

# МУЛЬТИМОДАЛЬНАЯ ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ ТОМОГРАФИЯ КАК МЕТОД ВИЗУАЛИЗАЦИИ СТРУКТУРЫ ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ГЛИОБЛАСТОМЕ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

DOI: 10.17691/stm2016.8.1.10

УДК 616.833.001.6–006.6–073.756.8

Поступила 9.02.2015 г.



**К.С. Яшин**, аспирант отделения нейрохирургии<sup>1</sup>;

**М.М. Карabut**, младший научный сотрудник лаборатории изучения оптической структуры биотканей НИИ биомедицинских технологий<sup>2</sup>;

**В.В. Федосеева**, младший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии<sup>3</sup>;

**А.С. Халанский**, к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории нейроморфологии<sup>3</sup>;

**Л.А. Матвеев**, к.ф.-м.н., научный сотрудник лаборатории оптической когерентной томографии НИИ биомедицинских технологий<sup>2</sup>; научный сотрудник отделения геофизических исследований<sup>4</sup>;

**В.В. Елагин**, научный сотрудник лаборатории высокоразрешающей микроскопии и генных технологий НИИ биомедицинских технологий<sup>2</sup>;

**С.С. Кузнецов**, д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии<sup>2</sup>;

**Е.Б. Киселева**, к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории изучения оптической структуры биотканей НИИ биомедицинских технологий<sup>2</sup>;

**Л.Я. Кравец**, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник группы микронеурологии<sup>1</sup>;

**И.А. Медяник**, к.м.н., старший научный сотрудник группы микронеурологии<sup>1</sup>;

**Н.Д. Гладкова**, д.м.н., профессор, зам. директора по науке НИИ биомедицинских технологий<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр Минздрава России, Н. Новгород, 603155, Верхне-Волжская набережная, 18;

<sup>2</sup>Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

<sup>3</sup>Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, 117418, ул. Цюрупы, 3;

<sup>4</sup>Институт прикладной физики РАН, Н. Новгород, 603950, ул. Ульянова, 46

**Цель исследования** — изучение возможностей мультимодальной ОКТ (ММ ОКТ) в дифференциации нормальной и патологически измененной ткани головного мозга на примере экспериментальной модели глиобластомы.

**Материалы и методы.** Исследования выполнены на экспериментальной установке скоростной спектральной ММ ОКТ, разработанной в ИПФ РАН (Н. Новгород) и включающей два режима исследования: кросс-поляризационную ОКТ (КП ОКТ) и спектральную микроангиографическую ОКТ (МА ОКТ). Характеристики установки: скорость получения информации — 20 000 А-сканов в секунду; длина волны — 1,3 мкм; размер кадра ~4×2 мм; поперечное разрешение — 20 мкм; разрешение по глубине — 10–15 мкм. ОКТ-исследование проведено на экспериментальной опухолевой модели глиобластомы крысы 101.8, которая была привита и поддерживается в Институте морфологии человека. С целью оценки параметров сигнала, характерных для опухоли и неизменной мозговой ткани, КП ОКТ- и МА ОКТ-изображения сопоставляли с гистологическими препаратами (окраска гематоксилином и эозином). Анализ МА ОКТ-изображений также проводили на основании сравнения с данными ZOOM-микроскопии.

**Результаты.** На примере модели глиобластомы крысы 101.8 установлена связь характера КП ОКТ-изображений участков ткани головного мозга с их морфологической структурой. Произведена сравнительная оценка сигналов от глиальной опухоли и неизменной мозговой ткани. МА ОКТ позволяет визуализировать опухолевые и нормальные мозговые сосуды, выявляя характерные изменения формы и размеров сосудов опухоли.

**Заключение.** ММ ОКТ является инновационной технологией, перспективной для использования в качестве метода интраоперационной диагностики при глиальных опухолях головного мозга. Возможность сочетать несколько режимов исследования позволяет одновременно получать информацию как о структуре ткани, так и об особенностях строения микрососудистой сети и ее элементов.

**Ключевые слова:** оптическая когерентная томография; микроангиографическая ОКТ; глиобластома; кросс-поляризационная ОКТ; мультимодальная ОКТ; экспериментальная опухолевая модель; глиобластома крысы 101.8; интраоперационная диагностика.

**Как цитировать:** Yashin K.S., Karabut M.M., Fedoseeva V.V., Khalansky A.S., Matveev L.A., Elagin V.V., Kuznetsov S.S., Kiseleva E.B., Kravets L.Ya., Medyanik I.A., Gladkova N.D. Multimodal optical coherence tomography as a method for visualizing glioblastomal brain tissue structure (experimental study). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2016; 8(1): 73–81, <http://dx.doi.org/10.17691/stm2016.8.1.10>.

**Для контактов:** Яшин Константин Сергеевич, e-mail: jashinmed@gmail.com

## Multimodal Optical Coherence Tomography in Visualization of Brain Tissue Structure at Glioblastoma (Experimental Study)

**K.S. Yashin**, PhD Student, Department of Neurosurgery<sup>1</sup>;

**M.M. Karabut**, Junior Researcher, Laboratory of the Study of Optical Structure of Biotissue, Institute of Biomedical Technologies<sup>2</sup>;

**V.V. Fedoseeva**, Junior Researcher, Laboratory Neuromorphology<sup>3</sup>;

**A.S. Khalansky**, MD, PhD, Leading Researcher, Laboratory Neuromorphology<sup>3</sup>;

**L.A. Matveev**, PhD, Researcher, Laboratory of Optical Coherence Tomography, Institute of Biomedical Technologies<sup>2</sup>; Researcher, Department of Geophysical Studies<sup>4</sup>;

**V.V. Elagin**, Researcher, Laboratory of High Resolution Microscopy and Genetic Technologies, Institute of Biomedical Technologies<sup>2</sup>;

**S.S. Kuznetsov**, MD, DSc, Professor, Department of Pathological Anatomy<sup>2</sup>;

**E.B. Kiseleva**, PhD, Junior Researcher, Laboratory for the Study of Optical Structure of Biotissue, Institute of Biomedical Technologies<sup>2</sup>;

**L.Ya. Kravets**, MD, DSc, Professor, Chief Researcher, Group Microneurosurgery<sup>1</sup>;

**I.A. Medyanik**, MD, PhD, Senior Researcher, Group Microneurosurgery<sup>1</sup>;

**N.D. Gladkova**, MD, DSc, Professor, Vice Director for Science, Institute of Biomedical Technologies<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Privolzhsky Federal Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation, 18 Verkhne-Volzhskaia naberezhnaya St., Nizhny Novgorod, 603155, Russian Federation;

<sup>2</sup>Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation;

<sup>3</sup>Research Institute of Human Morphology, Zurupy St., 3, Moscow, 117418, Russian Federation;

<sup>4</sup>Institute of Applied Physics, Russian Academy of Sciences, 46 Ul'yanova St., Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation

**The aim of the investigation** was to evaluate the performance of multimodal OCT (MM OCT) for differential diagnostics of normal and diseased brain tissue using an experimental model of glioblastoma.

**Materials and Methods.** The spectral domain MM OCT device developed at the Institute of Applied Physics of the Russian Academy of Sciences (Nizhny Novgorod, Russia) was used for the study. It provides two modes of investigation: cross-polarization OCT (CP OCT) and microangiographic OCT (MA OCT). The instrument features the following characteristics: rate of information gathering — 20,000 A-scans per second; wavelength — 1.3  $\mu\text{m}$ ; shot size —  $\sim 4 \times 2$  mm; lateral resolution — 20  $\mu\text{m}$ ; axial resolution — 10–15  $\mu\text{m}$ . The OCT investigation was performed on an experimental 101.8 rat brain glioblastoma tumor model inoculated and maintained in the Research Institute of Human Morphology. To evaluate the signal parameters typical of the tumor and of normal brain tissue, CP OCT and MA OCT images were compared with histological specimens (stained with hematoxylin and eosin). Analysis of the MA OCT images was performed on the basis of comparison with the findings of ZOOM-microscopy.

**Results.** The model of the rat 101.8 glioblastoma helped to identify links between CP OCT images of areas of brain tissue and their morphological structure. We performed a comparative evaluation of the signals from the glial tumor and from normal brain tissue. MA OCT allowed the visualization of the blood vessels both in the tumor and in the normal brain tissues, revealing changes in the form and sizes typical of the tumor vessels.

**Conclusion.** MM OCT is an innovative technology with potential for use in intraoperative diagnoses of glial tumors of the brain. The ability to combine several modes of investigation enables information to be obtained simultaneously about the structure of the tissues and about any peculiarities of the structure of the different elements of their microvascular network.

**Key words:** optical coherence tomography; microangiographic OCT; glioblastoma; cross-polarization OCT; multimodal OCT; experimental model of tumor; 101.8 rat glioblastoma; intraoperative diagnosis.

Операции на головном мозге сопровождаются рисками появления неврологического дефицита, особенно при манипуляциях в функционально значимых зонах. Кроме того, при инфильтративно растущих новообразованиях хирург сталкивается с трудностями определения их границ и соблюдения баланса между радикальностью и физиологической дозволённостью. Все это обуславливает внедрение в нейрохирургию

технологических решений для точного планирования операции как до разреза кожи путем нейронавигации, так и непосредственно по его ходу путем использования различных методов интраоперационной диагностики: уточнения границ и локализации опухоли (флюоресцентной навигации, ультразвукового сканирования, видеоангиографии и т.д.), что позволяет проводить вмешательства с максимальной точностью и с мини-

мальной травматизацией мозговых структур [1]. В то же время ни один из этих методов не удовлетворяет полностью требованиям нейрохирурга. Так, в частности, получившая наибольшее распространение в хирургии злокачественных глиом 5-ALA-навигация дает как ложно-положительные, так и ложно-отрицательные результаты, поскольку информация о границах опухоли опосредована и реализуется через особенности ее метаболизма. И потому обоснован поиск новых путей интраоперационного уточнения границ опухоли на основе получения прямой информации о строении нормальной и патологически измененной ткани мозга. В настоящее время наиболее перспективными в этом отношении выглядят инструменты оптической диагностики, в частности мультимодальная оптическая когерентная томография (ММ ОКТ).

Оптическая когерентная томография — новый и активно развивающийся метод прижизненной диагностики в нейрохирургии, который имеет высокий потенциал в качестве инструмента определения состояния нервной ткани в ходе оперативных вмешательств. Используемая в данной работе установка для ММ ОКТ сконструирована с учетом предыдущего опыта построения подобных систем и существенно расширяет набор получаемых данных. Это стало возможным потому, что стандартный режим ОКТ (детекция обратного рассеяния, зондирующего излучения тканями), который направлен на оценку ткани опухоли в масштабе ~10 мкм, дополнен поляризационной модой и динамической микроангиографией. Внедрение ММ ОКТ-исследования в клиническую практику потенциально может позволить получить широкий набор данных о состоянии ткани мозга в ходе нейрохирургических вмешательств. Но для этого необходимо проведение экспериментальных исследований на опухолевых моделях животных для отработки методики ММ ОКТ-исследования и выработки алгоритма оценки получаемой информации. В связи с этим работа проведена на модели глиальной опухоли мозга крысы в условиях, максимально приближенных к стандартным нейрохирургическим процедурам.

**Цель исследования** — изучение возможностей мультимодальной ОКТ в дифференциации нормальной и патологически измененной ткани головного мозга на примере экспериментальной модели глиобластомы.

**Материалы и методы.** Исследования выполнены на экспериментальной установке скоростной спек-

тральной ММ ОКТ (рис. 1), разработанной в ИПФ РАН (Н. Новгород, Россия) и включающей два режима исследования: кросс-поляризационную ОКТ (КП ОКТ) и спектральную микроангиографическую ОКТ (МА ОКТ).

**Характеристики установки.** В основе работы прибора лежит спектральный принцип приема сигнала [2–6]. В режиме КП ОКТ установка имеет активную систему управления для поддержания круговой поляризации на выходе из зонда, что решает проблему взаимной ориентации зонда и ткани [7]. Получаемое КП ОКТ-изображение включает в себя верхнее — в ко-поляризации и нижнее — в кросс-поляризации, которые получены путем отдельной регистрации рассеянного излучения в двух каналах, соответственно параллельном и перпендикулярном поляризации зондирующего излучения. Специальные программные приложения позволяют создавать объемные (3D) изображения и на основе оригинального подхода [8] рассчитывать изображения микрососудистой сети.

### Технические характеристики установки ММ ОКТ

**Стандартный режим** — получение интенсивностного изображения (ко-поляризация):

длина волны — 1310 нм;

скорость — 20 000 А-сканов в секунду;

мощность источника — 15 мВт;

поперечное разрешение — 20 мкм;

разрешение по глубине — 10–15 мкм;

сканирование по глубине в воздухе — 2 мм;

тип сканирования — бесконтактное;

максимальный размер получаемого изображения — 4×2 мм.

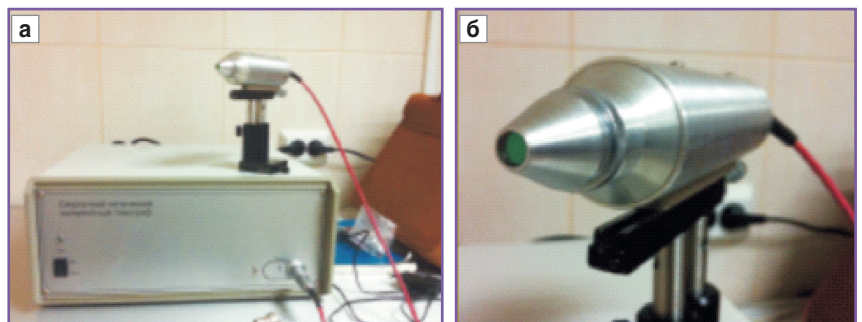
**Дополнительные режимы:**

кросс-поляризация (КП ОКТ) — построение в реальном масштабе времени изображения в кросс-поляризационном режиме размером до 4×2 мм;

3D КП ОКТ — построение в реальном масштабе времени объемных изображений в ко- и кросс-поляризациях, каждое из которых объемом 4×4×2 мм (планарные размеры × глубина);

микроангиографическая ОКТ — запись данных для последующего построения *en face* проекции микроциркуляторного русла площадью 2×2 мм [8].

Физический принцип выделения сосудистой сетки (МА ОКТ) основан на определении временной изменчивости полного комплексного сигнала в каждом эле-



**Рис. 1.** Система для получения ММ ОКТ-изображений: а — устройство мультимодальной ОКТ; б — зонд с торцевым окном

менте изображения, формирующего спекл-структуру. В тех местах, где рассеивающие элементы подвижны, фаза и амплитуда комплексного сигнала спекловых пятен изменяются 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) [8]. Для выделения потоков частота отсечки фильтра верхних частот выбрана равной 96 Гц. При данном параметре фильтрации визуализируются места с наличием кровотока (места, где кровь находится в стационарном состоянии, не визуализируются).

*Экспериментальные опухолевые модели.* Учитывая необходимость исследования возможностей ММ ОКТ в визуализации и дифференциальной диагностике неизменной нервной ткани и опухоли, выбор экспериментальной модели злокачественной опухоли основывался на следующих критериях: 1) опухоль должна происходить из глиальных клеток; 2) опухолевый рост и возникшие в результате него изменения должны быть предсказуемыми и репродуцируемыми; 3) по своим свойствам опухоль должна иметь характеристики, подобные характеристикам глиом человека при интрацеребральном росте: неоваскуляризацию, нарушение гематоэнцефалического барьера, отсутствие капсулы и инвазивный характер роста. Этим критериям удовлетворяют химически индуцируемые модели глиом [9, 10].

В качестве объекта исследования была выбрана модель глиобластомы крысы 101.8, привитая и поддерживаемая в НИИ морфологии человека (Россия). Первоначально опухоль получена в 1967 г. в результате имплантации 7,12-диметил-(а)-бензантрацена в правую гемисферу мозжечка крысы-самки линии Wistar. В процессе серийного интрацеребрального пассирования начиная с 14-го пассажа произошло формирование злокачественной опухоли по гистобиологическим свойствам, близким анапластической астроцитоме, а затем опухоль приобрела однородное строение глиобластомы, которое устойчиво сохраняется на протяжении последующей работы с данной моделью [9].

Работа выполнена на 5 самках крыс линии Wistar с привитой глиобластомой крысы 101.8. Трансплантация опухоли была проведена в Институте морфологии человека следующим методом: в правой теменной области латеральнее сагиттального шва на 2 мм и кзади от коронарных швов на 2 мм зубо-врачебным бором наложено фрезевое отверстие диаметром 2 мм. Твердую мозговую оболочку вскрывали инъекционной подкожной иглой. Опухолевые клетки в количестве  $10^5$ – $10^6$  введены в указанную зону троакарном.

Исследование проводили на 7-е сутки после прививки глиобластомы крысы 101.8, когда опухоль достигала размеров ~0,7 см и распространялась на кору головного мозга.

Оперативное вмешательство выполняли по общим правилам, описанным в ряде работ [11–14]. Запись сиг-

нала КП ОКТ с формированием ко- и кросс-поляризационных изображений проводили *in vivo* после трепанации черепа и *ex vivo* на извлеченном после декапитации головном мозге. Для верификации структуры нервной ткани на КП ОКТ-изображениях образцы головного мозга с опухолями забирались для параллельного гистологического анализа. Образцы фиксировали в 10% формалине в течение 48 ч, делали несколько срезов из центральной области, совпадающей с плоскостью получения КП ОКТ-изображения и окрашивали гематоксилином и эозином. Срезы описывались морфологом и фотографировались в проходящем свете с помощью микроскопа Leica DM2500 DFC (Leica Microsystems, Германия), оснащенного цифровой камерой.

Построение изображений сосудистого русла с помощью МА ОКТ производили на основании обработки сигналов, полученных *in vivo*. Данные сопоставляли с соответствующими изображениями сосудистой сети, полученными при помощи флуоресцентной стереомикроскопии Axio Zoom.V16 (Carl Zeiss, Германия).

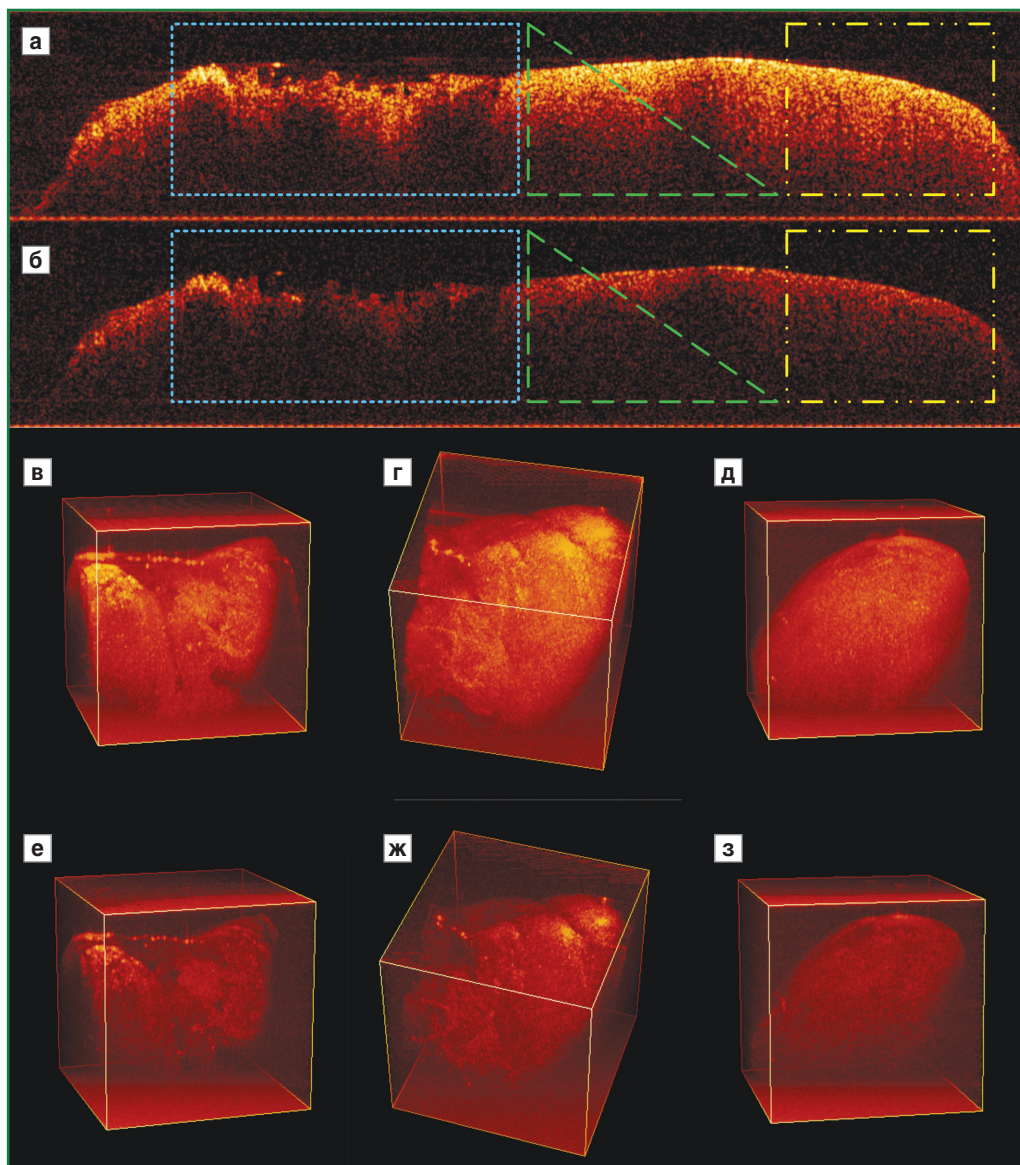
При работе с животными руководствовались Правилами для проведения работ с использованием экспериментальных животных [15] и Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных [16], неукоснительно соблюдали этические принципы, установленные Европейской 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.). Работа одобрена Этическим комитетом НижГМА.

**Результаты и обсуждение.** ММ ОКТ исследование проведено на всем протяжении коры пораженного полушария. Полученные КП ОКТ-изображения представлены на рисунках 2 и 3, где отчетливо визуализируются три области, различающиеся между собой по характеру сигнала.

В области *неизменной коры* (рис. 2, а, б и 3, а, б; область внутри желтого пунктира) на КП ОКТ-изображениях в ко-поляризации наблюдается однородный сигнал, глубина проникновения зондирующего излучения при этом максимальна. Неизменная кора в этой области содержит 6 слоев клеток и волокон, отличающихся пространственно упорядоченным расположением (рис. 3, ж). Такое хорошо ориентированное горизонтально-вертикальное распределение структурных элементов формирует однородный ОКТ-сигнал.

В *перитуморальной области* (рис. 2, а, б и 3, а, б; область внутри зеленого пунктира) ОКТ-сигнал становится менее однородным, при этом глубина проникновения зондирующего излучения уменьшается. Гистотомографическое сопоставление демонстрирует снижение глубины проникновения зондирующего излучения на КП ОКТ-изображении в области, соответствующей контурам перитуморальной зоны на гистологическом препарате (рис. 3, е, 3, а и б; области внутри зеленого пунктира). На гистологическом препарате (рис. 3, в, е) видна инфильтрация области коры группами опухолевых клеток с локальным повышением





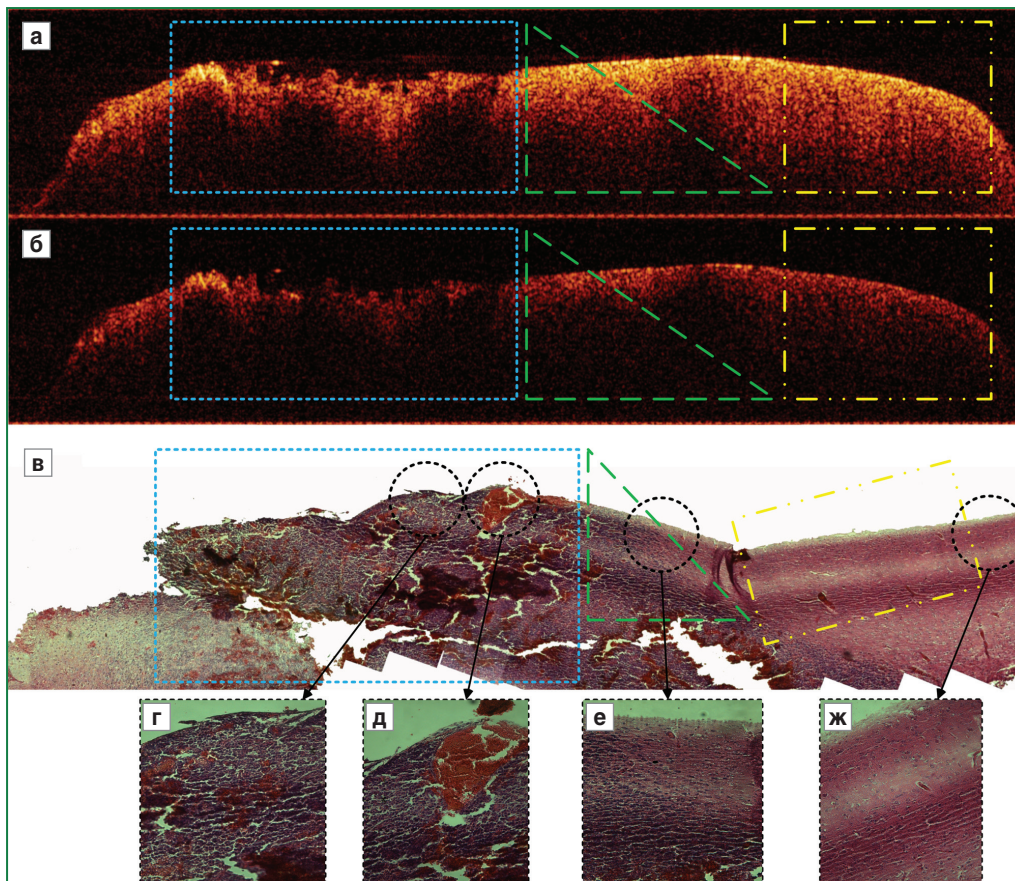
**Рис. 2.** КП ОКТ-визуализация мозга крысы с привитой глиомой 101.8: а — изображение в ко-поляризации; б — изображение в кросс-поляризации: синий пунктир — область деструкции коры опухолевым узлом; зеленый пунктир — перитуморальная область; желтый пунктир — область неизменной коры; изображения а и б состоят из нескольких КП ОКТ-изображений, длина каждого — 13,5 мм; в–з — трехмерные (3D) построения участков коры в ко- (в, г, д) и кросс-поляризациях (е, ж, з): в, е — область деструкции коры опухолевым узлом; г, ж — перитуморальная область; д, з — область неизменной коры

клеточной плотности, что приводит к формированию гетерогенного (неоднородного) сигнала с участками повышения интенсивности сигнала в ко-поляризации.

В области *прорастания опухоли* — деструкции опухолевым узлом коры головного мозга — сигнал становится резко неоднородным, при этом глубина проникновения зондирующего излучения сильно варьирует по поперечной координате (рис. 2, а, б и 3, а, б; область внутри синего пунктира). На соответствующем участке гистологического препарата (рис. 3, в, г, д) определяется плохо организованная опухолевая ткань, характеризующаяся участками сплошного скопления опухолевых клеток, мозаично расположенными некрозами, мелкими кровоизлияниями. Такие инородные

включения изменяют оптические свойства нервной ткани и деформируют характерный для структурно организованной коры гомогенный сигнал (рис. 2, а, б и 3, а, б; внутри желтого пунктира). Различия между описанными областями также отчетливо видны на трехмерных построениях в ко- и кросс-поляризациях (рис. 2, в–з).

Визуально определяемые различия в характере КП ОКТ-сигнала между нормальной тканью головного мозга и опухолью позволяют рассматривать КП ОКТ как перспективный метод интраоперационного определения границ инфильтративно растущих глиальных опухолей, что является необходимым условием достижения максимально возможной резекции опухоли, ста-



**Рис. 3.** Гистотомографическое сопоставление КП ОКТ-изображения мозга крысы с участком деструкции глиобластомой 101.8, приведенной на рис. 2: *а* — изображение в ко-поляризации; *б* — изображение в кросс-поляризации; *в* — гистологический препарат того же участка головного мозга (окраска гематоксилином и эозином, 12,0×3,0 мм): синий пунктир — область прорастания опухоли (деструкции коры опухолевым узлом); зеленый пунктир — перитуморальная область; желтый пунктир — область неизменной коры; *г–ж*: отдельные участки гистологического препарата, размер 0,49×0,65 мм; *г* — опухоль с участками влажного некроза; *д* — участок кровоизлияния в опухоли; *е* — распространение опухоли в коре головного мозга в виде отдельных тяжей опухолевых клеток; *ж* — участок неизменной коры

тистически значимо коррелирующей с продолжительностью жизни пациентов [17–23].

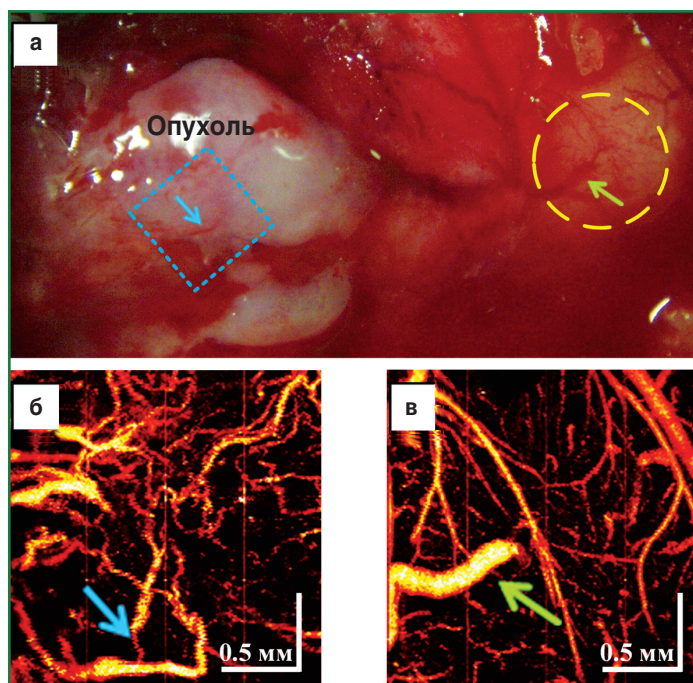
В мировой науке предприняты первые попытки определения точных критериев дифференциальной диагностики опухоли и неповрежденной ткани мозга по характеру ОКТ-сигнала в обычной поляризации. Так, Н.У. Bohringer и соавт. на основании качественного анализа полученных при помощи ОКТ во временной области (time-domain OCT) изображений глиальных опухолей различной степени злокачественности (42 биопсии) выделили в качестве дифференциального критерия степень гомогенности сигнала, при этом опухолевая ткань и перитуморальная зона (зона инфильтрации) отличались гетерогенным характером сигнала, а неизменная мозговая ткань — гомогенным [24, 25]. Обнаружена высокая корреляционная зависимость между характером ОКТ-сигнала и гистологическими данными ( $\chi^2$  test;  $r=0,99$ ) [25]. С. Kut и соавт. предпринята попытка более объективной количественной оценки сигнала с определением коэффициентов рассеяния в качестве дифференциального критерия [26]. В ходе исследования

выявлены следующие коэффициенты рассеяния: для нормальной мозговой ткани —  $6,2 \pm 0,8 \text{ мм}^{-1}$ ; для глиом высокой степени злокачественности —  $3,9 \pm 1,6 \text{ мм}^{-1}$ , в зоне инфильтрации —  $7,1 \pm 1,0 \text{ мм}^{-1}$ ; для глиом низкой степени злокачественности —  $4,0 \pm 1,4 \text{ мм}^{-1}$ , в зоне инфильтрации —  $2,7 \pm 1,0 \text{ мм}^{-1}$ . В той же работе на основании ОКТ-данных от 16 пациентов оценивалась диагностическая точность ОКТ в качестве метода определения границ удаленной опухоли. Показана высокая чувствительность (92–100%) и специфичность (80–100%) по расчету коэффициента рассеяния. Рядом исследователей предложены первые технологические решения интраоперационного использования ОКТ в нейрохирургии, например в качестве модуля в составе микроскопа для микронеурологии [27–29].

Нами впервые получены ОКТ-изображения глиальной опухоли и неизменной мозговой ткани в режиме кросс-поляризации. При этом характер сигнала в обоих случаях в целом соответствует сигналу в ко-поляризации (рис. 2, *а*, 3, *а*) и общему морфологическому строению препарата (рис. 3, *в*).



**Рис. 4.** Состояние микроциркуляторного русла глиобластомы крысы 101.8 и неизменной коры мозга около опухолевого узла по данным ОКТ-микроангиографии: *а* — изображение микроциркуляции, полученное при помощи стереомикроскопа Axio Zoom V16; *б* — ОКТ-микроангиограмма участка неизменной коры головного мозга на удалении от опухолевого узла; *в* — ОКТ-микроангиограмма глиобластомы крысы 101.8. Стрелки указывают на соответствующие сосуды. Изображения *б* и *в* получены с двух участков, соответствующих зонам внутри синего и желтого пунктира на КП ОКТ-изображении, представленном на рис. 2, *а*, *б*



J.M. Schmitt с соавт. установили, что сигнал в кросс-изображении является следствием когерентного кросс-рассеяния и двулучепреломления в исследуемой биоткани [30]. В ряде работ Н.Д. Гладковой с соавт. показано, что использование поляризованного излучения может увеличить информативность метода, например, при прижизненном разделении патофизиологических процессов (воспаления, фиброза и неоплазии), связанных с изменением пространственной и структурной организации коллагеновых волокон слизистых оболочек внутренних органов [31–34]. В частности, установлено, что добавление изображения в кросс-поляризации к традиционному ОКТ-изображению существенно улучшает эффективность диагностики поверхностного рака мочевого пузыря [32]. При анализе ОКТ-изображений в кросс-поляризации продемонстрированы чувствительность 93,7% (против 81,2% при анализе ОКТ-изображений в исходной поляризации,  $p < 0,0001$ ), специфичность — 84% (против 70,0%,  $p < 0,001$ ) и точность — 85,3% (против 71,5%,  $p < 0,001$ ) в обнаружении плоских злокачественных поражений мочевого пузыря [32]. Однако особенности и источники формирования кросс-поляризационного сигнала от нервной ткани в норме и при патологии в настоящий момент не изучены.

Выявленная способность ОКТ дифференцировать опухолевую ткань позволяет рассматривать ее как потенциальный метод оптической экспресс-биопсии при стереотаксической биопсии глубинных новообразований головного мозга и для интраоперационного определения границ инфильтративно растущих опухолей головного мозга. Второй режим используемой установки — спектральная МА ОКТ — позволяет визуализировать изменения формы и размеров сосудов головного мозга в норме и при патологии.

Полученные нами результаты МА ОКТ демонстриру-

ются на рис. 4. Наглядно видно, что опухолевые сосуды глиобластомы крысы 101.8 (рис. 4, *б*) имеют в отличие от неизменных сосудов головного мозга (рис. 4, *в*) иную форму: они извитые, с неровными контурами просвета (рис. 4, *б*).

Есть все основания предполагать, что высокое пространственное разрешение ОКТ и возможность количественной оценки микроциркуляторного русла позволят получать уникальную информацию о церебральной гемодинамике и метаболизме и соответственной им функциональной активности головного мозга и его дисфункции [35–40]. Например, методом ОКТ удалось показать влияние кокаина на мозговой кровоток, проявляющееся в выраженном вазоспазме и очагах ишемии [41]. Наши результаты использования МА ОКТ в эксперименте позволяют говорить о возможности ее клинического применения. Считаем, что в перспективе возможен периодический контроль состояния микроциркуляторного русла коры головного мозга в ходе нейрохирургических вмешательств для предотвращения ишемических осложнений и, соответственно, возникновения неврологического дефицита в послеоперационном периоде.

Таким образом, на примере модели глиобластомы крысы 101.8 установлено, что характер КП ОКТ-изображений участков ткани головного мозга отражает их различную морфологическую структуру. МА ОКТ позволяет достоверно визуализировать опухолевые и нормальные мозговые сосуды, различая характерные признаки сосудов опухоли (извитость, неровность контура и т.д.).

**Заключение.** Мультимодальная ОКТ, включающая кросс-поляризационный и микроангиографический ОКТ-режимы, является перспективным методом интраоперационной диагностики при глиальных опухолях головного мозга. Возможность сочетать несколь-

ко режимов исследования позволяет одновременно получать информацию как о структуре ткани, так и о состоянии микроциркуляторного русла. Используемая в данной работе модификация ММ ОКТ имеет высокий потенциал в качестве метода определения границ инфильтративно растущих глиальных опухолей головного мозга, основанного на оценке структуры ткани и особенностей строения микрососудистой сети и ее элементов.

**Благодарность.** Коллектив авторов выражает большую благодарность за помощь в организации исследования и непосредственно в выборе оптимальной экспериментальной модели опухоли для изучения возможностей мультимодальной ОКТ в диагностике состояния нервной ткани при глиальных опухолях директору НИИ морфологии человека РАН Макаровой Ольге Васильевне.

**Финансирование исследования.** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Правительства Российской Федерации, Министерства образования и науки Российской Федерации, договор №14. В25.31.0015 (КММ, МЛА, ЕВВ, КСС, ЕБК, НДГ) и грантов РФФИ №16-34-00995 мол\_а (КММ, МЛА, ЕВВ) и №15-42-02513 р\_поволжье\_а (МЛА).

**Конфликт интересов.** У авторов нет конфликта интересов.

#### Литература/References

1. Witiw C.D., Nathan V., Bernstein M. Economics, innovation, and quality improvement in neurosurgery. *Neurosurg Clin N Am* 2015; 26(2): 197–205, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nec.2014.11.003>.
2. Moiseev A.A., Gelikonov G.V., Terpelov D.A., Shilyagin P.A., Gelikonov V.M. Improvement of lateral resolution of spectral domain optical coherence tomography images in out-of-focus regions with holographic data processing techniques. *Quantum Electronics* 2014; 44(8): 732–739, <http://dx.doi.org/10.1070/QE2014v044n08ABEH015492>.
3. Gelikonov V.M., Gelikonov G.V., Shilyagin P.A. Linear-wave number spectrometer for high-speed spectral-domain optical coherence tomography. *Optics and Spectroscopy* 2009; 106(3): 459–465, <http://dx.doi.org/10.1134/s0030400x09030242>.
4. 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>.
5. 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): 390–393, <http://dx.doi.org/10.1070/QE2012v042n05ABEH014852>.
6. 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): 664–669, <http://dx.doi.org/10.1070/QE2014v044n07ABEH015465>.
7. Gelikonov V.M., Gelikonov G.V. New approach to cross-polarized optical coherence tomography based on orthogonal arbitrarily polarized modes. *Laser Physics Letters* 2006; 3(9): 445–451, <http://dx.doi.org/10.1002/lapl.200610030>.
8. Matveev L.A., Zaitsev V.Y., Gelikonov G.V., Matveyev A.L., Moiseev A.A., Ksenofontov S.Y., 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. *Optics Letters* 2015; 40(7): 1472–1475, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.40.001472>.
9. Халанский А.С., Кондакова Л.И. Перевиваемый штамм глиомы крысы 101.8.I. Биологическая характеристика. Клиническая и экспериментальная морфология 2013; 4(8): 63–68. Khalansky A.S., Kondakova L.I. Transplanted rat glioma 101.8.I. Biological characteristics. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya* 2013; 4(8): 63–68.
10. Barth R.F., Kaur B. Rat brain tumor models in experimental neuro-oncology: the C6, 9L, T9, RG2, F98, BT4C, RT-2 and CNS-1 gliomas. *J Neurooncol* 2009; 94(3): 299–312, <http://dx.doi.org/10.1007/s11060-009-9875-7>.
11. Goldey G.J., Roumis D.K., Glickfeld L.L., Kerlin A.M., Reid R.C., Bonin V., Schafer D.P., Andermann M.L. Removable cranial windows for long-term imaging in awake mice. *Nat Protoc* 2014; 9(11): 2515–2538, <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2014.165>.
12. Mostany R., Portera-Cailliau C. A craniotomy surgery procedure for chronic brain imaging. *J Vis Exp* 2008; 12, <http://dx.doi.org/10.3791/680>.
13. Park K., You J., Du C., Pan Y. Cranial window implantation on mouse cortex to study microvascular change induced by cocaine. *Quant Imaging Med Surg* 2015; 5(1): 97–107, <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2223-4292.2014.11.31>.
14. Keiner D., Heimann A., Kronfeld A., Sommer C., Mueller-Forell W., Kempfski O., Oertel J. Towards a glioma model for surgical technique evaluation in the rat. *Br J Neurosurg* 2014; 28(1): 86–92, <http://dx.doi.org/10.3109/02688697.2013.804489>.
15. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 №708н "Об утверждении Правил лабораторной практики". 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"].
16. Международные рекомендации (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных. 1985. Mezhdunarodnye rekomendatsii (eticheskij kodeks) po provedeniyu mediko-biologicheskikh issledovaniy s ispol'zovaniem zhivotnykh [International guiding principles (ethical code) for biomedical research involving animals]. 1985.
17. Sanai N., Berger M.S. Glioma extent of resection and its impact on patient outcome. *Neurosurgery* 2008; 62(4): 753–766, <http://dx.doi.org/10.1227/01.neu.0000318159.21731.cf>.
18. Sanai N., Polley M.Y., McDermott M.W., Parsa A.T., Berger M.S. An extent of resection threshold for newly diagnosed glioblastomas. *J Neurosurg* 2011; 115(1): 3–8, <http://dx.doi.org/10.3171/2011.2.jns10998>.
19. Анохина Ю.Е., Гайдар Б.В., Мартынов Б.В., Свистов Д.В., Папаян Г.В., Григорьевский Д.И. Прогностическая значимость объема хирургического вмешательства в условиях применения интраоперационной флуоресцентной диагностики у пациентов со злокачественными глиомами головного мозга. Вестник российской военно-медицинской академии 2014; 1: 19–24. Anokhina Yu.E., Gaidar B.V., Martynov B.V., Svistov D.V., Papayan G.V., Grigorievsky D.I.



- Prognostic significance of surgery volume under fluorescent intraoperative diagnostic applications in patients with malignant brain gliomas. *Vestnik rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii* 2014; 1: 19–24.
20. Stummer W., Reulen H.J., Meinel T., Pichlmeier U., Schumacher W., Tonn J.C., Rohde V., Oettel F., Turowski B., Woiciechowsky C., Franz K., Pietsch T. Extent of resection and survival in glioblastoma multiforme: identification of and adjustment for bias. *Neurosurgery* 2008; 62(3): 564–576, <http://dx.doi.org/10.1227/01.neu.0000317304.31579.17>.
21. McGirt M.J., Chaichana K.L., Gathinji M., Attenello F.J., Than K., Olivi A., Weingart J.D., Brem H., Quiñones-Hinojosa A.R. Independent association of extent of resection with survival in patients with malignant brain astrocytoma. *J Neurosurg* 2009; 110(1): 156–162, <http://dx.doi.org/10.3171/2008.4.17536>.
22. Kuhnt D., Becker A., Ganslandt O., Bauer M., Buchfelder M., Nimsky C. Correlation of the extent of tumor volume resection and patient survival in surgery of glioblastoma multiforme with high-field intraoperative MRI guidance. *Neuro Oncol* 2011; 13(12): 1339–1348, <http://dx.doi.org/10.1093/neuonc/nor133>.
23. Sanai N., Polley M.Y., McDermott M.W., Parsa A.T., Berger M.S. An extent of resection threshold for newly diagnosed glioblastomas. *J Neurosurg* 2011; 115(1): 3–8, <http://dx.doi.org/10.3171/2011.2.JNS10998>.
24. Böhringer H.J., Boller D., Leppert J., Knopp U., Lankenau E., Reusche E., Hüttmann G., Giese A. Time-domain and spectral-domain optical coherence tomography in the analysis of brain tumor tissue. *Lasers Surg Med* 2006; 38(6): 588–597, <http://dx.doi.org/10.1002/lsm.20353>.
25. Böhringer H.J., Lankenau E., Stellmacher F., Reusche E., Hüttmann G., Giese A. Imaging of human brain tumor tissue by near-infrared laser coherence tomography. *Acta Neurochir (Wien)* 2009; 151(5): 507–517, <http://dx.doi.org/10.1007/s00701-009-0248-y>.
26. Kut C., Chaichana K.L., Xi J., Raza S.M., Ye X., McVeigh E.R., Rodriguez F.J., Quiñones-Hinojosa A., Li X. Detection of human brain cancer infiltration ex vivo and in vivo using quantitative optical coherence tomography. *Sci Transl Med* 2015; 7(292): 292ra100, <http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3010611>.
27. Kantelhardt S.R., Finke M., Schweikard A., Giese A. Evaluation of a completely robotized neurosurgical operating microscope. *Neurosurgery* 2013; 72(Suppl 1): A19–A26, <http://dx.doi.org/10.1227/NEU.0b013e31827235f8>.
28. Finke M., Kantelhardt S., Schlaefer A., Bruder R., Lankenau E., Giese A., Schweikard A. Automatic scanning of large tissue areas in neurosurgery using optical coherence tomography. *Int J Med Robot* 2012; 8(3): 327–336, <http://dx.doi.org/10.1002/rcs.1425>.
29. Lankenau E., Klinger D., Winter C., Malik A., Müller H., Oelckers S., Pau H.-W., Just T., Hüttmann G. Combining optical coherence tomography (OCT) with an operating microscope. In: *Advances in medical engineering*. Springer Berlin Heidelberg; 2007, p. 343–348, [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-68764-1\\_57](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-68764-1_57).
30. Schmitt J.M., Xiang S.H. Cross-polarized backscatter in optical coherence tomography of biological tissue. *Opt Lett* 1998; 23(13): 1060–1062, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.23.001060>.
31. 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; 6(9): 687–698, <http://dx.doi.org/10.1002/jbio.201200105>.
32. 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; 4(7–8): 519–532, <http://dx.doi.org/10.1002/jbio.201000088>.
33. 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; 6(4): 321–329, <http://dx.doi.org/10.1002/jbio.201200059>.
34. 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>.
35. Leitgeb R.A., Werkmeister R.M., Blatter C., Schmetterer L. Doppler optical coherence tomography. *Prog Retin Eye Res* 2014; 41: 26–43, <http://dx.doi.org/10.1016/j.preteyeres.2014.03.004>.
36. Chong S.P., Merkle C.W., Leahy C., Srinivasan V.J. Cerebral metabolic rate of oxygen (CMRO<sub>2</sub>) assessed by combined Doppler and spectroscopic OCT. *Biomed Opt Express* 2015; 6(10): 3941–3951, <http://dx.doi.org/10.1364/BOE.6.003941>.
37. Devor A., Sakadzic S., Srinivasan V.J., Yaseen M.A., Nizar K., Saisan P.A., Tian P., Dale A.M., Vinogradov S.A., Franceschini M.A., Boas D.A. Frontiers in optical imaging of cerebral blood flow and metabolism. *J Cereb Blood Flow Metab* 2012; 32(7): 1259–1276, <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.2011.195>.
38. Srinivasan V.J., Sakadžić S., Gorczynska I., Ruvinskaya S., Wu W., Fujimoto J.G., Boas D.A. Quantitative cerebral blood flow with optical coherence tomography. *Opt Express* 2010; 18(3): 2477–2494, <http://dx.doi.org/10.1364/OE.18.002477>.
39. Lee J., Wu W., Lesage F., Boas D.A. Multiple-capillary measurement of RBC speed, flux, and density with optical coherence tomography. *J Cereb Blood Flow Metab* 2013; 33(11): 1707–1710, <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.2013.158>.
40. Srinivasan V.J., Atochin D.N., Radhakrishnan H., Jiang J.Y., Ruvinskaya S., Wu W., Barry S., Cable A.E., Ayata C., Huang P.L., Boas D.A. Optical coherence tomography for the quantitative study of cerebrovascular physiology. *J Cereb Blood Flow Metab* 2011; 31(6): 1339–1345, <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.2011.19>.
41. Ren H., Du C., Yuan Z., Park K., Volkow N.D., Pan Y. Cocaine-induced cortical microischemia in the rodent brain: clinical implications. *Mol Psychiatry* 2012; 17(10): 1017–1025, <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2011.160>.