

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана
(национальный исследовательский университет)»
(МГТУ им. Н.Э. Баумана)

ФАКУЛЬТЕТ _____ Радиоэлектроника и лазерная техника _____

КАФЕДРА _____ Лазерные и оптико-электронные системы _____

РАСЧЕТНО-ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА
К ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ
НА ТЕМУ:

Разработка методов исследования злокачественных новообразований головного мозга с помощью оптической когерентной томографии

Студент _____ РЛ2-84Б _____
(Группа) _____ (Подпись, дата) _____
Александрова П.В.
(И.О.Фамилия)

Руководитель ВКР _____
(Подпись, дата) _____ Долганова И.Н.
(И.О.Фамилия)

Консультант _____
(Подпись, дата) _____ Черномырдин Н.В.
(И.О.Фамилия)

Консультант _____
(Подпись, дата) _____ (И.О.Фамилия)

Нормоконтролер _____
(Подпись, дата) _____ (И.О.Фамилия)

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана
(национальный исследовательский университет)»
(МГТУ им. Н.Э. Баумана)

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой РЛ2
(Индекс)

Н.В. Барышников
(И.О.Фамилия)

« » 20 г.

ЗАДАНИЕ

на выполнение выпускной квалификационной работы бакалавра

Студент группы РЛ2-84Б

Александрова Полина Викторовна

(фамилия, имя, отчество)

Тема квалификационной работы: Разработка методов исследования злокачественных новообразований
головного мозга с помощью оптической когерентной томографии

Источник тематики (НИР кафедры, заказ организаций и т.п.)

НИР по гранту РФФИ № 18-38-00853 «Разработка методов оптической когерентной томографии злокачественных новообразований головного мозга в интересах интраоперационной диагностики в нейрохирургии».

Тема квалификационной работы утверждена распоряжением № 03.03-04/33РЛМ от «13» декабря 2019 г.

Часть 1. Анализ проблемы интраоперационной нейродиагностики злокачественных новообразований головного мозга

Исследовать актуальность разработки новых инструментов интраоперационной нейродиагностики и дифференциации между степенями злокачественности глиомы. Рассмотреть основные методы диагностики новообразований головного мозга и перспективность метода оптической когерентной томографии. Изучить классификацию и особенности глиом головного мозга. Проанализировать распространение немодулированного света в биологической ткани.

Часть 2. Разработка метода исследования, экспериментальной схемы и ввод характеристик

Разработать оптимальный метод исследования новообразований головного мозга. Сконструировать экспериментальную схему исследования. Подобрать оптимальную методику подготовки образцов. Выбрать систему параметров, позволяющую провести расширенный анализ оптических характеристик тканей мозга.

Часть 3. Экспериментальная реализация терагерцовой изображающей системы на основе эффекта твердотельной иммерсии

Описать ход эксперимента. Предоставить обработку экспериментальных данных. Проанализировать полученные результаты. Результаты классифицировать по степеням злокачественности исследуемых тканей головного мозга.

Общие задачи работы: Требуется разработать экспериментальный стенд и методику проведения исследования тканей головного мозга, провести серию экспериментальных исследований и сформировать базу данных ОКТ изображений, определить на основе анализа данных изображений основные характеристики и соответствующие им признаки ОКТ сигнала, разработать алгоритм и его программную реализацию для обработки результатов измерений при помощи среды математического моделирования (MATLAB), провести анализ возможности дифференциации глиом различной степени злокачественности от интактных тканей.

Оформление квалификационной работы:

Расчетно-пояснительная записка на 53 листах формата А4.

Перечень графического (иллюстративного) материала (чертежи, плакаты, слайды и т.п.)

Функциональная схема оптического когерентного томографа – А2, сборочный чертеж держателя образца – А2, алгоритм обработки характеристик, полученных в ходе анализа В-сканов – А1, результаты ОКТ исследования – А1.

Дата выдачи задания «7» февраля 2020 г.

В соответствии с учебным планом выпускную квалификационную работу выполнить в полном объеме в срок до «15» июня 2020 г.

Руководитель квалификационной работы _____ И.Н. Долганова
(Подпись, дата) (И.О.Фамилия)

Студент _____ П.В. Александрова
(Подпись, дата) (И.О.Фамилия)

Примечание:

1. Задание оформляется в двух экземплярах: один выдается студенту, второй хранится на кафедре.

**Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана
(национальный исследовательский университет)»
(МГТУ им. Н.Э. Баумана)**

ФАКУЛЬТЕТ __РЛ__

КАФЕДРА __РЛ2__

ГРУППА __РЛ2-84Б__

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой __РЛ2__
(Индекс)

____ Н.В. Барышников
(И.О. Фамилия)

« ____ » _____ 20 ____ г.

**КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН
выполнения выпускной квалификационной работы
студента: Александровой Полины Викторовны**

(фамилия, имя, отчество)

Тема квалификационной работы Разработка методов исследования злокачественных новообразований головного мозга с помощью оптической когерентной томографии

№ п/п	Наименование этапов дипломного проекта (работы)	Сроки выполнения этапов		Отметка о выполнении	
		план	факт	Должность	ФИО, подпись
1.	Задание на выполнение работы. Формулирование проблемы, цели и задач работы	07.02.2020 <i>Планируемая дата</i>		Руководитель ВКР	Долганова И.Н.
2.	1 часть _____	20.03.2020 <i>Планируемая дата</i>		Руководитель ВКР	Долганова И.Н.
3.	Утверждение окончательных формулировок решаемой проблемы, цели работы и перечня задач	30.03.2020 <i>Планируемая дата</i>		Заведующий кафедрой	Барышников Н.В.
4.	2 часть _____	30.04.2020 <i>Планируемая дата</i>		Руководитель ВКР	Долганова И.Н.
5.	3 часть _____	30.05.2020 <i>Планируемая дата</i>		Руководитель ВКР	Долганова И.Н.
6.	1-я редакция работы	01.06.2020 <i>Планируемая дата</i>		Руководитель ВКР	Долганова И.Н.
7.	Подготовка доклада и презентации	10.06.2020 <i>Планируемая дата</i>			
8.	Заключение руководителя	10.06.2020 <i>Планируемая дата</i>		Руководитель ВКР	Долганова И.Н.
9.	Нормоконтроль	13.06.2020 <i>Планируемая дата</i>		Нормоконтролер	Патрикеева А.А.
10.	Внешняя рецензия	09.06.2020 <i>Планируемая дата</i>			
11.	Защита работы на ГЭК	18.06.2020 <i>Планируемая дата</i>			

Студент _____/Александрова П.В.
(подпись, дата)

Руководитель ВКР _____/Долганова И.Н.
(подпись, дата)

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана
(национальный исследовательский университет)»
(МГТУ им. Н.Э. Баумана)

**НАПРАВЛЕНИЕ НА ЗАЩИТУ
выпускной квалификационной работы**

**Председателю
Государственной Экзаменационной Комиссии № _____**

факультета _____ *РЛ* _____ МГТУ им. Н.Э.Баумана

Направляется студент Александрова Полина Викторовна группы РЛ2-84Б
на защиту выпускной квалификационной работы «Разработка методов исследования
злокачественных новообразований головного мозга с помощью оптической когерентной
томографии»

Декан факультета _____
« _____ » _____ 20__ г.

Справка об успеваемости

Студент Александрова П. В. _____ за время пребывания в МГТУ имени Н.Э.Баумана
с 2016 г. по 2020 г. полностью выполнил учебный план со следующими оценками: отлично –
85,0 %, хорошо – 15,0 %, удовлетворительно – 0,0 %.

Инспектор деканата _____

Отзыв руководителя выпускной квалификационной работы

Студент Александрова П.В. выполнила ВКР по теме «Разработка методов исследования
злокачественных новообразований головного мозга с помощью оптической когерентной
томографии». В рамках работы провела теоретические и экспериментальные исследования,
разработала стенд для проведения экспериментальных исследований. Результаты работы
были представлены на международных конференциях и опубликованы в научных статьях.
Александрова П.В. проявила способность к исследовательской работе, продемонстрировала
упорство в достижении результатов, все поставленные задачи выполнила в срок. Считаю, что
ВКР Александровой П.В. достойна оценки «отлично».

Руководитель _____ Долганова И.Н. _____
« _____ » _____ 20__ г.

Заключение кафедры о выпускной квалификационной работе

Выпускная квалификационная работа просмотрена и студент _____ может быть
допущен к защите этой работы в Государственной Экзаменационной Комиссии.

Зав. кафедрой _____
« _____ » _____ 20__ г.

РЕФЕРАТ

Расчетно-пояснительная записка 64 с., 22 рис., 1 табл., 56 источников, 2 прил.

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА С ПОМОЩЬЮ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

Цель работы - разработать метод исследования тканей головного мозга с помощью ОКТ для диагностики глиальных опухолей.

Для достижения данной цели в работе были поставлены и решены следующие задачи:

- 1) Разработать экспериментальный стенд и методику проведения исследования тканей головного мозга;
- 2) Провести серию экспериментальных исследований и сформировать базу данных ОКТ изображений различных тканей головного мозга;
- 3) Определить на основе анализа ОКТ изображений основные характеристики ткани и соответствующие им признаки ОКТ сигнала для диагностики и дифференцирования глиом и интактных тканей головного мозга;
- 4) Разработать алгоритм и его программную реализацию для обработки результатов измерений при помощи среды математического моделирования (MATLAB);
- 5) Провести анализ возможности дифференциации глиом различной степени злокачественности от интактных тканей головного мозга с помощью предложенного метода.

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТ	6
СОДЕРЖАНИЕ	7
ВВЕДЕНИЕ	8
1 Теоретическая часть	9
1.1 Классификация и особенности глиом головного мозга	9
1.2 Распространение немодулированного света в биологической ткани	10
1.3 Основные методы диагностики новообразований головного мозга	12
1.4 Оптическая когерентная томография	14
1.4.1 Принцип работы ОКТ и формирование ОКТ-изображения	14
1.4.2 Разновидности ОКТ	18
1.4.3 ОКТ как инструмент диагностики новообразований головного мозга	24
2 Исследовательская часть	26
2.1 Метод исследования	26
2.2 Экспериментальная схема	27
2.3 Подготовка образцов	28
2.4 Введение характеристик	29
3 Экспериментальная часть	33
3.1 Описание эксперимента	33
3.2 Обработка экспериментальных данных	34
3.3 Результаты	35
3.4 Анализ полученных результатов	39
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	44
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	45
ПРИЛОЖЕНИЕ А	52
ПРИЛОЖЕНИЕ Б	58

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Глиома головного мозга является самой распространенной опухолью центральной нервной системы (ЦНС), которая составляет около 63% всех диагностируемых новообразований головного мозга [1]. Важным этапом лечения является удаление опухоли, что усложняется неполной визуализацией ее границ вследствие ее инфильтративного роста. На данный момент существует ряд методов интраоперационной диагностики для определения границ опухоли, среди которых наиболее эффективными являются методы интраоперационной магнитно-резонансной томографии (иМРТ) и флуоресцентной диагностики. Но, как и любые другие методы, данные имеют некоторые ограничения. Для флуоресцентной диагностики характерна низкая чувствительность метода для глиом низкой степени злокачественности [2-4]. Недостатками иМРТ являются высокая стоимость, использование специального хирургического инструментария, а также для ее проведения требуется высокий уровень подготовки хирурга [5].

Следовательно, существует большая потребность в разработке новых инструментов интраоперационной нейродиагностики и дифференциации между степенями злокачественности глиомы.

В данной работе рассмотрен один из перспективных методов оптической диагностики – оптическая когерентная томография (ОКТ). ОКТ – неинвазивный метод визуализации внутренней структуры ткани с высоким разрешением ($<10 \mu\text{m}$) и с отсутствием необходимости использования контрастных агентов [6]. Работа ОКТ основана на анализе обратно рассеянного от внутренних компонентов исследуемой ткани зондирующего излучения видимого и ближнего инфракрасного диапазона ($\lambda = 700 \dots 1300 \text{ нм}$). ОКТ широко применяется в биомедицинских исследованиях и в медицинской практике в качестве вспомогательного инструмента [7-9] для визуализации из-за относительно

низкой глубины проникновения в биологические ткани и трудности интерпретации сигнала.

1 Теоретическая часть

1.1 Классификация и особенности глиом головного мозга

Глиома – наиболее распространенная первичная опухоль головного мозга. Данный вид опухоли часто растет путем диффузной инфильтрации в белое вещество и поэтому возникают трудности с его обнаружением на поверхности мозга.

Гистологически глиомы подразделяют на I-IV степени в соответствии с классификацией Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [56]. Опухоли I степени, как правило, имеют благоприятный прогноз и чаще всего встречаются у детей [10, 11]. Глиомы низкой степени – это опухоли головного мозга, которые происходят от двух различных типов клеток, известных как астроциты и олигодендроциты. Они классифицируются как опухоли II степени и являются медленно растущим типом глиом у взрослых. Наиболее распространенными из астроцитарных опухолей головного мозга являются злокачественные глиомы (около 63%) [1, 12]. К ним относятся глиомы III степени, которые являются диффузными и называются анапластическими астроцитомами. А также глиобластомы (глиомы IV степени), представляющие собой агрессивный тип рака, который образуется из клеток, называемых астроцитами. Именно последний тип трудно поддается лечению.

1.2 Распространение немодулированного света в биологической ткани

Биологические ткани являются оптически неоднородными поглощающими средами, у которых средний показатель преломления выше, чем у воздуха. Большинство биологических тканей состоит из структур, размеры которых изменяются в широком диапазоне от нанометров до микрометров. Мышечная ткань, дерма кожи, твердая мозговая оболочка, роговица глаза и склера принадлежат к типу соединительных биологических тканей, образованному коллагеновыми волокнами. Внутри клеток имеются разнообразные структуры, определяющие рассеяние света тканью (ядра клеток, митохондрии, лизосомы, пероксисомы). Распространение света в биологической ткани зависит от рассеивающих и поглощающих свойств ее компонентов (рисунок 1).

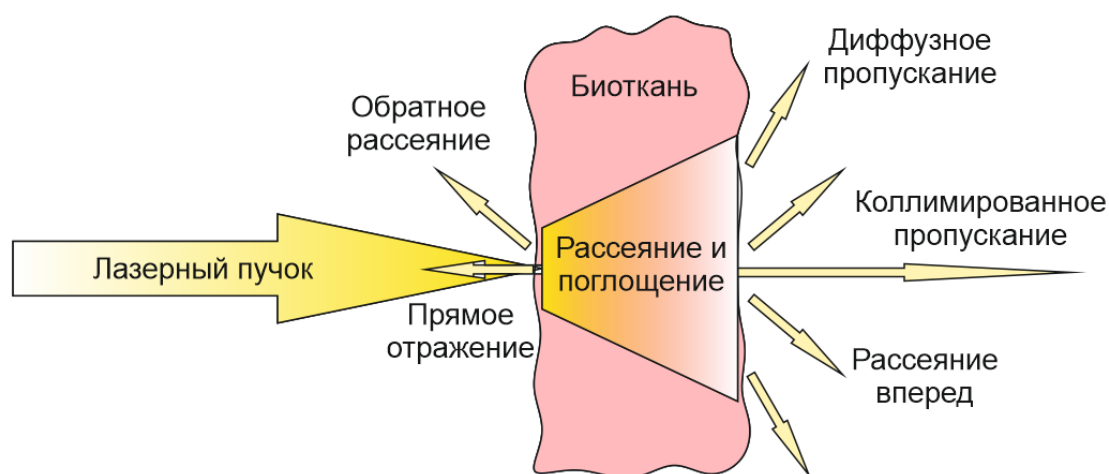


Рисунок 1 - Распространение немодулированного света в биологической ткани

Ослабление лазерного пучка в биологической ткани в геометрии на пропускание описывается законом Бугера-Бера $I(z)$, Вт/см²:

$$I(z) = (1 - R)I_0 \exp(-\mu_t z), \quad (1)$$

$$R = [(n - 1)/(n + 1)]^2 \quad (2)$$

- коэффициент отражения Френеля, при нормальном падении пучка,
 где n – относительный показатель преломления биологической ткани;
 I_0 – интенсивность падающего света, Вт/см²;

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s \quad (3)$$

- коэффициент экстинкции (коэффициент взаимодействия или ослабления),
 1/см,
 где μ_a – коэффициент поглощения, 1/см;
 μ_s – коэффициент рассеяния, 1/см;
 z – толщина образца, см.

Необходимо отметить, что коэффициент ($\mu_t = \mu_a + \mu_s$) белого вещества существенно выше, чем серого вещества [13]. Опухоли в общем случае макроскопически менее однородны, чем любые другие нормальные биологические ткани, следовательно, коэффициент рассеяния и параметр анизотропии у них немного выше, чем у серого вещества. Существенные структурные изменения в биологических тканях, описывающие формирование опухоли, приводят к росту обоих коэффициентов взаимодействия, что главным образом происходит из-за уплотнения ткани и гомогенизации сосудистых стенок [14]. Ткань становится более плотной вследствие потери воды при коагуляции. Может начаться васкуляризация (процесс формирования новых кровеносных сосудов внутри ткани), также может увеличиться концентрация клеток, произойти рост ядер и образоваться некроз. Все это приводит к увеличению коэффициентов рассеяния и поглощения в спектральном диапазоне. А,

следовательно, данные факторы влияют на взаимодействие излучения с веществом. К сожалению, описанные выше процессы не несут в себе полной информации об изменении оптических свойств исследуемой биологической ткани, так как протекают одновременно.

1.3 Основные методы диагностики новообразований головного мозга

В настоящее время проблема диагностики и полной резекции опухолей головного мозга является актуальной. Согласно эпидемиологическим данным, в России опухоли головного мозга составляют 2% от всех случаев злокачественных новообразований ЦНС у человека [15-17]. Для эффективного лечения и диагностики используют различные методы:

- 1) Магнитно-резонансная томография (МРТ) – наиболее значимый метод диагностики опухолей головного мозга. А иМРТ с контрастным усилением обладает высокой чувствительностью и считается одним из лучших методов в определении степени удаления опухоли. Но, несмотря на высокую информативность, данный метод имеет ряд недостатков: высокая стоимость, трудность в техническом осуществлении, невозможность интеграции с микроскопом. Все это приводит к увеличению времени проведения операции. В работе Н. Hirschberg [18] сравнивалось время оперативного вмешательства с использованием иМРТ, которое составило в среднем 5,1 ч, со временем стандартной операции – 3,4 ч.
- 2) Магнитно-резонансная (МР)-спектроскопия. Данный метод позволяет получать информацию о химическом составе исследуемой ткани. МР-спектроскопия может применяться также для дифференциальной диагностики различных гистологических типов глиальных опухолей. Данный метод входит в состав оптических методов диагностики и обладает высокой

точностью в детектировании определенных атомов, молекул и химических связей внутри вещества [19, 20].

- 3) Флуоресцентная диагностика. Данный метод основан на способности фотосенсибилизаторов выборочно накапливаться в опухолевой ткани и при взаимодействии с излучением света определенной длины волны флуоресцировать. Это и позволяет хирургу определить опухоль и ее границы. Однако существует и ряд недостатков, одним из которых является субъективная оценка степени флуоресценции, определяемая хирургом «на глаз». Это может привести к неполной резекции опухолевой ткани из-за слабой флуоресценции. Также необходимо использовать специальные препараты (экзогенные фотосенсибилизаторы на основе производных гематопротеина) для проведения диагностики на основе экзогенной флуоресценции.
- 4) Гистологические исследования. Золотой стандарт диагностики. Один из основных методов лабораторной диагностики новообразований, позволяющий оценить состояние и структуру клеток. Изучение клеток образца пораженной ткани происходит при помощи различных технологий обработки и способов микроскопии. Может выполняться только для биопсийного материала, не применим *in vivo*. В настоящее время используют два способа проведения гистологического исследования. Обычный способ включает в себя получение биоптата с последующей обработкой фиксирующим веществом и покрытием парафином. Далее препарат нарезают при помощи специального оборудования на «ломтики» и окрашивают. Полученную картину изучают под микроскопом и выносят заключение. Процедура занимает от 7 до 10 дней. Ускоренный метод, необходимый для немедленной диагностики, включает в себя замораживание биоптата, его нарезку и немедленное проведение микроскопии. Исследование занимает менее часа.

1.4 Оптическая когерентная томография

Оптическая когерентная томография (ОКТ) – высокоразрешающий метод, который позволяет получить изображение внутренней микроструктуры биологической ткани и определить рассеивающие свойства в пределах глубины зондирования 1-3 мм. ОКТ-исследование состоит в измерении сигнала обратного рассеяния или отражения от неоднородностей биологической ткани видимого или ближнего инфракрасного диапазона в зависимости от глубины, z .

Впервые метод ОКТ был представлен командой ученых из Массачусетского технологического института [21]. ОКТ получила широкое распространение в экспериментальной медицине, а также в нейрохирургии.

1.4.1 Принцип работы ОКТ и формирование ОКТ-изображения

Классическая схема ОКТ-устройства представляет собой интерферометр Майкельсона. В одно плечо помещают опорный отражатель, в другое – объект и освещают светом с малой длиной временной когерентности (рисунок 2). Свет частично отражается от поверхности объекта, а частично проходит внутрь. Внутри объекта свет испытывает многочисленные акты рассеяния и отражения на оптических неоднородностях, которые являются следствием скачков показателя преломления вещества, из которого состоит объект. В результате часть излучения выходит из объекта и попадает на детектор, при совпадении длин оптического хода в двух ветвях интерферометра формируется сигнал. Эта часть излучения состоит из большого числа элементарных волн, каждая из которых отразилась от какой-либо неоднородности внутри среды (или испытала рассеяние на этой неоднородности).

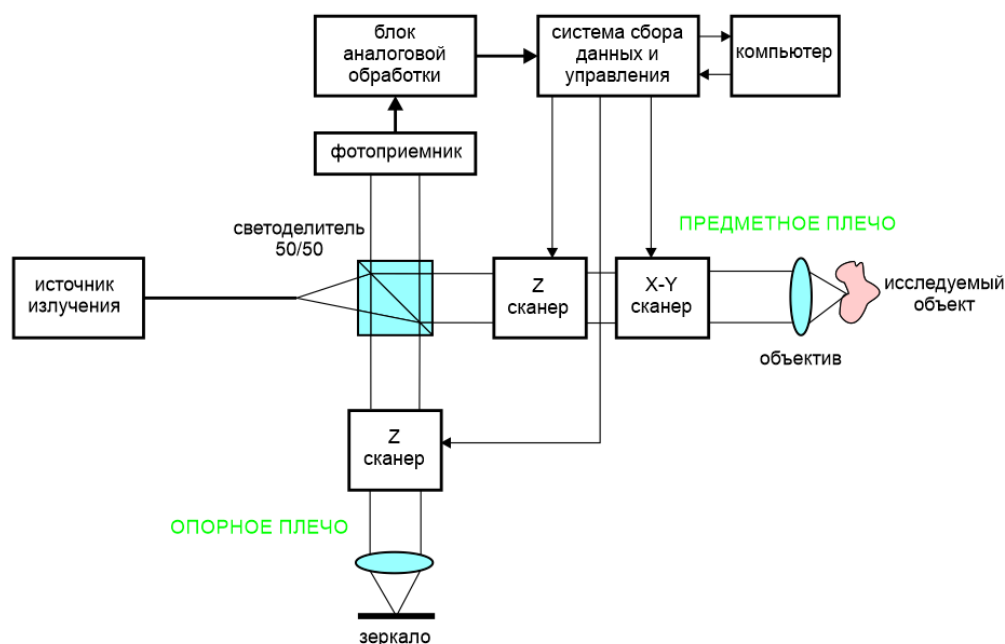


Рисунок 2 - Функциональная схема ОКТ устройства

Элементарные волны несут информацию о двух важных параметрах, характеризующих саму среду.

- Во-первых, амплитуды волн определяется отражательной способностью неоднородности, послуживших источниками этих волн.
- Во-вторых, в процессе распространения в среде до неоднородности и после нее происходит накопление волной временной задержки, или фазового сдвига, которые зависят от длины оптического пути, пройденного этой волной. Длина пути, пройденного волной, зависит, в свою очередь, от глубины расположения оптической неоднородности.

Задача восстановления внутренней оптической структуры объекта заключается в селекции отраженного объектом излучения по длинам оптических путей, или по глубине, с которой это излучение пришло, и определении степени отражения на этой глубине. Предметная волна интерферирует с опорной волной от того же источника, каким освещали образец. Результат интерференции получают при помощи детектора интерферометра. Интенсивность сигнала пропорциональна интерференционному члену, который, в свою очередь, зависит от разности фаз двух волн на детекторе. Опорное плечо интерферометра устроено таким образом, что длина оптического пути, который проходит

опорная волна, может меняться, так что опорная волна каждый раз интерферирует с долей излучения, пришедшего с разной глубины внутри объекта. Результатом является интерференционный сигнал, - и есть одиночный скан объекта по глубине (А-скан) (рисунок 3, а).

Объединяя сканирование в латеральных координатах и сканирование по глубине, ОКТ позволяет формировать двумерное изображение в поперечном сечении микроструктуры ткани (В-скан) (рисунок 3, б). Осуществляя дополнительное перемещение зондирующего луча перпендикулярно траектории В-сканов, получают трехмерные изображения (рисунок 3, в).

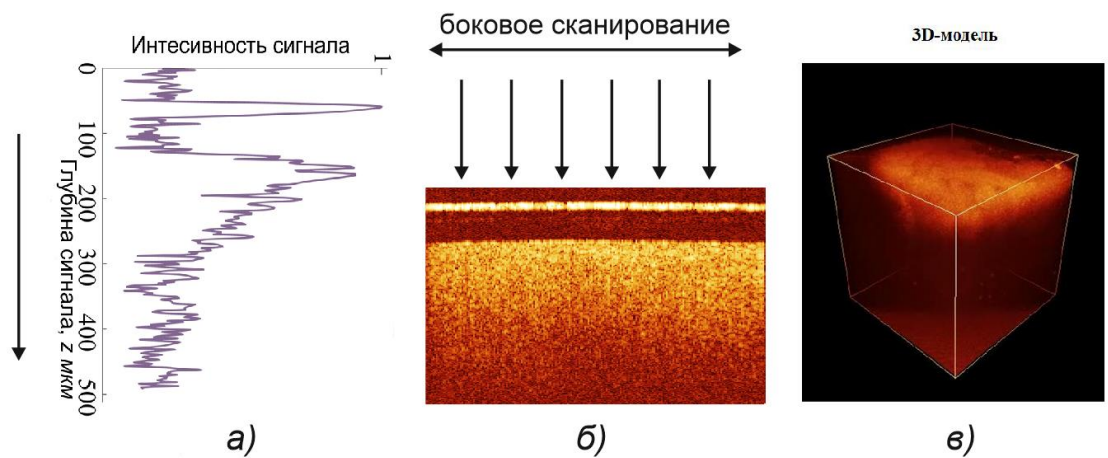


Рисунок 3 - Формирование ОКТ-изображения: а – интенсивность сигнала по глубине (А-скан); б – двумерное (В-скан); в – трехмерное [22]

Рассмотрим приближение с однократного рассеяния. Данная модель основывается на предположении, что только свет, испытавший однократное рассеяние, сохраняет когерентные свойства и вносит непосредственный вклад в формирование ОКТ-сигнала.

Измеряемый ОКТ-сигнал определяется как

$$(\langle i^2(z) \rangle)^{1/2} \approx (\langle i^2 \rangle_0)^{1/2} \{ \exp(-2\mu_t z) \}^{1/2}, \quad (4)$$

где $\langle i^2(z) \rangle$ – среднеквадратичное значение тока гетеродинного сигнала фотодетектора,

$\langle i^2 \rangle_0$ – среднеквадратичное значение гетеродинного сигнала в отсутствии рассеяния.

ОКТ-исследование состоит в измерении обратного рассеяния или отражения излучения, $I(z) \propto (\langle i^2(z) \rangle)^{1/2}$, от неоднородностей биологической ткани:

$$R(z) \propto \exp(-\mu_t z) \quad (5)$$

Оптические свойства биологической ткани, а именно полный коэффициент затухания μ_t , влияют на интенсивность отраженного излучения следующим образом:

$$I(z) = I_0 \alpha(z) \exp(-\mu_t z), \quad (6)$$

где I_0 – интенсивность излучения на входе в исследуемый объект, Вт/см²;

$\alpha(z)$ – локальная отражательная способность биологической ткани по глубине z , см.

Интенсивность отраженного излучения зависит от оптических свойств биологической ткани, т.е. коэффициентов поглощения и рассеяния.

При однородном слое биологической ткани (отражательная способность $\alpha(z)$ не зависит от глубины) для двух глубин z_1 и z_2 можно оценить коэффициент затухания μ_t , 1/см, следующим образом:

$$\frac{I(z_1)}{I(z_2)} \approx \exp[-\mu_t(z_1 - z_2)] \rightarrow \mu_t = \frac{1}{\Delta z} \ln \frac{I(z_1)}{I(z_2)}, \quad (7)$$

$$\text{где } \Delta z = |z_1 - z_2|, \text{ см.} \quad (8)$$

При помощи ОКТ также могут быть изучены анизотропные свойства рассеяния биологические ткани. Так, например, авторы работы, [32] исследуя кортикальный слой кости с помощью системы ОКТ на длине волны 1300 нм, обнаружили различия коэффициента рассеяния примерно на 40% для светового пучка, перпендикулярного ($\mu_s = 28 \text{ см}^{-1}$) и параллельного ($\mu_s = 20 \text{ см}^{-1}$) главному направлению естественных борозд в биологической ткани.

1.4.2 Разновидности ОКТ

Амплитудная (временная) ОКТ

Общая схема данного метода представлена на рисунке 4. Поле от источника поступает в светоделитель. Далее часть распространяется в опорном плече, отражаясь от эталонного зеркала. Другая часть распространяется в предметном плече, отражаясь от образца. Интерференция между оптическими полями наблюдается только тогда, когда длины путей опорной и предметной волн находятся в пределах длины когерентности источника. Следовательно, разрешение по глубине (осевое) системы ОКТ определяется временной когерентного источника света. Резкие изменения показателя преломления на границе раздела включений или слоев образца проявляются как пики интенсивностей в интерференционной картине. Интерференционную картину во временной области можно получить, перемещая эталонное зеркало (расположенное на опорном плече), тем самым, изменяя длину опорного плеча.

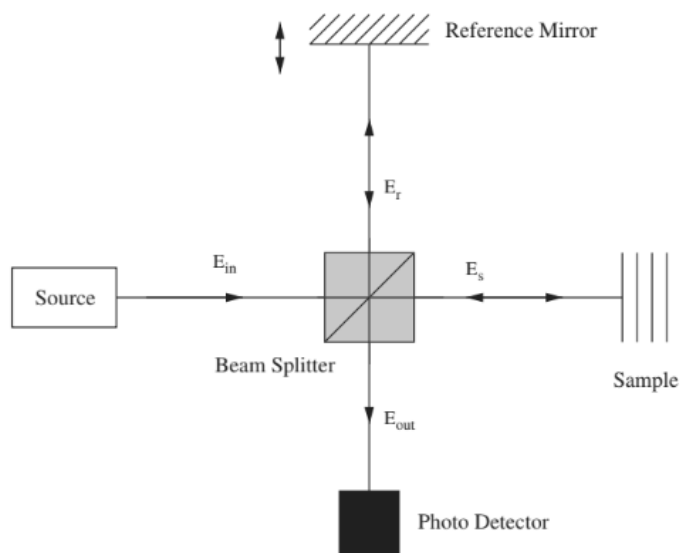


Рисунок 4 - Базовая система ОКТ на основе интерферометра Майкельсона [33]

Схема, составленная на основе суперлюминесцентного диода и одномодового волоконно-оптического интерферометра Майкельсона, показана на рисунке 4.1 [23]. Данная схема является примером временной ОКТ. С ее помощью можно определить положение неоднородности в продольном направлении. Для этого уравниваются длины сигнального и опорного плеч интерферометра. Скорость сканирования поддерживается постоянной 50 см/с для того, чтобы ограничивать сигнал на доплеровской частоте в пределах полосы детектирования.

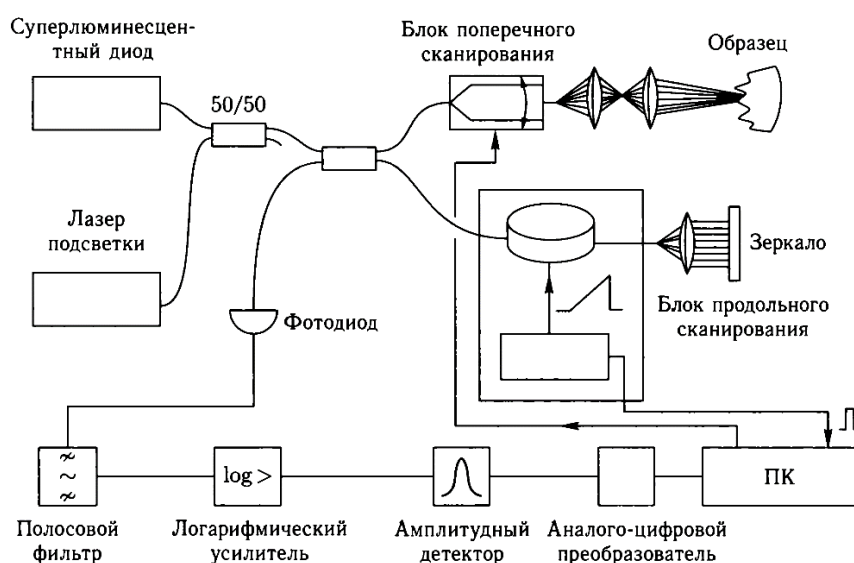


Рисунок 4.1 - Схема волоконного когерентного оптического томографа (ОКТ)

[23]

Двухволновая волоконная ОКТ

Использование двух или несколько длин волн для получения многоволнового изображения улучшает способность детектирования изменений в толще рассматриваемой ткани. Схема данной ОКТ-системы показана на рисунке 4.2 [24]. Используются два суперлюминесцентных диода, излучение которых вводится в интерферометр Майкельсона. Падающее излучение делится на две равные части между пробным и опорным плечами волоконным делителем. Разность хода между плечами интерферометра модулируется пьезоэлектрическим преобразователем. При помощи помещения в одно из плеч интерферометра дополнительного отрезка оптоволокна с отличными от основного дисперсионными свойствами решается проблема одновременной компенсации волновой дисперсии на двух различных длинах волн.

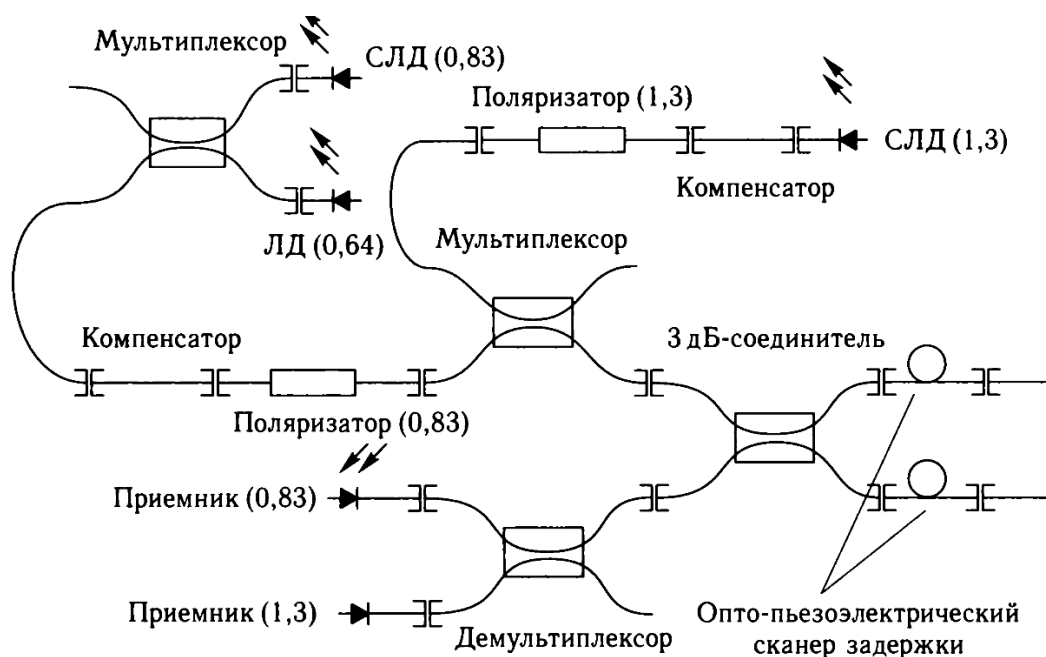


Рисунок 4.2 - Схема двухволнового ОКТ [24]

Спектральная ОКТ

Данный метод интересен тем, что он не требует сканирования по глубине образца с помощью механического перемещения зеркала, а также имеет высокие значения чувствительности и скорости. В качестве детектора используется спектрометр. Схема экспериментальной установки на основе спектрометра с

высоким разрешением и интерферометра Майкельсона представлена на рисунке 4.3.

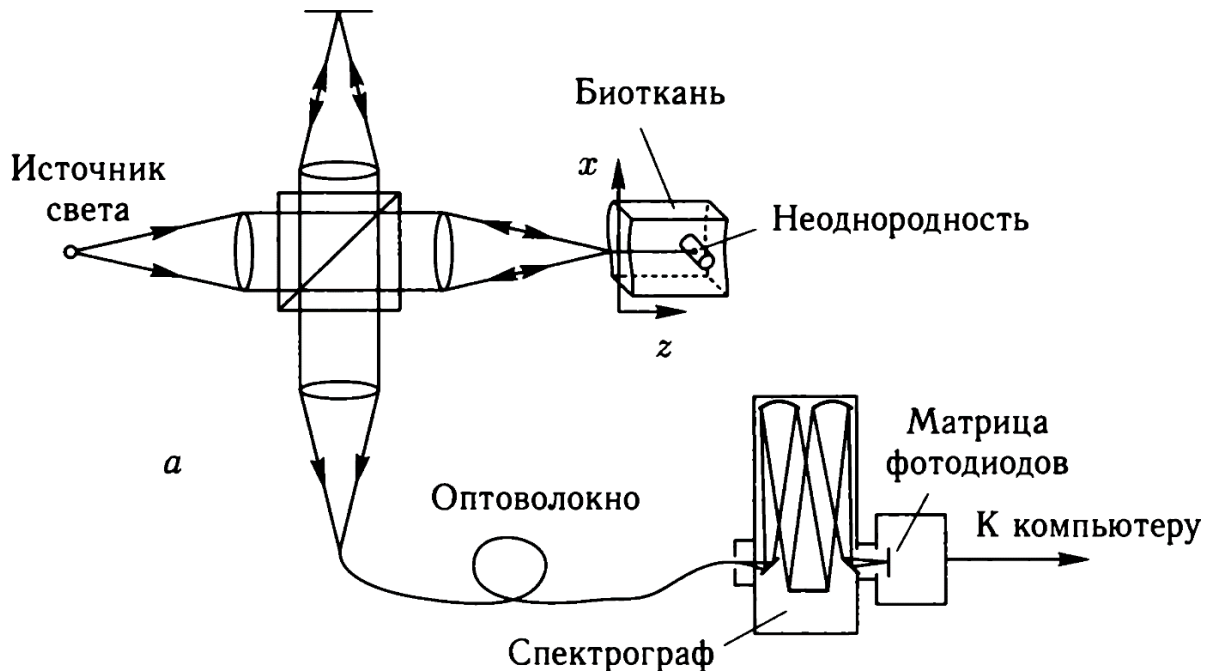


Рисунок 4.3 - Основная схема спектрального ОКТ с источником света, имеющим малую длину когерентности [25]

Спектральная (Фурье) -ОКТ схема реализуется при помощи быстро перестраиваемого в широкой полосе оптических частот лазера. В данном типе используется единственный фотодиод или матрица фотодиодов с целью кодировать спектральный интерферометрический сигнал с характерной частотой гетеродинных биений и впоследствии устранить спектральные и автокорреляционные артефакты, связанные с особенностями спектральной ОКТ.

Доплеровская ОКТ

Подобная система используется для получения томографических изображений статичных и движущихся компонентов с высоким разрешением в сильно рассеивающих биологических тканях [26]. Доплеровский сдвиг интерференционной полосы получается при интерференции рассеянного назад от движущихся частиц света и опорного пучка.

$$f_{D_s} = \frac{2V_s n \cos \theta}{\lambda_0}, \quad (9)$$

где V_s – скорость движения частиц, М/с;

n – показатель преломления среды, окружающей частицы;

θ – угол между потоком частиц и пробным пучком света, град;

λ_0 – центральная длина волны источника света в вакууме, м.

Продольную скорость можно определить, измеряя доплеровский сдвиг в локализованных областях объекта (в глубине рассеивающей ткани). Поперечную скорость потока можно получить из уширения спектральной полосы [26].

Поляризационно-чувствительная (ПЧ) ОКТ

ПЧ ОКТ-системы обеспечивают визуализацию тканей, используя элементы матрицы Джонса [27] или Мюллера [28]. Эту систему используют для измерения двулучепреломления биологической ткани на глубинах более 300-500 мкм, а для более глубоких слоев можно использовать кросс-поляризационную ОКТ (КП ОКТ) [29]. Схема данной системы представлена на рисунке 4.4.

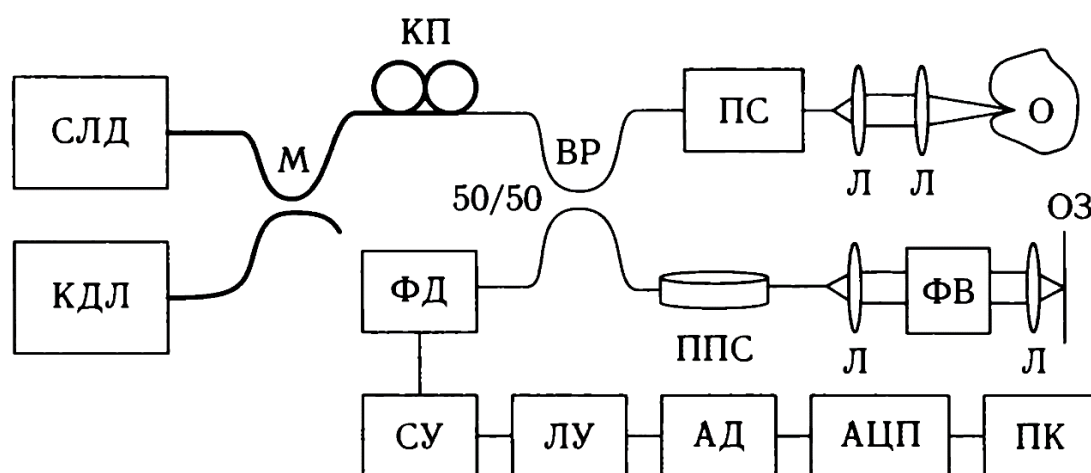


Рисунок 4.4 - Кросс-поляризационный ОКТ [29]: СЛД – суперлюминесцентный диод; КДЛ – красный диодный лазер; М – мультиплексор; КП – контроллер поляризации; ВР – волоконный разветвитель; ПС – поперечный сканер; О – исследуемых объект; ППС – продольный пьезо-сканер; Л – линзы; ФВ –

фарадеевский вращатель; ОЗ – опорное зеркало; ФД – фотодиод; СУ – селективный усилитель; ЛУ – логарифмический усилитель; АД – амплитудный детектор; АЦП – аналого-цифровой преобразователь; ПК – персональный компьютер.

Мультиплексор выполняет функцию комбинирования низкокогерентного ИК-излучения от СЛД с излучением красного диодного лазера. Только кросс-поляризованная компонента света, рассеянного назад биологическим объектом, будет интерферировать со светом из опорного плеча. В отличие от обычной ОКТ, кросс-поляризационное изображение включает в себя более подробную структурную информацию.

Оптическая когерентная микроскопия (ОКМ)

Преимущество в использовании ОКМ в биомедицинских исследованиях заключается в возможности послойного анализа биологической ткани, присущей ОКТ и конфокальной микроскопии [30]. Схема ОКМ-системы представлена на рисунке 4.5. Предметное плечо низкокогерентного интерферометра состоит из высокоскоростного сканирующего конфокального микроскопа (КМ) с быстродействующим сканером и медленным сканером. Последний расположен в плоскости изображений быстрого сканера. Данная установка превращается в КМ при блокировании опорного плеча и регистрации постоянного сигнала, поступающего из предметного плеча.

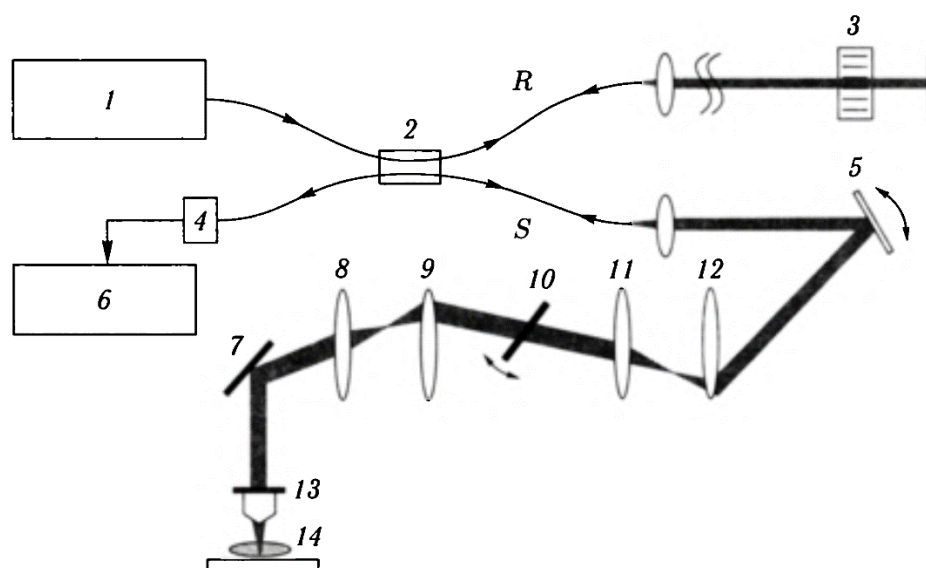


Рисунок 4.5 - Оптическая схема высокоскоростного полнополевого оптического когерентного микроскопа [31]: 1 – низкокогерентный источник света; 2 – волоконно-оптический интерферометр; 3 – акустооптический модулятор; 4 – приемник; 5 – резонансный сканер; 6 – блок обработки данных на основе компьютера; 7 – зеркало; 8, 9, 11, 12 – линзы; 10 – гальванометр; 13 – объектив микроскопа; 14 – образец; R – опорное плечо; S – предметное плечо.

1.4.3 ОКТ как инструмент диагностики новообразований

ГОЛОВНОГО МОЗГА

Для нейрохирургии ОКТ привлекателен как возможность бесконтактного и неинвазивного метода интраоперационной диагностики. Наибольший интерес данный метод представляет в качестве интраоперационного определения границ глиальных опухолей, определяемых по характеру ОКТ-сигнала [35], а также для дифференциации различных степеней злокачественности [34].

В работе [36] исследовались глиомы различных степеней при помощи ОКТ полного поля. Авторы, получив результаты, пришли к выводу о том, что диффузионные глиомы низкой степени на изображениях ошибочно принимаются за нормальную ткань. Однако, глиомы высоких степеней приводят

к нарушению нормальной структуры паренхимы (функциональная ткань головного мозга), что успешно наблюдается на изображениях и приводит к легкой идентификации опухолей высоких степеней.

В другой рассмотренной работе [37] были получены оптические свойства для различных типов ткани с помощью кросс-поляризационной ОКТ. Белое вещество характеризовалось высоким затуханием $\nu_{WM} = 8,5 \text{ мм}^{-1}$ и поперечным рассеянием вперед $C_{WM} = 0,56 \text{ мм}^{-1}$.

Кора головного мозга легко дифференцировалась от белого вещества. Были получены следующие значения $\nu_{CTX} = 2,5 \text{ мм}^{-1}$ и $C_{CTX} = 0,022 \text{ мм}^{-1}$.

В зависимости от наличия некротических участков выделили два подтипа опухолевой ткани с разными оптическими свойствами: 1) ткань глиомы без некротических участков («I – III степеней» и «глиобластома IV степени без некротических участков») характеризовались следующими свойствами: $\nu_{T1} = 3,0 [2,6; 3,56] \text{ мм}^{-1}$ и $C_{T1} = 0,017 [0,014; 0,019] \text{ мм}^{-1}$;

2) ткань с частичным или полным некрозом («глиобластома IV степени с некротическими участками» и «некроз») - $\nu_{T1} = 5,5 [5,3; 7,67] \text{ мм}^{-1}$ и $C_{T1} = 0,18 [0,11; 0,32] \text{ мм}^{-1}$.

Ткань глиомы с некрозом проявляла оптические свойства, аналогичные свойствам белого вещества, в то время как ткани глиомы без некроза проявляли свойства, сходные со свойствами коры головного мозга.

Авторы работы [34] проанализировали образцы биопсии опухолей головного мозга 9 пациентов (6 из них с недавно диагностированной глиобластомой IV, 2 с возвратной формой глиобластомы IV и 1 пациент с анапластической астроцитомой III) и представили первое технико-экономическое обоснование интраоперационной ОКТ и обработки полученного изображения для неинвазивной визуализации мозга и опухоли. В работе рассматривались В-сканы, показавшие отличную микроструктуру и ослабление

сигнала, что позволило различить нормальный мозг, область инфильтрации опухоли в мозг, саму опухоль и некроз.

Вывод: ОКТ является перспективным методом в нейрохирургии, позволяющим получить информацию о микроструктуре ткани, а следовательно, различие между опухолевой тканью и белым веществом, что приводит к возможности определения границ опухолевого роста.

Однако, проведение исследования тканей *ex vivo* сопровождается некоторыми сложностями, одной из которых является то, что биологические ткани (в том числе мозг), состоящие из большого процента воды, в ходе исследования подвергаются дегидратации. Это, в свою очередь, приводит к изменению оптических характеристик.

При исследовании методом ОКТ также необходимо создать специальную методику обработки ОКТ-изображения, учитывающую различные оптические свойства и характеристики биологических тканей.

2 Исследовательская часть

2.1 Метод исследования

Исследование было выполнено на ОКТ системе ОСТ1300У (рисунок 5), изготовленной в Институте прикладной физики РАН (Нижний Новгород, Россия) [38, 39]. Данная система содержит источник излучения с центральной длиной волны 1,3 мкм и средней мощностью 0,75 мВт. За счет пьезомодулированного сканирования излучения в волоконном зонде, формируются В-сканы (2D изображения по глубине размером 256x400 пикселей) для области ткани с боковым размером 2 мм и глубиной около 1,0 мм. Теоретическое достижимое пространственное разрешение в поперечном измерении и по глубине составляют 50 мкм (в воздухе) и 30 мкм соответственно.



Рисунок 5 - Коммерческая система OCT 1300Y

2.2 Экспериментальная схема

На рисунке 6.1 представлена экспериментальная схема исследования, включающая в себя коммерческую систему OCT1300Y, крепежную систему, позволяющую подводить зонд ОКТ снизу исследуемой ткани, персональный компьютер, выводящий полученные В-сканы.

Исследуемые образцы помещались на поверхность контрольного оптического стекла (рисунок 6.2). Во время транспортировки от места иссечения образцов до предполагаемых измерений образцы охлаждали и покрывали желатиновой пленкой, которую удаляли только после проведения эксперимента. Это позволяло предотвратить дегидратацию тканей и сохранить оптические характеристики на протяжении длительного времени. Все измерения проводились не позднее, чем через 4 часа после операции. После получения ОКТ-изображений образец ткани фиксировали в формалине и транспортировали на гистологическое исследование для окрашенной гематоксилином и эозином (H&E) микроскопии, которая подтверждала предварительные диагнозы.

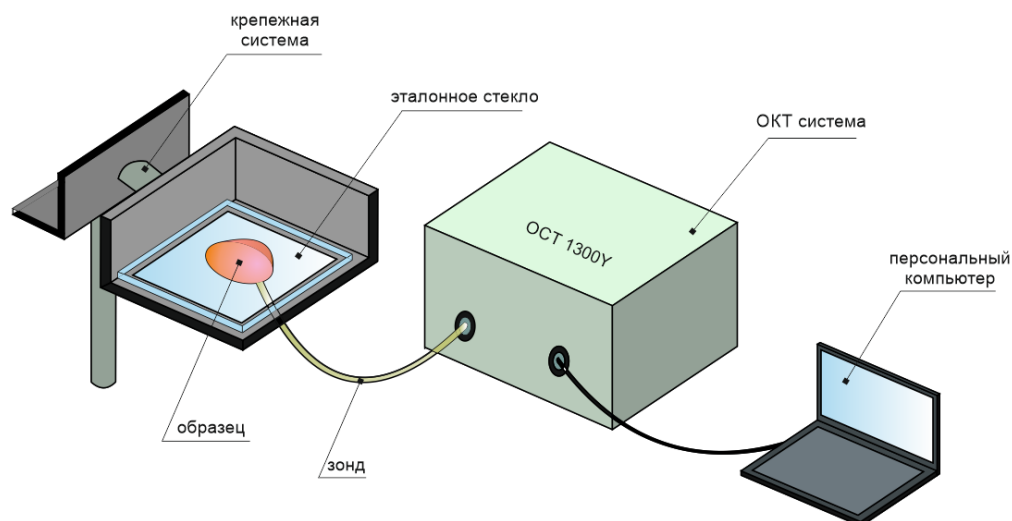


Рисунок 6.1 - Экспериментальная схема

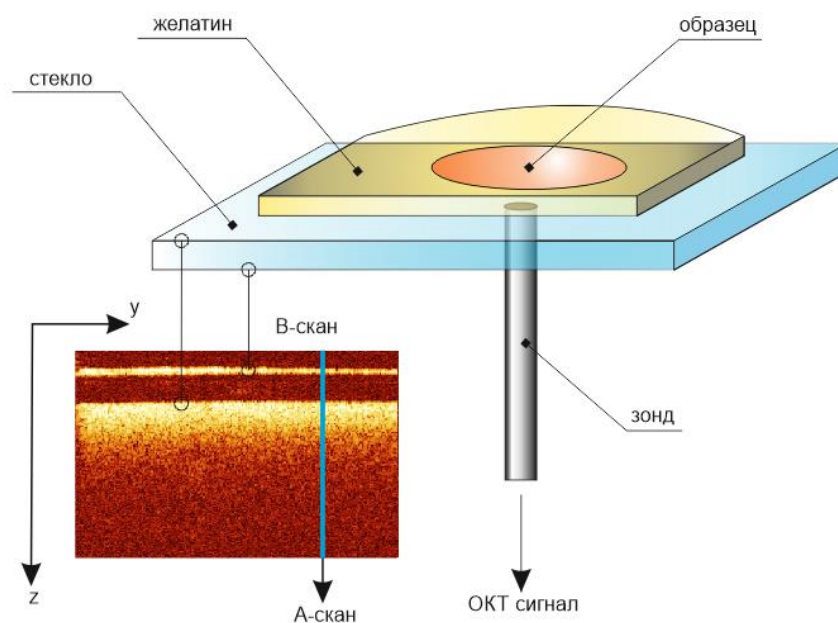


Рисунок 6.2 - ОКТ визуализация мозговой ткани с желатином *ex vivo* [41]

2.3 Подготовка образцов

Глиома головного мозга является самой распространенной опухолью ЦНС. Согласно пересмотру ВОЗ классификаций опухолей ЦНС в 2016 году [40], получены следующие нозологические типы

- Степень I – доброкачественная астроцитарная опухоль, включающая в себя пилоцитарную астроцитому (четкие границы, медленный рост) и субэпендимальную гигантскую клеточную астроцитому (возникают внутри желудочков головного мозга);
- Степень II – диффузная астроцитарная опухоль, включающая диффузную астроцитому с/без мутации в гене IDH1 или IDH2, гемистоцитарная астроцитома (агрессивный рост, не имеет некрозов), олигоастроцитома (без четких границ), олигодендроглиома (нечеткий контур, поражает серое и белое вещество);
- Степень III – диффузная астроцитарная опухоль, включающая анапластическую астроцитому с/без мутаций в гене IDH1 или IDH2, анапластическую олигоастроцитому, анапластическую олигодендроглиому;
- Степень IV – диффузная астроцитарная опухоль, включающая глиобластому различных нозологических типов (глиобластома с/без мутации в гене IDH1 или IDH2, эпителиоидная глиобластома, гигантоклеточная глиобластома и глиосаркома);

Были проанализированы образцы мозговой ткани человека *ex vivo*. Информация об измеренных образцах представлена в таблице 1. Образцы иссекались во время нейрохирургической операции, в соответствии с первоначальным медицинским диагнозом. Неповрежденные ткани (интактные) были получены в ходе операции при доступе к опухолевым. После резекции образцы помещали в желатин и транспортировали в термоконтейнере. Измерения проводились не позднее, чем через 4 часа после удаления.

2.4 Введение характеристик

В работе на разных этапах рассматривались различные характеристики ОКТ-сигнала.

- 1) Коэффициент ослабления μ для А-сканов в приближении однократного рассеяния [42], который экспоненциально уменьшает интенсивность сигнала

$$I(z) = I_0 \exp(-\mu z), \text{ Вт/мм}^2, \quad (10)$$

где z дискретная оптическая глубина образца, мм;

I_0 – начальная интенсивность сигнала, Вт/мм².

В оптическом диапазоне коэффициент ослабления тканей определяется в основном коэффициентом рассеяния, так как коэффициент поглощения имеет намного меньшее значение [43]. Для оценки μ можно применить линейное приближение экспериментального значения $I(z)$ в логарифмическом представлении для области глубины между вторым пиком интенсивности (от границы стекло - образец) z_2 и интенсивностью, соответствующей ослаблению сигнала до начала уровня шума z_{noise} (рисунок 7(a)). Когда определение z_{noise} не является очевидным, минимизация среднеквадратичной ошибки может быть представлена

$$z_{noise} = \underset{\mu}{\operatorname{argmin}} \left[\sum_{z=z_2}^{z_{noise}} [I(z) - I_{fit}(z, \mu)]^2 / N_{decay} + \sum_{z=z_{noise}}^{z_{max}} [I(z) - I_{noise}]^2 / N_{noise} \right], \quad (11)$$

где $I_{fit}(z, \mu)$ – наклонная линия;

$I_{noise} = I_{fit}(z_{noise}, \mu)$ – горизонтальная линия, соответствующая уровню шума;

z_{max} – максимальная глубина образца, мм;

N_{decay} и N_{noise} – номера слагаемых в первой и второй суммах соответственно.

Анализ μ отражает структурные свойства ткани, такие как плотность, размер клеток и ядер, наличие и образование миелиновых волокон.

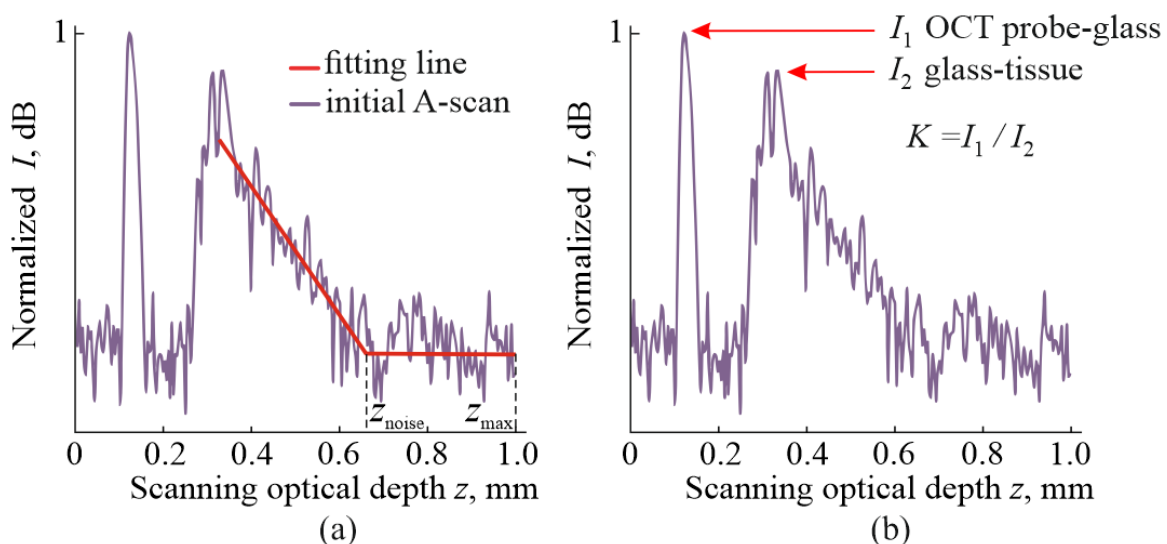


Рисунок 7 - Пример А-скана: извлечение коэффициента ослабления (а) и нормированный пик интенсивности отражения (b) [44]

2) Нормированный пик интенсивности отражения А-скана (рисунок 7(b))

$$K = I_2/I_1 \propto \left[\left(1 - \frac{n_2(z)}{n_1} \right)^2 / \left(1 + \frac{n_2(z)}{n_1} \right)^2 \right], \quad (12)$$

который определяется переменным показателем преломления ткани $n_2(z)$ и фиксированным показателем преломления эталонного стекла n_1 . (I_1 – интенсивность от границы раздела между зондом и стеклом, дБ; I_2 – интенсивность от границы между стеклом и образцом, дБ). Анализ параметра K учитывает диэлектрические свойства исследуемой ткани, которые зависят от ее химического состава, кальцификации, состояния и концентрации воды и других компонентов.

- 3) Стандартное отклонение μ в пределах конкретной области в боковом направлении по А-скану, включающему в себя N_A соседних А-сканов

$$\sigma_{\mu} = \left[\sum_{i=1}^{N_A} (\mu_i - \bar{\mu})^2 / N_A \right]^{0,5}, \text{ мм}^{-1}, \quad (13)$$

где $\bar{\mu}$ – среднее значение μ в расчетной области, размер которой соответствует 150 мкм (типичный размер мелкого сосуда в ткани мозга), мм^{-1} .

- 4) Стандартное отклонение K в той же области 150 мкм в боковом направлении по А-скану

$$\sigma_K = \left[\sum_{i=1}^{N_A} (K_i - \bar{K})^2 / N_A \right]^{0,5}, \quad (14)$$

где \bar{K} – среднее значение K в рассматриваемой области.

Два последних признака σ_{μ} и σ_K напрямую зависят от мелкомасштабной неоднородности ткани, которая может быть вызвана возможной васкуляризацией или наличием кровоизлияний, некроза и кист, а также могут повлиять на точность анализа тканей мозга.

Выбор системы описанных параметров позволяет провести расширенный анализ оптических характеристик тканей мозга. В отличие от известных методик анализа ОКТ изображений, которые в основном используют один параметр – коэффициент затухания, данная система параметров характеризует также косвенно показатель преломления ткани и гетерогенность оптических характеристик.

3 Экспериментальная часть

3.1 Описание эксперимента

В работе рассматривался набор из 21 образца *ex vivo* различных размеров, иссеченных в ходе нейрохирургической операции (таблица 1). Данный набор включает в себя опухоли различных степеней, а также здоровые ткани (интактные).

Таблица 1 - Образцы тканей мозга человека

#	Пол	Возраст	Тип ткани / патология	Степень злокачественности по ВОЗ	Кол-во А-сканов
1	Мужской	66	перифокальная кора	-	1410
2	Женский	69	перифокальная кора	-	724
3	Мужской	45	перифокальное белое вещество	-	2280
4	Мужской	38	перифокальное белое вещество	-	2310
5	Женский	39	пилоидная астроцитомы	I	405
6	Женский	31	пилоидная астроцитомы	I	1700
7	Женский	25	ганглиоцитомы	I	4690
8	Мужской	29	диффузная астроцитомы	II	3170
9	Женский	63	диффузная астроцитомы	II	3350
10	Мужской	31	диффузная астроцитомы	II	140

Продолжение таблицы 1

#	Пол	Возраст	Тип ткани / патология	Степень злокачественности по ВОЗ	Кол-во А- сканов
11	Мужской	43	олигодендроглиома	II	2890
12	Женский	56	олигодендроглиома	II	3655
13	Мужской	47	анапластическая астроцитомы	III	2720
14	Женский	26	анапластическая олигодендроглиома	III	27102
15	Мужской	41	анапластическая глиома	III	200
16	Женский	69	глиобластома	IV	1650
17	Мужской	52	глиобластома	IV	6439
18	Женский	64	глиобластома	IV	6800
19	Женский	69	глиобластома	IV	4613
20	Женский	55	глиобластома	IV	1650
21	Женский	20	глиобластома	IV	5160

Как уже было описано ранее, измерения образцов проводились не позднее чем через 4 часа после резекции. Для предотвращения гидратации и дегидратации, а также для фиксации образца использовалась желатиновая пленка (рисунок 6.2).

3.2 Обработка экспериментальных данных

На рисунках 8 - 15 изображены результаты ОКТ-исследования *ex vivo* тканей человеческого мозга. В качестве анализируемых характеристик

использовались μ , σ_μ , K и σ_K . В-сканы были получены от разных точек образца с помощью ОКТ-зонда.

В ходе обработки данных, характеризующих различные классы тканей, были получены соответствующие массивы точек распределения $[\mu, \sigma_\mu]$ и $[K, \sigma_K]$ (рисунки 8, 10, 12, 14 (с) и (d)). Для оценки относительного распределения наблюдаемых значений между различными классами тканей применялся статистический анализ, т.е. некоторый тип дискриминантного анализа [45], [46]. Первым этапом данного анализа является нахождение центров масс каждого класса при их попарном сравнении (P_{WM} - центр масс белого вещества, P_C – центр масс коры головного мозга, P_{G-i} – центр масс различных степеней глиомы). Далее центры масс соединяются прямой и все экспериментальные точки на графике проецируются на эту прямую. В качестве точки начала отсчета выбирается положение одного из центра масс и строятся гистограммы, которые позволяют оценить возможность дифференциации двух классов тканей (рисунки 9, 11, 13, 15).

3.3 Результаты

В этой части работы был проведен сравнительный анализ параметров различных классов глиом с корой головного мозга и белым веществом. Анализируя графики (d) на рисунках 8 - 15, можно заметить, что белое вещество и кора головного мозга имеют различные значения K и σ_K , что свидетельствует о различиях в показателях преломления рассматриваемых тканей. Следовательно, эти два класса можно различить на K -диаграмме (зеленый и синий массив точек).

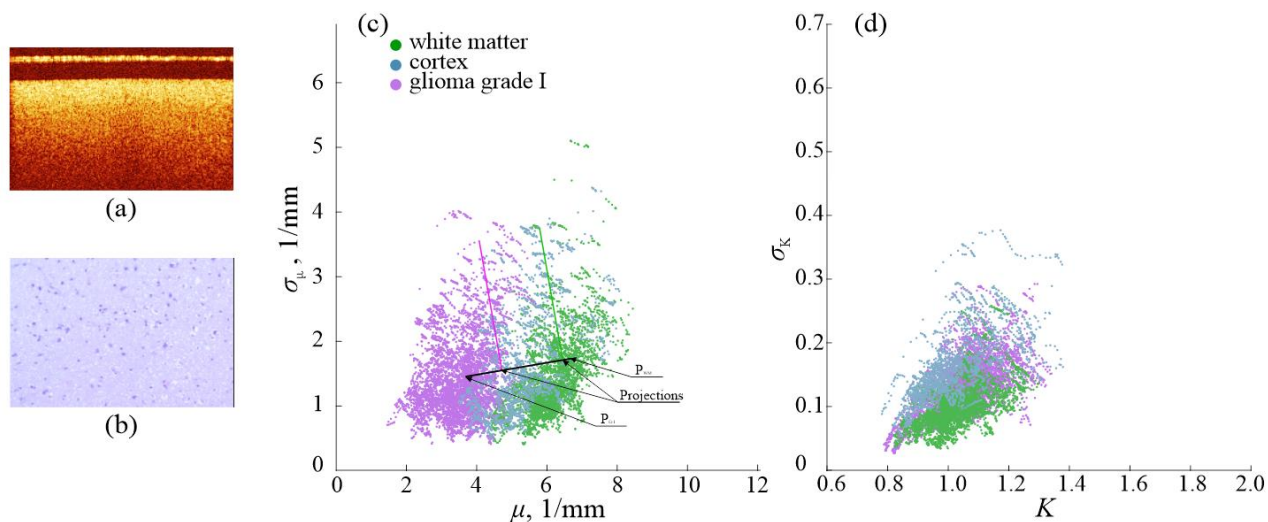


Рисунок 8 - Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (a) ОКТ-изображение глиомы I степени; (b) гистологическое изображение глиомы I степени; (c), (d) распределение $[\mu, \sigma_\mu]$ и $[K, \sigma_K]$ соответственно;

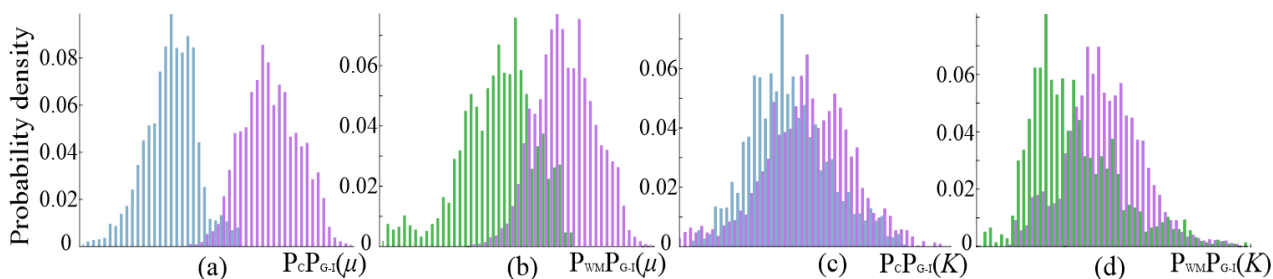


Рисунок 9 - Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (a) - (b), (c) – (d) гистограммы дифференциации между глиомой I степени и неповрежденными тканями (кора головного мозга и белое вещество), полученные из анализа рисунка 8 (c), (d) соответственно [44]

В случае глиом I (рисунки 8 и 9) и II степеней (рисунок 10 и 11), согласно полученным гистограммам (рисунки 9 и 11), опухолевые и интактные ткани имеют разные особенности. Также значения, полученные от коры головного мозга, можно отличить от значений глиом низких степеней. Необходимо отметить, что дифференцирование по μ -гистограммам получается лучше, чем по K -гистограммам. Однако, последние также являются информативными и показывают небольшое разделение классов.

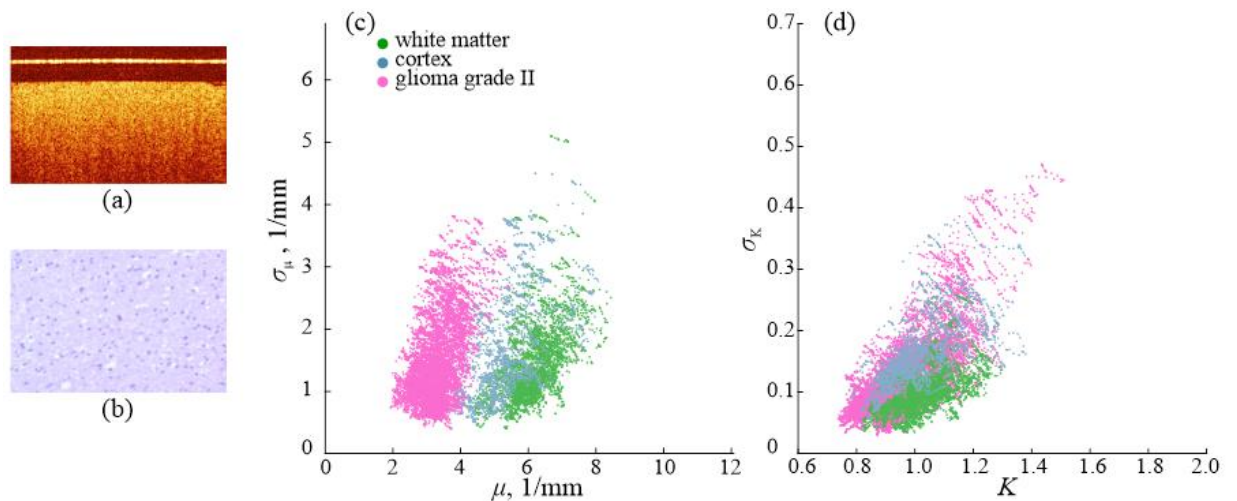


Рисунок 10 - Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (a) ОКТ-изображение глиомы II степени; (b) гистологическое изображение глиомы II степени; (c), (d) распределение $[\mu, \sigma_\mu]$ и $[K, \sigma_K]$ соответственно;

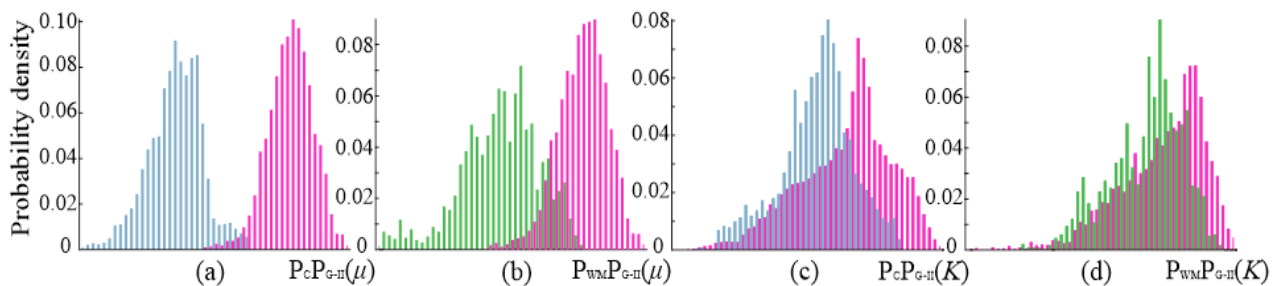


Рисунок 11 - Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (a) - (b), (c) – (d) гистограммы дифференциации между глиомой II степени и неповрежденными тканями (кора головного мозга и белое вещество), полученные из анализа рисунка 10 (c), (d) соответственно [44]

Распределение μ -характеристики глиомы III степени (рисунки 12 и 13) выглядит несколько иначе, чем распределение глиом I и II степеней (рисунки 8, 9 и 10, 11 соответственно). Просматривается лишь небольшое различие от интактных тканей. Тем не менее несмотря на то, что μ - и K -гистограммы коры головного мозга и глиомы III степени демонстрируют значительное перекрытие (рисунок 13 (a), (c)), они имеют различные медианы.

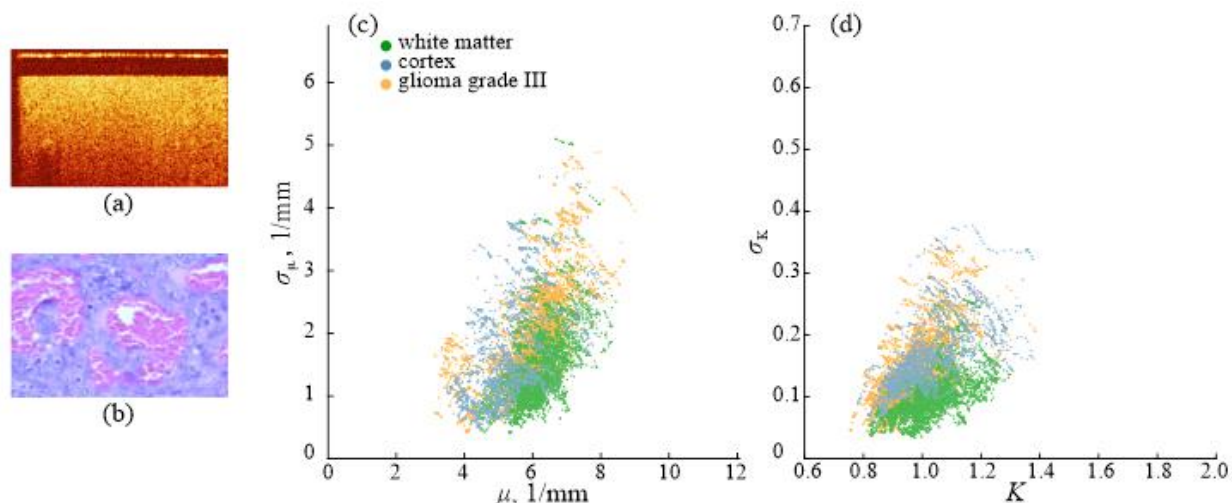


Рисунок 12 - Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (a) ОКТ-изображение глиомы III степени; (b) гистологическое изображение глиомы III степени; (c), (d) распределение $[\mu, \sigma_\mu]$ и $[K, \sigma_K]$ соответственно;

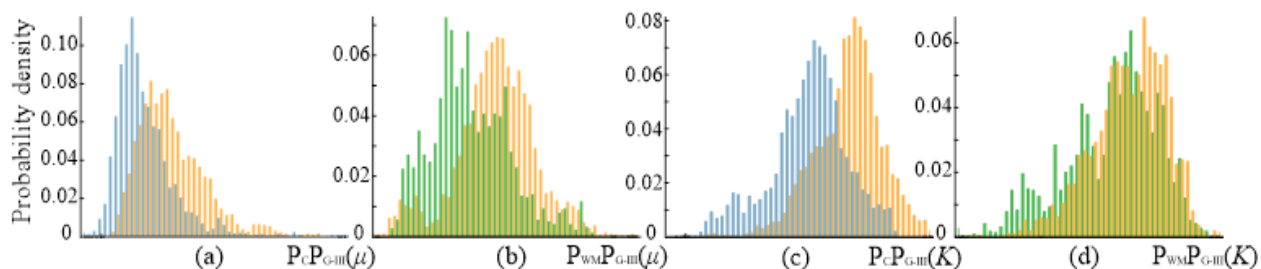


Рисунок 13 - Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (a) - (b), (c) – (d) гистограммы дифференциации между глиомой III степени и неповрежденными тканями (кора головного мозга и белое вещество), полученные из анализа рисунка 12 (c), (d) соответственно [44]

Анализ глиомы IV степени демонстрирует высокую дисперсию признаков, поэтому ее отличие от интактных тканей с помощью анализа ОКТ представляется неопределенным. Количество проанализированных образцов и сканирований ОКТ IV степеней является самым высоким в нашем наборе образцов, что объясняет большое количество точек на рисунке 14 (c) и (d). Тем не менее, медианы, соответствующие глиобластоме, практически совпадают с медианами белого вещества и коры головного мозга. Это отчетливо наблюдается на гистограммах на рисунке 15.

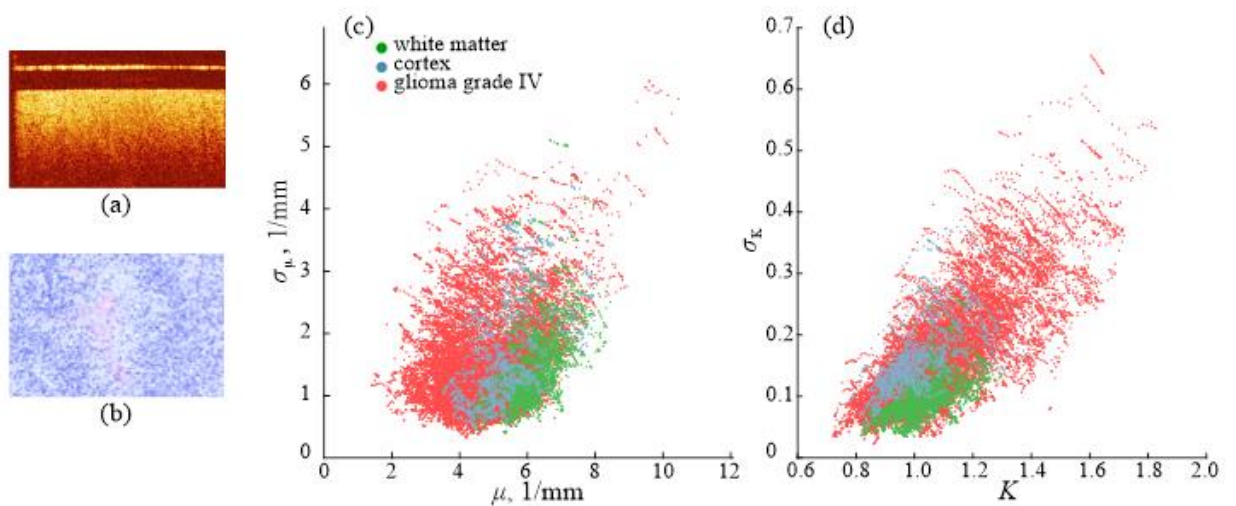


Рисунок 14 - Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (a) ОКТ-изображение глиомы IV степени; (b) гистологическое изображение глиомы IV степени; (c), (d) распределение $[\mu, \sigma_\mu]$ и $[K, \sigma_K]$ соответственно;

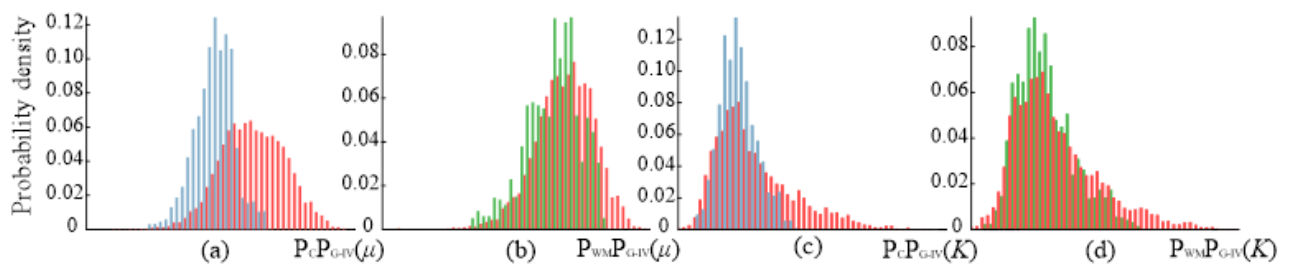


Рисунок 15 - Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (a) - (b), (c) – (d) гистограммы дифференциации между глиомой IV степени и неповрежденными тканями (кора головного мозга и белое вещество), полученные из анализа рисунка 14 (c), (d) соответственно [44]

3.4 Анализ полученных результатов

Подход к лечению опухолей головного мозга зависит от степени злокачественности опухоли. Выделяют глиомы низкой степени злокачественности («высоко дифференцированные глиомы», включающие в себя астроцитому, олигодендроглиому, олигоастроцитому и редкие типы опухолей) и злокачественные глиомы (анапластическая астроцитома,

анапластическая олигоастроцитома, анапластическая олигодендроглиома, глиобластома).

Наиболее распространенной диффузной глиомой является первичная глиобластома. Среди всех опухолей ЦНС она занимает третье место по частоте встречаемости, но лидирует среди других первичных злокачественных опухолей этой локализации. Глиобластома составляет 46,1% первичных опухолей мозга и 15,1% всех внутричерепных опухолей [47]. В то же время, глиобластома является одной из самых смертельных опухолей среди всех типов новообразований у человека. Средняя выживаемость при должном лечении составляет год, 20% больных живут два года и всего лишь 5,1% соответствуют 5-летней выживаемости [48]. Глиобластома с мутацией IDH, так называемая вторичная глиобластома, согласно общепринятой точке зрения, возникает из-за ранее существовавших глиальных опухолей более низкой степени злокачественности, которые подвергаются относительно длительным эволюциям с постепенным превращением в глиобластому [49]. Согласно полученным результатам (рисунки 14 и 15), глиобластома демонстрирует наибольшую дисперсию характеристики, распределение которых почти охватывает область, соответствующую белому веществу и коре головного мозга (измерения для всех типов ткани производились в одинаковых условиях). Возможно, это объясняется сложным строением и содержанием этого типа опухоли головного мозга, который часто включает в себя небольшие области некроза. Однако из полученных результатов можно выделить небольшой набор измеренных точек, которые легко отличить от точек, соответствующих интактным тканям (в том числе и белому веществу).

Анализ ослабления характеристик различных классов показывает, что среднее значение μ увеличивается, приближаясь к значениям μ для коры головного мозга и белого вещества, т.е. опухолевые ткани III-IV классов и неповрежденные ткани (интактные) ослабляют оптический сигнал сильнее, чем опухоли I-II классов. Следовательно, это дает возможность использовать ОКТ для интраоперационного обнаружения границ опухоли низкой степени

злокачественности как дополнение к флуоресцентным методам. В то же время K претерпевает слабые изменения между разными степенями. Из полученных результатов можно сделать вывод о том, что использование характеристик, связанных с показателем преломления, демонстрирует более низкую эффективность для дифференциации тканей с помощью ОКТ, которая работает на определенной длине волны. Тем не менее, принимая во внимание ОКТ и другие методы анализа тканей в смежном и дальнем спектральных диапазонах, показатель преломления является довольно перспективным физическим признаком для дифференциации злокачественных и интактных тканей мозга [50].

Для анализа неоднородности тканей глиомы головного мозга человека оценивалась полная ширина на полувысоте (FWHM) четырехмерного пространства распределения признаков $[\mu, \sigma_\mu, K, \sigma_K]$ для каждого класса тканей. Для этого в каждом наборе образцов определялась центральная точка с координатами $F_0 = (\bar{\mu}, \bar{\sigma}_\mu, \bar{K}, \bar{\sigma}_K)$ и расстояние

$$\|F_i - F_0\|_e = \sqrt{(\mu_i - \bar{\mu})^2 + (\sigma_{\mu i} - \bar{\sigma}_\mu)^2 + (K_i - \bar{K})^2 + (\sigma_{K i} - \bar{\sigma}_K)^2}, \quad (15)$$

между каждой точкой F_i и F_0 . Используя распределение расстояний ($\|F_{i=1\dots N_p} - F_0\|_e$), где N_p – количество точек в массиве, оценивалась FWHM рассматриваемого класса тканей. Этот параметр отражает неоднородность структуры ткани и оптических свойств, поскольку он основан на четырех описанных выше признаках. Следствие анализа представлено на рисунке 16 (d), иллюстрирующим сильную тенденцию к росту, за исключением глиомы I степени, что может быть связано с ее доброкачественным характером.

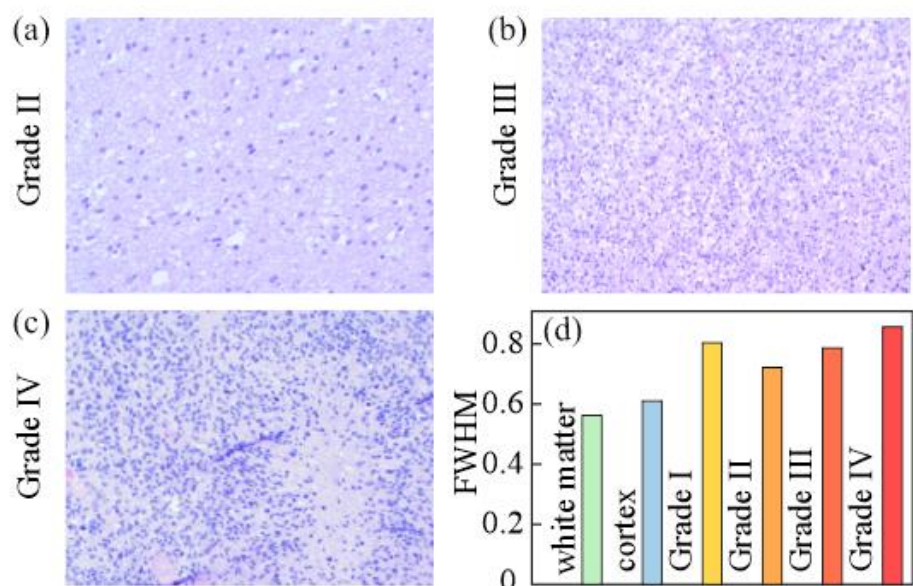


Рисунок 16 - Анализ неоднородности тканей головного мозга человека; (a), (b), (c) репрезентативные *H&E* – окрашенные гистологические изображения образцов глиомы диффузной астроцитомы II степени, анапластической астроцитомы III степени и анапластической астроцитомы IV степени соответственно; Параметр FWHM для рассматриваемых типов тканей [44]

Опухолевые ткани характеризуются различной гетерогенностью. Как показано на рисунке 16 (a), в случае гистологического изображения глиомы II степени наблюдается умеренное и незначительное увеличение плотности клеточного слоя в некоторых областях, а также почти полное отсутствие выраженного клеточного и ядерного атипизма, относительный мономорфизм ядер и клеток (низкая степень морфологической гетерогенности) и определяется небольшое увеличение интенсивности окрашивания ядерного хроматина. По сравнению с предыдущим примером для анапластической астроцитомы III степени (рисунок 16 (b)) обнаружено значительное увеличение плотности клеточного слоя, а также ядерный и клеточный атипизм, который основан на появлении умеренно выраженного клеточного и ядерного полиморфизма с появлением как мелких клеток с круглыми гиперхромными ядрами, так и крупных клеток с увеличенными ядрами неправильной формы (увеличение степени морфологической гетерогенности) и гетерогенного распределения

хроматина с увеличением интенсивности его окрашивания. На гистологическом изображении анапластической астроцитомы IV степени (рисунок 16 (с)) обнаружено дальнейшее увеличение плотности клеточного слоя, а также увеличение клеточного и ядерного атипизма с появлением клеток с гиперхромными грубыми ядрами с неравномерным распределением хроматина, степень полиморфизма клеток и ядер достигает высоких значений (высокая степень морфологической гетерогенности). Кроме того, в ткани присутствует некроз. Описанные свойства полностью подтверждают зависимость параметра FWHW от степени злокачественности.

Обобщая полученные результаты, можно наблюдать высокую дисперсию свойств опухолевой ткани, которую можно оценить при помощи ОКТ. Наряду с условиями измерения, подготовки образцов и применения системы ОКТ, свойства ткани существенно влияют на параметры анализируемого сигнала. Несмотря на все особенности в измерениях ОКТ образцов, возможно, обеспечивая различие между глиомой и интактной тканью, увеличение набора образцов, в то же время, увеличивает изменчивость данных и уменьшает наблюдаемую разницу. Таким образом, приложение ОКТ для интраоперационной диагностики опухолей головного мозга человека все еще довольно сложен, но его можно сочетать с другими методами, например с терагерцовой спектроскопией и конфокальной микроскопией [50-54], для повышения текущих уровней чувствительности и специфичности. Одним из многообещающих направлений для улучшения результатов при использовании ОКТ в нейрохирургии является его сочетание с методом иммерсионного оптического просветления тканей [55], что дает возможность не только увеличить глубину проникновения в ткани головного мозга, но и получить информацию о параметрах диффузии ткани, что может быть использовано для стабильной дифференциации опухолевых и интактных тканей. Тем не менее, полученные результаты, показывают, что с помощью разработанного метода можно проводить дифференциацию интактных тканей головного мозга и глиальных опухолей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данная работа показывает возможности использования метода ОКТ для диагностики глиальных опухолей головного мозга человека. В ходе работы поэтапно были решены следующие задачи:

- 1) разработан экспериментальный стенд, удовлетворяющий условиям проведения эксперимента *ex vivo*;
- 2) разработана и проанализирована оптимальная методика исследования;
- 3) проведена серия экспериментальных исследований и сформирована база данных ОКТ изображений различных типов ткани головного мозга, учитывающая особенности иссеченной ткани;
- 4) проведен анализ полученных сигналов, включающий выделение четырех признаков образца (по изображениям ОКТ оценивались значения и стандартные отклонения коэффициента ослабления, используя приближение однократного рассеяния, и нормированная интенсивность пика отражения, используя эталонное стекло во время измерений);
- 5) разработан алгоритм и его программная реализация при помощи среды математического моделирования (MATLAB) для анализа и обработки результатов исследования;
- 6) приведены конечные результаты, указывающие на способность данного метода дифференцировать глиомы низких степеней с интактными тканями.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Смолин А.В., Бекашев А.Х., Кобяков Г.Л., Шарабура Т.М., Муфазалов Ф.Ф., Канищева Н.В., Бумагина В.О. Первые результаты российского многоцентрового исследования по эпидемиологии злокачественных глиом // Современная онкология. 2014. Т. 16, № 2. С. 50-55.
2. Потапов А.А., Горяйнов С.А., Охлопков В.А., Пицхелаури Д.И., Кобяков Г.Л., Жуков В.Ю., Гольбин Д.А., Свистов Д.В., Мартынов Б.В., Кривошапкин А.Л., Гайтан А.С., Анохина Ю.Е., Варюхина М.Д., Гольдберг М.Ф., Кондрашов А.В., Чумаков А.П. Клинические рекомендации по использованию интраоперационной флуоресцентной диагностики в хирургии опухолей головного мозга // Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. 2015. Т. 79, № 5. С. 91-101.
3. Diez Valle R., Garcia de Eulate R., Dominguez Echavarri P., Aristu Mendiroz J. Surgery guided by 5-aminolevulinic fluorescence in glioblastoma: volumetric analysis of extent of resection in single-center experience // Journal of Neuro-Oncology. 2011. Vol. 102, № 1. P. 105–113.
4. Roberts D.W., Valdes P.A., Harris B.T., Fontaine K.M., Hartov A., Fan X., Ji S., Lollis S.S., Pogue B.W., Leblond F., Tosteson T.D., Wilson B.C., Paulsen K.D. Coregistered fluorescence-enhanced tumor resection of malignant glioma: relationships between delta-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence, magnetic resonance imaging enhancement, and neuropathological parameters. Clinical article // Journal of Neurosurgery. 2011. Vol. 114, № 3. P. 595–603.
5. Raheja A., Tandon V., Suri A., Sarat P., Chandra, Kale S.S., Garg A., Pandey R.M., Kalaivani M., Mahapatra A.K., Sharma B.S. Initial experience of using high field strength intraoperative MRI for neurosurgical procedures // Journal of Clinical Neuroscience. 2015. Vol. 22, № 8. P. 1326–1331.

6. Drexler W., Lui M., Kumar A., et al. Optical coherence tomography – principles and applications // Reports on Progress in Physics. 2003. Vol. 66, № 2. P. 239.
7. Garzon-Muvdi T., Kut C., Li X., Chaichana K.L. Intraoperative imaging techniques for glioma surgery // Future Oncology. 2017. Vol. 13, № 19. P. 1731-1745.
8. Wu C., Le H., Ran S., Singh M., Larina I.V., Mayerich D., Dickinson M.E., Larin K.V. Comparison and combination of rotational imaging optical coherence tomography and selective plane illumination microscopy for embryonic study // Biomedical Optics Express. 2017. Vol. 8, № 10. P. 4629-4639.
9. Wang S., Singh M., Tran T.T., Leach J., Aglyamov S.R., Larina I.V., Martin, J.F., Larin K.V. Biomechanical assessment of myocardial infarction using optical coherence elastography // Biomedical Optics Express. 2018. Vol. 9, № 2. P. 728-742.
10. Wen P.Y., Kesari S. Malignant gliomas in adults // N. Engl J. Med. 2008. Vol. 359. P. 492-507.
11. Pollack I.F. Brain tumors in children // N. Engl J. Med. 1994. Vol. 331. 1500-1507.
12. Crocetti E., Trama A., Stiller C., Caldarella A., Soffietti R., Jaal J., Weber D.C., Ricardi U., Slowinski J., Brandes A. Epidemiology of glial and non-glial brain tumours in Europe // European Journal of Cancer. 2012. Vol. 48, № 10. P. 1532–1542.
13. Tuchin V.V. Tissue optics, Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis. Second edition. Bellingham, Washington USA, 2013.
14. Yaroslavsky A.N., Schulze P.C., Yaroslavsky I.V., Schober R., Ulrich F., Schwarzmaier H.-J. Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues *in vitro* in the visible and near infrared spectral range // Phys. Med. Biol. 2002. Vol. 47. P. 2059-2073.

15. Collins V.P. Brain tumors: classification and genes // J. Neurol. Neurosurg.Psych. 2004. Vol. 75, № 2. P. 2-11.
16. Grant R. Overview: Brain tumor diagnosis and management. Royal College of Physicians guidelines // J. Neurol. Neurosurg. Psych. 2004. Vol. 75, № 2. P. 18-23.
17. McKinney P.A. Brain tumors incidents, survival and etiology // J. Neurol. Neurosurg. Psych. 2004. Vol. 75, № 2. P. 12-17.
18. Hirschberg H., Samset E., Hol P.K., Tillung T., Lote K. Impact of intraoperative MRI on the surgical results for high-grade gliomas // Minim Invasive Neurosurg. 2005. Vol. 48, № 2. P. 77–84.
19. Nie Z., An R., Hayward J.E., Farrell T.J., Fang Q. Hyperspectral fluorescence lifetime imaging for optical biopsy // Journal of Biomedical Optics. 2013. Vol. 18, № 9. P. 096001.
20. Nie Z., Le V.N.D., Cappon D., Provias J., Murty N., Hayward J.E., Farrell T.J., Patterson M.S., McMillan W., Fang Q. Integrated time-resolved fluorescence and diffuse reflectance spectroscopy instrument for intraoperative detection of brain tumor margin // IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics: a Publication of the IEEE Lasers and Electro-Optics Society. 2016. Vol. 22, № 3. P. 49–57.
21. Huang D., Swanson E.A., Lin C.P., Schuman J.S., Stinson W.G., Chang W., Hee M.R., Flotte T., Gregory K., Puliafito C.A., Fujimoto J.G. Optical coherence tomography // Science. 1991. Vol. 254, № 5035. P. 1178–1181.
22. Яшин К.С. Оптическая когерентная томография при глиальных опухолях головного мозга (клинико-экспериментальное) // Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. 2018. Глава 1. Стр. 23. Рисунок 3 (в).
23. Геликонов В.М., Геликонов Г.В., Гладкова Н.Д. и др. Когерентная оптическая томография микронеоднородностей биотканей // Письма ЖЭТФ. 1995. Т. 61. С. 149-153.

24. Roper S.N., Moores M.D., Gelikonov G.V., Feldchtein F.I., Beach N.M., King M.A., Gelikonov V.M., Sergeev A.M., Reitze D.H. *In vivo* detection of experimentally induced cortical dysgenesis in the adult rat neocortex using optical coherence tomography // J. Neurosci. Meth. 1998. Vol. 80. P. 91-98.
25. Häusler G., Lindner M.W. “Coherence Radar” and “Spectral Radar” – new tools for dermatological diagnosis // J. Biomed. Opt. 1998. Vol.3, № 1. P. 21-31.
26. Chen Z., Liu G. Doppler optical coherence tomography. Chapter 20 // Coherent-Domain Optical Methods: Biomedical Diagnostics, Environmental Monitoring and Material Science. Vol. 2 / Ed. By V. V. Tuchin. Second edition. Berlin, Heidelberg, N.Y.: Springer-Verlag, 2012. P. 898-922.
27. Jiao S., Wang L.V. Jones-matrix imaging of biological tissues with quadruple-channel optical coherence tomography // J. Biomed. Opt. 2002. Vol. 7, № 3. P. 350-358.
28. De Boer J.F., Milner T.E. Review of polarization sensitive optical coherence tomography and Stokes vector determination // J. Biomed. Opt. 2002. Vol. 7, № 3. P. 359-371.
29. Dolin L.S., Gelikonov G.V., Gelikonov V.M., Gladkova N.D., Iksanov R.R., Kamensky V.A., Kuranov R.V. Sergeev, Shakhova N.M., Turchin I.V. // Coherent-Domain Optical Methods: Biomedical Diagnostics, Environmental Monitoring and Material Science. Vol. 2 / Ed. By V.V. Tuchin. Second edition. Berlin, Heidelberg, N.Y.: Springer-Verlag, 2012. P. 999-1064.
30. Gelikonov G.V., Gelikonov V.M., Ksenofontov S.U., Morosov A.V., Myakov A.V., Potapov Yu.P., Saposhnikova V.V., Sergeeva E.A., Shabanov D.V., Shakhova N.M., Zagainova E.V. Optical Coherence Microscopy. Chapter 27 // Coherent-Domain Optical Methods: Biomedical Diagnostics, Environmental Monitoring and Material Science. Vol. 2 / Ed. By V.V. Tuchin. Second edition. Berlin, Heidelberg, N.Y. Springer-Verlag, 2012. P. 1127-1156.
31. Wang H.-W., Rollins A.M., Izatt J.A. High speed, full field optical coherence tomography // Proc. SPIE. 1999. Vol. 3598. P. 204-212.

32. Ugryumova N., Matcher S.J., Attenburrow D.P. Measurement of bone mineral density via light scattering // *Phys. Med. Biol.* 2004. Vol. 49. P. 469-283.
33. Wang P.H. and Wang R.K. Theory, developments and applications of optical coherence tomography // *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2005. Vol. 38, № 2519 P. 2519-2520.
34. Böhringer H.J., Lanckenau E., Stellmacher F., Reusche E., Huttmann G., Giese A. Imaging of human brain tumor tissue by near-infrared laser coherence tomography // *Acta Neurochir (Wien)*. 2009. Vol. 151, № 5. P. 507–517.
35. Böhringer H.J., Boller D., Leppert J., Knopp U., Lanckenau E., Reusche E., Huttmann G, Giese A. Time-domain and spectral-domain optical coherence tomography in the analysis of brain tumor tissue // *Lasers in Surgery and Medicine*. 2006. Vol. 38, № 6. P. 588–597.
36. Assayag O., Grieve K., Devaux B., Harms F., Pallud J., Chretien F., Boccara C., Varlet P. Imaging of non-tumorous and tumorous human brain tissues with full-field optical coherence tomography // *NeuroImage: Clinical*. 2013. Vol. 2. P. 549-557.
37. Yashin K.S., Kiseleva E.B., Moiseev A.A., Kuznetsov S.S., Timofeeva L.B., Pavlova N.P., Gelikonov G.V., Medyanik I.A., Kravets L.Ya., Zagaynova E.V., Gladkova N.D. Quantitative nontumorous and tumorous human brain tissue assessment using microstructural co- and cross-polarized optical coherence tomography // *Scientific reports*. 2019. Vol. 9, № 2024.
38. Gelikonov V. M., Gelikonov G. V., Gladkova N. D., et al. Coherent optical tomography of microscopic inhomogeneities in biological tissues // *JETP Letters*. 1995. Vol. 61, № 2, P. 158–162.
39. Turchin I. V., Sergeeva E. A., Dolin L. S., et al. Novel algorithm of processing optical coherence tomography images for differentiation of biological tissue pathologies // *Journal of Biomedical Optics*. 2005. Vol. 10, № 6.
40. Louis D. N., Perry A., Reifenberger G., et al. The 2016 world health organization classification of tumors of the central nervous system: a summary // *Acta Neuropathologica*. 2016. Vol. 131, № 6. P. 803–820.

41. Dolganova I. N., Aleksandrova P. V., Chernomyrdin N. V., Musina G. R., Beshplav S.-I., Kosyrkova A., Reshetov I., Tuchin V. V., Zaytsev K. Optical coherence tomography of human brain glioma as a promising tool for intraoperative diagnostics in neurosurgery // Proc. SPIE 11078, Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media III. 2019. P. 1107829.
42. Chang S., Bowden A. K. Review of methods and applications of attenuation coefficient measurements with optical coherence tomography // Journal of Biomedical Optics. 2019. Vol. 24, № 9. P. 090901.
43. Tuchin V. V. Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnostics // 3rd ed, vol. PM 254, SPIE Press. 2015.
44. Dolganova I. N., Aleksandrova P. V., Nikitin P. V., Alekseeva A. I., Chernomyrdin N. V., Kucheryavenko A. S., Musina G. R., et al. Physically reasonable differentiation of intact brain tissues, human brain gliomas of different WHO grades and glioma model 101.8 using optical coherence tomography // 2020.
45. R. A. Fisher. The use of multiple measurements in taxonomic problems // Annals of Eurogenics. 1936. Vol.7, № 2. P. 179 – 188.
46. McLachlan G. I. Discriminant Analysis and Statistical Pattern Recognition, Wiley, New York, USA. 2004.
47. Ostrom Q. T., Gittleman H., Fulop J., et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008 – 2019 // Neuro-Oncology 17. 2015. iv1-iv62.
48. Ostrom Q. T., Gittleman H., Xu J., et al. CBTRUS statistical report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the united states in 2009 – 2013 // Neuro-Oncology 18. 2016. v1-v75.
49. Aldape K., Zadeh G., Mansouri S., et al. Glioblastoma: pathology, molecular mechanisms and markers // Acta Neuropathologica. 2015. Vol.129, № 6. P. 829 – 848.

50. Gavdush A. A., Chernomyrdin N. V., Malakhov K. M., et al. Terahertz spectroscopy of gelatin-embedded human brain gliomas of different grades: a road toward intraoperative THz diagnosis // *Journal of Biomedical Optics*. 2019. Vol.24, № 2. P.027001.
51. Zehri A. H., Ramey W., Georges J. F., et al. Neurosurgical confocal endomicroscopy: a review of contrast agents, confocal systems, and future imaging modalities // *Surgical Neurology International*. 2014. Vol. 28. P. 5–60.
52. Ji Y. B., Oh S. J., Kang S.-G., et al. Terahertz reflectometry imaging for low and high grade gliomas // *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6. P. 36040.
53. Kircher M. F., A. de la Zerda, Jokerst J. V., et al. A brain tumor molecular imaging strategy using a new triple-modality MRI-photoacoustic-Raman nanoparticle // *Nature Medicine*. 2012. Vol. 18. P. 829–834.
54. Orringer D. A., Pandian B., Niknafs Y.S., et al. Rapid intraoperative histology of unprocessed surgical specimens via fibre-laser-based stimulated Raman scattering microscopy // *Nature Biomedical Engineering*. 2017. Vol. 1. P. 0027.
55. Ghosn M. G., Carbajal E. F., Befui N. A., et al. Differential permeability rate and percent clearing of glucose in different regions in rabbit sclera // *Journal of Biomedical Optics*. 2008. Vol. 13, № 2. P. 021110.
56. Louis D. N., Perry A., Reifenberger G., et al. The 2016 world health organization classification of tumors of the central nervous system: a summary // *Acta Neuropathologica*. 2016. Vol. 131, № 6. P. 803–820.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Графическая часть дипломного проекта

В графическую часть дипломного проекта входят:

- 1) Функциональная схема оптического когерентного томографа (рисунок А1)
- 2) Держатель образца (элемент экспериментального стенда) (рисунок А2)
- 3) Спецификация к чертежу держателя образца (рисунок А3)
- 4) Алгоритм обработки характеристик, полученных в ходе анализа В-сканов, представленный в виде блок-схемы (рисунок А4)
- 5) Результаты ОКТ исследования, включающие в себя графики характеристик, примеры В-сканов, гистологические изображения (рисунок А5)

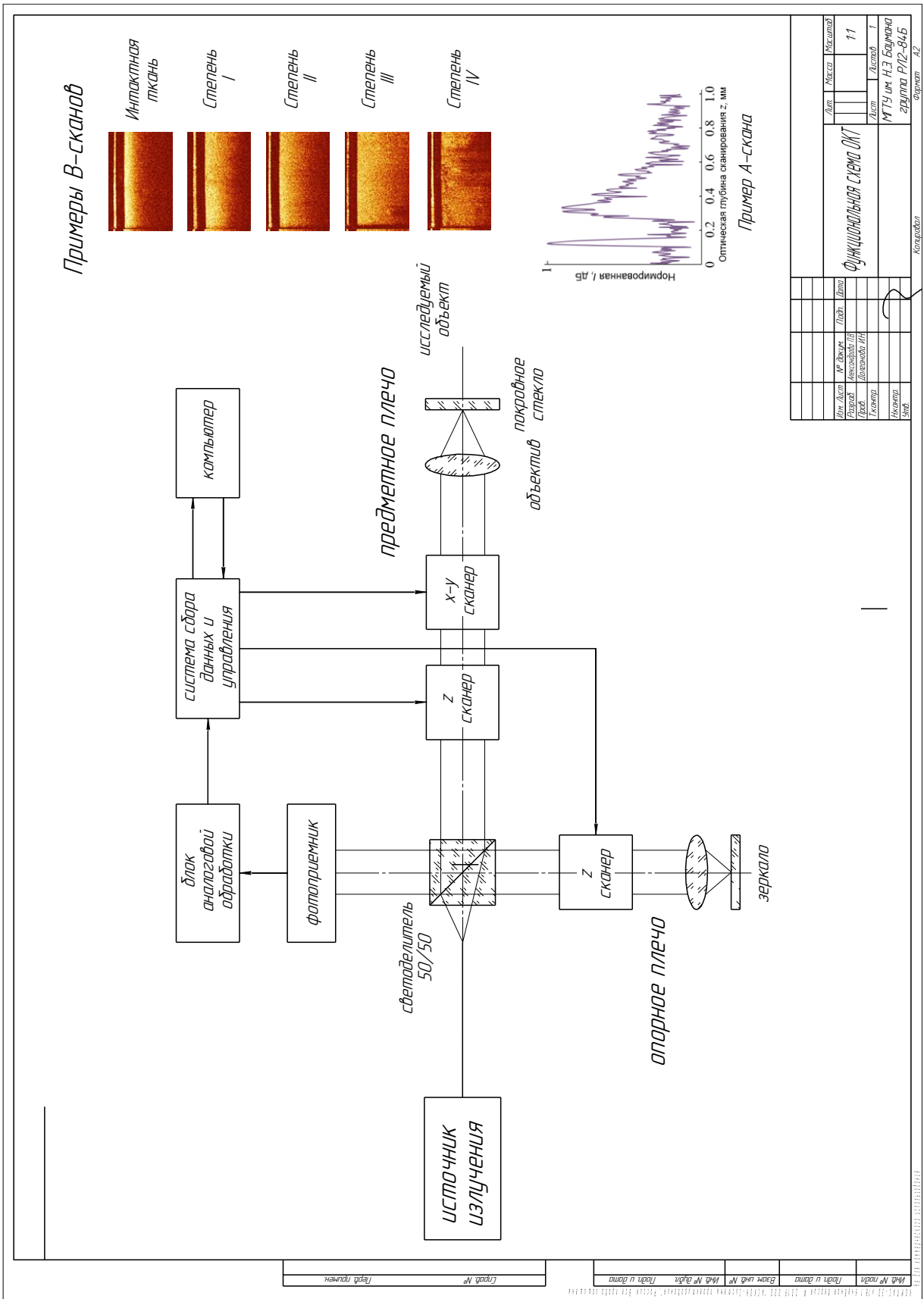


Рисунок А1 - Функциональная схема ОКТ

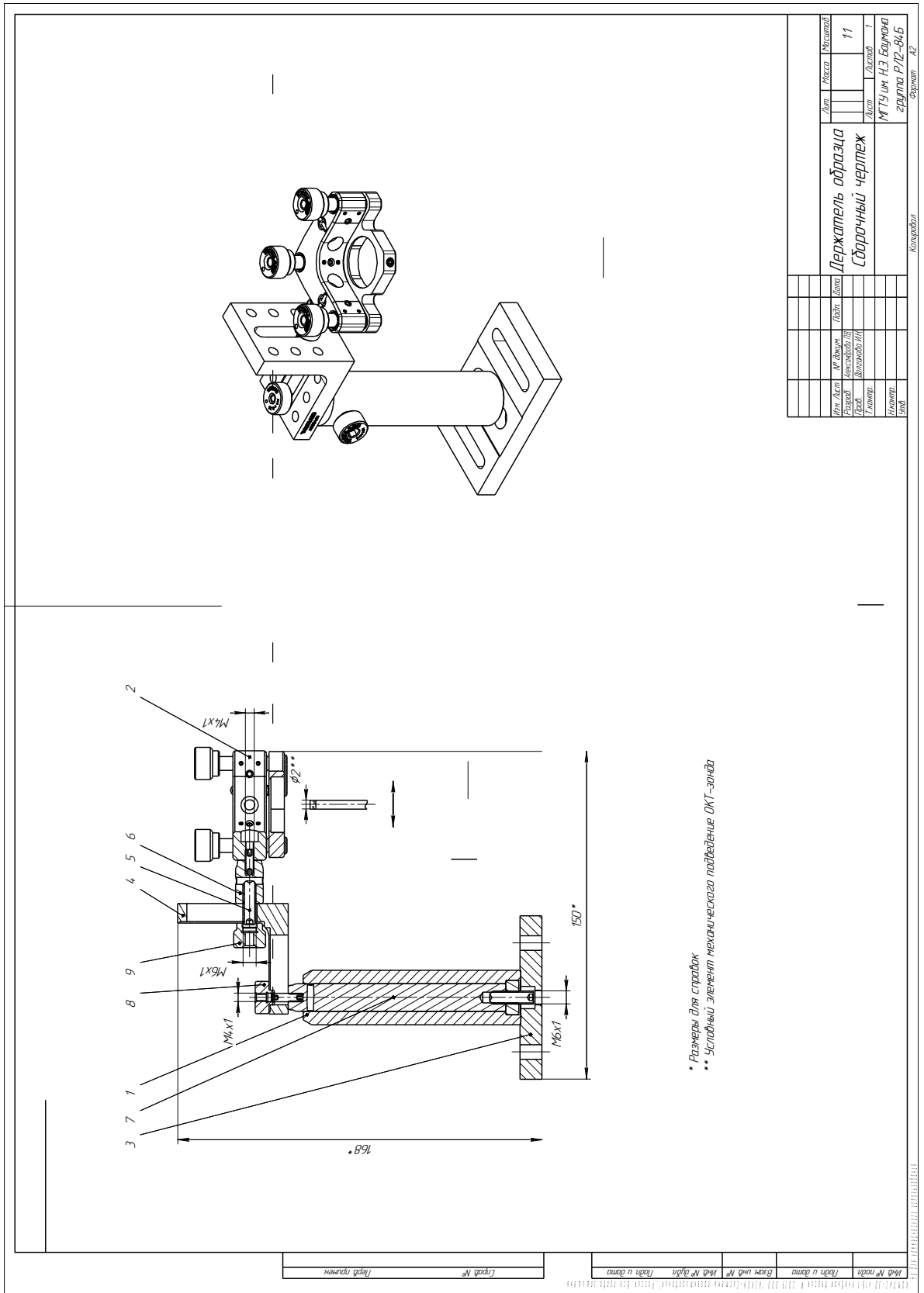


Рисунок А2 - Держатель образца. Сборочный чертёж

№ п/п	№ документа	Лист	Масштаб	Колонтитул
1	11			
Держатель образца				
Сборочный чертёж				
Исполнитель	Проверен	Утвержден	Дата	Листов
М.П. / Подпись	М.П. / Подпись	М.П. / Подпись	М.П. / Подпись	1
ИТУ им. П.З. Бажина				
группа Р/12-8/6				
Формат А2				

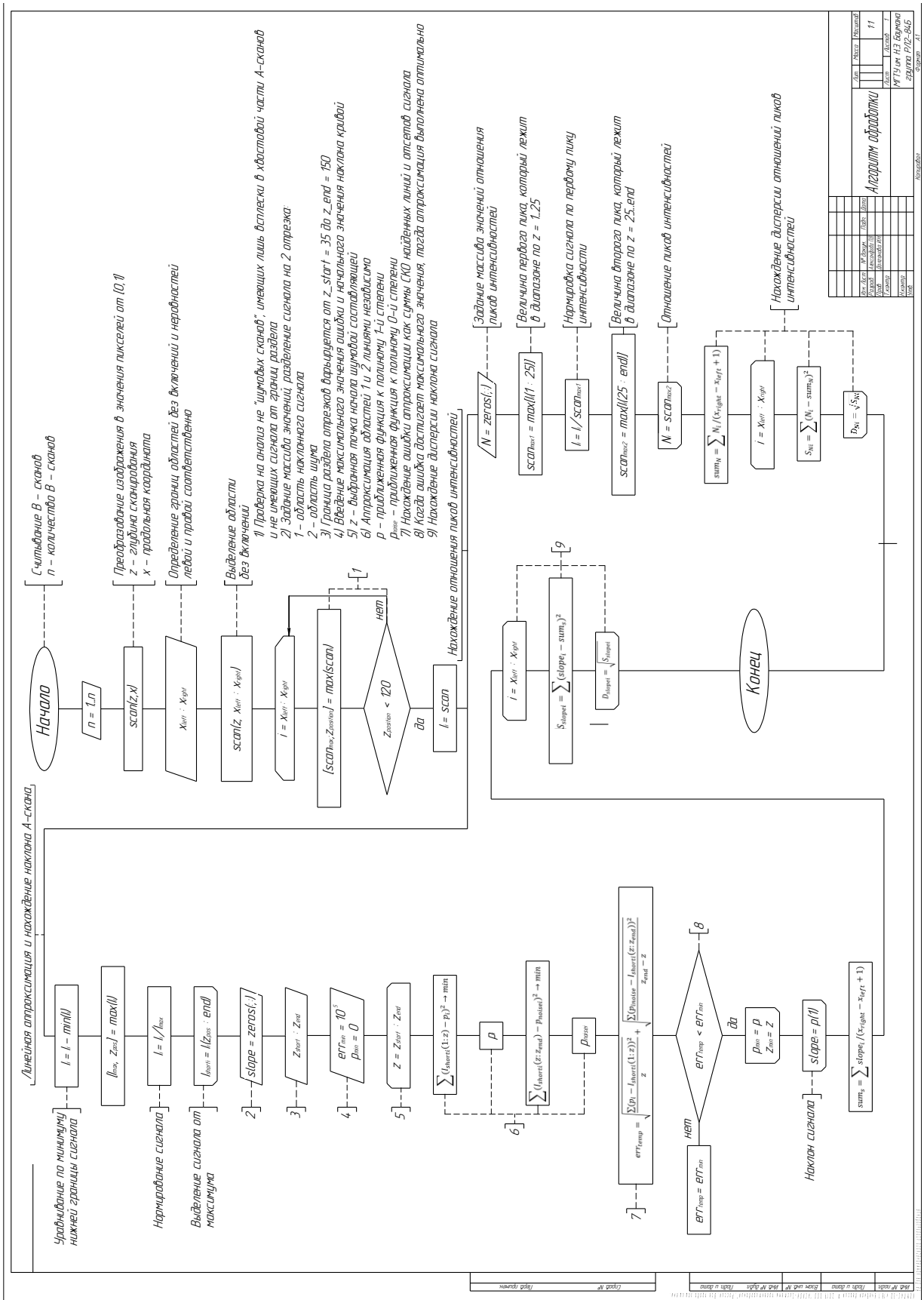


Рисунок А4 - Алгоритм обработки характеристик

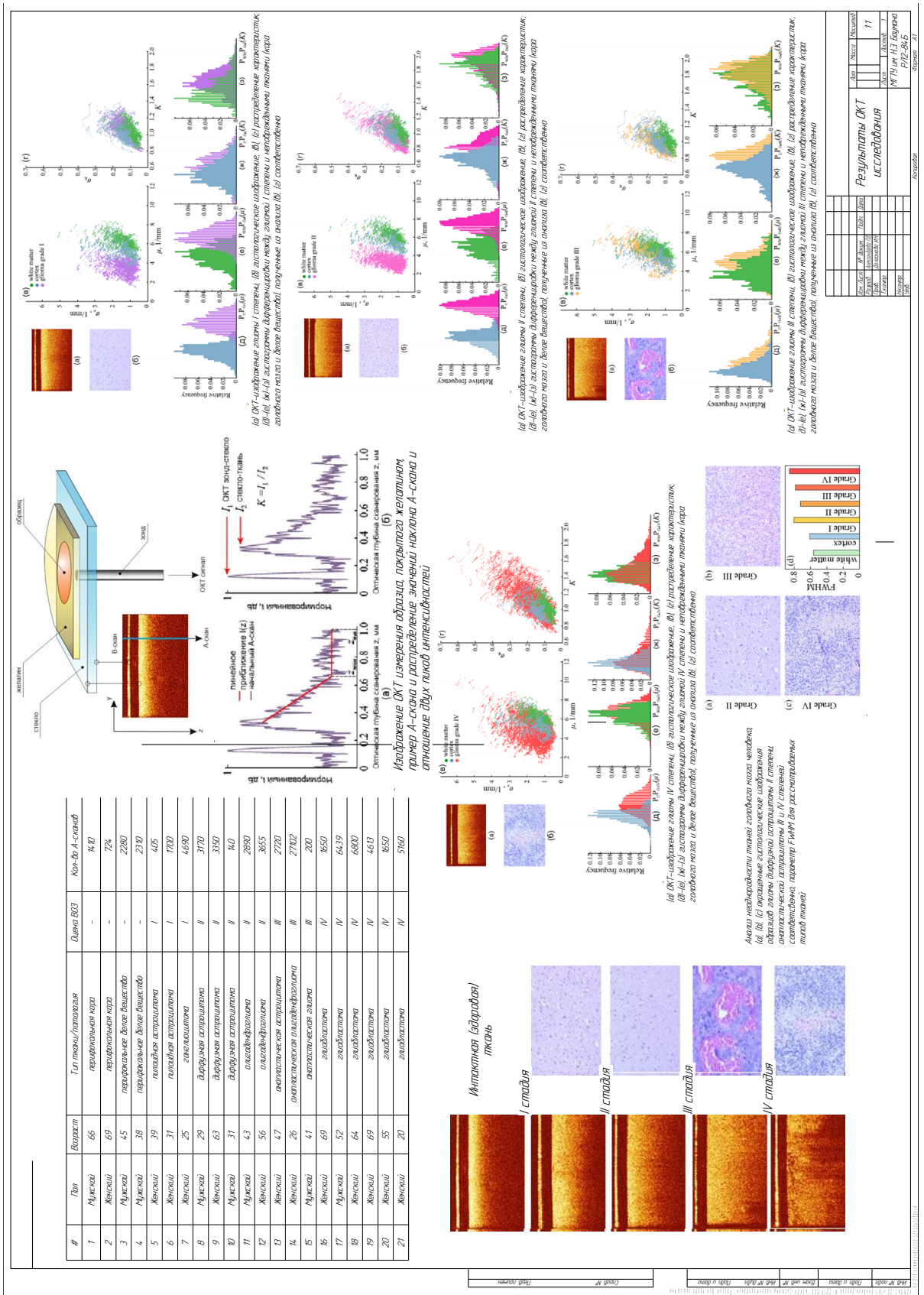


Рисунок А5 - Результаты OQI исследования

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Презентация дипломного проекта

В презентацию дипломного проекта входят следующие слайды:

1. Титульная страница с темой ВКР
2. Актуальность работы
3. Цель работы
4. Основные задачи
5. Структура работы (доклада)
6. Метод оптической когерентной томографии
7. Формирования ОКТ изображения
8. ОКТ в нейрохирургии
9. Метод исследования
10. Чертеж держателя образца
11. Метод исследования (продолжение)
12. Введение характеристик
13. Чертеж алгоритма обработки
14. Характеристики исследуемых образцов
15. Обработка экспериментальных данных
16. Анализ полученных результатов (5 слайдов)
17. Основные результаты работы
18. Публикации/ конференции



Московский государственный технический университет
имени Н.Э. Баумана
Факультет «Радиоэлектроника и лазерная техника»
Кафедра РЛ-2 «Лазерные и оптико-электронные системы»

Разработка методов исследования злокачественных новообразований головного мозга с помощью оптической когерентной томографии

выпускная квалификационная работа бакалавра по
направлению подготовки
12.03.05 Лазерная техника и лазерные технологии

Студент:

Александрова П.В.

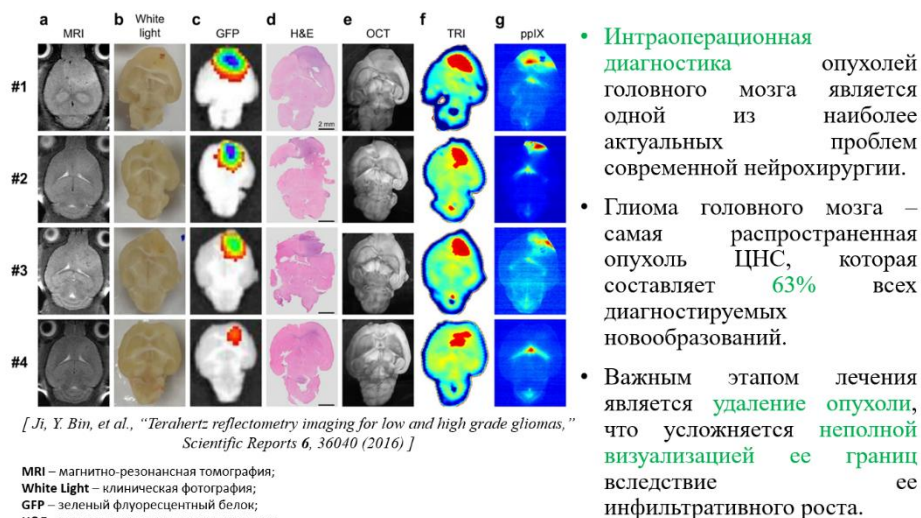
группа РЛ2-84Б

Научный руководитель:

к.т.н., доцент

Долганова И.Н. 2

Актуальность работы



[Ji, Y. Bin, et al., "Terahertz reflectometry imaging for low and high grade gliomas,"
Scientific Reports 6, 36040 (2016)]

MRI – магнитно-резонансная томография;
White Light – клиническая фотография;
GFP – зеленый флуоресцентный белок;
H&E – окраска гематоксилином и эозином;
OCT – оптическая когерентная томография;
TRI – ТГц режим изображения
на $v = 0.5$ ТГц
pPIX – протопорфирин IX флуоресцентная визуализация.

- Интраоперационная диагностика опухолей головного мозга является одной из наиболее актуальных проблем современной нейрохирургии.
- Глиома головного мозга – самая распространенная опухоль ЦНС, которая составляет 63% всех диагностируемых новообразований.
- Важным этапом лечения является удаление опухоли, что усложняется неполной визуализацией ее границ вследствие ее инфильтративного роста.

3

Цель работы

Цель работы – разработать метод исследования тканей головного мозга с помощью оптической когерентной томографии (ОКТ) для диагностики глиальных опухолей.

Объектом исследования выступает ОКТ как новый инструмент интраоперационной нейрорадиологии для дифференциации глиом различных степеней злокачественности и интактных тканей.

4

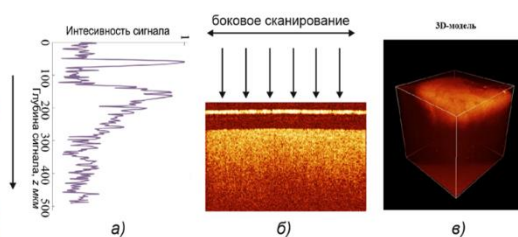
Основные задачи, решаемые в работе:

- **разработка** экспериментального стенда и методики проведения исследования тканей головного мозга;
- **проведение** серии экспериментальных исследований и **формирование** базы данных ОКТ изображений различных тканей головного мозга;
- **определение** на основе анализа ОКТ изображений основных характеристик ткани и соответствующих им признаков ОКТ сигнала;
- **разработка** алгоритма и его программной реализации для обработки результатов измерений;
- **проведение анализа** возможности дифференциации глиом различной степени злокачественности от интактных тканей головного мозга.

5

Формирование ОКТ изображения

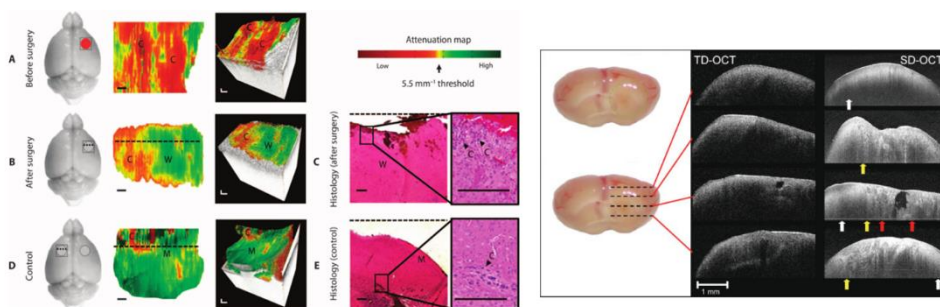
- Результатом интерференции является **одиночный скан** объекта по глубине (А-скан).
- При **объединении сканирования** в латеральных координатах и сканирования по глубине ОКТ формирует **двумерное изображение в поперечном сечении** (В-скан).
- Дополнительное смещение зондирующего луча **перпендикулярно траектории В-сканов** приводит к формированию **трехмерного изображения**.



Формирование ОКТ-изображения: *a* – интенсивность сигнала по глубине (А-скан); *b* – двумерное (В-скан); *c* – трехмерное

8

ОКТ в нейрохирургии



[C. Cut et al., *Sci. Trans. Med.* 7(292) (2015)]

[Böhringer, H.J., et al., *Lasers in Surgery and Medicine* 38(6), 588–597 (2006)]

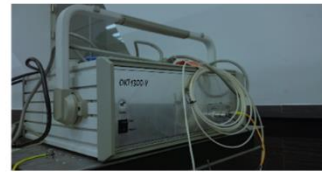
ОКТ обеспечивает **сильный контраст изображения**, поэтому данная технология широко распространена в различных областях медицины, таких как офтальмология, интервенционная кардиология, дерматология, гинекология и т.д.

Наибольший интерес **в нейрохирургии** ОКТ представляет в качестве интраоперационного метода определения границ глиальных опухолей и дифференциации глиом различных степеней злокачественности и интактных тканей.

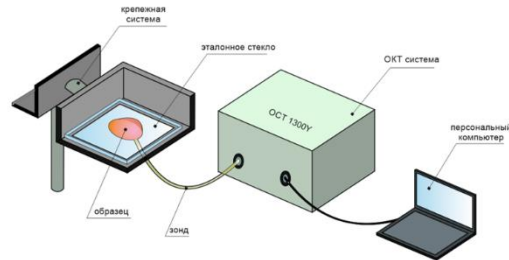
9

Метод исследования

- ОСТ1300У содержит источник излучения с центральной длиной волны **1,3 мкм** и средней мощностью **0,75 мВт**. Формирует В-сканы размером **256x400 пикселей** для области ткани с боковым размером **2 мм** и глубиной около **1,0 мм**.
- Экспериментальная схема включает в себя крепежную систему, ПК, коммерческую систему ОСТ1300У.

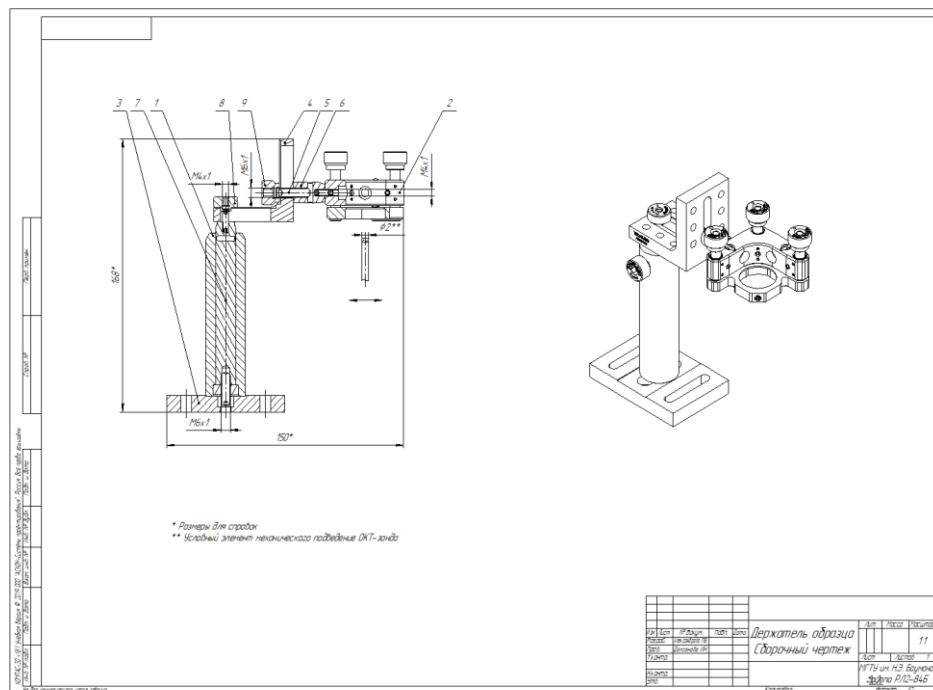


Коммерческая система ОСТ 1300У



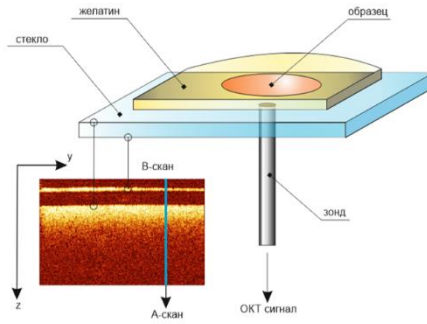
Экспериментальная схема

10



Метод исследования

- Во время транспортировки образцы охлаждали и покрывали **желатиновой пленкой** для предотвращения дегидратации и изменения оптических характеристик.
- Измерения проводились **не позднее, чем через 4 часа** после операции.
- После эксперимента образцы **фиксировались в формалине** для проведения дальнейшего гистологического исследования.



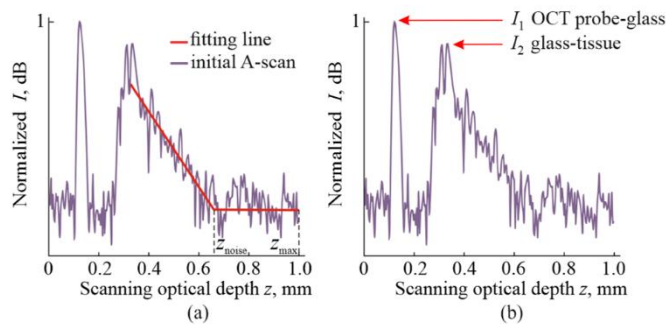
ОКТ визуализация мозговой ткани с желатином *ex vivo*

По ВОЗ опухоли ЦНС имеют следующую классификацию:

- степень I – доброкачественная астроцитарная опухоль;
- степень II – диффузная астроцитарная опухоль;
- степень III – злокачественная астроцитарная опухоль;
- степень IV – глиобластома.

12

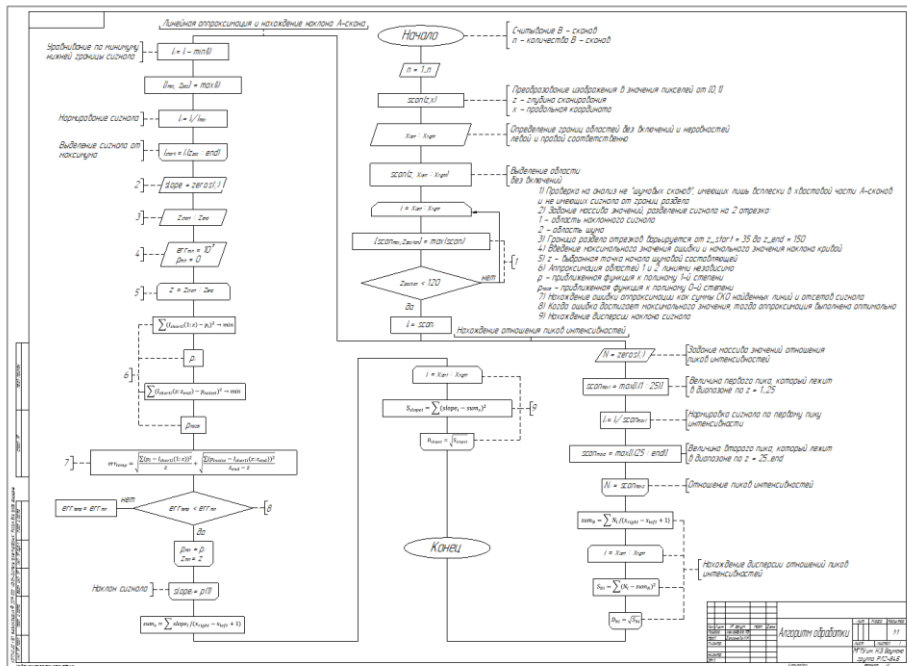
Введение характеристик



Пример А-скана: извлечение коэффициента ослабления (а) и нормированный пик интенсивности отражения (б)

- коэффициент ослабления μ для А-сканов в приближении однократного рассеяния $I(z) = I_0 \exp(-\mu z)$;
- нормированный пик интенсивности отражения А-скана $K = I_2/I_1$;
- стандартное отклонение μ : $\sigma_\mu = [\sum_{i=1}^{N_A} \{(\mu_i - \bar{\mu})^2 / N_A\}]^{0,5}$;
- стандартное отклонение K : $\sigma_K = [\sum_{i=1}^{N_A} \{(K_i - \bar{K})^2 / N_A\}]^{0,5}$.

13



14

Характеристики исследуемых образцов

№	пол	возраст	тип ткани	степень злокачественности	количество А сканов
1	М	66	серое вещество	—	1410
2	Ж	69	серое вещество	—	724
3	М	45	белое вещество	—	2280
4	М	38	белое вещество	—	2310
5	Ж	39	пилоцитарная астроцитома	I	405
6	Ж	31	пилоцитарная астроцитома	I	1700
7	Ж	25	ганглиоцитома	I	4690
8	М	29	диффузная астроцитома	II	3170
9	Ж	63	диффузная астроцитома	II	3350
10	М	31	диффузная астроцитома	II	140
11	М	43	олигодендрogliома	II	2890
12	Ж	56	олигодендрogliома	II	3655
13	Ж	46	анапластическая астроцитома	III	2720
14	Ж	26	анапластическая олигодендрogliома	III	2120
15	М	41	анапластическая gliома	III	200
16	Ж	69	глиобластома	IV	1650
17	М	52	глиобластома	IV	6439
18	Ж	64	глиобластома	IV	6800
19	Ж	69	глиобластома	IV	4613
20	Ж	55	глиобластома	IV	1650
21	Ж	20	глиобластома	IV	5160

15

Обработка экспериментальных данных

• В ходе обработки данных, характеризующих различные классы тканей, были получены соответствующие массивы точек распределения $[\mu, \sigma_\mu]$ и $[K, \sigma_K]$.

• Применялась статистическая обработка результатов на основе метода линейного дискриминантного анализа.

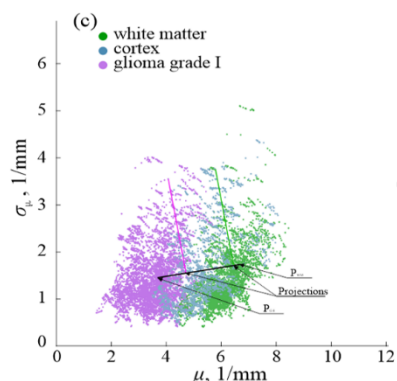
Этапы анализа:

• нахождение центров масс массивов экспериментальных данных для каждого класса (P_{WM} - центр масс белого вещества, P_C - центр масс коры головного мозга, P_{G-i} - центр масс различных степеней глиомы);

• центры масс соединяются прямой;

• все экспериментальные точки на графике проецируются на эту прямую;

• в качестве точки начала отсчета выбирается положение одного из центра масс и строится гистограмма положений проекций точек для пары классов тканей.

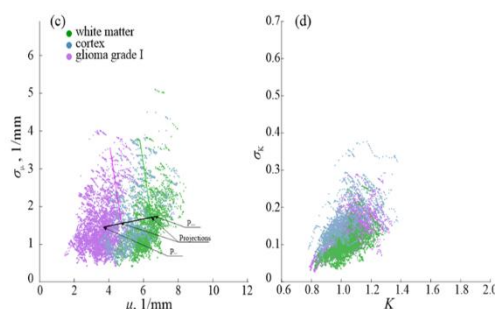
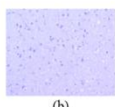
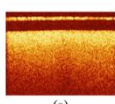


Распределение $[\mu, \sigma_\mu]$ для глиомы I степени

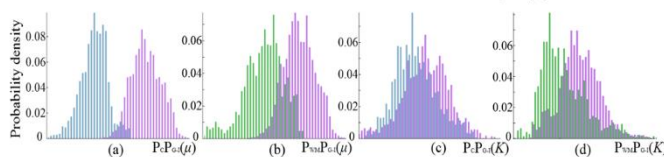
16

Анализ полученных результатов

#	Пол	Возраст	Степень злокачественности по ВОЗ
1	М	66	-
2	Ж	69	-
3	М	45	-
4	М	38	-
5	Ж	39	I
6	Ж	31	I
7	Ж	25	I



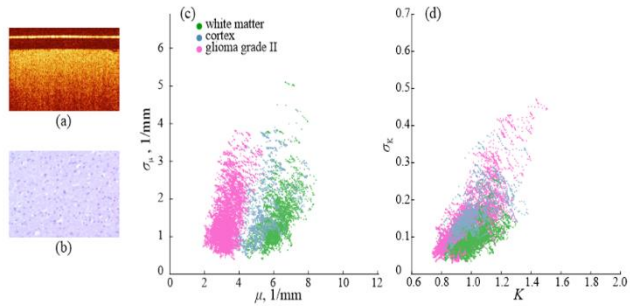
Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (a) ОКТ-изображение глиомы I степени; (b) гистологическое изображение глиомы I степени; (c), (d) распределение $[\mu, \sigma_\mu]$ и $[K, \sigma_K]$ соответственно;



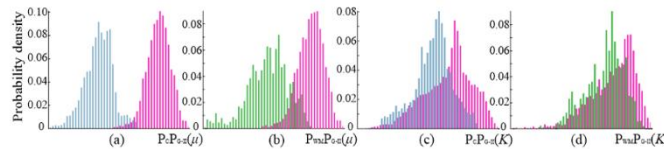
Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (a) - (b), (c) - (d) гистограммы дифференциации между глиомой I степени и неповрежденными тканями (кора головного мозга и белое вещество);¹⁷

Анализ полученных результатов

#	Пол	Возраст	Степень злокачественности по ВОЗ
8	М	29	II
9	Ж	63	II
10	М	31	II
11	М	43	II
12	Ж	56	II



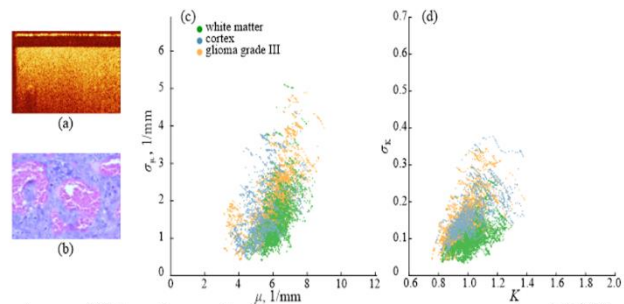
Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (а) ОКТ-изображение глиомы II степени; (б) гистологическое изображение глиомы II степени; (с), (d) распределение $[\mu, \sigma_\mu]$ и $[K, \sigma_K]$ соответственно;



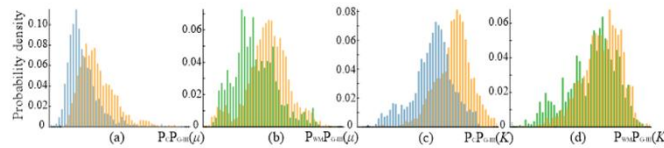
Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (а) - (b), (с) - (d) гистограммы дифференциации между глиомой II степени и неповрежденными тканями (кора головного мозга и белое вещество) [18]

Анализ полученных результатов

#	Пол	Возраст	Степень злокачественности по ВОЗ
13	М	47	III
14	Ж	26	III
15	М	41	III



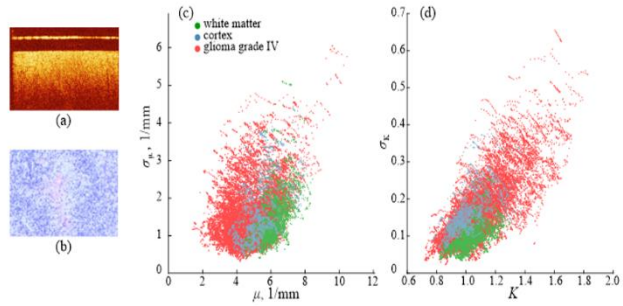
Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (а) ОКТ-изображение глиомы III степени; (б) гистологическое изображение глиомы III степени; (с), (d) распределение $[\mu, \sigma_\mu]$ и $[K, \sigma_K]$ соответственно;



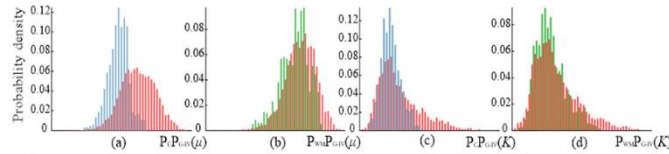
Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (а) - (b), (с) - (d) гистограммы дифференциации между глиомой III степени и неповрежденными тканями (кора головного мозга и белое вещество) [19]

Анализ полученных результатов

#	Пол	Возраст	Степень злокачественности по ВОЗ
16	Ж	69	IV
17	М	52	IV
18	Ж	64	IV
19	Ж	69	IV
20	Ж	55	IV
21	Ж	20	IV



Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (a) ОКТ-изображение глиомы IV степени; (b) гистологическое изображение глиомы IV степени; (c), (d) распределение $[\mu, \sigma_\mu]$ и $[K, \sigma_K]$ соответственно;

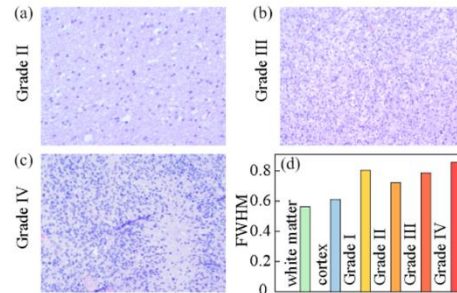


Анализ ОКТ-изображений образцов человеческого мозга *ex vivo*; (a) - (b), (c) - (d) гистограммы дифференциации между глиомой IV степени и неповрежденными тканями (кора головного мозга и белое вещество)₂₀

Анализ полученных результатов

Для анализа неоднородности тканей глиомы головного мозга человека оценивалась полная ширина на полувысоте (FWHM) четырехмерного пространства распределения признаков $[\mu, \sigma_\mu, K, \sigma_K]$ для каждого класса тканей.

Анализ неоднородности тканей головного мозга человека; (a), (b), (c) репрезентативные H&E – окрашенные гистологические изображения образцов глиомы диффузной астроцитомы II степени, анапластической астроцитомы III степени и анапластической астроцитомы IV степени соответственно; Параметр FWHM для рассматриваемых типов тканей



В каждом наборе образцов определялась центральная точка с координатами $F_0 = (\bar{\mu}, \bar{\sigma}_\mu, \bar{K}, \bar{\sigma}_K)$ и расстояние $\|F_i - F_0\|_e =$

$$\sqrt{(\mu_i - \bar{\mu})^2 + (\sigma_{\mu i} - \bar{\sigma}_\mu)^2 + (K_i - \bar{K})^2 + (\sigma_{K i} - \bar{\sigma}_K)^2}$$

между каждой точкой F_i и F_0 .

Основные результаты работы:

1. Разработан экспериментальный стенд, удовлетворяющий условиям проведения эксперимента *ex vivo*.
2. Разработана и проанализирована оптимальная методика исследования.
3. Проведена серия экспериментальных исследований и сформирована база данных ОКТ изображений различных типов тканей головного мозга, учитывающая особенности иссеченной ткани.
4. Проведен анализ полученных сигналов, включающий выделение четырех признаков образца (по изображениям ОКТ оценивались значения и стандартные отклонения коэффициента ослабления, используя приближение однократного рассеяния, и нормированная интенсивность пика отражения, используя покрывное стекло во время измерений).
5. Разработан алгоритм и его программная реализация при помощи среды математического моделирования (MATLAB) для анализа и обработки результатов исследования.
6. Приведены конечные результаты, указывающие на способность данного метода дифференцировать глиомы низких степеней с интактными тканями.

22

Публикации

- [1] I.N. Dolganova, N.V. Chernomyrdin, P.V. Aleksandrova, S.-I.T. Beshplav, A.A. Potapov, I.V. Reshetov, V.N. Kurlov, V.V. Tuchin, K.I. Zaytsev, "Nanoparticle-enabled experimentally-trained wavelet-domain denoising method for optical coherence tomography," *Journal of Biomedical Optics*, 23(9), 091406 (2018).
- [2] И.Н. Долганова, Н.В. Черномырдин, П.В. Александрова, И.В. Решетов, В.Е. Карасик, К.И. Зайцев, В.В. Тучин «Экспериментально обучаемый метод фильтрации шумов рассеяния в сигналах оптической когерентной томографии» *Оптика и спектроскопия*, 126(5), 670 – 677 (2019) DOI: 10.21883/OS.2019.05.47669.18-19.
- [3] I.N. Dolganova, P.V. Aleksandrova, N.V. Chernomyrdin, S.-I.T. Beshplav, A.V. Kosyrkova, P.V. Nikitin, A.A. Gavdush, I.V. Reshetov, V.V. Tuchin, K.I. Zaytsev, "Study of malignant brain gliomas using optical coherence tomography and terahertz pulsed spectroscopy aimed on advanced intraoperative neurodiagnosis," *Proc. SPIE 11073, Clinical and Preclinical Optical Diagnostics II*, 110730R (2019); doi: 10.1117/12.2526759
- [4] P.V. Aleksandrova, I.N. Dolganova, N.V. Chernomyrdin, G.R. Musina, S.T. Beshplav, A.V. Kosyrkova, I.V. Reshetov, V.V. Tuchin, K.I. Zaytsev, "Optical coherence tomography of human brain glioma as a promising tool for intraoperative diagnostics in neurosurgery," *Proc. SPIE 11078, Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media III*, 1107829 (2019); doi: 10.1117/12.2526958
- [5] N.V. Chernomyrdin, I.N. Dolganova, S.-I.T. Beshplav, P.V. Aleksandrova, G.R. Musina, K.M. Malakhov, P.V. Nikitin, A.V. Kosyrkova, G.A. Komandin, I.V. Reshetov, A.A. Potapov, V.V. Tuchin, K.I. Zaytsev, "Differentiation of healthy and malignant brain tissues using terahertz pulsed spectroscopy and optical coherence tomography," *Proceedings of SPIE*. 10864, 1086406 (2019) DOI 10.1117/12.2506600
- [6] I.N. Dolganova, P.V. Aleksandrova, S.-I.T. Beshplav, N.V. Chernomyrdin, E.N. Dobyanskaya, S.A. Goryaynov, V.N. Kurlov, I.V. Reshetov, A.A. Potapov, V.V. Tuchin, and K.I. Zaytsev, "Wavelet-domain de-noising of OCT images of human brain malignant glioma," *Proceedings of SPIE*, 107171X (2018). DOI: 10.1117/12.2314727
- [7] I.N. Dolganova, P.V. Aleksandrova, P.V. Nikitin, A.I. Alekseeva, N.V. Chernomyrdin, A.S. Kucheryavenko, G.R. Musina, N.A. Naumova, S.T. Beshplav, A.V. Kosyrkova, I.V. Reshetov, A.A. Potapov, V.N. Kurlov, V.V. Tuchin, K.I. Zaytsev, "Physically based differentiation of intact brain tissues, human brain gliomas of various WHO Grades, and glioma model 101.8 using OCT," *Neurophotonics*, 2020 (under review).

Доклады на конференциях

1. European Conference on Biomedical Optics, ICM – International Congress Center Munich, Germany, "Optical coherence tomography of human brain glioma as a promising tool for intraoperative diagnostics in neurosurgery", 23-27 June 2019;
2. 7-th International Symposium Optics and its Applications, Yerevan-Ashtarak, Armenia, "A potential of optical coherence tomography or the intraoperative diagnostics in neurosurgery of brain gliomas", 20-24 September 2019;

Работа была поддержана грантом РФФИ № 18-38-00853

23