила 59 ± 9 мкм и оказалась достоверно ниже, чем при IV (496 ± 25 мкм) и Vc (760 ± 30 мкм) стадиях атеросклеротической бляшки (см. рис. 7). Установлено статистически значимое отличие толщины фиброзной капсулы изученных стадий атеросклеротической бляшки от ее значений в Vc стадии, $p=0,002$, а также между IV и Va стадиями атеросклеротической бляшки, $p=0,0001$ (критерий Манна–Уитни).

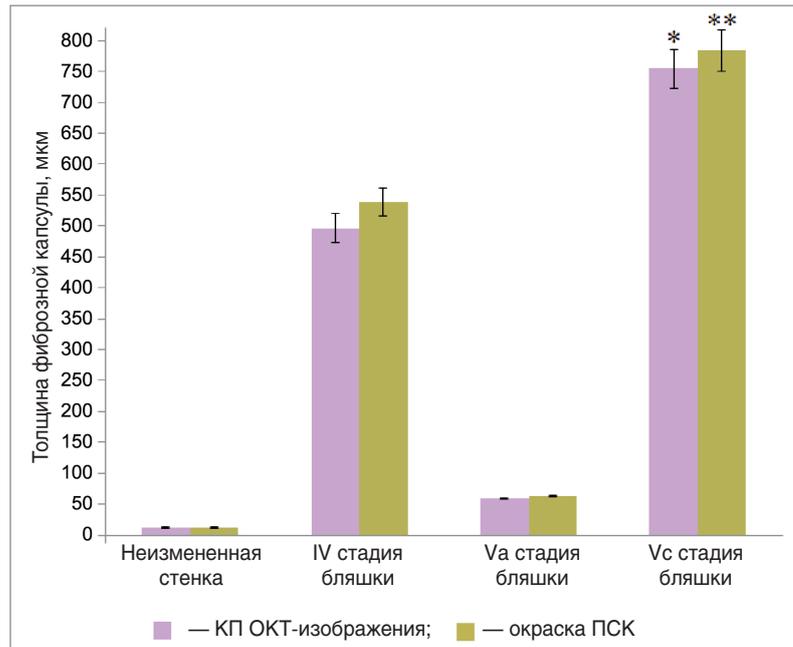
Таблица 1

Толщина фиброзной капсулы в группах с различными стадиями атеросклеротической бляшки аорты

Статистические показатели	Неизменная стенка	IV стадия	Va стадия	Vc стадия
М±SD при окраске ПСК, мкм	12±8	540±24	63±7	785±34
М±SD КП ОКТ-изображений, мкм	12±8	496±25	59±9	760±30
Количество изображений	7	8	8	7
Корреляция Спирмена*	1,00; $p=0,01$	0,81; $p=0,01$	0,90; $p=0,001$	0,89; $p<0,05$
Критерий Манна–Уитни**	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$

* — коэффициент корреляции Спирмена между толщиной фиброзной капсулы на КП ОКТ-изображениях и ПСК-препаратах в общей группе образцов без деления по стадиям составил 0,991 ($p<0,0001$); ** — уровень значимости отличия толщины фиброзной капсулы на КП ОКТ-изображениях и ПСК-препаратах, $p>0,05$ (критерий Манна–Уитни).

Рис. 7. Толщина фиброзной капсулы в группах с различными стадиями атеросклеротической бляшки аорты на КП ОКТ-изображениях в ортогональной поляризации и гистологических препаратах, окрашенных ПСК; * — статистически значимое различие значений с серией ортогональных КП ОКТ-изображений с Vc стадией бляшки, $p < 0,01$ (критерий Манна–Уитни); ** — статистически значимое различие значений с серией гистологических препаратов с Vc стадией бляшки, $p < 0,01$ (критерий Манна–Уитни)



В каждой из групп по стадиям атеросклеротической бляшки был рассчитан коэффициент корреляции между толщиной фиброзной капсулы в ортогональной поляризации и гистологических препаратах, окрашенных ПСК (см. табл. 1). Достоверных различий в толщине капсулы не обнаружено ($p > 0,05$, критерий Манна–Уитни).

Для всех изученных стадий атеросклеротической бляшки установлена высокая корреляция толщины фиброзной капсулы, измеренной на ортогональных изображениях и на гистологических препаратах ($r = 0,81 - 1,00$; $p < 0,05$, см. табл. 1), а толщина фиброзной капсулы атеросклеротической бляшки на ортогональных изображениях в группах в целом (без деления по стадиям атеросклеротической бляшки) коррелирует с толщиной фиброзной капсулы, измеренной на гистологических препаратах ($r = 0,991$; $p < 0,0001$, см. табл. 1). Можно утверждать, что ОКТ-сигнал в ортогональном изображении позволяет идентифицировать состояние коллагеновых волокон фиброзной капсулы, в том числе на участках бляшки с фиброзной капсулой тоньше 65 мкм, что является несомненным преимуществом метода — прижизненное обнаружение нестабильной атеросклеротической бляшки.

«Уязвимость» атеросклеротической бляшки определяется не только малой толщиной фиброзной капсулы, но и степенью дезорганизации ее коллагеновых волокон [20]. Как было показано выше, сигнал в ортогональном изображении обусловлен хорошо организованным коллагеном I типа, который способен деполяризовать зондирующее излучение. Для объективной оценки ОКТ-сигнала в ортогональных изображениях и с целью выработки критерия для диф-

ференциальной диагностики различных стадий атеросклеротической бляшки с фиброзной капсулой над контрастным липидным ядром (IV, Va и Vc стадии атеросклеротической бляшки) был рассчитан ИФД (табл. 2).

Значение ИФД для ткани неизменной стенки аорты составило $0,06 \pm 0,01$ — самый низкий уровень из всех групп. Увеличение ИФД относительно ткани неизменной стенки аорты указывает на повышение деполяризующих свойств стенки аорты вследствие появления в ее составе организованного коллагена I типа. В зависимости от стадии атеросклеротической бляшки фиброзная капсула может иметь разную толщину. Установлено, что при толщине фиброзной капсулы 450–600 мкм ИФД возрастает до $0,21 \pm 0,01$, при толщине 700–800 мкм ИФД еще выше — $0,24 \pm 0,01$. Дезорганизация коллагеновых волокон вследствие выраженного воспалительного процесса в стенке сосуда приводит к истончению фиброзной капсулы, при этом ИФД снижается до $0,10 \pm 0,01$, однако остается статистически значимо выше, чем у ткани неизменной стенки аорты.

Таблица 2

Интегральный фактор деполяризации в группах с различными стадиями атеросклеротической бляшки аорты

Статистические показатели	Неизменная стенка	IV стадия	Va стадия	Vc стадия
M±SD	$0,06 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,01^{**}$	$0,10 \pm 0,01^{**}$	$0,24 \pm 0,01^*$
Количество изображений	7	8	8	7
95% ДИ	0,04–0,08	0,15–0,27	0,12–0,08	0,32–0,16

* — статистически значимое различие значений ИФД атеросклеротических бляшек при различных стадиях и ИФД ткани неизменной стенки аорты, $p = 0,01$ (критерий Манна–Уитни); * — статистически значимое различие значений ИФД IV стадии (атерома) и ИФД Va стадии («уязвимая» бляшка) атеросклеротической бляшки, $p < 0,01$ (критерий Манна–Уитни); 95% ДИ — доверительный интервал 95% вероятности.

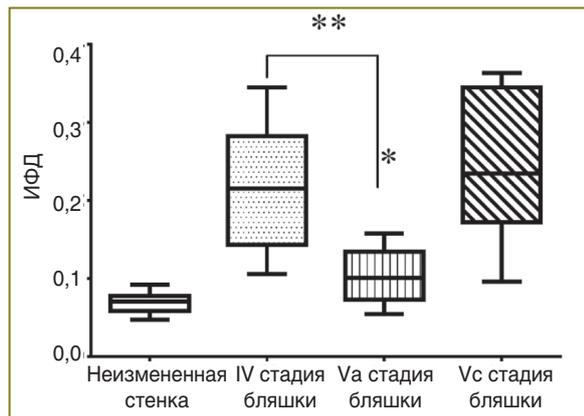


Рис. 8. ИФД КП ОКТ-изображений неизменной стенки и IV, Va, Vc стадий атеросклеротической бляшки аорты; * — статистически значимое различие значений с неизменной стенкой аорты, $p=0,01$ (критерий Манна–Уитни); ** — статистически значимое различие значений между IV и Va стадиями бляшки, $p<0,01$ (критерий Манна–Уитни)

Среди изученных стадий атеросклероза ИФД «уязвимых» бляшек (Va стадия) составил $0,10 \pm 0,01$ и оказался статистически значимо ниже, чем при IV стадии атеросклеротических бляшек ($0,22 \pm 0,01$), которые имели фиброзную капсулу толще 65 мкм (см. рис. 5). Рассчитанный 95% доверительный интервал значений ИФД для «уязвимой» бляшки составил 0,12–0,08 (в пределах двух стандартных отклонений). Автоматическое обнаружение такого показателя при КП ОКТ-исследовании артериальной стенки может указывать на риск появления в фиброзной капсуле зоны, склонной к разрыву (рис. 8).

Коэффициент корреляции Спирмена между ИФД и яркостью свечения коллагеновых волокон на гистологических препаратах, окрашенных ПСК, составил 0,478 ($p<0,05$). Это означает, что экспериментальные данные с вероятностью 95% не противоречат гипотезе о зависимости ИФД от яркости свечения ПСК.

Таким образом, расчет ИФД дает важную дополнительную информацию о состоянии коллагеновых волокон фиброзной капсулы, которая может быть получена ретроспективно и указывать на риск разрыва атеросклеротической бляшки.

Заключение. Кросс-поляризационная оптическая когерентная томография имеет значительные преимущества перед традиционной ОКТ в оценке состояния атеросклеротических бляшек. На ортогональном КП ОКТ-изображении атеросклеротической бляшки четко дифференцируются основные ее структурные компоненты — фиброзная капсула и липидное ядро.

Толщина фиброзной капсулы атеросклеротической бляшки, измеренная на ортогональном КП ОКТ-изображении, коррелирует с толщиной фиброзной капсулы, измеренной на гистологических препаратах (коэффициент корреляции Спирмена=0,991; $p<0,001$).

Интегральный фактор деполяризации, характеризующий функциональное состояние коллагеновых волокон фиброзной капсулы, может быть использован для надежного обнаружения «уязвимой» атеросклероти-

ческой бляшки. Его значение в диапазоне 0,12–0,08 с 95% вероятностью указывает на низкое содержание высокоорганизованного коллагена в фиброзной капсуле, что может расцениваться как склонность бляшки к разрыву.

Финансирование исследования. Работа поддержана Федеральной целевой программой «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (Соглашения №8145 и 8741), грантами Правительства Российской Федерации (Договоры №11.G34.31.0017 и 14.B25.31.0015).

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература

1. Руководство по оптической когерентной томографии. Под ред. Гладковой Н.Д., Шаховой Н.Д., Сергеева А.М. Москва: Физматлит; 2007.
2. Brezinski M.E. Optical coherence tomography. Principles and applications. 2 ed; Elsevier; 2013.
3. Huang D., Swanson E.A., Lin C.P., Schuman J.S., Stinson W.G., Chang W., Hee M.R., Flotte T., Gregory K., Puliafito C.A. Optical coherence tomography. Science 1991 Nov 22; 254(5035): 1178–1181.
4. Jang I.K., Bouma B.E., Kang D.H., Park S.J., Park S.W., Seung K.B., Choi K.B., Shishkov M., Schlendorf K., Pomerantsev E., Houser S.L., Aretz H.T., Tearney G.J. Visualization of coronary atherosclerotic plaques in patients using optical coherence tomography: comparison with intravascular ultrasound. J Am Coll Cardiol 2002 Feb 20; 39(4): 604–609.
5. Brezinski M.E. Optical coherence tomography for identifying unstable coronary plaque. Int J Cardiol 2006 Feb 15; 107(2): 159–170.
6. Choi D.-h., Hiro-Oka H., Shimizu K., Ohbayashi K. Spectral domain optical coherence tomography of multi-MHz A-scan rates at 1310 nm range and real-time 4D-display up to 41 volumes/second. Biomed Opt Express 2012 Dec 1; 3(12): 3067–3086.
7. Brezinski M., Saunders K., Jesser C., Li X., Fujimoto J. Index matching to improve OCT imaging through blood. Circulation 2001 Apr 17; 103(15): 1999–2003.
8. Jang I.K., Tearney G.J., MacNeill B., Takano M., Moselewski F., Iftima N., Shishkov M., Houser S., Aretz H.T., Halpern E.F., Bouma B.E. In vivo characterization of coronary atherosclerotic plaque by use of optical coherence tomography. Circulation 2005 Mar 29; 111(12): 1551–1555.
9. Yamaguchi T., Terashima M., Akasaka T., Hayashi T., Mizuno K., Muramatsu T., Nakamura M., Nakamura S., Saito S., Takano M., Takayama T., Yoshikawa J., Suzuki T. Safety and feasibility of an intravascular optical coherence tomography image wire system in the clinical setting. Am J Cardiol 2008 Mar 1; 101(5): 562–567.
10. Prati F., Cera M., Ramazzotti V., Imola F., Giudice R., Albertucci M. Safety and feasibility of a new non-occlusive technique for facilitated intracoronary optical coherence tomography (OCT) acquisition in various clinical and anatomical scenarios. EuroIntervention 2007 Nov; 3(3): 365–370.
11. Tearney G.J., Waxman S., Shishkov M., Vakoc B.J., Suter M.J., Freilich M.I., Desjardins A.E., Oh W.Y., Bartlett L.A., Rosenberg M., Bouma B.E. Three-dimensional coronary artery microscopy by intracoronary optical frequency domain imaging: first-in-man experience. JACC Cardiovasc Imaging 2008; 1: 752–761.
12. Bezerra H.G., Guagliumi G., Valescchi O. Unraveling the lack of Neointimal hyperplasia detected by intravascular ultrasound using optical coherence tomography: lack of spatial resolution or a true biological effect? J Am Coll Cardiol 2009; 10(Suppl A): 90A.
13. Finn A.V., Joner M., Nakazawa G., Kolodgie F., Newell J., John M.C., Gold H.K., Virmani R. Pathological correlates of late drug-eluting stent thrombosis: strut coverage as a marker of endothelialization. Circulation 2007; 115(18): 2435–2441.

14. Гладкова Н.Д., Губарькова Е.В., Шарабрин Е.Г., Стельмашок В.И., Бейманов А.Э. Возможности и ограничения внутрисосудистой оптической когерентной томографии. *Современные технологии в медицине* 2012; 4: 128–141.

15. Terashima M., Kaneda H., Suzuki T. The role of optical coherence tomography in coronary intervention. *Kor J Intern Med* 2012; 27: 1–12.

16. Virmani R., Kolodgie F.D., Burke A.P., Farb A., Schwartz S.M. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vase Biol* 2000; 20(5): 1262–1275.

17. Honda Y., Fitzgerald P.J. New drugs and technologies. *frontiers in intravascular imaging technologies. Circulation* 2008 Apr 15; 117(15): 2024–2037.

18. Langer H.F., Haubner R., Pichler B.J., Gawaz M. Radionuclide Imaging: a molecular key to the atherosclerotic plaque. *J Am Coll Cardiol* 2008 Jul 1; 52(1): 1–12.

19. Nadkarni S.K., Bouma B.E., de Boer J., Tearney G.J. Evaluation of collagen in atherosclerotic plaques: the use of two coherent laser-based imaging methods. *Laser Med Sci* 2009 May; 24(3): 439–445.

20. Kubo T., Xu C., Wang Z., van Ditzhuijzen N.S., Bezerra H.G. Plaque and thrombus evaluation by optical coherence tomography. *Int J Cardiovasc Imag* 2011 Feb; 27(2): 289–298.

21. MacNeill B.D., Jang I.K., Bouma B.E., Iftimia N., Takano M., Yabushita H., Shishkov M., Kauffman C.R., Houser S.L., Aretz H.T., DeJoseph D., Halpern E.F., Tearney G.J. Focal and multi-focal plaque distributions in patients with macrophage acute and stable presentations of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2004 Sep 1; 44(5): 972–979.

22. Tearney G.J., Yabushita H., Houser S.L., Aretz H.T., Jang I.K., Schendorf K.H., Kauffman C.R., Shishkov M., Halpern E.F., Bouma B.E. Quantification of macrophage content in atherosclerotic plaques by optical coherence tomography. *Circulation* 2003 Jan 7; 107(1): 113–119.

23. Drexler W., Morgner U., Kartner F.X., Pitris C., Boppart S.A., Li X.D. In vivo ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Opt Lett* 1999; 24: 1221–1223.

24. Yabushita H., Bouma B.E., Houser S.L., Aretz T., Jang I.K., Schendorf K.H., Kauffman C.R., Shishkov M., Kang D.H., Halpern E.F., Tearney G.J. Characterization of human atherosclerosis by optical coherence tomography. *Circulation* 2002 Sep 24; 106(13): 1640–1645.

25. Giattina S.D., Courtney B.K., Herz P.R., Harman M., Shortkroff S., Stamper D.L., Liu B., Fujimoto J.G., Brezinski M.E. Assessment of coronary plaque collagen with polarization sensitive optical coherence tomography (PS-OCT). *Int J Cardiol* 2006 Mar 8; 107(3): 400–409.

26. Kuo W.C., Chou N.K., Chou C., Lai C.M., Huang H.J., Wang S.S., Shyu J.J. Polarization-sensitive optical coherence tomography for imaging human atherosclerosis. *Applied Optics* 2007 May 1; 46(13): 2520–2527.

27. Nadkarni S., Pierce M., Park H., de Boer J., Houser S., Bressner J. Polarization-sensitive optical coherence tomography for the analysis of collagen content in atherosclerotic plaques. *Circulation* 2005; 112(17): 679.

28. Nadkarni S.K., Pierce M.C., Park B.H., de Boer J.F., Whittaker P., Bouma B.E., Bressner J.E., Halpern E., Houser S.L., Tearney G.J. Measurement of collagen and smooth muscle cell content in atherosclerotic plaques using polarization-sensitive optical coherence tomography. *J Am Coll Cardiol* 2007 Apr 3; 49(13): 1474–1481.

29. de Boer J.F., Milner T.E., van Gemert M.J., Nelson J.S. Two-dimensional birefringence imaging in biological tissue by polarization-sensitive optical coherence tomography. *Optics Letters* 1997 Jun 15; 22(12): 934–936.

30. Everett M.J., Schoenenberger K., Colston B.W., da Silva L.B. Birefringence characterization of biological tissue by use of optical coherence tomography. *Optics Letters* 1998 Feb 1; 23(3): 228–230.

31. de Boer J.F., Milner T.E. Review of polarization sensitive optical coherence tomography and Stokes vector determination. *J Biomed Optic* 2002 Jul; 7(3): 359–371.

32. Park B.H., Pierce M.C., Cense B., Yun S.H., Mujat M., Tearney G., Bouma B., de Boer J. Real-time fiber-based multi-functional

spectral-domain optical coherence tomography at 1.3 microm. *Optics Express* 2005 May 30; 13(11): 3931–3944.

33. Park B.H., Saxer C., Srinivas S.M., Nelson J.S., de Boer J.F. In vivo burn depth determination by high-speed fiber-based polarization sensitive optical coherence tomography. *J Biomed Optic* 2001 Oct; 6(4): 474–479.

34. Saxer C.E., de Boer J.F., Park B.H., Zhao Y., Chen Z., Nelson J.S. High-speed fiber-based polarization-sensitive optical coherence tomography of in vivo human skin. *Optics Letters* 2000 Sep 15; 25(18): 1355–1357.

35. Zhang J., Jung W., Nelson J.S., Chen Z. Full range polarization-sensitive Fourier domain optical coherence tomography. *Optics Express* 2004 Nov 29; 12(24): 6033–6039.

36. Oh W.Y., Yun S.H., Vakoc B.J., Shishkov M., Desjardins A.E., Park B.H., de Boer J.F., Tearney G.J., Bouma B.E. High-speed polarization sensitive optical frequency domain imaging with frequency multiplexing. *Optics Express* 2008 Jan 21; 16(2): 1096–1103.

37. Suter M.J., Tearney G.J., Oh W.Y., Bouma B.E. Progress in intracoronary optical coherence tomography. *IEEE Selected Topics in Quantum Electronics* 2010 Jul–Aug; 16(4): 706–711.

38. Suter M.J., Nadkarni S.K., Weisz G., Tanaka A., Jaffer F.A., Bouma B.E., Tearney G.J. Intravascular optical imaging technology for investigating the coronary artery. *J Am Coll Cardiol Ima* 2011; 4(9): 1022–1039.

39. Schmitt J.M., Xiang S.H. Cross-polarized backscatter in optical coherence tomography of biological tissue. *Optics Letters* 1998; 23(13): 1060–1062.

40. Feldchtein F., Gelikonov V., Iksanov R., Gelikonov G., Kuranov R., Sergeev A., Gladkova N., Ourutina M., Reitze D., Warren J. In vivo OCT imaging of hard and soft tissue of the oral cavity. *Optics Express* 1998 Sep 14; 3(6): 239–250.

41. Gladkova N., Streltsova O., Zagaynova E., Kiseleva E., Gelikonov V., Gelikonov G., Karabut M., Yunusova K., Evdokimova O. Cross polarization optical coherence tomography for early bladder cancer detection: statistical study. *J Biophotonics* 2011 Aug; 4(7–8): 519–532.

42. Gladkova N., Kiseleva E., Robakidze N., Balalaeva I., Karabut M., Gubarkova E., Feldchtein F. Evaluation of oral mucosa collagen condition with cross-polarization optical coherence tomography. *J Biophotonics* 2013 Apr; 6(4): 321–329.

43. Gladkova N., Kiseleva E., Streltsova O., Prodanets N., Snopova L., Karabut M., Gubarkova E., Zagaynova E. Combined use of fluorescence cystoscopy and cross-polarization OCT for diagnosis of bladder cancer and correlation with immunohistochemical markers. *J Biophotonics* 2013 Sep; 6(9): 687–698.

44. Gelikonov V.M., Gelikonov G.V. New approach to cross-polarized optical coherence tomography based on orthogonal arbitrarily polarized modes. *Laser Phys Lett* 2006; 3(9): 445–451.

45. Feldchtein F.I., Gelikonov V.M., Gelikonov G.V. Polarization-sensitive common path optical coherence reflectometry/tomography device. *US patent 7,728,985, B2* 2010 June 1.

46. Junqueira L.C., Bignolas G., Brentani R.R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection. *J Histochem* 1979; 11: 447–455.

47. Stary H.C., Chandler A.B., Dinsmore R.E., Fuster V., Glagov S., Insull W.J., Rosenfeld M.E., Schwartz C.J., Wagner W.D., Wissler R.W. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1512–1531.

48. Rieber J., Meissner O., Babaryka G., Reim S., Oswald M., Koenig A., Schiele T.M., Shapiro M., Theisen K., Reiser M.F., Klaus V., Hoffmann U. Diagnostic accuracy of optical coherence tomography and intravascular ultrasound for the detection and characterization of atherosclerotic plaque composition in ex vivo coronary specimens: a comparison with histology. *Coron Artery Dis* 2006 Aug; 17(5): 425–430.

49. Киселева Е.Б., Гладкова Н.Д., Сергеева Е.А., Кириллин М.Ю., Губарькова Е.В., Карабут М.М., Балалаева И.В., Стрельцова О.С., Робакидзе Н.С., Масленикова А.В., Кочуева М.В. Способ оценки функционального состояния коллагеносодержащих тканей. Заявка на изобретение №2013135571 от 29.07.2013.