

ПРИМЕНЕНИЕ МУЛЬТИМОДАЛЬНОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ РАКА

М. А. Сироткина^{1✉}, Е. Б. Киселева¹, Е. В. Губарькова¹, Н. Л. Буянова¹, В. В. Елагин¹, В. Ю. Зайцев^{1,2}, Л. А. Матвеев^{1,2}, А. Л. Матвеев^{1,2}, М. Ю. Кириллин², Г. В. Геликонов^{1,2}, В. М. Геликонов^{1,2}, С. С. Кузнецов¹, Е. В. Загайнова¹, Н. Д. Гладкова¹

¹ Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород

² Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород

Поиск новых способов прижизненной функциональной визуализации биологических тканей, которые позволяют выявлять ранний ответ опухоли на выбранную терапию с целью коррекции курса лечения, — актуальная задача современной медицины. В качестве такого способа в работе предложена мультимодальная оптическая когерентная томография (ММ ОКТ), которая сочетает в себе кросс-поляризационную ОКТ (КП ОКТ) для визуализации структуры ткани и оценки состояния соединительнотканного компонента, ОКТ-микроангиографию (ОКТ МА) для визуализации сосудистого русла и ОКТ-эластографию для изучения жесткости ткани. Эффективность метода проверяли на примере действия фотодинамической терапии (ФДТ), поскольку основными мишенями ФДТ являются клеточный и сосудистый компоненты опухоли. В качестве объекта исследования была выбрана карцинома кишечника мыши СТ26, локализованная на ухе мыши. Показано, что с помощью ММ ОКТ можно оценить эффективность ФДТ, а именно: по КП ОКТ — отличить опухоль с некрозом от интактной опухоли, по ОКТ МА — выявить расстройства кровообращения, приводящие к замедлению или остановке кровотока и дальнейшей гибели опухоли, а по ОКТ-эластографии — определить жесткость нормальной и патологической ткани.

Ключевые слова: мультимодальная оптическая когерентная томография, кросс-рассеяние, микроангиография, эластография, фотодинамическая терапия, карцинома кишечника СТ26, экспериментальная опухоль

Финансирование: работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства образования и науки РФ (договор № 14.В25.31.0015); числовая обработка КП ОКТ-изображений поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-32-20250); модификация алгоритма и разработка программно-аппаратного ОКТ-комплекса для картирования микроциркуляторных и эластографических изображений поддержана грантом Президента РФ для молодых ученых № МК-6504.2016.2 и грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 16-02-00642-а.

Благодарности: авторы благодарят профессора Алекса Виткина из Университета Торонто (Торонто, Канада) — ведущего ученого мегагранта, в рамках которого выполнена работа.

✉ **Для корреспонденции:** Сироткина Марина Александровна
603950, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1; sirotkina_m@mail.ru

Статья получена: 15.08.2016 **Статья принята в печать:** 25.08.2016

MULTIMODAL OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY IN THE ASSESSMENT OF CANCER TREATMENT EFFICACY

Sirotkina MA^{1✉}, Kiseleva EB¹, Gubarkova EV¹, Buyanova NL¹, Elagin VV¹, Zaitsev VYu^{1,2}, Matveev LA^{1,2}, Matveev AL^{1,2}, Kirillin MYu², Gelikonov GV^{1,2}, Gelikonov VM^{1,2}, Kuznetsov SS¹, Zagaynova EV¹, Gladkova ND¹

¹ Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod, Russia

² Institute of Applied Physics, Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod, Russia

One of the challenges faced by modern medicine is finding new methods of functional imaging of biological tissues in patients that allow detection of early tumor response to treatment. One of such methods proposed in this work is multimodal optical coherence tomography (MM OCT). It combines cross-polarization OCT (CP OCT) for visualization of tissue structure and assessment of connective tissue health, OCT-based microangiography (OCT MA) for visualization of the vasculature, and OCT-based elastography for measuring tissue stiffness. The efficacy of this method was tested during the course of photodynamic therapy (PDT), as major PDT targets are cellular and vascular components of a tumor. The experiments were carried out on the CT26 colon carcinoma transplanted into the mouse ear. It was shown that the efficacy of PDT can be assessed using MM OCT. For example, CP OCT can help differentiate between necrotic and intact tumors; OCT MA detects blood circulation defects that lead to slower blood circulation or circulatory stagnation followed by tumor death. OCT-based elastography is helpful in assessing stiffness of normal and pathological tissues.

Keywords: multimodal optical coherence tomography, cross-scattering, microangiography, elastography, photodynamic therapy, CT26 colon carcinoma, experimental tumor

Funding: this work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (grant no. 14.B25.31.0015), numerical processing of CP OCT images was supported by grant no. 15-32-20250 of the Russian Foundation for Basic Research, algorithm modification and development of software/hardware OCT-system for mapping microcirculation and elastography images was supported by the grant of the President of the Russian Federation for young scientists (no. MK-6504.2016.2) and the grant of the Russian Foundation for Basic Research (no. 16-02-00642-a).

Acknowledgements: authors thank professor Alex Vitkin of University of Toronto (Toronto, Canada), the leading scientist of the Russian Federation Government Mega-grant 14.B25.31.0015.

✉ **Correspondence should be addressed:** Marina Sirotkina
pl. Minina i Pozharskogo, d. 10/1, Nizhny Novgorod, Russia, 603950; sirotkina_m@mail.ru

Received: 15.08.2016 **Accepted:** 25.08.2016

Несмотря на успехи в диагностике и лечении онкологических заболеваний, смертность от рака остается по-прежнему высокой. Важной проблемой, влияющей на эффективность лечения, является гетерогенность опухолевых популяций [1]. Опухоли одних и тех же типов у разных людей по-разному отвечают на одну и ту же терапию. Поэтому актуальной задачей является определение раннего ответа опухоли на лечение, чтобы своевременно скорректировать его. В литературе встречаются работы, направленные на поиск критериев оценки эффективности противоопухолевой терапии [2], но достаточно надежные критерии пока не предложены.

Оптическая когерентная томография (ОКТ) — прижизненный неинвазивный метод диагностики, предназначенный для «видения в мутных средах». ОКТ обеспечивает формирование двух- и трехмерных изображений внутренней структуры биологических тканей путем регистрации обратного рассеяния в режиме реального времени на глубине до 1–2 мм. Технология основана на низкокогерентной интерферометрии с широкополосным светом в ближнем инфракрасном диапазоне длин волн (в «терапевтическом окне прозрачности» 0,7–1,3 мкм) [3–5]. ОКТ не оказывает повреждающего воздействия на организм, т. к. мощность излучения составляет всего около 3–5 мВт, а, кроме того, отличается более высоким по сравнению с ядерной магнитной томографией и высокочастотным ультразвуковым исследованием пространственным разрешением (до 15 мкм), относительной простотой и дешевизной. В клинических исследованиях метод применяется для ранней диагностики неоплазии, определения границ опухолевого роста при планировании резекции и динамического наблюдения за пациентами с онкологической патологией для своевременного выявления рецидивов [6].

Возможности метода могут быть существенно расширены за пределы стандартной визуализации тканевой структуры, в том числе для получения информации о кровотоке и структуре сосудистой сети. Эта дополнительная функциональная возможность имеет важное приложение в биологии и медицине, поскольку позволяет получать *in vivo* и в динамике информацию о функционировании ткани, необходимую, например, для лечения онкологических заболеваний, т. к. ряд методов включает воздействие на сосудистую структуру опухолей [7]. Ввиду этого развитие ОКТ-методов прижизненной визуализации микрососудов занимают во многих исследовательских лабораториях. Значительным потенциалом выявления, визуализации и количественной характеристики и мониторинга микроциркуляции в тканях обладают методы, основанные на временной изменчивости спеклов [8].

Механические свойства тканей связаны с их структурой и функцией, которые изменяются при развитии патологии и в ходе лечения. Внимание к решению проблемы определения жесткости тканей (эластографического картирования) методами ОКТ возрастает на протяжении последних 15 лет. ОКТ-эластография была продемонстрирована *in vivo* [9] и предложена для обнаружения опухолей в мягких тканях [10], был показан потенциал метода для обеспечения контраста между злокачественными и нормальными тканями молочной железы [11–13]. Недавние исследования показали, что хотя различия в жесткости ткани не проявляются на отдельных ОКТ-изображениях, они могут быть визуализированы на основе анализа серии ОКТ-изображений деформируемой ткани [14, 15]. Пока на рынке нет ни одного ОКТ-прибора с режимом эластографического обследования. В России развитием

ОКТ-методов занимаются в нескольких научных организациях в Нижнем Новгороде, Саратове, Санкт-Петербурге, но с ОКТ-эластографией работает только группа исследователей из Института прикладной физики РАН (Нижний Новгород) и Нижегородской государственной медицинской академии (НижГМА) [16].

Сочетание описанных подходов, т. е. мультимодальная ОКТ, может быть эффективным средством мониторинга ответа опухоли на противоопухолевую терапию, может позволить получить новые знания и сделать шаг вперед в направлении индивидуализации лечения. Целью данной работы являлась апробация трех модальностей ОКТ для оценки ответа опухоли на лечение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные и опухолевая модель

Исследование было выполнено на экспериментальной модели карциномы кишечника мыши СТ26. Опухоль прививали 8-недельным самкам мышей линии BALB/c массой 20–22 г внутривенно в наружную часть ушной раковины. Прививку осуществляли суспензией опухолевых клеток: 200 тыс. клеток в 20 мкл фосфатного буфера. Опухолевая модель на ухе характеризуется поверхностным ростом, относительно небольшим размером узла (несколько миллиметров в диаметре), доступностью проведения как визуального осмотра, так и оптического биоимиджинга. Эксперимент был одобрен Этическим комитетом НижГМА (протокол № 14 от 10 декабря 2013 г.).

Фотодинамическая терапия

В качестве метода противоопухолевой терапии была выбрана фотодинамическая терапия (ФДТ), которая воздействует как на сосудистый компонент опухоли, так и на клетки, в течение непродолжительного периода — от нескольких часов до нескольких дней. ФДТ проводили через 10–14 дней с момента прививки опухоли, когда опухолевый узел достигал размера 3,5–4,0 мм, а сосудистая сеть была хорошо развита. Животным вводили внутривенно «Фотодитазин» («Вета-Гранд», Россия) в дозе 5 мг/кг. Через 1 ч после введения фотосенсибилизатора опухоль облучали диодным лазером с длиной волны 659 нм в дозе 75 Дж/см² (100 мВт/см²). В опытной группе было 10 животных, в контрольной — 5.

Мультимодальная оптическая когерентная томография

Мониторинг ответа опухоли на ФДТ проводили методом ММ ОКТ на приборе, разработанном в Институте прикладной физики РАН. Технические характеристики прибора: рабочая длина волны — 1,3 мкм, мощность на выходе — 15 мВт, поперечное пространственное разрешение — 25 мкм, пространственное разрешение по глубине — 15 мкм, глубина сканирования — до 1,7 мм. Зондирующее излучение имеет круговую поляризацию, скорость сканирования — 20 000 А-сканов/с.

ММ ОКТ-исследование осуществляли бесконтактным способом путем поднесения к исследуемой поверхности оптического зонда на рабочее расстояние в 1,5 см.

В режиме кросс-поляризованной ОКТ (КП ОКТ) получали двумерные изображения (В-сканы) размером 4 × 4 мм, состоявшие из двух изображений в псевдо-

цветной палитре: верхнего — ко-поляризационного, где уровень сигнала показывал степень обратно рассеянных на объекте волн, сохранивших исходную поляризацию, и нижнего — кросс-поляризационного, где уровень сигнала показывал степень обратно рассеянных на объекте волн, изменивших исходную поляризацию на ортогональную. В большинстве случаев кросс-рассеяние наблюдается от высокоорганизованных анизотропных структур — коллагеновых и эластических волокон [17]. Режим КП ОКТ позволяет также производить запись 3D-изображений в ко- и кросс-поляризации, каждое из которых объемом $4 \times 4 \times 2$ мм (планарные размеры \times глубина).

Количественная обработка КП ОКТ-изображений заключалась в вычислении по выделенной области интереса интегрального фактора деполяризации (ИФД). Область интереса выделяли вручную, основываясь на гистологических данных и качественных характеристиках КП ОКТ-изображения. Алгоритм вычисления ИФД был разработан нами ранее [18] и применен для оценки состояния коллагеновых волокон различных тканей (слизистой оболочки мочевого пузыря и полости рта; аорты и коронарных сосудов). В основе вычисления ИФД лежит усредненное по области интереса отношение яркостей ОКТ-сигнала в кросс- и ко-поляризации.

Информацию о жесткости ткани получали с помощью ОКТ-эластографии. Для обработки информации, содержащейся в ОКТ-сигнале, использовали новый улучшенный (гибридный) вариант фазового подхода к отслеживанию изменений положений рассеивателей [16]. Для этого зонд немного прижимали к исследуемой поверхности (компрессионный способ получения информации) и определяли деформации, возникавшие вблизи зонда. В основе построения эластографических карт лежит анализ пространственной неоднородности изменения фазы ОКТ-сигнала сравниваемых изображений ткани в процессе ее деформирования. В итоге получают изображение в псевдо-цветной палитре, на котором более жесткие (слабо деформируемые) участки обозначены синим цветом, более мягкие (сильно деформируемые) — красным.

Исследование микроциркуляторного русла проводили методом ОКТ-микроангиографии (ОКТ МА). Физический принцип выделения сосудистой сетки основан на определении временной изменчивости амплитуды и фазы ОКТ-сигнала на серии пикселизованных ОКТ-изображений одной и той же области ткани: в тех местах, где сигнал быстро меняется от скана к скану, находится текущая жидкость (кровь); там, где амплитуды и фазы пикселей изображения стабильны, движения жидкости нет. Следовательно, методом ОКТ МА можно визуализировать как наличие кровотока, так и остановку крови, например, в случае тромбоза в результате действия ФДТ. ОКТ МА-изображения получали с области 2×2 мм³. Паттерн был высокочувствительным и позволял визуализировать мелкие сосуды. ОКТ МА-изображения после постобработки представляли собой проекцию максимальной интенсивности сигнала — вид сосудистой сетки сверху со всей глубины визуализации [19].

Флуоресцентная микроскопия

Данные о структуре сосудистой сетки, полученные методом ОКТ МА, верифицировали методом флуоресцентной микроскопии с помощью флуоресцентного стереомикроскопа Axio Zoom.V16 (Zeiss, Германия) с применением флуорофора FITC, конъюгированного с декстраном

(Sigma-Aldrich, США). Флуорофор вводили внутривенно в хвостовую вену в дозе 50 мг/кг. Изображения получали в течение 10 мин после введения флуорофора.

Гистология

Верификацию гибели опухолевых клеток и расстройства кровообращения выполняли методом световой микроскопии через 2 дня после ФДТ. Материал фиксировали в 10 % нейтральном формалине. Приготовленные с помощью микротомы Leica SM 2000 R (Leica Biosystems, Германия) гистологические срезы толщиной 7 мкм после депарафинизации окрашивали гематоксилином и эозином для определения общего морфологического состояния опухолевой ткани.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ММ ОКТ-визуализация тканей уха мыши

КП ОКТ

Ткань уха представляет собой слоистую структуру, состоящую из эпидермиса, дермы с придатками кожи и хряща (рис. 1А). КП ОКТ-изображение нормальной ткани уха в ко-поляризации представляет собой слоистую структуру, где посередине ушной раковины расположен хрящ в виде узкой полосы с низким уровнем сигнала, по обе стороны от которого — слои дермы с высоким уровнем сигнала. Эпидермис визуализируется над слоем дермы в виде очень тонкой полосы с низким уровнем сигнала (рис. 1Б). В кросс-поляризации изображение также слоистое, но уровень сигнала каждого из описанных для ко-поляризации слоев на порядок ниже, поскольку на этом изображении виден сигнал только от оптически анизотропных структур, таких как коллагеновые и эластические волокна дермы и хрящ. С развитием опухолевого узла в толще дермы постепенно увеличивается общий объем ткани над хрящом, и на КП ОКТ-изображении слоистость ткани

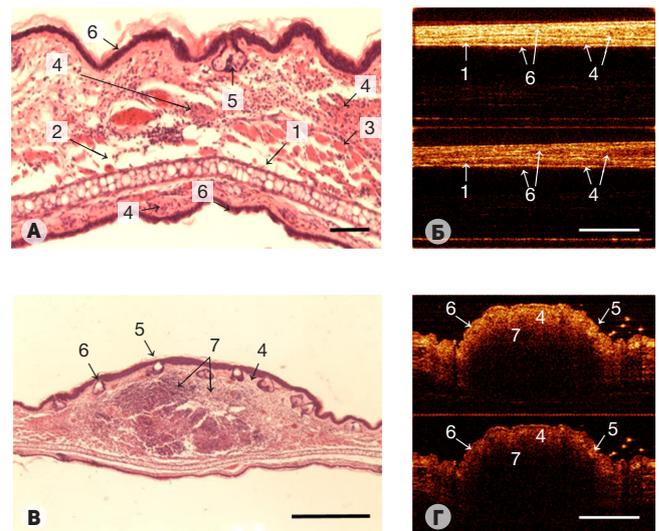


Рис. 1. Пример визуализации здоровой (А, Б) и опухолевой ткани — карциномы кишечника СТ26, локализованной на ухе мыши (В, Г)

(А) и (Б) — снимки гистологических препаратов (размер бара — 100 и 500 мкм соответственно), (В) и (Г) — изображения, полученные методом кросс-поляризационной оптической когерентной томографии (размер бара — 1 мм). Цифрами на рисунках обозначены: 1 — хрящ; 2 — слой адипоцитов; 3 — поперечнополосатая мышца; 4 — дерма; 5 — волосяные луковицы; 6 — эпидермис; 7 — опухолевая ткань.

нарушается. Бесконтактный способ сканирования ткани позволяет видеть на изображении характерный бугорок (выпуклость) в месте развития опухоли (рис. 1Г). Плотно расположенные клетки опухоли практически не рассеивают зондирующее излучение в ко-поляризацию, кросс-рассеяние также не наблюдается. Вокруг опухолевого узла заметно снижение уровня сигнала за счет дезорганизации коллагеновых волокон дермы (рис. 1Г).

ОКТ МА

С помощью ОКТ МА визуализировали структуру сосудистой сети участка нормальной ткани уха (рис. 2Б) и участка уха с опухолью СТ26 (рис. 2Г). В нормальной ткани видны преимущественно крупные сосуды — артериолы и венулы. При развитии патологического процесса визуализируются мелкие сосуды, которые образуют густую переплетенную сеть. Это связано, по-видимому, как с образованием новых опухолевых сосудов, так и с ростом скорости кровотока в уже существующих сосудах — мы продолжаем изучение этого вопроса. Архитектоника сосудистой сети в норме и при патологии, визуализируемая на ОКТ МА-изображениях, идентична архитектонике сосудистой сети, визуализируемой на флуоресцентных изображениях

(рис. 2В, 2Е), что свидетельствует о корректности получаемых с помощью ОКТ МА данных и возможности отличать нормальную ткань от ткани с патологией, используя этот метод.

ОКТ-эластография

Пример использования разработанного нами метода построения карт деформации с помощью ручного оперирования зондом. При обследовании лабораторных животных *in vivo* показан на рис. 3. На рис. 3А и 3Б приведены структурное и эластографическое изображения ткани уха здорового животного. На структурном изображении (рис. 3А) видно, что ткань по всему размеру кадра морфологически однородна и характеризуется равномерным уровнем рассеяния ОКТ-сигнала, в результате чего на эластографической карте распределение деформации также ожидаемо однородно (рис. 3Б). На структурном изображении ткани уха с привитой опухолью (рис. 3В) эта же область выглядит утолщенной в 2,0–2,5 раза и характеризуется пониженным уровнем рассеяния зондирующего сигнала. На эластографической карте (рис. 3Г) область опухоли отчетливо проявляется в виде контрастной по уровню деформаций зоны по отношению к окружающей ткани.

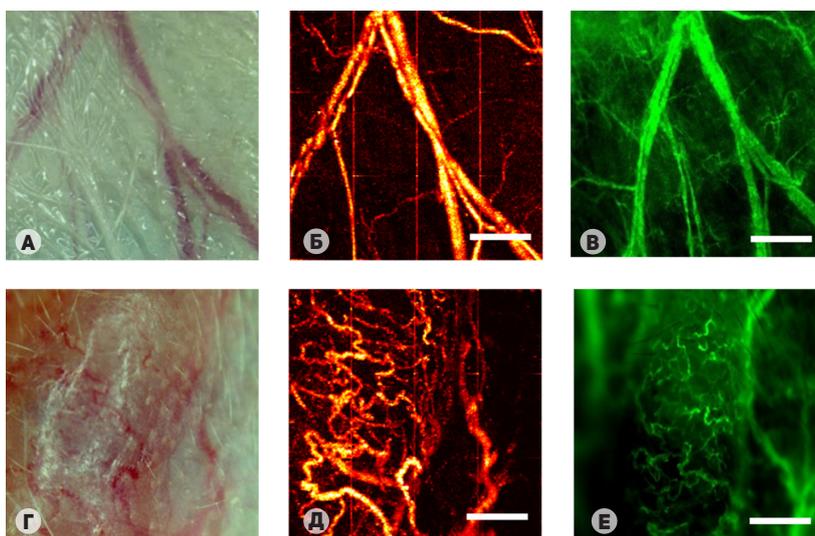


Рис. 2. Пример визуализации сосудистой сети здоровой (А–В) и опухолевой ткани — карциномы кишечника СТ26, локализованной на ухе мыши (Г–Е) (А) и (Б) — микрофотографии, (В) и (Г) — изображения, полученные методом ОКТ-микроангиографии, (Д) и (Е) — флуоресцентные изображения. Размер бара — 0,5 мм.

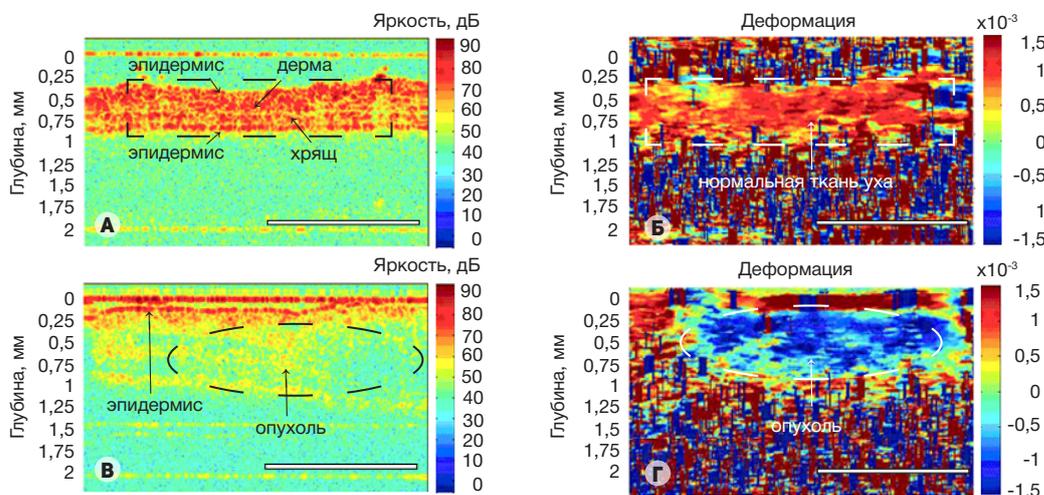


Рис. 3. Примеры структурных ОКТ-изображений (А, В) и эластографических карт деформации (Б, Г) при обследовании здоровой ткани уха мыши (А, Б) и карциномы кишечника СТ26, локализованной на ухе мыши (В, Г), *in vivo* (размер бара — 1 мм)

Изучение естественного роста опухоли СТ26 на ухе мыши

Развитие опухоли СТ26 на ухе исследовали с помощью КП ОКТ и ОКТ МА. Показано, что с развитием опухоли на КП ОКТ-изображениях сигнал резко падает и достигает минимальных значений на 14-й день после прививки опухоли, при этом также снижается глубина проникновения сигнала (рис. 4, верхний ряд). На ОКТ МА-изображениях видно, что по мере увеличения размеров опухоли заметно увеличивается и количество сосудов (рис. 4, нижний ряд).

Ответ опухоли на фотодинамическую терапию

Анализ гистологических препаратов

В результате ФДТ происходит как повреждение клеточного компонента опухоли, так и расстройство ее кровообращения. На второй день после проведения терапии выявляются очаги некроза, занимающие порядка 60 % площади всей опухоли. Наряду с некрозом ткани отмечено расстройство кровообращения: стаз и сладж-синдром, тромбозы и кровоизлияния.

Анализ КП ОКТ-изображений

Предполагается, что повреждающее действие ФДТ как на опухолевые клетки, так и на сосудистый компонент опухоли должно отражаться на оптических свойствах опухоли. На рис. 5 продемонстрированы карты фактора деполяризации для опытной (ФДТ) и контрольной групп животных. Так, в контрольной группе опухоль характеризуется низ-

кими значениями фактора деполяризации (рис. 5А), что говорит о низкой способности ткани к кросс-рассеянию. В опухолях после ФДТ на картах ИФД видно увеличение кросс-рассеяния (рис. 5Б): значения ИФД возрастают с $0,020 \pm 0,007$ до $0,036 \pm 0,013$. Можно предположить, что преобладание в общей массе опухоли участков некроза, морфологически представляющих собой скопления клеток воспаления и разрушенных коллагеновых волокон и опухолевых клеток, приводит к увеличению центров кросс-рассеяния и увеличению значения ИФД.

Анализ ОКТ МА-изображений

ОКТ МА-мониторинг состояния сосудистой сети в опухоли в первые часы после ФДТ выявляет мгновенную реакцию сосудистого компонента на облучение: подавляющее большинство сосудов не визуализируется методом ОКТ МА (рис. 6Б). Через 24 ч после ФДТ сосуды в опухоли практически не визуализируются (рис. 6В). Полученный результат свидетельствует о том, что при расстройствах кровообращения, приводящих к существенному замедлению или остановке кровотока, сосуды на ОКТ МА-изображениях не видны. На флуоресцентных изображениях сосудистая сеть также не визуализируется (рис. 6Д).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе представлено первое комплексное исследование нормальной и патологически измененной ткани методом мультимодальной ОКТ: были получены и проанализированы как структурные ОКТ-изображения, так и ОКТ-изображения сосудистой сети и карты

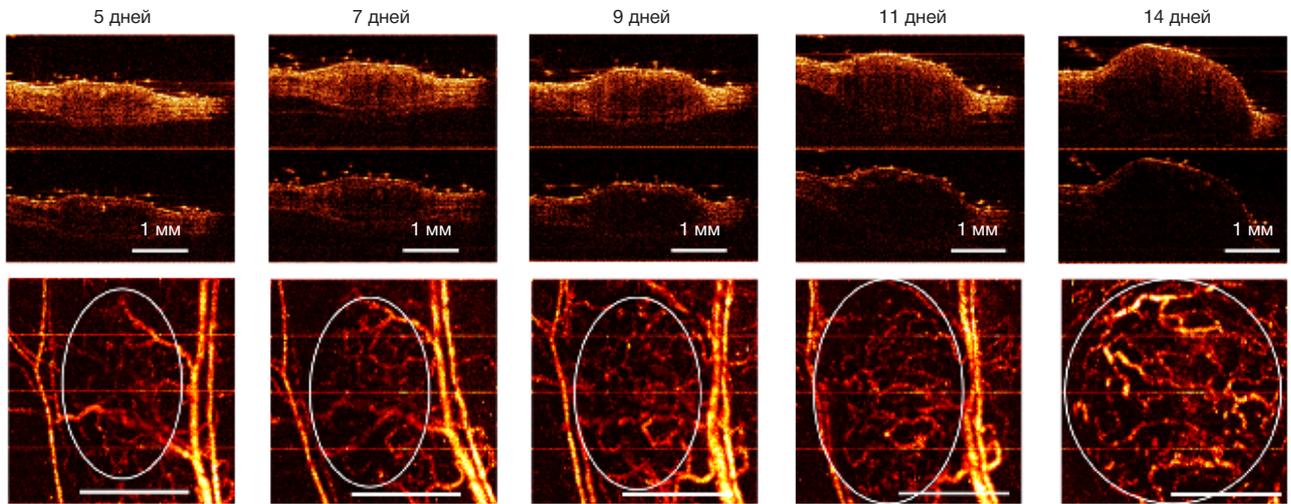


Рис. 4. ММ ОКТ-мониторинг развития карциномы кишечника СТ26, локализованной на ухе мыши. Верхний ряд — КП ОКТ-изображения, нижний ряд — ОКТ МА-изображения. Кругом обведена область опухоли.

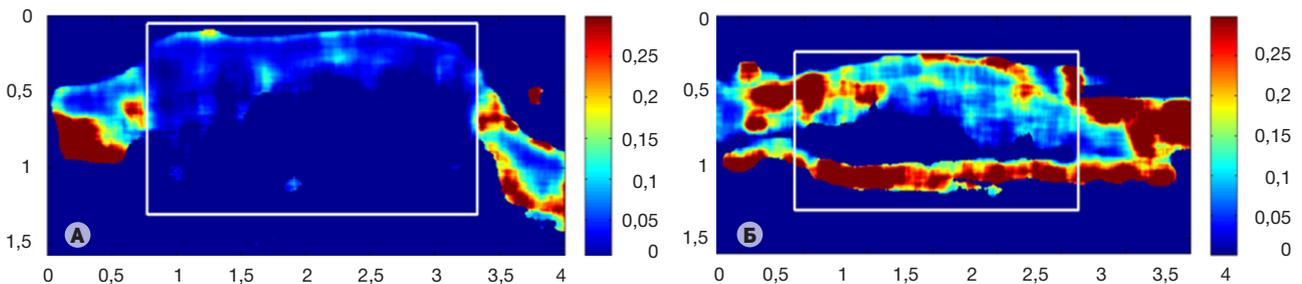


Рис. 5. Примеры карт фактора деполяризации, построенные по В-сканам. (А) — карты для контрольной группы мышей, (Б) — карты для группы мышей, получивших фотодинамическую терапию

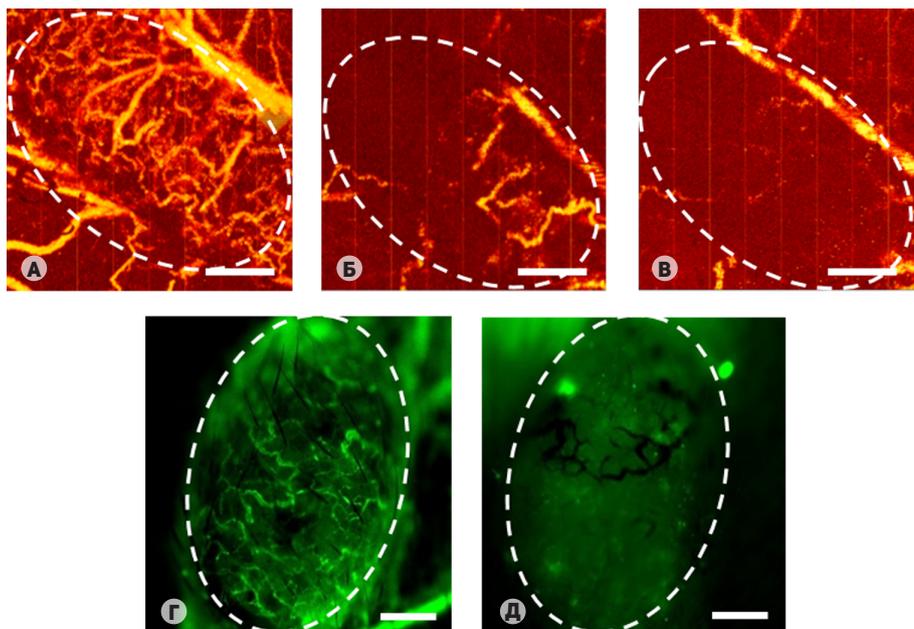


Рис. 6. Пример визуализации реакции сосудов карциномы кишечника СТ26, локализованной на ухе мыши, на фотодинамическую терапию методом ОКТ МА (А–В) и методом флуоресцентной микроскопии (Г, Д). (А) и (Г) — опухоль до терапии, (Б) — опухоль сразу после терапии, (В) и (Д) — опухоль через 24 ч после терапии. Размер бара — 0,5 мм. Область опухоли обведена пунктирным кружком

распределения жесткости — эластографические ОКТ-изображения. Показана принципиальная возможность применения ММ ОКТ для оценки эффективности противоопухолевой терапии. Другие группы исследователей изучают отдельные направления ОКТ. Например, ОКТ-эластографией занимаются во многих научных центрах США с начала 2000-х гг., обосновывая ее применение в офтальмологии [14, 15, 20, 21]. Ведущей в этой области является группа профессора D. Sampson в Австралии [12, 22]. Лидирующие позиции в области визуализации кровотока в тканях, в первую очередь сети капиллярных сосудов, методами ОКТ занимают научные группы под руководством M. Leahy [23], R. Wang [24], A. Vitkin [25]. Также с помощью ОКТ изучали сосудистую реакцию в ответ на ФДТ [26, 27].

К настоящему моменту показано применение метода ОКТ для визуальной оценки структурных изменений опухоли кожи после ФДТ и определения границ опухоли в течение нескольких месяцев после лечения [28, 29]. Тем не менее, некоторые изменения клеточного состава опухолей не могут быть обнаружены невооруженным глазом на ОКТ-изображениях, и количественная оценка ОКТ-изображений обеспечивает более надежный результат. Ранее этот подход позволил значительно повысить точность диагностики для ряда задач [18]. Вычисление ИФД для оценки ответа опухоли на ФДТ помогает не только объективно оценить изображения, но и понять механизм гибели клеточного и стромального компонентов опухоли и роли в этом клеток воспаления.

ММ ОКТ-мониторинг роста опухолевого узла выявил постепенное развитие сосудистой сети. Очевидно, что степень васкуляризации опухоли может повлиять на выбор и качество противоопухолевой терапии: в хорошо васкуляризованных опухолях фотосенсибилизатор накопится в большей концентрации и для таких опухолей можно с успехом применять методы ФДТ, воздействующие на сосуды.

Нами показано, что одновременное изучение опухолевой ткани тремя модальностями ОКТ дает возможность

получать информацию как о структуре ткани, состоянии коллагеновых волокон и кровеносных сосудов, так и о ее жесткостных свойствах. Совокупность этих сведений важна для правильной оценки ответа опухоли на противоопухолевую терапию. На наш взгляд, особое внимание следует уделять изучению исходного состояния опухоли до лечения, т. к. это может повлиять на выбор тактики лечения. Например, плохо васкуляризованные опухоли, скорее всего, гипоксичны, и лучевая и фотодинамическая терапия окажутся малоэффективными, а химиопрепараты, вероятно, плохо накопятся в патологическом очаге, и потребуются таргетная доставка препаратов.

ВЫВОДЫ

В работе показана перспектива применения мультимодальной оптической когерентной томографии в решении задач по индивидуальному подбору противоопухолевой терапии на примере фотодинамической терапии. КП ОКТ дает информацию о структуре ткани и состоянии коллагеновых волокон на основе анализа рассеивающих и поляризационных свойств ткани, выявляет области некроза. ОКТ МА позволяет в реальном времени визуализировать не только архитектуру сосудистого русла в нормальной ткани и при опухолевом росте, но и оценить функциональное состояние сосудов, в частности, можно наблюдать за реакцией сосудистого компонента опухоли на терапию сразу после ее проведения и при необходимости корректировать параметры терапевтического воздействия в случае отсутствия сосудистой реакции. В работе впервые апробирован робастный (устойчивый к помехам) метод получения эластографических изображений, позволяющий получать карты деформаций *in vivo* при ручном оперировании ОКТ-зондом, что особенно важно для клинических исследований. Проведение комплексной оценки функционального состояния тканей методом ММ ОКТ открывает новые горизонты в индивидуализации лечения онкологических заболеваний.

Литература

- Casas A, Di Venosa G, Hasan T, Al Battle. Mechanisms of resistance to photodynamic therapy. *Curr Med Chem*. 2011; 18 (16): 2486–515.
- Mallidi S, Watanabe K, Timerman D, Schoenfeld D, Hasan T. Prediction of Tumor Recurrence and Therapy Monitoring Using Ultrasound-Guided Photoacoustic Imaging. *Theranostics*. 2015 Jan 1; 5 (3): 289–301.
- Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman S, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science*. 1991 Nov 22; 254 (5035): 1178–81.
- Schmitt JM, Xiang SH. Cross-polarized backscatter in optical coherence tomography of biological tissue. *Opt Lett*. 1998 Jul 1; 23 (13): 1060–2.
- Bouma BE, Tearney GJ. Clinical imaging with optical coherence tomography. *Acad Radiol*. 2002 Aug; 9 (8): 942–53.
- Zagaynova EV, Gladkova ND, Shakhova NM, Streltsova OS, Kuznetsova IA, Yanvareva IA, et al. Optical Coherence Tomography Monitoring of Surgery in Oncology. В книзі: Popp J, Tuchin V, Chiou A, Heinemann SH, editors. *Handbook of Biophotonics*. Wiley-VCH; 2012. p. 337–76.
- Enfield J, Jonathan E, Leahy M. In vivo imaging of the microcirculation of the volar forearm using correlation mapping optical coherence tomography (cmOCT). *Biomed Opt Express*. 2011; 2 (5): 1184–93.
- Mariampillai A, Leung MK, Jarvi M, Standish BA, Lee K, Wilson BC, et al. Optimized speckle variance OCT imaging of microvasculature. *Opt Lett*. 2010; 35 (8): 1257–9.
- Kennedy BF, Hillman TR, McLaughlin RA, Quirk BC, Sampson DD. In vivo dynamic optical coherence elastography using a ring actuator. *Opt Express*. 2009; 17 (24): 21762–72.
- Wang S, Li J, Manapuram RK, Menodiado FM, Ingram DR, Twa MD, et al. Noncontact measurement of elasticity for the detection of soft-tissue tumors using phase-sensitive optical coherence tomography combined with a focused air-puff system. *Opt Lett*. 2012; 37 (24): 5184–6.
- Srivastava A, Verma Y, Rao K, Gupta P. Determination of elastic properties of resected human breast tissue samples using optical coherence tomographic elastography. *Strain*. 2011; Feb 1; 47 (1): 75–87.
- Kennedy KM, McLaughlin RA, Kennedy BF, Tien A, Latham B, Saunders CM, et al. Needle optical coherence elastography for the measurement of microscale mechanical contrast deep within human breast tissues. *J Biomed Opt*. 2013; 18 (12): 121510.
- Kennedy BF, McLaughlin RA, Kennedy KM, Chin L, Wijesinghe P, Curatolo A, et al. Investigation of Optical Coherence Micro-elastography as a Method to Visualize Cancers in Human Breast Tissue. *Cancer Res*. 2015; 75 (16): 3236–45.
- Wang S, Larin KV, Li J, Vantipalli S, Manapuram RK, Aglyamov S, et al. A focused air-pulse system for optical-coherence-tomography-based measurements of tissue elasticity. *Laser Physics Letters*. 2013; 10 (7): 075605.
- Nguyen TM, Song S, Arnal B, Wong EY, Huang Z, Wang RK, et al. Shear wave pulse compression for dynamic elastography using phase-sensitive optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2014; 19 (1): 016013.
- Zaitsev VY, Matveyev AL, Matveev LA, Gelikonov GV, Gubarkova EV, Gladkova ND, et al. Hybrid method of strain estimation in optical coherence elastography using combined sub-wavelength phase measurements and supra-pixel displacement tracking. *J Biophotonics*. 2016; 9 (5): 499–509.
- Gubarkova EV, Dudenkova VV, Feldchtein FI, Timofeeva LB, Kiseleva EB, Kuznetsov SS, et al. Multi-modal optical imaging characterization of atherosclerotic plaques. *J Biophotonics*. 2015 Nov 25. doi: 10.1002/jbio.201500223.
- Kiseleva E, Kirillin M, Feldchtein F, Vitkin A, Sergeeva E, Zagaynova E, et al. Differential diagnosis of human bladder mucosa pathologies in vivo with cross-polarization optical coherence tomography. *Biomed Opt Express*. 2015; Apr 1; 6 (4): 1464–76.
- Matveev LA, Zaitsev VYu, Gelikonov GV, Matveyev AL, Moiseev AA, Ksenofontov SYu, et al. 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): 1472–5.
- Rogowska J, Patel N, Plummer S, Brezinski ME. Quantitative optical coherence tomographic elastography: method for assessing arterial mechanical properties. *Br J Radiol*. 2006; 79 (945): 707–11.
- Song S, Huang Z, Nguyen TM, Wong EY, Arnal B, O'Donnell M, et al. Shear modulus imaging by direct visualization of propagating shear waves with phase-sensitive optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2013; 18 (12): 121509.
- Adie SG, Kennedy BF, Armstrong JJ, Alexandrov SA, Sampson DD. Audio frequency in vivo optical coherence elastography. *Phys Med Biol*. 2009; 54 (10): 3129–39.
- Jonathan E, Enfield J, Leahy MJ. Correlation mapping method for generating microcirculation morphology from optical coherence tomography (OCT) intensity images. *J Biophotonics*. 2011; Sep; 4 (9): 583–7.
- Jung Y, Dziennis S, Zhi Z, Reif R, Zheng Y, Wang RK. Tracking Dynamic Microvascular Changes during Healing after Complete Biopsy Punch on the Mouse Pinna Using Optical Microangiography. *PLoS ONE*. 2013; 8 (2): e57976.
- Li H, Standish BA, Mariampillai A, Munce NR, Mao Y, Chiu S, et al. Feasibility of Interstitial Doppler Optical Coherence Tomography for In Vivo Detection of Microvascular Changes During Photodynamic Therapy. *Lasers Surg Med*. 2006; Sep 1; 38 (8): 754–61.
- Standish BA, Lee KKC, Jin X, Mariampillai A, Munce NR, Wood MFG, et al. Interstitial Doppler Optical Coherence Tomography as a Local Tumor Necrosis Predictor in Photodynamic Therapy of Prostatic Carcinoma: An In vivo Study. *Cancer Res*. 2008; Dec 1; 68 (23): 9987–95.
- Standish BA, Yang VX, Munce NR, Wong Kee Song LM, Gardiner G, Lin A, et al. Doppler optical coherence tomography monitoring of microvascular tissue response during photodynamic therapy in an animal model of Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc*. 2007; 66 (2): 326–33.
- Hamdoon Z, Jerjes W, Upile T, Hopper C. Optical coherence tomography-guided photodynamic therapy for skin cancer: case study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2011; 8 (1): 49–52.
- Themstrup L, Banzhaf CA, Mogensen M, Jemec GB. Optical coherence tomography imaging of non-melanoma skin cancer undergoing photodynamic therapy reveals subclinical residual lesions. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2014; 11 (1): 7–12.

References

- Casas A, Di Venosa G, Hasan T, Al Battle. Mechanisms of resistance to photodynamic therapy. *Curr Med Chem*. 2011; 18 (16): 2486–515.
- Mallidi S, Watanabe K, Timerman D, Schoenfeld D, Hasan T. Prediction of Tumor Recurrence and Therapy Monitoring Using Ultrasound-Guided Photoacoustic Imaging. *Theranostics*. 2015 Jan 1; 5 (3): 289–301.
- Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman S, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science*. 1991 Nov 22; 254 (5035): 1178–81.
- Schmitt JM, Xiang SH. Cross-polarized backscatter in optical coherence tomography of biological tissue. *Opt Lett*. 1998 Jul 1; 23 (13): 1060–2.
- Bouma BE, Tearney GJ. Clinical imaging with optical coherence tomography. *Acad Radiol*. 2002 Aug; 9 (8): 942–53.
- Zagaynova EV, Gladkova ND, Shakhova NM, Streltsova OS,

- Kuznetsova IA, Yanvareva IA, et al. Optical Coherence Tomography Monitoring of Surgery in Oncology. In: Popp J, Tuchin V, Chiou A, Heinemann SH, editors. Handbook of Biophotonics. Wiley-VCH; 2012. p. 337–76.
7. Enfield J, Jonathan E, Leahy M. In vivo imaging of the microcirculation of the volar forearm using correlation mapping optical coherence tomography (cmOCT). *Biomed Opt Express*. 2011; 2 (5): 1184–93.
 8. Mariampillai A, Leung MK, Jarvi M, Standish BA, Lee K, Wilson BC, et al. Optimized speckle variance OCT imaging of microvasculature. *Opt Lett*. 2010; 35 (8): 1257–9.
 9. Kennedy BF, Hillman TR, McLaughlin RA, Quirk BC, Sampson DD. In vivo dynamic optical coherence elastography using a ring actuator. *Opt Express*. 2009; 17 (24): 21762–72.
 10. Wang S, Li J, Manapuram RK, Menodiado FM, Ingram DR, Twa MD, et al. Noncontact measurement of elasticity for the detection of soft-tissue tumors using phase-sensitive optical coherence tomography combined with a focused air-puff system. *Opt Lett*. 2012; 37 (24): 5184–6.
 11. Srivastava A, Verma Y, Rao K, Gupta P. Determination of elastic properties of resected human breast tissue samples using optical coherence tomographic elastography. *Strain*. 2011; Feb 1; 47 (1): 75–87.
 12. Kennedy KM, McLaughlin RA, Kennedy BF, Tien A, Latham B, Saunders CM, et al. Needle optical coherence elastography for the measurement of microscale mechanical contrast deep within human breast tissues. *J Biomed Opt*. 2013; 18 (12): 121510.
 13. Kennedy BF, McLaughlin RA, Kennedy KM, Chin L, Wijesinghe P, Curatolo A, et al. Investigation of Optical Coherence Micro-elastography as a Method to Visualize Cancers in Human Breast Tissue. *Cancer Res*. 2015; 75 (16): 3236–45.
 14. Wang S, Larin KV, Li J, Vantipalli S, Manapuram RK, Aglyamov S, et al. A focused air-pulse system for optical-coherence-tomography-based measurements of tissue elasticity. *Laser Physics Letters*. 2013; 10 (7): 075605.
 15. Nguyen TM, Song S, Arnal B, Wong EY, Huang Z, Wang RK, et al. Shear wave pulse compression for dynamic elastography using phase-sensitive optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2014; 19 (1): 016013.
 16. Zaitsev VY, Matveyev AL, Matveev LA, Gelikonov GV, Gubarkova EV, Gladkova ND, et al. Hybrid method of strain estimation in optical coherence elastography using combined sub-wavelength phase measurements and supra-pixel displacement tracking. *J Biophotonics*. 2016; 9 (5): 499–509.
 17. Gubarkova EV, Dudenkova VV, Feldchtein FI, Timofeeva LB, Kiseleva EB, Kuznetsov SS, et al. Multi-modal optical imaging characterization of atherosclerotic plaques. *J Biophotonics*. 2015 Nov 25. doi: 10.1002/jbio.201500223.
 18. Kiseleva E, Kirillin M, Feldchtein F, Vitkin A, Sergeeva E, Zagaynova E, et al. Differential diagnosis of human bladder mucosa pathologies in vivo with cross-polarization optical coherence tomography. *Biomed Opt Express*. 2015; Apr 1; 6 (4): 1464–76.
 19. Matveev LA, Zaitsev VYu, Gelikonov GV, Matveyev AL, Moiseev AA, Ksenofontov SYu, et al. 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): 1472–5.
 20. Rogowska J, Patel N, Plummer S, Brezinski ME. Quantitative optical coherence tomographic elastography: method for assessing arterial mechanical properties. *Br J Radiol*. 2006; 79 (945): 707–11.
 21. Song S, Huang Z, Nguyen TM, Wong EY, Arnal B, O'Donnell M, et al. Shear modulus imaging by direct visualization of propagating shear waves with phase-sensitive optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2013; 18 (12): 121509.
 22. Adie SG, Kennedy BF, Armstrong JJ, Alexandrov SA, Sampson DD. Audio frequency in vivo optical coherence elastography. *Phys Med Biol*. 2009; 54 (10): 3129–39.
 23. Jonathan E, Enfield J, Leahy M. Correlation mapping method for generating microcirculation morphology from optical coherence tomography (OCT) intensity images. *J Biophotonics*. 2011; Sep; 4 (9): 583–7.
 24. Jung Y, Dziennis S, Zhi Z, Reif R, Zheng Y, Wang RK. Tracking Dynamic Microvascular Changes during Healing after Complete Biopsy Punch on the Mouse Pinna Using Optical Microangiography. *PLoS ONE*. 2013; 8 (2): e57976.
 25. Li H, Standish BA, Mariampillai A, Munce NR, Mao Y, Chiu S, et al. Feasibility of Interstitial Doppler Optical Coherence Tomography for In Vivo Detection of Microvascular Changes During Photodynamic Therapy. *Lasers Surg Med*. 2006; Sep 1; 38 (8): 754–61.
 26. Standish BA, Lee KKC, Jin X, Mariampillai A, Munce NR, Wood MFG, et al. Interstitial Doppler Optical Coherence Tomography as a Local Tumor Necrosis Predictor in Photodynamic Therapy of Prostatic Carcinoma: An In vivo Study. *Cancer Res*. 2008; Dec 1; 68 (23): 9987–95.
 27. Standish BA, Yang VX, Munce NR, Wong Kee Song LM, Gardiner G, Lin A, et al. Doppler optical coherence tomography monitoring of microvascular tissue response during photodynamic therapy in an animal model of Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc*. 2007; 66 (2): 326–33.
 28. Hamdoon Z, Jerjes W, Upile T, Hopper C. Optical coherence tomography-guided photodynamic therapy for skin cancer: case study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2011; 8 (1): 49–52.
 29. Themstrup L, Banzhaf CA, Mogensen M, Jemec GB. Optical coherence tomography imaging of non-melanoma skin cancer undergoing photodynamic therapy reveals subclinical residual lesions. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2014; 11 (1): 7–12.