

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ НАБЛЮДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ С ПОМОЩЬЮ МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ: ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ОПУХОЛИ

УДК 681.784.84:616.001.57–006–07
Поступила 27.03.2015 г.

- © **М.А. Сироткина**, к.б.н., научный сотрудник лаборатории индивидуальной химиотерапии рака НИИ биомедицинских технологий¹;
Н.Л. Буянова, младший научный сотрудник научной лаборатории оптической когерентной томографии НИИ биомедицинских технологий, аспирант¹;
Т.И. Калганова, к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории регенеративной медицины НИИ биомедицинских технологий¹;
М.М. Карabut, младший научный сотрудник лаборатории изучения оптической структуры биотканей НИИ биомедицинских технологий¹; аспирант²;
В.В. Елагин, научный сотрудник лаборатории высокоразрешающей микроскопии и генных технологий НИИ биомедицинских технологий¹;
С.С. Кузнецов, д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии¹;
Л.Б. Снопova, д.б.н., зав. морфологическим отделом ЦНИЛ¹;
Г.В. Геликонов, к.ф.-м.н., научный сотрудник научной лаборатории оптической когерентной томографии НИИ биомедицинских технологий¹; зав. лабораторией высокочувствительных оптических измерений³;
В.Ю. Зайцев, д.ф.-м.н., старший научный сотрудник научной лаборатории оптической когерентной томографии НИИ биомедицинских технологий¹; ведущий научный сотрудник отделения геофизических исследований³; ведущий научный сотрудник совместной лаборатории «Волновые методы диагностики лабораторных и природных объектов»^{2,3};
Л.А. Матвеев, к.ф.-м.н., научный сотрудник научной лаборатории оптической когерентной томографии НИИ биомедицинских технологий¹; научный сотрудник отделения геофизических исследований³;
Е.В. Загайнова, д.м.н., директор НИИ биомедицинских технологий¹; зав. кафедрой биомедицины²;
A. Vitkin, PhD M-CCPM, Senior Scientist, Division of Biophysics and Bioimaging, Ontario Cancer Institute / Princess Margaret Cancer Centre; Professor, Department of Medical Biophysics⁴;
Н.Д. Гладкова, д.м.н., профессор, зам. директора по науке НИИ биомедицинских технологий¹

¹Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

²Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Н. Новгород, 603950, проспект Гагарина, 23;

³Институт прикладной физики РАН, Н. Новгород, 603155, ул. Ульянова, 46;

⁴University of Toronto, 610 University Avenue, Toronto, Ontario, M5G 2M9, Canada

Цель исследования — изучение особенностей трансплантации, роста и визуализации экспериментальных опухолей животных с помощью многофункциональной оптической когерентной томографии (ОКТ) для разработки методики оценки индивидуального ответа опухоли на противоопухолевую терапию.

Материалы и методы. Исследования выполнены на экспериментальной установке скоростной спектральной многофункциональной ОКТ, разработанной в ИПФ РАН (Россия). Характеристики установки: скорость получения информации — 20 000 А-сканов в секунду.

Для контактов: Сироткина Марина Александровна, e-mail: sirotkina_m@mail.ru

ду; длина волны — 1,3 мкм; размер кадра ~4×2 мм; поперечное разрешение — 25 мкм; разрешение по глубине — 10 мкм. Оценивали кросс-поляризационные (КП) и микроангиографические (МА) ОКТ-изображения.

Проведено ОКТ-исследование экспериментальной опухолевой модели аденокарциномы кишечника Colo-26 (прививаемой суспензией культуры опухолевых клеток), трансплантированной подкожно на бедре, внутрикожно на ушной раковине и в «окне» в кожную складку на спине мышей линии BALB/c. В случае глубокого подкожного залегания узла работали на открытом кожном лоскуте. КП ОКТ-изображения сопоставляли с гистологическими препаратами (окраска гематоксилином и эозином).

Результаты. Установлено, что подкожно развивающаяся опухоль Colo-26 непригодна для мониторинговых ОКТ-исследований. Применение технологии «открытого кожного лоскута» позволило существенно увеличить глубину визуализации, однако использование этой техники не подходит для ежедневного ОКТ-мониторинга. Модель опухоли в «окне» оптимальна для визуализации сосудов методом ОКТ. Однако наблюдаемые в отдельных случаях воспаление и отек в области опухоли затрудняют МА ОКТ-исследование. Поверхностная опухоль на внешней поверхности уха мыши доступна для ОКТ-исследования на всю глубину, если ее размер в толщину не превышает 1,5 мм. Опухолевая модель на ушной раковине удобна и физиологична для исследования состояния сосудов в ходе роста опухоли.

Заключение. Оптимальной опухолевой моделью для динамического многофункционального ОКТ-наблюдения является опухоль на ушной раковине. Она в отличие от модели на бедре характеризуется поверхностным залеганием узла, хорошо доступным для визуализации. Опухоль, развивающуюся на ухе, можно изучать в динамике, что невозможно сделать на «открытой» опухоли. Опухоль в «окне» также может быть использована для исследования, однако мониторинг роста ограничен ее размером (5–7 мм) ввиду выхода узла за пределы «окна» за счет недостаточной эластичности кожи мышей данной линии.

Ключевые слова: экспериментальная опухолевая модель; аденокарцинома кишечника мышей Colo-26; оптическая когерентная томография; ОКТ; кросс-поляризационная ОКТ; микроангиографическая ОКТ.

English

Development of the Methodology of Monitoring Experimental Tumors Using Multimodal Optical Coherence Tomography: the Choice of an Optimal Tumor Model

M.A. Sirotkina, PhD, Researcher, Laboratory of Individual Chemotherapy of Cancer, Institute of Biomedical Technologies¹;

N.L. Buyanova, Junior Researcher, Laboratory of Optical Coherence Tomography, Institute of Biomedical Technologies; PhD Student¹;

T.I. Kalganova, PhD, Junior Researcher, Laboratory of Regenerative Medicine, Institute of Biomedical Technologies¹;

M.M. Karabut, Junior Researcher, Laboratory of Study of Optical Structure of Biotissue, Institute of Biomedical Technologies¹; PhD Student²;

V.V. Elagin, Researcher, Laboratory of High Resolution Microscopy and Genetic Technologies, Institute of Biomedical Technologies¹;

S.S. Kuznetsov, MD, DSc, Professor, Department of Pathological Anatomy¹;

L.B. Snopova, DSc, Head of the Morphological Department, Central Scientific Research Laboratory¹;

G.V. Gelikonov, PhD, Researcher, Laboratory of Optical Coherence Tomography, Institute of Biomedical Technologies¹; Head of the Laboratory of Highly Sensitive Optical Measurements³;

V.Yu. Zaitsev, DSc, Senior Researcher, Laboratory of Optical Coherence Tomography, Institute of Biomedical Technologies¹; Leading Researcher, Department of Geophysical Research³; Leading Researcher, Laboratory of Wave Diagnostic Methods of Laboratory and Natural Objects^{2, 3};

L.A. Matveev, PhD, Researcher, Laboratory of Optical Coherence Tomography, Institute of Biomedical Technologies¹; Researcher, Department of Geophysical Research³;

E.V. Zagaynova, MD, DSc, Director of Institute of Biomedical Technologies¹; Head of the Department of Biomedicine²;

A. Vitkin, PhD M-CCPM, Senior Scientist, Division of Biophysics and Bioimaging, Ontario Cancer Institute / Princess Margaret Cancer Centre; Professor at the Department of Medical Biophysics⁴;

N.D. Gladkova, MD, DSc, Professor, Vice Director for Science, Institute of Biomedical Technologies¹

¹Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation;

²Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation;

³Institute of Applied Physics, Russian Academy of Sciences, 46 Ul'yanova St., Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation;

⁴University of Toronto, 610 University Avenue, Toronto, Ontario, M5G 2M9, Canada

The objective of the research was to study the features of transplantation, growth and visualization of experimental tumors of animals, using multi-functional optical coherence tomography (OCT) to develop the methodology of evaluation of individual tumor response to anti-cancer therapy.

Materials and Methods. The research was carried out using an experimental high-speed spectral-domain multimodal OCT system developed at the Institute of Applied Physics of the Russian Academy of Sciences (Russia). The technical characteristics of the system are the following: speed of information acquisition, 20,000 A-scans per second; 1.3 μm wavelength; frame size, approximately 4×2 mm; lateral resolution, 25 μm ; and depth resolution, 10 μm . We evaluated cross-polarized (CP) and microangiopathic (MA) OCT images.

We performed an OCT study of the experimental tumor model of colon adenocarcinoma of mice Colo-26 on BALB/c mice (transplanted by suspension of tumor cells culture) inoculated subcutaneously into the thigh, intradermally into auricle, and in a dorsal skin-fold window chamber. In the case of a deep subcutaneous location of a nodule, skin flap over the tumor was surgically opened. CP OCT images were compared with histological preparations (stained using hematoxylin and eosine).

Results. It was established that a Colo-26 tumor growing subcutaneously is not suitable with OCT monitoring investigations. Applying of tumor model with opened skin flap made it possible considerably to increase the visualization depth; however, it is not feasible to use this method for everyday OCT monitoring. The tumor grown within a dorsal window chamber is optimal for the visualization of blood vessels by means the OCT. Nevertheless, the inflammation and edema sometimes observed at the tumor site impeded the MA OCT study. Superficial tumors on the auricle are available for OCT investigation throughout their entire depth if the size of nodule does not exceed 1.5 mm. The tumor model on the auricle is convenient for physiological studies of the state of the vessels during the tumor growth.

Conclusions. The optimal tumor model for dynamic multimodal OCT observation is a tumor on the auricle. Unlike a tumor located on the thigh it is characterized by a subcutaneous location of the nodule yet one which still remains accessible for visualization. The tumor evolving in the ear can be studied using dynamics which would be impossible for the tumor with opened skin flap. Tumors in the dorsal skin window can also be used for research, but the monitoring of their growth is limited to those that are no larger than 5–7 mm, as the nodule goes beyond the window due to the decreased elasticity of the skin, typical of these mice.

Key words: experimental tumor model; colon adenocarcinoma Colo-26; optical coherence tomography; OCT; cross-polarized OCT; microangiopathic OCT.

Основной тенденцией современной экспериментальной и клинической онкологии является индивидуализация лечения, т.е. назначение и коррекция противоопухолевой терапии в соответствии с индивидуальными биологическими свойствами опухоли и ее первичным ответом на лечение. В клинической практике для определения схемы лечения врач-онколог учитывает ряд прогностических факторов: состояние/стадию процесса, рецепторный статус опухоли, возраст и пол пациента, наличие и степень выраженности сопутствующей патологии, предыдущий клинический опыт лечения пациентов с подобными видами рака и т.д. Однако опухоли, имеющие сходные клинические и биологические характеристики, часто ведут себя по-разному в каждом конкретном случае и могут существенно различаться как по чувствительности и ответу на различные виды противоопухолевой терапии (лучевая терапия — ЛТ, химиолучевая терапия — ХЛТ, фотодинамическая терапия — ФДТ), так и по прогнозу [1].

Современные возможности предсказания ответа опухоли на лечение достаточно ограничены. В последние годы в качестве методов, позволяющих оценить изменение биологической активности опухолевого процесса на фоне проводимого лечения, активно используются методы биофотоники. Они позволяют, к примеру, неинвазивно, быстро и относительно дешево определить кислородный статус опухоли, который рассматривается в настоящее время как один из ключевых факторов, определяющих прогноз заболевания и эффективность лечебных воздействий [2].

На сегодняшний день очевидно существование важной и неудовлетворенной потребности в доклинических

и клинических *in vivo* методах визуализации для определения раннего ответа опухоли на проводимое лечение [3]. Разработка чувствительного оптического инструмента визуализации ранних изменений в опухолевых тканях, подверженных цитотоксическому лечению, является актуальной задачей.

Оптическая когерентная томография (ОКТ) — развивающийся многообещающий метод, который способен обнаружить динамику структурных и функциональных изменений ткани опухоли в ответ на терапию [4, 5].

Используемая в данной работе установка для многофункциональной ОКТ (МФ ОКТ) сконструирована с учетом предыдущего опыта построения различных систем оптической когерентной томографии. Использование многофункциональной ОКТ предполагает выявление различных изменений опухоли в ответ на проводимую терапию: клеточного компонента (опухолевые клетки), стромы опухоли (соединительная ткань и внеклеточный матрикс) и микроциркуляторного русла. Ответ разных компонентов опухоли на лечение не одинаков, но в конечном итоге измерим и поддается количественной оценке [6, 7].

Проведение МФ ОКТ-исследования до и после опухолевой терапии (ФДТ, ЛТ и ХЛТ) позволит получить новые знания и сделать шаг в направлении индивидуализации лечения. Это возможно потому, что основной режим ОКТ (детекция обратного рассеяния зондирующего излучения тканями) направлен на оценку ткани опухоли в масштабе ~10 мкм; поляризационная мода выявляет изменения стромы; оценка сосудов опухоли с помощью такой функции ОКТ, как микроангиография в динамике, может рассматриваться как

потенциальный критерий эффективности проведенной терапии.

Необходимый этап успешного применения метода МФ ОКТ в клинической практике — проведение экспериментальных исследований на опухолевых моделях животных для разработки методики МФ ОКТ-исследования и выявления ранних прогностических признаков ответа опухоли на лечение. Главным требованием к объекту исследования методом МФ ОКТ является поверхностная локализация — кожные покровы и слизистые оболочки. При выборе экспериментальной модели руководствовались тем, что в клинических исследованиях было запланировано изучение колоректального рака. В связи с этим остановились на экспериментальной мышинной модели рака кишечника Colo-26. Согласно литературным данным, опухоль Colo-26 отвечает на ФДТ, ЛТ и ХЛТ [8–10].

Известен опыт использования ОКТ для исследования опухоли на бедре, на ухе, в «окне» (a dorsal skinfold window chamber model). Так, А.М. Gobin и соавт. [11] наблюдали изменение ОКТ-сигнала обратного рассеяния при накоплении наночастиц в опухоли, имплантированной на бедре. Благодаря наночастицам, рассеивающим лазерное излучение, глубина визуализации значительно увеличивалась, поэтому кожа над опухолью не препятствовала ее исследованию. В работе Н.-W. Song и соавт. [12] использована модель опухоли на ухе для наблюдения формирования опухолевого узла после инъекции клеток. Модель опухоли в «окне» применяется для визуализации кровеносных сосудов [13].

Цель исследования — изучение особенностей трансплантации, роста и визуализации экспериментальных опухолей животных с помощью многофункциональной ОКТ для разработки методики оценки индивидуального ответа опухоли на противоопухолевую терапию.

Материалы и методы. Исследования выполнены на экспериментальной установке скоростной спектральной МФ ОКТ (рис. 1), разработанной в ИПФ РАН (Н. Новгород, Россия).

Технические характеристики установки МФ ОКТ. МФ ОКТ-установка построена с использованием спектрального принципа приема сигнала [14–18] и обеспечивает скорость получения информации 20 000 А-сканов в секунду. Для исследования объекта используется

широкополосный свет ближнего инфракрасного диапазона (1,3 мкм) мощностью около 15 мВт. Установка оснащена двухкоординатным зондом, осуществляющим сканирование объекта лучом в диапазоне 4×4 мм. Сканирование может выполняться по произвольному закону, что позволяет реализовывать различные режимы получения информации. Установка обеспечивает пространственное разрешение 25×25 мкм в поперечном направлении и около 10 мкм — в глубину. Установка снабжена модулем приема кросс-поляризационного изображения [19]. Программные средства позволяют кроме визуализации ОКТ-изображений в режиме реального времени представлять объемные (3D) изображения и на основе оригинального подхода рассчитывать изображения микрососудистой сети [20]. Физический принцип выделения сосудистой сетки основан на определении временной изменчивости полного комплексного сигнала в каждом элементе изображения, формирующего спекл-структуру. В тех местах, где рассеивающие элементы подвижны, фаза и амплитуда комплексного сигнала спекловых пятен изменяется от скана к скану значительно быстрее по сравнению с окружающей тканью, что позволяет судить о наличии текущей крови в таких местах. Обработка основана на пространственно-временной фильтрации последовательно записанных сильно перекрытых А-сканов при медленном латеральном сканировании (так называемый режим «M-Mode like OCT») [20].

При оптимизации опухолевых моделей проводилась оценка кросс-поляризационных изображений (КП ОКТ) в исходной и ортогональной поляризациях и микроангиографических ОКТ-изображений (МА ОКТ).

Экспериментальные опухолевые модели. В нашем эксперименте опухолевой моделью служила недифференцированная колоректальная аденокарцинома мышей Colo-26. Опухоль трансплантируется подкожной или внутрикожной инъекцией суспензии культуры опухолевых клеток мышам линии BALB/c. В данной работе в сравнительном аспекте исследовали подкожную и внутрикожную инъекцию в бедро, внутрикожную инъекцию в ушную раковину мыши и так называемую модель опухоли в «окне» в складке кожи спины. Прививочная доза во всех случаях составляла 200 тыс. клеток. При трансплантации в бедро в случае глубокого подкожного залегания опухолевого узла ис-



Рис. 1. Система для получения ОКТ-изображений: а — устройство многофункциональной ОКТ; б, в — ОКТ-зонд с торцевым окном

пользовали технологию открытого кожного лоскута. Внутрикожную инъекцию на ухе проводили согласно работе [12], рост опухоли в «окне» моделировали по схеме, описанной в работе [21].

Для верификации структуры опухоли на ОКТ-изображениях и глубины локализации осуществляли параллельное сопоставление с соответствующими гистологическими препаратами, окрашенными по стандартной методике гематоксилином и эозином.

При работе с животными руководствовались «Правилами для проведения работ с использованием экспериментальных животных» [22] и «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» [23], а также неукоснительно соблюдались этические принципы, установленные Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.). На проведение экспериментальных исследований на животных получено разрешение Этического комитета НижГМА (протокол №14 от 10 декабря 2013 г.).

Результаты и обсуждение. Морфологический анализ препаратов опухоли Colo-26 свидетельствует, что она представлена опухолевыми клетками, образующими комплексы и тяжи. Опухоль бедна соединительной тканью, однако имеет хорошо развитую сосудистую сеть (рис. 2, в, г).

При подкожной трансплантации опухоли Colo-26 в область бедра глубина залегания опухолевого узла составляет 130–200 мкм (рис. 2, в). При этом на ОКТ-изображениях опухоль не визуализируется под сильно рассеивающими эпидермисом и дермой (рис. 2, а). Подобная подкожная модель непригодна для мониторинговых ОКТ-исследований.

В случае использования тонких игл 31G (0,26 мм)

удается обеспечить поверхностную инъекцию клеточной культуры Colo-26 и формирование на 5–7-й день одиночных внутрикожных опухолевых узлов размером 3–5 мм (рис. 2, б, г). По морфологическим данным, опухолевый узел формируется на глубине 40–100 мкм от поверхности эпидермиса (рис. 2, г). Однако на КР ОКТ-изображении глубина проникновения сигнала не превышает 350–380 мкм (рис. 2, б). Ввиду того, что оптический сигнал быстро затухает с глубиной, особенно в ортогональной поляризации, исследование внутрикожной опухоли также нецелесообразно.

Большую глубину визуализации опухоли (до 800–900 мкм) можно получить при «открывании» опухоли, другими словами, при работе на открытом кожном лоскуте (рис. 3). На ОКТ-изображении опухоль не имеет структуры, однако наличие сигнала в исходной и ортогональной поляризации позволяет использовать различные подходы к количественной оценке ОКТ-сигнала [24, 25]. При работе с «открытой» опухолью удастся избежать раздражений на поверхности кожи над опухолью, возникающих вследствие депиляции волосяного покрова и/или в результате некроза кожи при прорастании опухоли. Однако существенный недостаток, ограничивающий применение этой техники, — отсутствие возможности ежедневного мониторинга состояния опухолевого узла.

Перспективной альтернативой «открытой» опухоли является моделирование опухоли в «окне» в складке кожи спины. По существу, опухолевый узел остается открытым, при этом рост под стеклом дает возможность проводить динамическое наблюдение процесса (рис. 4) от момента инъекции опухолевых клеток до формирования опухоли размером 5–6 мм. Немаловажным преимуществом этой модели служит удобство наблюдения кровеносных сосудов опухоли и изучение процесса ангиогенеза.

В ходе эксперимента установлено, что длитель-

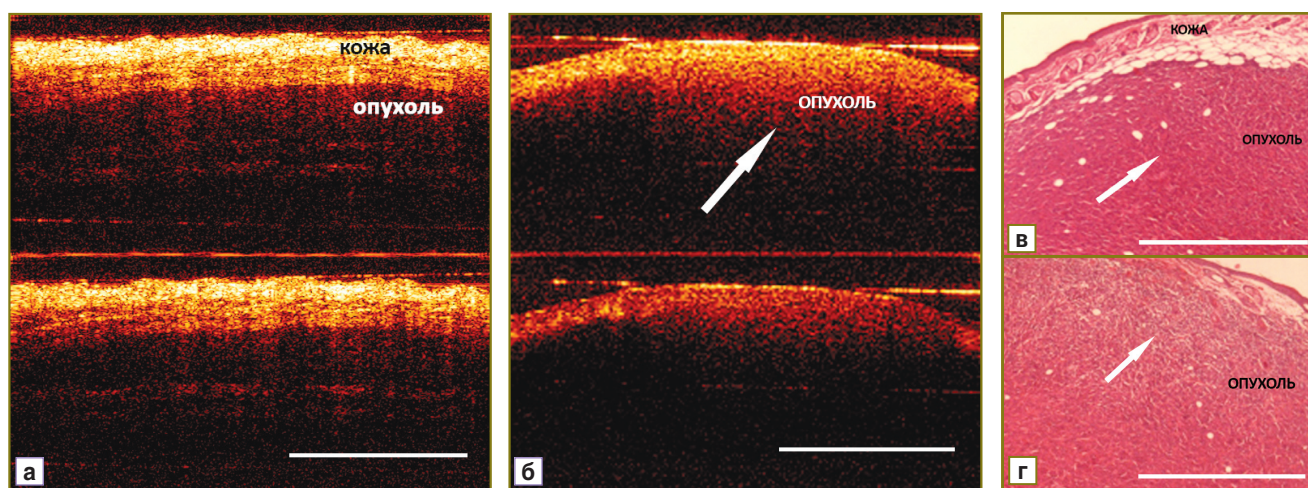


Рис. 2. Исследование опухоли Colo-26 на бедре: а — ОКТ-изображение подкожного узла; б — ОКТ-изображение внутрикожного узла; в — гистологический препарат подкожного узла (окраска гематоксилином и эозином, размер кадра 936×702 мкм, бар — 50 мкм); г — гистологический препарат внутрикожного узла (окраска гематоксилином и эозином, размер кадра 936×702 мкм, бар — 50 мкм). Здесь и далее: верхнее ОКТ-изображение — исходная поляризация, размер 2,7×1,7 мм; нижнее — ортогональная поляризация, размер — 2,7×1,7 мм; бар — 1 мм. Стрелками показана опухоль

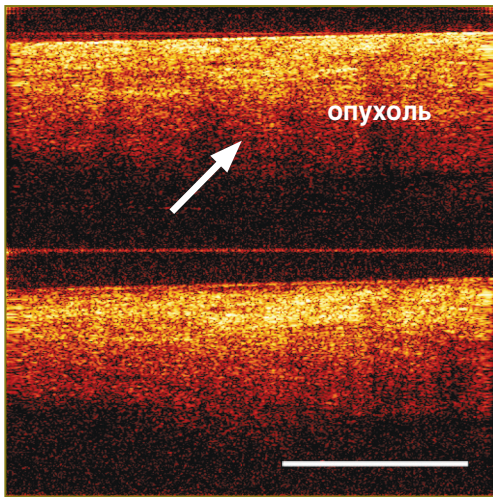


Рис. 3. Пример ОКТ-изображений «открытой» опухоли Colo-26 с применением технологии открытого кожного лоскута; бар — 1 мм. Стрелкой показана опухоль

ность проведения исследования опухоли в «окне» на мышах линии BALB/с ограничена размером 5–7 мм. При дальнейшем росте узла он выходит за пределы «окна» за счет недостаточной эластичности кожи мышей данной линии. Модель опухоли в «окне» прекрасно подходит для визуализации сосудов, в том числе методом ОКТ (рис. 4, г). Однако у мышей с данной моделью в отдельных случаях мы наблюдали воспаление и отек в области опухоли, что затрудняет МА ОКТ-исследования.

Группой Алекса Виткина в модели опухоли в «окне»

для наблюдения МА ОКТ использовались бестимусные мыши (athymic nude mice) [26, 27]. Преимуществом этой линии мышей является высокая эластичность кожи, которая позволяет наблюдать рост опухоли в «окне» длительное время. Однако малодоступность в России и высокая цена данной линии мышей ограничивают их использование в экспериментах.

Поверхностная опухоль может быть моделирована при трансплантации опухоли на внешнюю поверхность ушной раковины мыши. Важным достоинством такой прививки является гарантированный поверхностный рост узла. Это главное условие для проведения ОКТ-исследования. Особенность прививки на ухо — малый объем вводимой жидкости — 10–20 мкл (для примера, в бедро вводят по 50 мкл суспензии клеток), что, возможно, сказывается на относительно низкой прививаемости опухоли (60–80% по сравнению со 100% на бедре) и большим разбросом срока появления узлов у различных особей: от 3–4 до 11 дней. Несмотря на эти особенности (которые можно учесть при планировании эксперимента), модель опухоли на ухе является оптимальной для ОКТ-исследования. Прививка на ухо не требует проведения депиляции перед началом исследования. Это исключает возможность раздражения кожи над опухолью, которое мешает ОКТ-визуализации.

На ранних стадиях формирования узла глубина КР ОКТ-визуализации позволяет наблюдать весь опухолевый узел целиком как в исходной, так и в ортогональной поляризации (рис. 5, а). На ОКТ-изображении отчетливо видны тканевые слои, в том числе хрящ с надхрящницей, собственные сосуды дермы, характерные для ушной раковины и подтвержденные морфологическим

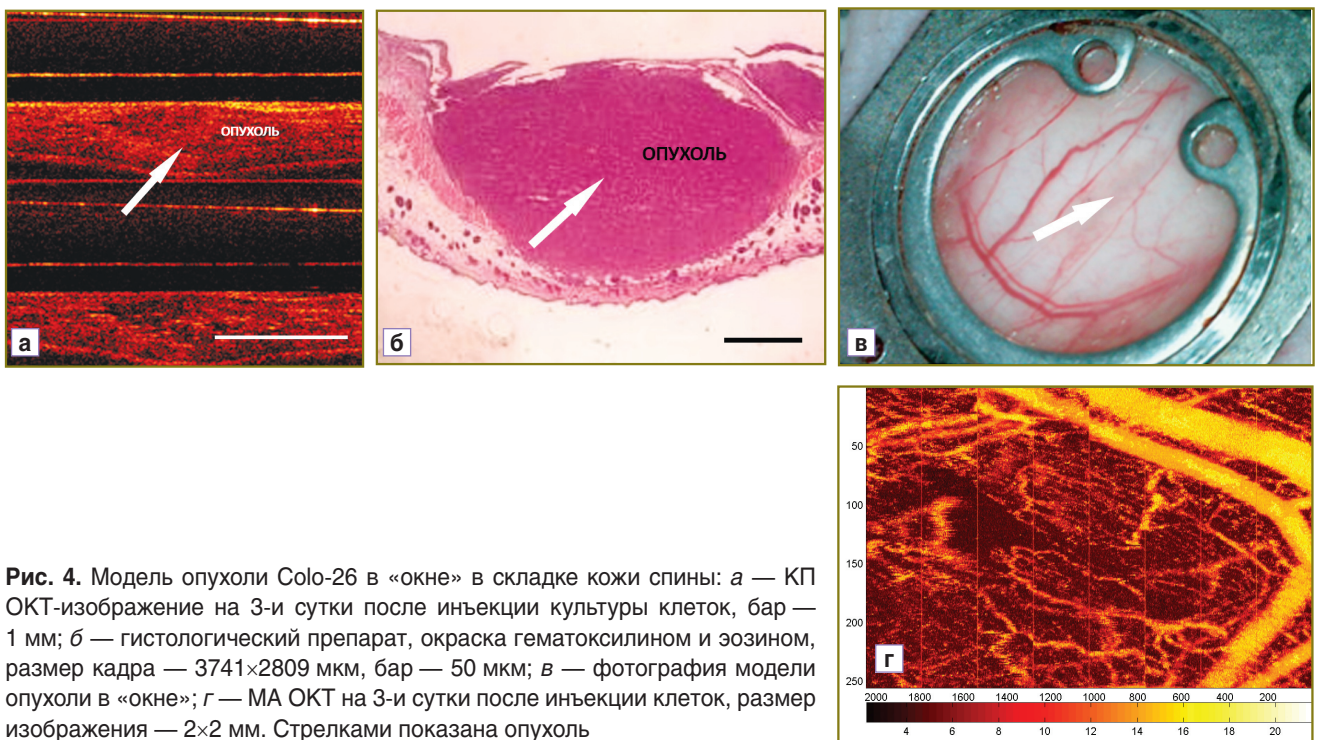


Рис. 4. Модель опухоли Colo-26 в «окне» в складке кожи спины: а — КР ОКТ-изображение на 3-и сутки после инъекции культуры клеток, бар — 1 мм; б — гистологический препарат, окраска гематоксилином и эозином, размер кадра — 3741×2809 мкм, бар — 50 мкм; в — фотография модели опухоли в «окне»; г — МА ОКТ на 3-и сутки после инъекции клеток, размер изображения — 2×2 мм. Стрелками показана опухоль

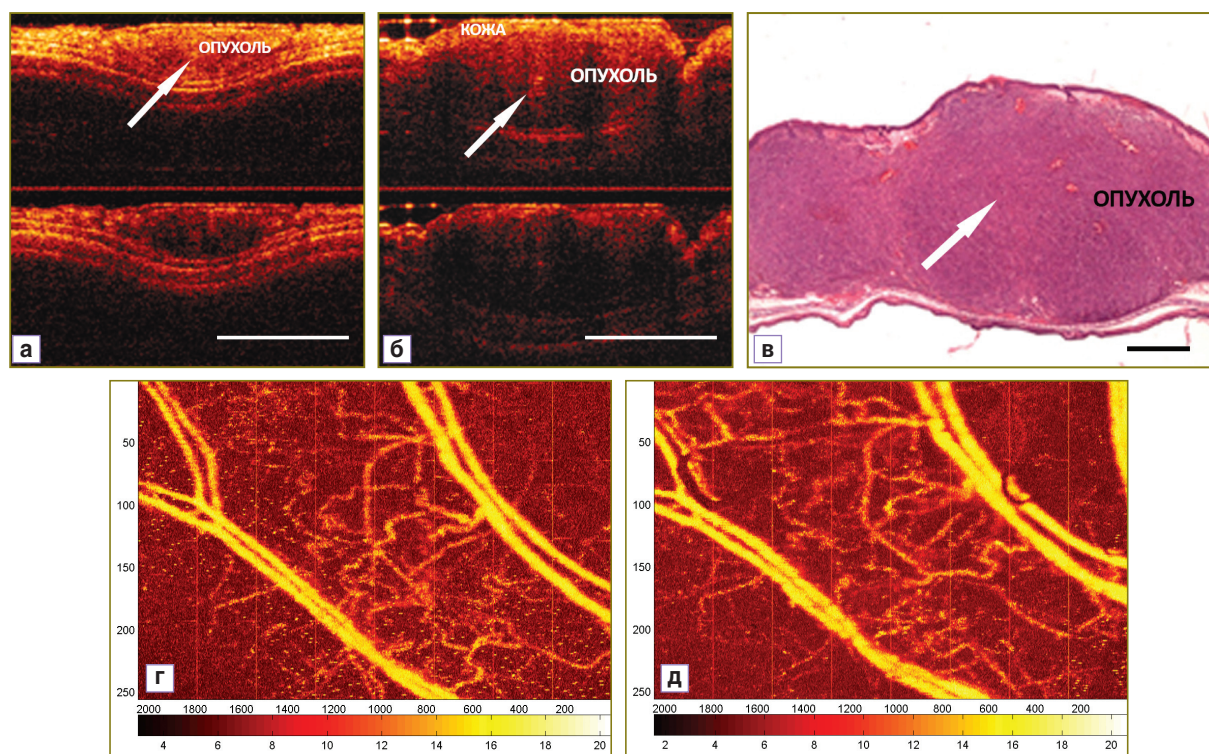


Рис. 5. Модель опухоли Colo-26 на ухе: а, б — КП ОКТ-изображения на 5-е и 11-е сутки после трансплантации, бар — 1 мм; в — гистологический препарат, окраска гематоксилином и эозином, размер кадра — 3745×2809 мкм, бар — 50 мкм; г, д — МА ОКТ-изображения на 5-е и 11-е сутки после трансплантации, размер изображения — 2×2 мм

Характеристика моделей опухоли Colo-26 на мышах линии BALB/c

Характеристика модели		Локализация опухоли Colo-26	
Область трансплантации	На бедре	На ушной раковине	В «окне» в складке кожи спины
Поверхностное расположение опухоли (доступность для ОКТ-исследования)	Чаще на поздних сроках роста	Да	Да
Возможность внутрикожной трансплантации	Вкол тонкими иглами 31 G	Всегда внутрикожный	Да
Глубина залегания узла	130–200 мкм для подкожного узла; 40–100 мкм для внутрикожного узла	20–65 мкм	20–50 мкм
Характеристика КП ОКТ-изображения	ОКТ-сигнал от опухоли — умеренный, быстро спадает по глубине (глубина визуализации не превышает 350 мкм)	Опухоль видна целиком на сроках развития до 14–17 дней от вкола; ОКТ-сигнал проникает на всю глубину узла	Опухоль видна целиком на ранних сроках развития на 7–10-й день; ОКТ-сигнал проникает на всю глубину узла
Некроз участка кожи над опухолью	Образуются обширные участки некроза	Крайне редко образуются участки некроза небольшого размера, только на поздних сроках роста (более 20 дней от вкола)	Нет
Длительность наблюдения	Ограничена образованием некротических корочек на 7–10-й день	В 80–90% случаев длительность наблюдения — до 21-го дня. Ограничена образованием некротических корочек на 14–21-й день	В 80–90% случаев длительность наблюдения — до 7-го дня. Ограничена объемом опухоли. Опухоль не должна выходить за пределы «окна»
Прививаемость	100%	60–80%	80–100%
Возможность КП ОКТ- и МА ОКТ-мониторинга	Ограничена ввиду малой глубины визуализации	Оптимально для КП ОКТ, МА ОКТ	Возможна для КП ОКТ, МА ОКТ, ограничена размером опухоли 5–7 мм

исследованием (рис. 5, в). Развитие опухолевого узла характеризуется размыванием слоев, характерных для нормальной структуры уха, и снижением интенсивности оптического сигнала, особенно в ортогональной поляризации (рис. 5, б).

По морфологическим данным по мере роста опухолевый узел может располагаться либо на глубине от эпидермиса, либо вплотную подрастать к эпидермису (без инвазивного роста в него). Глубина залегания узла варьирует от 20 до 65 мкм (рис. 5, в). Установлено, что опухоль, трансплантированная на ухо, является наиболее поверхностной и легко доступной для ОКТ-наблюдения, в том числе в динамике. Опухоль доступна для ОКТ-исследования на всю глубину, если ее размер не превышает 1,5 мм (рис. 5, а, б).

В таблице представлены сравнительные данные о моделях опухоли Colo-26, трансплантированной на бедро, ухо и в «окно» мышам линии BALB/c.

Заключение. При изучении в сравнительном аспекте особенностей трансплантации, роста и визуализации методом многофункциональной ОКТ экспериментальной опухолевой модели Colo-26 у мышей линии BALB/c, трансплантированной на бедро (в том числе «открытая» опухоль), ушную раковину, складку кожи спины (так называемая модель опухоли в «окне»), установлено, что оптимальной опухолевой моделью для динамического МФ ОКТ-наблюдения является опухоль на ушной раковине. Она, в отличие от модели на бедре, характеризуется поверхностным залеганием узла, хорошо доступным для визуализации. Опухоль, развивающаяся на ухе, можно изучать в динамике, что невозможно сделать на «открытой» опухоли. Опухоль в «окне» также может быть использована для МФ ОКТ, однако мониторинг роста ограничен ее размером — 5–7 мм — ввиду выхода узла за пределы «окна» за счет недостаточной эластичности кожи мышей данной линии.

Финансирование исследования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Правительства Российской Федерации, Министерства образования и науки Российской Федерации (договор №14. В25.31.0015). Исследования по совершенствованию методики получения МА ОКТ-изображений выполнены при частичной поддержке гранта РФФИ 15-42-02513 и контракта 02.В49.21.0003 между Министерством образования и науки Российской Федерации и Нижегородским государственным университетом.

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература

1. Von Minckwitz G., Untch M., Blohmer J.-U., Costa S.D., Eidtmann H., Fasching P.A., Gerber B., Eiermann W., Hilfrich J., Huober J., Jackisch C., Kaufmann M., Konecny G.E., Denkert C., Nekljudova V., Mehta K., Loibl S. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2012; 30(15): 1796–1804, <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2011.38.8595>.

2. Vaupel P. Prognostic potential of the pre-therapeutic tumor oxygenation status. *Adv Exp Med Biol* 2009; 645: 241–246, http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-85998-9_36.

3. Yoo S.Y., Kim J.-S., Sung K.W., Jeon T.Y., Choi J.Y., Moon S.H., Son M.H., Lee S.H., Yoo K.H., Koo H.H. The degree of tumor volume reduction during the early phase of induction chemotherapy is an independent prognostic factor in patients with high-risk neuroblastoma. *Cancer* 2013; 119(3): 656–664, <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.27775>.

4. Standish B.A., Lee K.K.C., Jin X., Mariampillai A., Munce N.R., Wood M.F.G., Wilson B.C., Vitkin I.A., Yang V.X.D. 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): 9987–9995, <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1128>.

5. Davoudi B., Morrison M., Bizheva K., Yang V.X.D., Dinniwel R., Levin W., Vitkin I.A. Optical coherence tomography platform for microvascular imaging and quantification: initial experience in late oral radiation toxicity patients. *J Biomed Opt* 2013; 18(7): 076008, <http://dx.doi.org/10.1117/1.jbo.18.7.076008>.

6. Zaitsev V.Yu., Gelikonov V.M., Matveev L.A., Gelikonov G.V., Matveyev A.L., Shilyagin P.A., Vitkin I.A. Recent trends in multimodal optical coherence tomography. I. Polarization-sensitive OCT and conventional approaches to OCT elastography. *Radiophysics and Quantum Electronics* 2014; 57(1): 52–66, <http://dx.doi.org/10.1007/s11141-014-9493-x>.

7. Zaitsev V.Yu., Vitkin I.A., Matveev L.A., Gelikonov V.M., Matveyev A.L., Gelikonov G.V. Recent trends in multimodal optical coherence tomography. II. The correlation-stability approach in OCT elastography and methods for visualization of microcirculation. *Radiophysics and Quantum Electronics* 2014; 57(3): 210–225, <http://dx.doi.org/10.1007/s11141-014-9505-x>.

8. Daenen L.G.M., Roodhart J.M.L., van Amersfoort M., Dehnad M., Roessingh W., Ulfman L.H., Derksen P.W.B., Voest E.E. Chemotherapy enhances metastasis formation via VEGFR-1-expressing endothelial cells. *Cancer Res* 2011; 71(22): 6976–6985, <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-11-0627>.

9. Lee W.-C., Chang C.-H., Ho C.-L., Chen L.-C., Wu Y.-H., Chen J.-T., Wang Y.-L., Lee T.-W. Early detection of tumor response by FLT/MicroPET imaging in a C26 Murine colon carcinoma solid tumor animal model. *J Biomed Biotechnol* 2011, <http://dx.doi.org/10.1155/2011/535902>.

10. Park H., Na K. Conjugation of the photosensitizer Chlorin e6 to pluronic F127 for enhanced cellular internalization for photodynamic therapy. *Biomaterials* 2013; 34(28): 6992–7000, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.05.070>.

11. Gobin A.M., Lee M.H., Halas N.J., James W.D., Drezek R.A., West J.L. Near-infrared resonant nanoshells for combined optical imaging and photothermal cancer therapy. *NanoLetters* 2007; 7(7): 1929–1934, <http://dx.doi.org/10.1021/nl070610y>.

12. Song H.-W., Lee S.-W., Jung M.-H., Kim K.R., Yang S., Won Park J., Jeong M.-S., Jung M.Y., Kim S. Optical monitoring of tumors in BALB/c nude mice using optical coherence tomography. *Journal of the Optical Society of Korea* 2013; 17(1): 91–96, <http://dx.doi.org/10.3807/josk.2013.17.1.091>.

13. Skala M.C., Fontanella A., Hendargo H., Dewhirst M.W., Izatt J.A. Combined hyperspectral and spectral domain optical coherence tomography microscope for non-invasive

hemodynamic imaging. *Opt Lett* 2009; 34(3): 289–291, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.34.000289>.

14. Leitgeb R., Hitzinger C., Fercher A. Performance of Fourier domain vs. time domain optical coherence tomography. *Opt Express* 2003; 11(8): 889–894, <http://dx.doi.org/10.1364/oe.11.000889>.

15. Gelikonov V.M., Gelikonov G.V., Shilyagin P.A. Linear-wavenumber spectrometer for high-speed spectral-domain optical coherence tomography. *Optics and Spectroscopy* 2009; 106(3): 459–465, <http://dx.doi.org/10.1134/s0030400x09030242>.

16. Gelikonov V.M., Gelikonov G.V., Kasatkina I.V., Terpelov D.A., Shilyagin P.A. Coherent noise compensation in spectral-domain optical coherence tomography. *Optics and Spectroscopy* 2009; 106(6): 895–900, <http://dx.doi.org/10.1134/s0030400x09060174>.

17. Gelikonov V.M., Gelikonov G.V., Terpelov D.A., Shabanov D.V., Shilyagin P.A. Suppression of image autocorrelation artefacts in spectral domain optical coherence tomography and multiwave digital holography. *Quantum Electronics* 2012; 42(5): 390, <http://dx.doi.org/10.1070/QE2012v042n05ABEH014852>.

18. Shilyagin P.A., Gelikonov G.V., Gelikonov V.M., Moiseev A.A., Terpelov D.A. Achromatic registration of quadrature components of the optical spectrum in spectral domain optical coherence tomography. *Quantum Electronics* 2014; 44(7): 664, <http://dx.doi.org/10.1070/QE2014v044n07ABEH015465>.

19. 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, <http://dx.doi.org/10.1002/lapl.200610030>.

20. Matveev L.A., Zaitsev V.Yu., Gelikonov G.V., Matveyev A.L., Moiseev A.A., Ksenofontov S.Yu., Gelikonov V.M., Sirotkina M.A., Gladkova N.D., Demidov V., Vitkin A. Hybrid M-mode-like OCT imaging of three-dimensional microvasculature in vivo using reference-free processing of complex valued B-scans. *Opt Lett* 2015; 40(7): 1472–1475, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.40.001472>.

21. Li C.-Y., Shan S., Huang Q., Braun R.D., Lanzen J., Hu K., Lin P., Dewhirst M.W. Initial stages of tumor cell-induced angiogenesis: evaluation via skin window chambers in rodent models. *J Nat Cancer Inst* 2000; 92(2): 143–147, <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/92.2.143>.

22. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 №708н «Об утверждении Правил лабораторной практики».

23. Международные рекомендации (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных. 1985.

24. Kiseleva E., Kirillin M., Feldchtein F., Vitkin A., Sergeeva E., Zagaynova E., Streltsova O., Shakhov B., Gubarkova E., Gladkova N. Differential diagnosis of human bladder mucosa pathologies *in vivo* with cross-polarization optical coherence tomography. *Biomed Opt Express* 2015; 6(4): 1464–1476, <http://dx.doi.org/10.1364/BOE.6.001464>.

25. Kirillin M.Yu., Farhat G., Sergeeva E.A., Kolios M.C., Vitkin A. Speckle statistics in OCT images: Monte Carlo simulations and experimental studies. *Opt Lett* 2014; 39(12): 3472–3475, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.39.003472>.

26. Mariampillai A., Standish B.A., Moriyama E.H., Khurana M., Munce N.R., Leung M.K.K., Jiang J., Cable A., Wilson B.C., Vitkin I.A., Yang V.X.D. Speckle variance detection

of microvasculature using swept-source optical coherence tomography. *Opt Lett* 2008; 33(13): 1530–1532, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.33.001530>.

27. Mariampillai A., Leung M.K.K., Jarvi M., Standish B.A., Lee K., Wilson B.C., Vitkin A., Yang V.X.D. Optimized speckle variance OCT imaging of microvasculature. *Opt Lett* 2010; 35(8): 1257–1259, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.35.001257>.

References

1. Von Minckwitz G., Untch M., Blohmer J.-U., Costa S.D., Eidtmann H., Fasching P.A., Gerber B., Eiermann W., Hilfrich J., Hofer J., Jackisch C., Kaufmann M., Konecny G.E., Denkert C., Nekljudova V., Mehta K., Loibl S. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2012; 30(15): 1796–1804, <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2011.38.8595>.

2. Vaupel P. Prognostic potential of the pre-therapeutic tumor oxygenation status. *Adv Exp Med Biol* 2009; 645: 241–246, http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-85998-9_36.

3. Yoo S.-Y., Kim J.-S., Sung K.W., Jeon T.-Y., Choi J.-Y., Moon S.H., Son M.H., Lee S.H., Yoo K.H., Koo H.H. The degree of tumor volume reduction during the early phase of induction chemotherapy is an independent prognostic factor in patients with high-risk neuroblastoma. *Cancer* 2013; 119(3): 656–664, <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.27775>.

4. Standish B.A., Lee K.K.C., Jin X., Mariampillai A., Munce N.R., Wood M.F.G., Wilson B.C., Vitkin I.A., Yang V.X.D. 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): 9987–9995, <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1128>.

5. Davoudi B., Morrison M., Bizheva K., Yang V.X.D., Dinniwel R., Levin W., Vitkin I.A. Optical coherence tomography platform for microvascular imaging and quantification: initial experience in late oral radiation toxicity patients. *J Biomed Opt* 2013; 18(7): 076008, <http://dx.doi.org/10.1117/1.jbo.18.7.076008>.

6. Zaitsev V.Yu., Gelikonov V.M., Matveev L.A., Gelikonov G.V., Matveyev A.L., Shilyagin P.A., Vitkin I.A. Recent trends in multimodal optical coherence tomography. I. Polarization-sensitive OCT and conventional approaches to OCT elastography. *Radiophysics and Quantum Electronics* 2014; 57(1): 52–66, <http://dx.doi.org/10.1007/s11141-014-9493-x>.

7. Zaitsev V.Yu., Vitkin I.A., Matveev L.A., Gelikonov V.M., Matveyev A.L., Gelikonov G.V. Recent trends in multimodal optical coherence tomography. II. The correlation-stability approach in OCT elastography and methods for visualization of microcirculation. *Radiophysics and Quantum Electronics* 2014; 57(3): 210–225, <http://dx.doi.org/10.1007/s11141-014-9505-x>.

8. Daenen L.G.M., Roodhart J.M.L., van Amersfoort M., Dehnad M., Roessingh W., Ulfman L.H., Derksen P.W.B., Voest E.E. Chemotherapy enhances metastasis formation via VEGFR-1-expressing endothelial cells. *Cancer Res* 2011; 71(22): 6976–6985, <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-11-0627>.

9. Lee W.-C., Chang C.-H., Ho C.-L., Chen L.-C., Wu Y.-H., Chen J.-T., Wang Y.-L., Lee T.-W. Early detection of tumor response by FLT/MicroPET imaging in a C26 Murine colon carcinoma solid tumor animal model. *J Biomed Biotechnol* 2011, <http://dx.doi.org/10.1155/2011/535902>.

10. Park H., Na K. Conjugation of the photosensitizer Chlorin e6 to pluronic F127 for enhanced cellular internalization for photodynamic therapy. *Biomaterials* 2013; 34(28): 6992–7000, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.05.070>.
11. Gobin A.M., Lee M.H., Halas N.J., James W.D., Drezek R.A., West J.L. Near-infrared resonant nanoshells for combined optical imaging and photothermal cancer therapy. *NanoLetters* 2007; 7(7): 1929–1934, <http://dx.doi.org/10.1021/nl070610y>.
12. Song H.-W., Lee S.-W., Jung M.-H., Kim K.R., Yang S., Won Park J., Jeong M.-S., Jung M.Y., Kim S. Optical monitoring of tumors in BALB/c nude mice using optical coherence tomography. *Journal of the Optical Society of Korea* 2013; 17(1): 91–96, <http://dx.doi.org/10.3807/josk.2013.17.1.091>.
13. Skala M.C., Fontanella A., Hendargo H., Dewhirst M.W., Izatt J.A. Combined hyperspectral and spectral domain optical coherence tomography microscope for non-invasive hemodynamic imaging. *Opt Lett* 2009; 34(3): 289–291, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.34.000289>.
14. Leitgeb R., Hitzinger C., Fercher A. Performance of fourier domain vs. time domain optical coherence tomography. *Opt Express* 2003; 11(8): 889–894, <http://dx.doi.org/10.1364/oe.11.000889>.
15. Gelikonov V.M., Gelikonov G.V., Shilyagin P.A. Linear-wavenumber spectrometer for high-speed spectral-domain optical coherence tomography. *Optics and Spectroscopy* 2009; 106(3): 459–465, <http://dx.doi.org/10.1134/s0030400x09030242>.
16. Gelikonov V.M., Gelikonov G.V., Kasatkina I.V., Terpelov D.A., Shilyagin P.A. Coherent noise compensation in spectral-domain optical coherence tomography. *Optics and Spectroscopy* 2009; 106(6): 895–900, <http://dx.doi.org/10.1134/s0030400x09060174>.
17. Gelikonov V.M., Gelikonov G.V., Terpelov D.A., Shabanov D.V., Shilyagin P.A. Suppression of image autocorrelation artefacts in spectral domain optical coherence tomography and multiwave digital holography. *Quantum Electronics* 2012; 42(5): 390, <http://dx.doi.org/10.1070/QE2012v042n05ABEH014852>.
18. Shilyagin P.A., Gelikonov G.V., Gelikonov V.M., Moiseev A.A., Terpelov D.A. Achromatic registration of quadrature components of the optical spectrum in spectral domain optical coherence tomography. *Quantum Electronics* 2014; 44(7): 664, <http://dx.doi.org/10.1070/QE2014v044n07ABEH015465>.
19. 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, <http://dx.doi.org/10.1002/lapl.200610030>.
20. Matveev L.A., Zaitsev V.Yu., Gelikonov G.V., Matveyev A.L., Moiseev A.A., Ksenofontov S.Yu., Gelikonov V.M., Sirotkina M.A., Gladkova N.D., Demidov V., Vitkin A. Hybrid M-mode-like OCT imaging of three-dimensional microvasculature in vivo using reference-free processing of complex valued B-scans. *Opt Lett* 2015; 40(7): 1472–1475, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.40.001472>.
21. Li C.-Y., Shan S., Huang Q., Braun R.D., Lanzen J., Hu K., Lin P., Dewhirst M.W. Initial stages of tumor cell-induced angiogenesis: evaluation via skin window chambers in rodent models. *J Nat Cancer Inst* 2000; 92(2): 143–147, <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/92.2.143>.
22. Prikaz *Minzdravsotsrazvitiya RF ot 23.08.2010 №708n "Ob utverzhdenii Pravil laboratornoy praktiki"* [Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation Decree No.708n as of Aug 23, 2010 "On Good Laboratory Practices of the Russian Federation"].
23. *Mezhdunarodnye rekomendatsii (eticheskii kodeks) po provedeniyu mediko-biologicheskikh issledovaniy s ispol'zovaniem zhivotnykh* [International guiding principles (ethical code) for biomedical research involving animals]. 1985.
24. Kiseleva E., Kirillin M., Feldchtein F., Vitkin A., Sergeeva E., Zagaynova E., Streltsova O., Shakhov B., Gubarkova E., Gladkova N. Differential diagnosis of human bladder mucosa pathologies in vivo with cross-polarization optical coherence tomography. *Biomed Opt Express* 2015; 6(4): 1464–1476, <http://dx.doi.org/10.1364/BOE.6.001464>.
25. Kirillin M.Yu., Farhat G., Sergeeva E.A., Kolios M.C., Vitkin A. Speckle statistics in OCT images: Monte Carlo simulations and experimental studies. *Opt Lett* 2014; 39(12): 3472–3475, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.39.003472>.
26. Mariampillai A., Standish B.A., Moriyama E.H., Khurana M., Munce N.R., Leung M.K.K., Jiang J., Cable A., Wilson B.C., Vitkin I.A., Yang V.X.D. Speckle variance detection of microvasculature using swept-source optical coherence tomography. *Opt Lett* 2008; 33(13): 1530–1532, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.33.001530>.
27. Mariampillai A., Leung M.K.K., Jarvi M., Standish B.A., Lee K., Wilson B.C., Vitkin A., Yang V.X.D. Optimized speckle variance OCT imaging of microvasculature. *Opt Lett* 2010; 35(8): 1257–1259, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.35.001257>.