

Ачкасова Ксения Андреевна

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ БЕЛОГО ВЕЩЕСТВА
ПЕРИТУМОРАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЕТОДОМ
ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ**

1.5.2. Биофизика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена на базе научной лаборатории оптической когерентной томографии НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Гладкова Наталья Дороевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор РАН,
профессор

Захарова Наталья Евгеньевна

Федеральное государственное автономное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко" Министерства здравоохранения Российской Федерации, отделение рентгеновских и радиоизотопных методов диагностики, ведущий научный сотрудник

доктор медицинских наук

Баклаушев Владимир Павлович

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России», заместитель генерального директора по научной работе и медицинским технологиям

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»

Защита диссертации состоится «__» _____ 202_ г. в __ часов на заседании диссертационного совета 21.2.058.07 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1 и на сайте <http://www.rsmu.ru/>

Автореферат разослан «__» _____ 202_ г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Кягова Алла Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Злокачественные опухоли являются второй по распространенности причиной смерти пациентов по всему миру, ежегодно унося жизни 10 миллионов человек. При этом, более 250 тысяч человек ежегодно умирают в связи с опухолями головного мозга (*Sung, 2021*).

Развитие злокачественных опухолей головного мозга ассоциировано с формированием неврологического дефицита, наиболее часто связанного с повреждением белого вещества головного мозга, которое обеспечивает взаимосвязь между различными отделами центральной нервной системы. Повреждение белого вещества обусловлено, преимущественно, инфильтративным ростом злокачественных опухолей в окружающие ткани (*Yen, 2009; Brooks, 2021*). Возникающие морфологические и функциональные изменения (отек ткани, разрушение миелиновых волокон (*Roth, 2013; Cuddapah, 2014; van Kessel, 2017; Parmigiani, 2021*)) влекут за собой нарушение проведения нервного импульса. Кроме того, в ходе хирургического удаления опухоли возможно случайное механическое повреждение здоровых проводящих путей, что связано с отсутствием метода диагностики, позволяющего интраоперационно разграничить области нормального и поврежденного белого вещества в перитуморальной зоне (*Jackson, 2016*).

Возможность малоинвазивного (не нарушающего целостность ткани) прижизненного интраоперационного определения структурного статуса белого вещества позволит увеличить качество проводимых опухолевых резекций, а также снизить риск формирования послеоперационных осложнений, связанных с повреждением проводящих путей.

В настоящее время единственным методом, активно применяющимся в клинической практике для прижизненного исследования состояния белого вещества головного мозга, является диффузионно-тензорная магнитно-резонансная томография (ДТ-МРТ). Она проводится на предоперационном этапе и позволяет провести качественную оценку взаиморасположения опухоли и трактов белого вещества, а также количественно оценить ориентацию и степень сохранности нервных волокон (*Romano, 2008; Szmuda, 2021*). Несмотря на огромные преимущества метода ДТ-МРТ, заключающиеся в его прижизненности и неинвазивности, его применение имеет ряд ограничений. В частности, следует отметить недостаточную разрешающую способность (~1 мм), а также невозможность проведения визуализации структурных особенностей белого вещества интраоперационно в конкретной области интереса, которая связана с несоответствием между предоперационными МРТ изображениями и реальным расположением тканей в операционном поле вследствие феномена смещения мозговых структур (*Solar, 2021; Gerard, 2021*).

Интраоперационные методы, применяемые для визуализации опухоли, включают в себя методы флуоресцентной диагностики, а также УЗИ. Использование данных технологий направлено исключительно на обнаружение опухолевой ткани при определении границ резекции и не позволяет с высоким разрешением провести исследование перитуморальной области, чтобы в ходе операции обнаружить и удалить области слабой инфильтрации/повреждения белого вещества и избежать раннего рецидива (*Roberts, 2011; Colditz, 2012*).

Таким образом, существует необходимость поиска и применения метода, который в отличие от интраоперационного УЗИ обладает более высокой разрешающей способностью, и в отличие от флуоресцентной диагностики не требует использования дополнительных контрастных агентов, а также обеспечивает возможность получения объективных данных о структуре ткани в режиме реального времени с высоким контрастом.

Перспективным методом для визуализации структуры белого вещества головного мозга является оптическая когерентная томография (ОКТ) (*Leitgeb, 2021*). Принцип работы данной технологии основывается на использовании оптического излучения ближнего инфракрасного

диапазона длин волн с последующей регистрацией обратно рассеянного излучения. Метод ОКТ характеризуется возможностью проведения прижизненных неинвазивных исследований без использования дополнительных контрастных агентов, высокой разрешающей способностью, возможностью быстрого получения информации о структурных особенностях тканей в режиме реального времени (*Drexler, 2014*).

Существует ряд исследований, направленных на изучение нервных тканей при новообразованиях головного мозга с помощью ОКТ (*Bizheva, 2005; Giese, 2009; Kut, 2015; Kuppler, 2023*). При этом для анализа ОКТ сигнала используют как визуальный (*Yashin, 2019*), так и количественный анализ ОКТ изображений, основанный на вычислении коэффициента затухания (*Yuan, 2017*). Расчет коэффициента затухания (μ) является объективным и общепринятым подходом, описывающим исчезновение ОКТ сигнала с глубиной вследствие рассеяния и поглощения зондирующего излучения, и используется при оценке самых разнообразных тканей, преимущественно слоистых (кожа, сетчатка глаза, стенка желудочно-кишечного тракта, стенка кровеносных сосудов) (*Gubarkova, 2023; Lee, 2023; Liu, 2023; Parsa, 2023; Potapov, 2023*). Особый интерес вызывает изучение коэффициента затухания мозговых тканей, так как ткань мозга, в отличие от вышеупомянутых, характеризуется отсутствием слоистой структуры и является оптически однородной. В ряде работ показано, что вычисление коэффициента затухания ОКТ сигнала позволяет отличать нормальные ткани мозга от опухолевых (*Kut, 2015; Yuan, 2017; Juarez-Chambi, 2019; Kiseleva, 2019*). Однако до сих пор не проводилось прицельное изучение изменения коэффициента затухания белого вещества в перитуморальной зоне, где белое вещество повреждено вследствие инфильтративного роста опухоли, и не определены количественные критерии разграничения этих областей от нормального белого вещества и опухоли.

Цель работы состояла в определении признаков поврежденного белого вещества в перитуморальной области глиом головного мозга на основе коэффициента затухания ОКТ сигнала, измеряемого по данным оптической когерентной томографии.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

1. Получить ОКТ изображения различных областей тканей головного мозга человека. На их основе подобрать оптимальные параметры для расчета и демонстрации коэффициента затухания ОКТ сигнала мозговой ткани.
2. Определить значения коэффициента затухания белого вещества в норме, используя модель неизменных миелиновых волокон различных областей аутопсийного головного мозга, и установить корреляцию полученных значений с морфологическим строением ткани.
3. Изучить изменения коэффициента затухания белого вещества, возникающие в результате развития глиальных опухолей, на животных экспериментальных моделях.
4. Изучить изменения коэффициента затухания белого вещества у пациентов с глиомами головного мозга и сформулировать ОКТ признаки неповрежденного и поврежденного белого вещества.
5. Определить диагностическую точность коэффициента затухания ОКТ сигнала для разграничения неповрежденного и поврежденного белого вещества, а также поврежденного белого вещества и опухоли головного мозга.

Научная новизна

Впервые подобраны параметры расчета и демонстрации коэффициента затухания ОКТ сигнала для мозговой ткани.

Впервые установлена корреляция между коэффициентом затухания ОКТ сигнала нормального белого вещества головного мозга и характером расположения миелиновых волокон

(тип укладки, толщина), определенных на основании численной обработки иммуногистохимических (ИГХ) изображений.

Впервые установлено, что инфильтративный рост глиальных опухолей снижает коэффициент затухания ОКТ сигнала белого вещества перитуморальной области головного мозга, в сравнении с нормой.

Впервые сформулированы признаки цветокодированных карт коэффициента затухания, соответствующие перитуморальному белому веществу с поврежденными миелиновыми волокнами при глиомах мозга.

Впервые определена диагностическая точность коэффициента затухания ОКТ сигнала для разграничения неповрежденного и поврежденного белого вещества; поврежденного белого вещества и опухоли, чем обоснована возможность интраоперационного использования данного метода для определения морфологического статуса ткани в перитуморальной области.

Научно-практическая значимость работы

Проведенное исследование демонстрирует высокую диагностическую значимость коэффициента затухания для обнаружения областей поврежденного белого вещества с целью нейронавигации в хирургии опухолей головного мозга. Дальнейшее развитие метода позволит осуществить внедрение ОКТ в клиническую практику врачей-нейрохирургов с последующим его применением в ходе резекций опухолей головного мозга, а также стереотаксических биопсий.

Основные результаты работы могут быть включены в соответствующие разделы лекций и спецкурсов по биофизике, биомедицине и биофотонике.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Установленные корреляционные зависимости между коэффициентом затухания ОКТ сигнала и количественными параметрами, вычисляемыми по ИГХ изображениям, свидетельствуют о возможности прижизненного применения ОКТ для определения структурных особенностей ткани белого вещества, в частности, характера расположения и повреждения миелиновых волокон.
2. Снижение значений коэффициента затухания ОКТ сигнала белого вещества при росте и развитии глиальных опухолей свидетельствует о формировании таких патоморфологических изменений в белом веществе, как разрушение миелиновых волокон, отек ткани, инфильтрация опухолевыми клетками.
3. Диагностическая точность оценки коэффициента затухания ОКТ сигнала для дифференцировки областей поврежденного белого вещества головного мозга от неповрежденного при использовании порогового значения коэффициента равного $9,2 \text{ мм}^{-1}$ составляет 77,4%; для дифференцировки поврежденного белого вещества от глиальной опухоли при использовании порогового значения коэффициента равного $6,6 \text{ мм}^{-1}$ составляет 71,3%.
4. Расчет коэффициента затухания ОКТ сигнала и построение на его основе цветокодированных карт позволяет надежно обнаружить области белого вещества, характеризующиеся разрушением миелиновых волокон, инфильтрацией опухолевыми клетками и отеком, и разграничивать данные участки от неповрежденного белого вещества и опухолевой массы. Метод ОКТ может быть предложен для интраоперационного использования в реальном времени с целью выявления поврежденного перитуморального белого вещества, необходимого для определения предельно допустимой зоны резекции глиом головного мозга.

Личный вклад автора

Личное участие автора заключалось в постановке и проведении экспериментальных исследований, в получении всех видов изображений, систематизации, анализе всех полученных данных и формулировании выводов по работе. Планирование исследований, обсуждение и обобщение полученных результатов осуществлялось совместно с д.м.н. профессором Н.Д. Гладковой. Физико-математическая разработка методов расчета коэффициентов затухания и количественной обработки иммуногистохимических изображений осуществлялась старшим научным сотрудником ИПФ РАН, к. ф.-м. н. Моисеевым А.А. Морфологическая оценка полученных гистологических изображений осуществлялась совместно с врачом-патоморфологом Бедериной Е.Л.

Достоверность полученных результатов

Результаты исследования были получены путем использования современных методов исследования и обработки информации и основаны на данных, объем которых обуславливает статистическую достоверность. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программных пакетов GraphPad Prism 8.0, SPSS Statistics 26.

Апробация работы, внедрение результатов работы в практику

Основные результаты диссертационного исследования были представлены и обсуждены на 7 международных, 9 всероссийских, 3 региональных конференциях, 3 научных конкурсах, 7 докладов отмечены дипломами за лучшее выступление.

Материалы работы доложены на V, VI, VII, VIII Всероссийских конференциях молодых ученых и студентов с международным участием “VolgaMedScience” (Нижний Новгород, 2019, 2020, 2021, 2022), где отмечены дипломами I и II степени; на 19 Международной конференции «Оптика лазеров» (онлайн, Санкт-Петербург) (2020); на VIII Международном симпозиуме по оптике и биофотонике “Saratov Fall Meeting” (Саратов, 2020); IX Областном конкурсе молодежных инновационных команд «РОСТ 2020» (Нижний Новгород, 2020), где отмечены дипломом II степени; на VII Троицкой конференции с международным участием «Медицинская физика» (онлайн, Москва, 2020); на 25, 26, 27 Нижегородских сессиях молодых ученых (Нижний Новгород, 2020, 2021, 2022), где дважды отмечены дипломами II степени; на международных форумах “SPIE Photonics West” (онлайн-форум, Сан-Франциско, США, 2021, 2022); на международном форуме “European Conferences on Biomedical Optics” (онлайн-форум, Мюнхен, Германия, 2021); на 74 и 75 Всероссийских с международным участием школах-конференциях молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2021, 2022), где отмечены дипломом III степени; в финале VII Всероссийского конкурса научно-исследовательских работ студентов и аспирантов в рамках форума "Наука будущего - наука молодых" (Новосибирск, 2022); на III объединенном научном форуме физиологов, биохимиков и Молекулярных биологов, VII съезде биохимиков России, X Российском симпозиуме «Белки и пептиды», VII съезде физиологов СНГ (Сочи, 2022); в финале Всероссийского молодежного научного конкурса #ВЦЕНТРЕНАУКИ (г. Сочи, федеральная территория Сириус, 2022), где отмечены дипломом победителя; на VII Съезде биофизиков России (г. Краснодар, 2023); на Международной конференции “Volga Neuroscience Meeting 2023” (г. Дзержинск, 2023); на 30й Международной конференции Advanced Laser Technologies (ALT’23) (г. Самара, 2023).

Результаты диссертационного исследования внедрены в научно-исследовательскую работу научной лаборатории оптической когерентной томографии НИИ Экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России.

Апробация диссертации была проведена 04.09.2023 на Ученом совете НИИ Экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России.

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 27 печатных работ, из них 5 научных статей в научных рецензируемых изданиях, входящих в перечень ВАК, индексируемых в Web of Science и Scopus, 3 главы в книгах и 19 публикаций в сборниках материалов научных конференций.

Конкурсная поддержка работы.

Проведенные исследования поддержаны Российским фондом фундаментальных исследований (проект №18-29-01049_мк, 2018-2020 гг.). Получен грант под руководством автора работы на проведение фундаментальных научных исследований (проект РФФИ № 23-25-00118, 2023-2024 гг.).

Структура и объем работы

Диссертация включает в себя введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты и их обсуждение, заключение, выводы и список литературы. Работа изложена на 136 страницах, содержит 8 таблиц и 41 рисунок. Список литературы состоит из 158 источников, из них 144 зарубежных.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования

В работе исследовано 16 *ex vivo* образцов мозговой ткани лабораторных животных и 259 *ex vivo* образцов ткани головного мозга пациентов (рис. 1).

Для решения 1-й задачи объектами исследования служили *ex vivo* образцы мозговой ткани *пациентов*: 1) образцы, включающие области неизмененного (нормального) серого и белого вещества, полученные в ходе *аутопсии пациентов* без патологии мозга (n=5); 2) *послеоперационные образцы пациентов* с глиомами мозга, содержащие границу между неповрежденным белым веществом и опухолевой тканью (n=10); 3) *послеоперационные образцы пациентов* с глиомами мозга, содержащие неповрежденное белое вещество, поврежденное белое вещество и опухоль (n=15).

Для решения 2-й задачи в качестве объекта исследования служили *ex vivo* образцы нормального белого вещества головного мозга, полученные в ходе *аутопсий* от 3-х пациентов без патологических изменений тканей головного мозга. Образцы размером 2-3 см³ взяты из следующих областей головного мозга: 1) корковая зона – зона U-образных волокон (n=6), 2) подкорковая зона – зона длинных ассоциативных волокон (n=9), 3) мозолистое тело (n=4), 4) внутренняя капсула (n=5), 5) ствол мозга (n=5). Данные области использованы в качестве модели неизмененных волокон белого вещества, которые практически невозможно получить у пациентов в ходе оперативного лечения опухолей (3, 4 и 5 области являются частью жизненно-важных зон, повреждение которых приведет к неврологическому дефициту). Кроме того, выбранные области характеризуются морфологической гетерогенностью (отличаются между собой по толщине, плотности и взаимному расположению миелиновых волокон); 1-4 зоны служат структурами, рядом с которыми у пациентов чаще всего развиваются глиальные опухоли; мозолистое тело выбрано еще по причине его расположения в зоне прививаемых моделей глиальных опухолей у крыс – на его примере в 3 части работы будет изучено влияние опухоли на миелиновые волокна.

Для решения 3-ей задачи объектами исследования служили *ex vivo* образцы мозговой ткани *крыс с привитыми моделями глиом* и без них (16 самок линии Wistar, возраст 12-16 недель), среди

которых: с глиобластомой 101/8 (n=5), с глиомой С6 (n=3), с астроцитомой 10-17-2 (n=5), контрольных (без опухоли) (n=3). Глиальные опухоли различались по степени злокачественности, темпам роста и степени инфильтрации в окружающие ткани. Наиболее высоко злокачественными опухолями являются модели 101/8 и С6, различающиеся по выраженности инфильтративного роста. При этом, глиобластома 101/8 характеризуется более выраженной инвазией в окружающие мозговые ткани в сравнении с глиомой С6, при которой практически не наблюдается инфильтрации окружающих тканей отдельными опухолевыми клетками, а заметен быстрый рост всей опухолевой массы. Астроцитома 10-17-2 характеризуется меньшей злокачественностью, что находит свое отражение в меньших темпах роста опухолевого узла и незначительной инфильтрации опухолевыми клетками окружающих тканей.

Для решения 4-ой и 5-ой задач исследовались 215 *послеоперационных образцов*, полученных от 57 пациентов с глиальными опухолями головного мозга разной степени злокачественности (Grade I-IV). Согласно патоморфологической оценке образцы были разделены на следующие группы: 1) неповрежденное белое вещество (гистологическое поле зрения заполнено сохранными плотно упакованными миелиновыми волокнами), n=41; 2) поврежденное белое вещество (наблюдается нарушение целостности миелиновых волокон, их фрагментация, инфильтрация опухолевыми клетками и отек ткани), n=76; 3) опухоль, n=98.

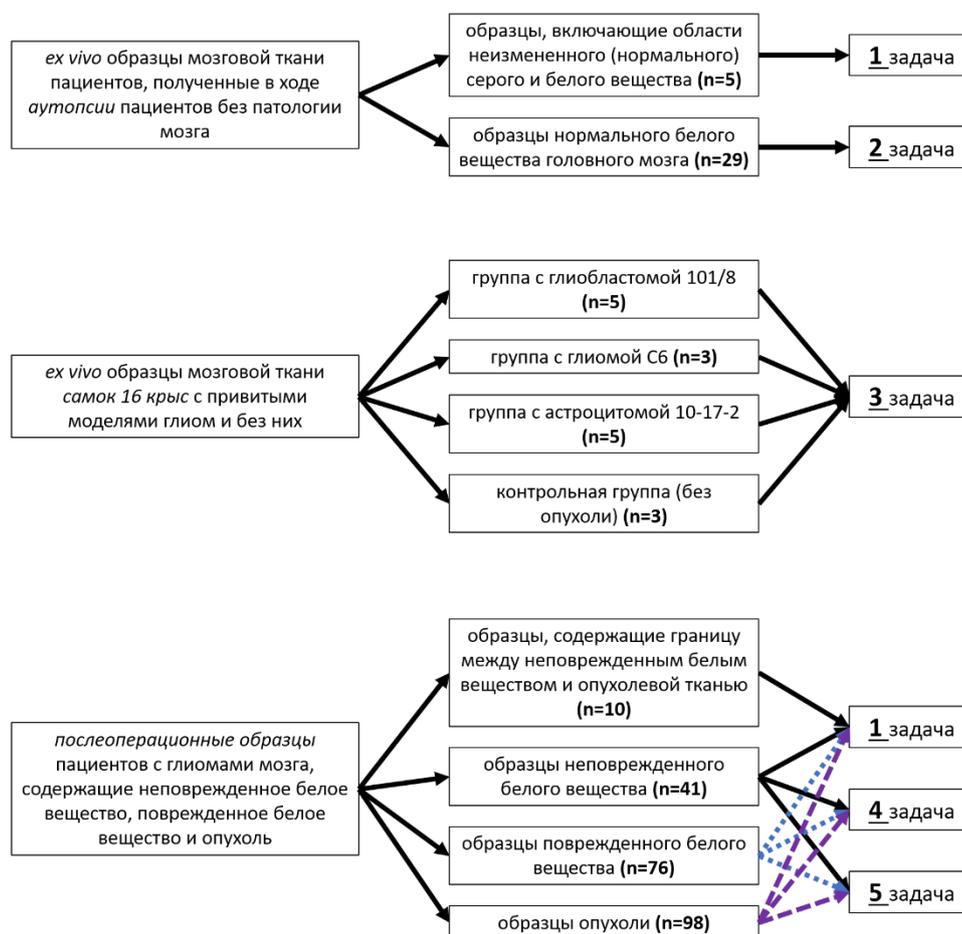


Рисунок 1. Схема, демонстрирующая соответствие используемых объектов исследования поставленным задачам.

Основные методы исследования

Метод ОКТ, примененный для оценки коэффициента затухания образцов нативного белого вещества и опухолевой ткани головного мозга, реализован в скоростном спектральном мультимодальном оптическом когерентном томографе (ИПФ РАН, г. Н. Новгород, Россия)

(Геликонов, 2012). Используемая ОКТ установка работает на длине волны 1300 нм и позволяет получать трехмерный массив данных объемом $2,4 \times 2,4 \times 1,25 \text{ мм}^3$ с аксиальным разрешением 10 мкм и поперечным разрешением 15 мкм. Данная модификация ОКТ прибора регистрирует как общее обратное рассеяние от компонентов ткани (режим ко-поляризации), так и изменения в состоянии поляризации зондирующего излучения на ортогональное (режим кросс-поляризации), что позволяет одновременно строить два вида изображений. Изображения представлены в псевдокоричневой палитре, где области с большей интенсивностью ОКТ сигнала кодируются светлыми оттенками, области с меньшей интенсивностью – темными оттенками.

Трехмерные ОКТ данные, полученные с образцов мозговой ткани пациентов и лабораторных животных подвергались цифровой обработке с вычислением коэффициента затухания μ в каждом А-скане в заданном диапазоне глубин (Achkasova, 2023). В результате объемные изображения переводились в цветокодированные карты коэффициента затухания вида сверху на ткань (*en face*), и оценивались визуально с использованием критериев преобладания определенного(-ых) цвета(-ов) и гетерогенности карт (Achkasova, 2023): оранжевый и красный цвета соответствовали высоким значениям μ ($\geq 9,5 \text{ мм}^{-1}$), синий цвет – низким значениям μ ($\leq 7 \text{ мм}^{-1}$), голубой и зеленый цвета отображали промежуточные значения μ (от 7 до $9,5 \text{ мм}^{-1}$). Исходные изображения в псевдокоричневой палитре в данном исследовании не давали нужного контраста между изучаемыми структурами (в случае образцов от экспериментальных животных, препятствием к визуализации был еще и мелкий масштаб изучаемых структур мозга), в то время как расчет коэффициента затухания и его перевод в цветовую шкалу позволил увеличить контраст и, таким образом, облегчить классификацию видов тканей и ее состояний. Кроме построения двухмерных карт, для каждого 2D ОКТ изображения были рассчитаны средние значения коэффициента затухания. Количественная обработка ОКТ данных проводилась в математической среде Anaconda (Python v. 3.7) с использованием оригинальной модификации метода определения коэффициента затухания с разрешением по глубине (Moiseev, 2023; Achkasova, 2023). Расчет средних значений коэффициента затухания для аутопсийных и послеоперационных образцов был проведен по всему объемному изображению, для образцов лабораторных животных на картах выделялась конкретная область интереса.

После ОКТ исследования образцы подвергались гистологическому и иммуногистохимическому (ИГХ) анализу. Для окрашивания гистологических срезов использовалась обзорная окраска гематоксилин-эозином, а также специфическая на миелин окраска люксолевым прочным синим с крезил виолетом. ИГХ исследование проводилось с помощью антител к основному белку миелина (MBP – англ. myelin basic protein). Полученные гистологические и ИГХ срезы были визуально проанализированы высококвалифицированным патоморфологом при помощи световой микроскопии. ИГХ изображения, полученные с аутопсийного материала, были дополнительно проанализированы с помощью оригинального алгоритма цифровой обработки ИГХ изображений (Moiseev, 2022) в математической среде Anaconda (Python v. 3.7) путем расчета трех параметров: а) параметра, характеризующего расположение миелиновых волокон (ориентацию волокон и площадь, занимаемую волокнами в поле зрения – структурный параметр волокон); б) параметра количества клеточных ядер в поле зрения; в) параметра плотности миелиновых волокон.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программных пакетов GraphPad Prism 8.0, SPSS Statistics 26. Нормальность распределения оценивалась при помощи тестов Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Достоверность различий между исследуемыми группами оценивали при помощи использования U-критерия Манна Уитни при нулевой гипотезе об отсутствии различий между группами. В случае множественных сравнений в значения уровня значимости была внесена поправка Бонферрони для нескольких испытаний. Во всех случаях различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$. Корреляционный анализ проводился с

использованием рангового коэффициента корреляции Спирмена. Для определения диагностической способности коэффициента затухания разграничивать типы тканей головного мозга пациентов был проведен ROC-анализ.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

I. Подбор оптимальных параметров для расчета и представления коэффициента затухания, вычисляемого по ОКТ данным мозговой ткани

Коэффициент затухания является общепринятым параметром, рассчитываемым по ОКТ данным. Алгоритмы расчета, как правило, адаптируются под параметры конкретного используемого прибора и задачи исследования. В связи с этим, на первом этапе работы был выбран оптимальный метод расчета коэффициента затухания (по ко-поляризационному каналу, $\mu(\text{ко})$), что включало подбор диапазона глубин для его вычисления, а также подбор цветовой шкалы для более контрастного представления структур на *en face* цветокодированных картах. Выбранный метод расчета коэффициента затухания, и цветовая шкала на *en face* цветокодированных картах были применены к сигналу в кросс-поляризационном канале. Затем проведено сравнение результатов вычисления $\mu(\text{ко})$ и $\mu(\text{кросс})$.

В настоящее время применяются два основных подхода к вычислению коэффициента затухания: 1) метод линейной аппроксимации логарифмированного сигнала, наиболее часто используемый для анализа ОКТ сигнала, в том числе от мозговой ткани, и работающий на основании предположения об оптической однородности исследуемого объекта (*Kut, 2015; Yuan, 2017*); 2) метод с разрешением по глубине, предложенный группой голландских ученых под руководством профессора *de Boer (Vermeer, 2014)*, который предполагает, что: а) доля обратного рассеяния одинакова на разных глубинах ОКТ изображения; б) зондирующее излучение полностью затухает в пределах глубин ОКТ изображения. Нашей исследовательской группой (*Институт прикладной физики РАН, Россия; Приволжский исследовательский медицинский университет*) был модифицирован оригинальный метод расчета μ с разрешением по глубине (*Vermeer, 2014*). Преимущества предложенной нами модификации состоят в строгом учете наличия шума, что препятствует возникновению ошибок в расчетных значениях коэффициента затухания, а также в получении более контрастных изображений (*Moiseev, 2023*).

Преимущества примененного нами подхода продемонстрированы на примере визуализации сложных структур мозга, содержащих серое и белое вещество (рис. 2). Использование метода расчета коэффициента затухания с разрешением по глубине помогает выявить мелкие детали (рис 2, в и соответствующие крупные планы в1-в4), которые не видны в случае использования подхода линейной аппроксимации логарифмированного сигнала (рис. 2, б и соответствующие крупные планы б1-б4). Контрастная визуализация является принципиально важным фактором для поиска границ между различными типами тканей мозга.

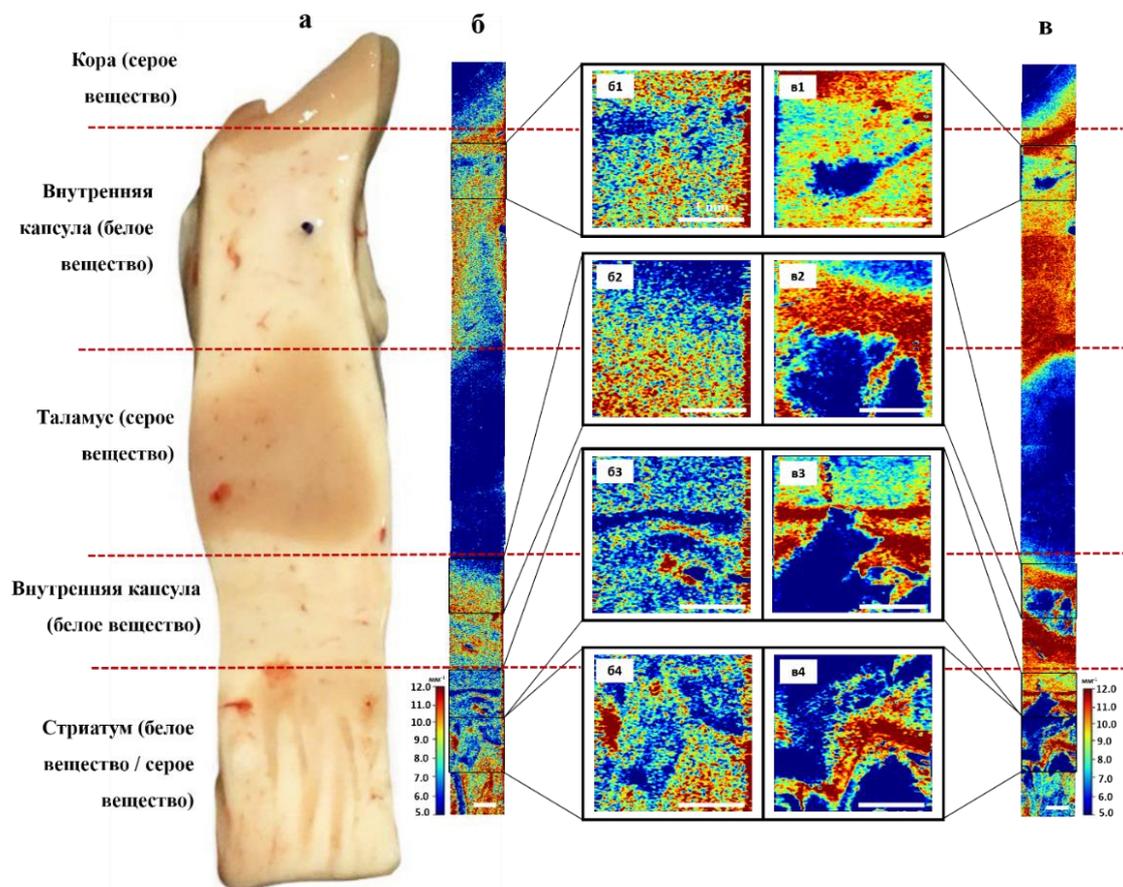


Рисунок 2. Цветокодированные карты коэффициента затухания, построенные для post-mortem образца человеческого мозга (а) с использованием методов линейной аппроксимации логарифмированного сигнала (б) и с разрешением по глубине (в). б1-б4, в1-в4 – части изображений на панелях б и в соответственно увеличены для удобства сравнения. Шкала бар – 1 мм.

Одновременно с апробацией предложенного подхода, был выбран оптимальный диапазон глубин для вычисления коэффициента затухания, а также проведен подбор цветовой шкалы для наиболее контрастной визуализации распределений значений μ . Было установлено, что вычисление $\mu(k_0)$ в диапазоне глубин 120-300 мкм позволяет получать качественные цветокодированные карты, на которых четко визуализируется большее количество мелких деталей объекта (рис. 3, а). Цветовая шкала, кодируемая численным диапазоном от 5 до 12 mm^{-1} , позволяет получать наиболее контрастные карты (рис. 3, б).

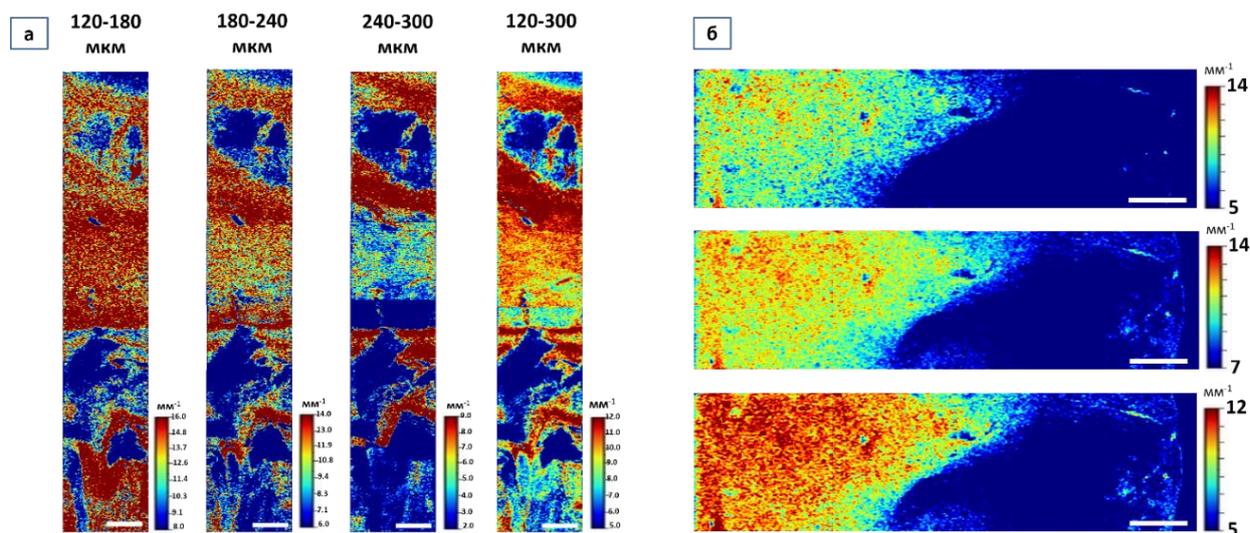


Рисунок 3. Подбор оптимального диапазона глубин вычисления μ и цветовой шкалы оптических карт.
 (а) Цветокодированные карты коэффициента затухания μ , вычисляемого в различных диапазонах глубин объекта, построенные для *post-mortem* образца, содержащего белое и серое вещество. (б) Цветокодированные карты, построенные для *послеоперационного* образца пациента, содержащего границу между неповрежденным белым веществом и опухолевой тканью, с различной цветовой шкалой
 Шкала бар – 1 мм.

Поскольку в работе использована кросс-поляризационная модификация ОКТ прибора, позволяющая получать данные в ко- и кросс-каналах, на примере послеоперационных образцов белого вещества и опухоли проведена проверка целесообразности использования двух коэффициентов для количественной оценки всего полученного материала. Пример построенных карт в ко- и кросс- каналах представлены на рис. 4. Было обнаружено, что использование $\mu(\text{кросс})$ не позволяет получить дополнительную информацию об исследуемом объекте по сравнению с $\mu(\text{ко})$, а также не увеличивает контраст между различными тканями на цветокодированных картах. Вследствие этого, было принято решение о расчете коэффициента затухания только для ко-поляризационного канала $\mu(\text{ко})$, который в дальнейшем для удобства будет именоваться как μ .

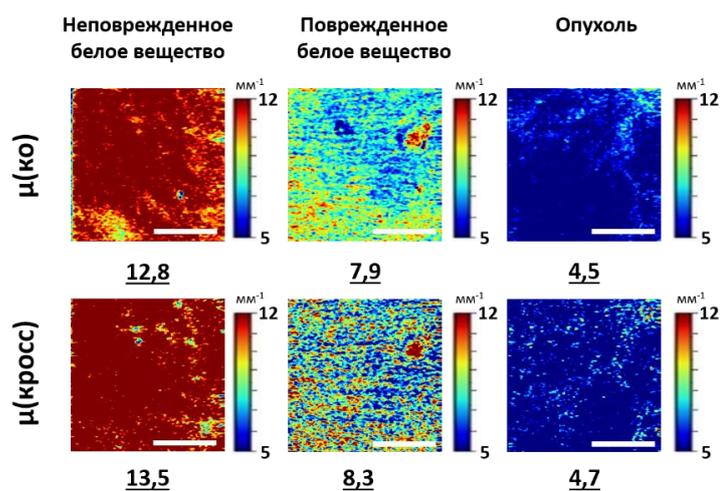


Рисунок 4. Цветокодированные карты коэффициентов затухания в ко- ($\mu(\text{ко})$) и кросс-поляризации ($\mu(\text{кросс})$), построенные для послеоперационных образцов неповрежденного белого вещества, поврежденного белого вещества и опухоли. Под каждой картой указано медианное значение коэффициента затухания по ОКТ изображению. Можно видеть, что карты $\mu(\text{кросс})$ не дают дополнительного контраста между различными тканями. Шкала бар – 1 мм.

Таким образом, на данном этапе работы были определены оптимальные параметры для расчета и демонстрации цветокодированных карт коэффициента затухания, которые были протестированы на всех исследуемых объектах.

II. Результаты вычисления коэффициента затухания ОКТ сигнала нормального белого вещества головного мозга и его взаимосвязь со морфологическим строением ткани, определенным путем цифровой обработки ИГХ изображений (материал аутопсий)

На втором этапе работы были рассчитаны значения коэффициента затухания для различных областей аутопсийного нормального белого вещества головного мозга, проведен корреляционный анализ полученных значений с количественными параметрами соответствующих ИГХ изображений. Результаты данного этапа подробно описаны в опубликованной статье (*Moiseev, 2022*) и в разделе 3.2. диссертации.

Показано, что из 5 исследованных областей корковая и подкорковая зоны характеризуются самыми высокими значениями коэффициента затухания $\mu = 10,6 [9,9; 11,9] \text{ мм}^{-1}$ и $9,5 [8,8; 10,4] \text{ мм}^{-1}$, соответственно. При этом, корковая зона статистически значимо отличалась от всех остальных областей ($p < 0.009$). Значения μ , полученные от области ствола мозга, были самыми низкими ($8,7 [8,5; 9,2] \text{ мм}^{-1}$), с областей внутренней капсулы и мозолистого тела – промежуточными ($8,9 [7,5; 9,4] \text{ мм}^{-1}$ и $9,1 [8,3; 9,2] \text{ мм}^{-1}$, соответственно).

Анализ морфологического строения зон мозга, изученных методом ОКТ, позволил объяснить различия в значениях коэффициента затухания. Для оценки структурных особенностей каждой зоны белого вещества были использованы 3 параметра, вычисляемые по ИГХ изображениям (структурный параметр волокон, параметр количества клеточных ядер и параметр плотности волокон). Было обнаружено, что корковая и подкорковая области характеризуются низкими значениями структурного параметра волокон – $90,8 [85,2; 94,7]$ и $88,7 [85,7; 92,3]$, соответственно, и они статистически значимо отличаются от других областей белого вещества ($p < 0.0001$). Данные значения отражают равномерное заполнение поля зрения тонкими миелиновыми волокнами, расположенными в виде сетки. При этом, корковая зона характеризовалась наибольшим количеством клеточных ядер в поле зрения — $183 [150; 225]$, статистически значимо отличаясь от всех остальных областей ($p < 0.0001$). В области ствола мозга значения структурного параметра волокон оказались наивысшими ($123,5 [118,4; 132,1]$), что отражало упорядоченное расположение крупных миелиновых волокон, разделенных промежутками. Параметр количества клеточных ядер в данной области был равен $86 [78; 100]$, что соотносилось с областями внутренней капсулы и подкорковой зоны ($81 [74; 95]$ и $91 [79; 106]$, соответственно). Внутренняя капсула и мозолистое тело характеризовались промежуточными значениями структурного параметра волокон ($110,0 [102,8; 111,5]$ и $120,7 [115,0; 125,3]$, соответственно), содержа как упорядоченные в пространстве, так и хаотично расположенные волокна. Расчет значений третьего показателя – плотности миелиновых волокон – не выявил статистически значимых отличий между исследуемыми областями: значения параметра лежали в относительно узком диапазоне ($0,45 - 0,5$ для наименьшего значения 25го и наивысшего значения 75го перцентиля, соответственно). Исходя из этого, можно заключить, что использование структурного параметра волокон является более предпочтительным для анализа расположения миелиновых волокон.

Корреляционный анализ выявил наибольшую корреляцию между коэффициентом затухания и структурным параметром волокон ($\rho = -0,49$) (табл. 1). Статистически значимая отрицательная корреляция между данными параметрами свидетельствует о том, что бóльшие значения коэффициента затухания характерны для областей, где волокна занимают бóльшую площадь изображения (корковая зона), в то время как зоны с параллельно расположенными волокнами,

разделенными промежутками, заполненными межклеточной жидкостью (ствол мозга), демонстрировали наименьшие значения μ .

Таблица 1. Корреляционный анализ количественных характеристик ИГХ изображений аутопсийных образцов белого вещества и коэффициента затухания (использован ранговый коэффициент корреляции Спирмена).

| | Структурный параметр волокон | Параметр количества клеточных ядер | Параметр плотности волокон |
|-----------------------|--|--|-------------------------------|
| Коэффициент затухания | -0,49; [-0,61; -0,37]; $7 \cdot 10^{-11}$ | 0,29; [0,14; 0,43]; $3 \cdot 10^{-4}$ | -0,09; [-0,25; 0,07]; 0,25 |

Примечание: частные корреляции для коэффициента затухания с количественными параметрами ИГХ, контролирующими два других параметра. 95% доверительный интервал и р-значение для частных корреляций представлены как r_{corr} ; [ci_{low} , ci_{high}]; р-значение.

Таким образом, в данном разделе работы впервые рассчитаны значения коэффициента затухания ОКТ сигнала для различных областей нормального белого вещества с разным расположением миелиновых волокон (их укладкой и толщиной). Кроме того, впервые продемонстрирована корреляция между коэффициентом затухания белого вещества и его структурой, определенной на основании цифровой обработки ИГХ изображений. Установлена наибольшая корреляция между характером расположения миелиновых волокон (структурным параметром волокон) и коэффициентом затухания. Количество клеточных элементов (глиальных клеток) в поле зрения также коррелирует со значениями коэффициента затухания, однако данная взаимосвязь является менее существенной. Полученные результаты свидетельствуют о том, что миелиновые волокна оказывают большее влияние на коэффициент затухания в сравнении с глиальными клетками.

III. Результаты оценки изменения коэффициента затухания ОКТ сигнала белого вещества головного мозга при развитии глиальных опухолей у экспериментальных животных

Данный этап работы был посвящен исследованию влияния различных моделей глиальных опухолей на коэффициент затухания белого вещества головного мозга экспериментальных животных (результаты подробно описаны в разделе 3.3 диссертации). На примере мозолистого тела было продемонстрировано, что исследуемые модели глиальных опухолей крыс (101/8, 10-17-2 и С6) в разной степени изменяют коэффициент затухания белого вещества, что связано с характерными особенностями каждой модели (степень злокачественности, характер и скорость роста и инвазии в перитуморальную зону белого вещества). При этом степень изменений коэффициента затухания взаимосвязана с выраженностью и типом наблюдаемых структурных изменений.

Исследование влияния глиобластомы 101/8 на ткань белого вещества продемонстрировало, что рост и развитие данной опухоли приводит к существенному снижению рассеивающих свойств белого вещества, что отражается в статистически значимом снижении значений коэффициента затухания в данной области ($\mu = 6,1$ [5,2; 6,8] мм^{-1}) по сравнению с контрольной группой крыс без опухоли ($\mu = 11,7$ [10,8; 13,5] мм^{-1} , $p < 0,001$). При этом, на цветокодированных картах области поврежденного белого вещества характеризуются преобладанием синего цвета, что не позволяет разграничить их от опухолевой ткани ($\mu = 3,7$ [3,5; 4,2] мм^{-1}) (рис. 5, 62). Данный факт объясняется

тем, что использованная цветовая шкала выбиралась для контрастного представления карт пациентов.

Морфологически глиобластома 101/8 является наиболее агрессивной опухолью – она характеризовалась выраженной инфильтрацией групп опухолевых клеток ткани белого вещества. Это привело к его значительному повреждению, а именно: деструкции и разрыву большей части миелиновых волокон (здесь – мозолистого тела) а также отеку умеренной или значительной степени выраженности (рис. 5, 61).

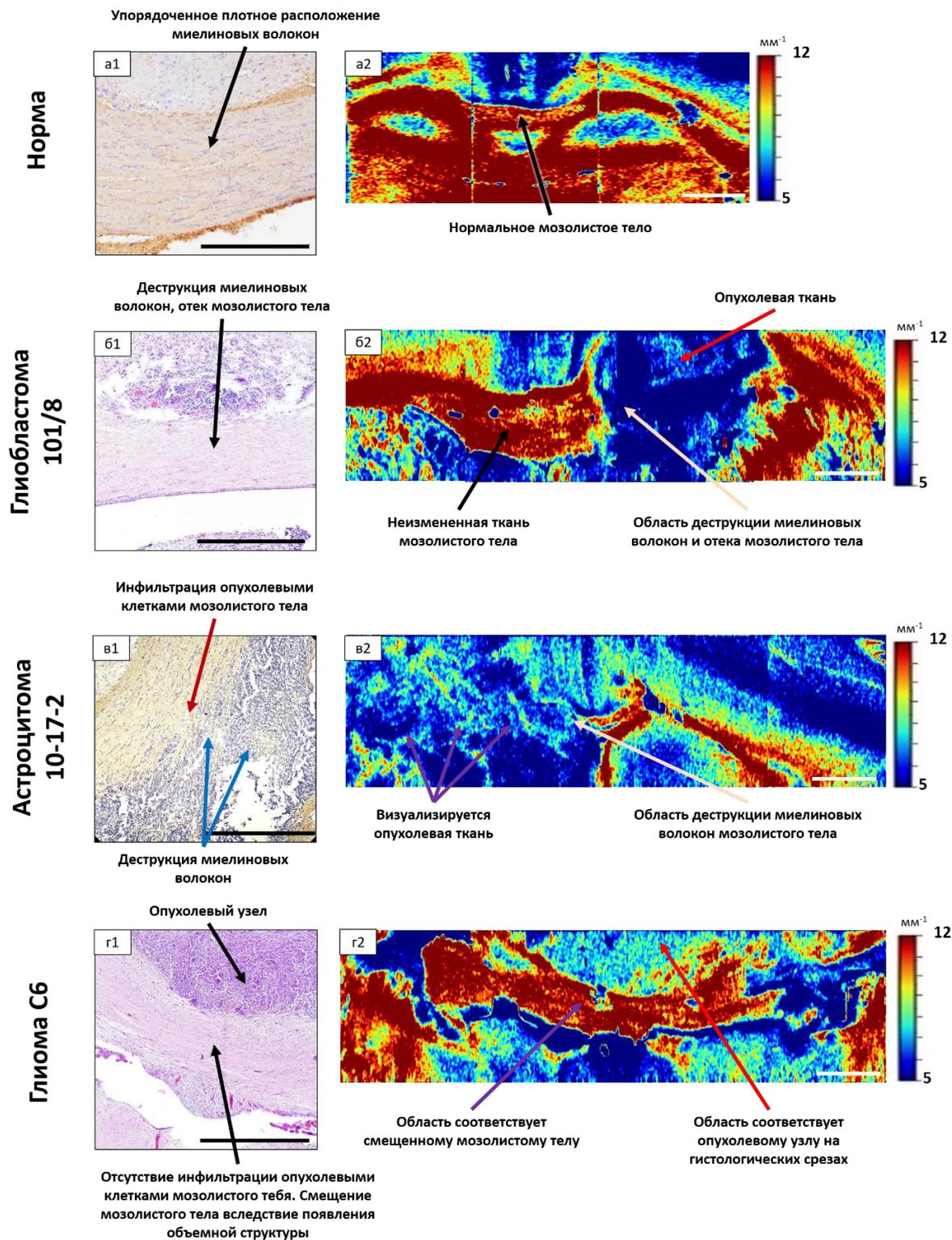


Рисунок 5. Влияние моделей глиальных опухолей на миелиновые волокна мозолистого тела в сравнении с нормой. Представлены гистологические изображения мозолистого тела и соответствующие цветокодированные оптические карты коэффициента затухания. Развитие глиобластомы 101/8, а также астроцитомы 10-17-2 приводит к существенному снижению значений коэффициента затухания в мозолистом теле в сравнении с нормой, что отражает возникновение следующих патоморфологических изменений: деструкция и разрыв миелиновых волокон, отек белого вещества, инфильтрация мозолистого тела опухолевыми клетками. Глиома С6, в отличие от других опухолей, не ведет к снижению значений μ , что связано с быстрым ростом опухолевой массы без инфильтрации белого вещества опухолевыми клетками и наличием компрессии мозолистого тела опухолью. Шкала бар – 1 мм на цветокодированной карте и 500 мкм на гистологическом изображении.

Развитие астроцитомы 10-17-2 также характеризовалось снижением рассеивающих свойств миелиновых волокон мозолистого тела, что отразилось в статистически значимом снижении значений коэффициента затухания ($\mu = 7,1 [6,0; 7,7] \text{ мм}^{-1}$, $p < 0,001$ в сравнении с контролем) до уровня, близкого к опухолевым значениям ($\mu = 5,8 [5,1; 6,9] \text{ мм}^{-1}$). Как и в случае с глиобластомой 101/8, данные области характеризуются преобладанием синего цвета на цветокодированных картах. Таким образом, становится невозможным визуально разграничить по цвету области разрушенного мозолистого тела и опухолевую ткань на цветокодированных картах при использованной цветовой шкале, которая выбиралась для контрастного представления карт пациентов (рис. 5, в2).

Гистологический анализ продемонстрировал, что развитие данного типа опухоли приводит к незначительной инфильтрации опухолевыми клетками ткани белого вещества по сравнению с моделью глиобластомы 101/8. В то же время, нами был зарегистрирован целый комплекс структурных повреждений, включающий как деструкцию и компрессию миелиновых волокон, так и отек ткани, что обеспечило существенное снижение значений коэффициента затухания (рис. 5, в1).

Развитие глиомы С6, в отличие от остальных исследуемых опухолевых моделей, не продемонстрировало значительного влияния на рассеивающие свойства мозолистого тела. В частности, нами не было зарегистрировано снижение значений коэффициента затухания от области мозолистого тела в данной группе экспериментальных животных ($\mu = 11,8 [11,0; 13,7] \text{ мм}^{-1}$), по сравнению с контрольной группой нормальных областей ($\mu = 11,7 [10,8; 13,5] \text{ мм}^{-1}$) (рис. 5, г2). Данный факт объясняется отсутствием или незначительной инвазией отдельных опухолевых клеток в белое вещество. Опухоль растет быстро, образуя опухолевую массу, которая смещает структуры и приводит к компрессии миелиновых волокон (рис. 5, г1).

Таким образом, установлено, что изученные опухолевые модели в разной степени меняют коэффициент затухания белого вещества мозолистого тела (рис. 6). Опухолевые модели 101/8 и 10-17-2 при росте опухоли повреждают структуру белого вещества за счет инвазии опухолевых клеток, разрушения миелиновых волокон и отека ткани, что отражается в резком снижении коэффициента затухания, по сравнению с контрольной группой. Быстрорастущий опухолевый узел глиомы С6 смещает структуры и приводит к компрессии миелиновых волокон мозолистого тела без их разрушения и инфильтрации отдельными опухолевыми клетками, что сохраняет значение коэффициента затухания белого вещества мозолистого тела неизменным.

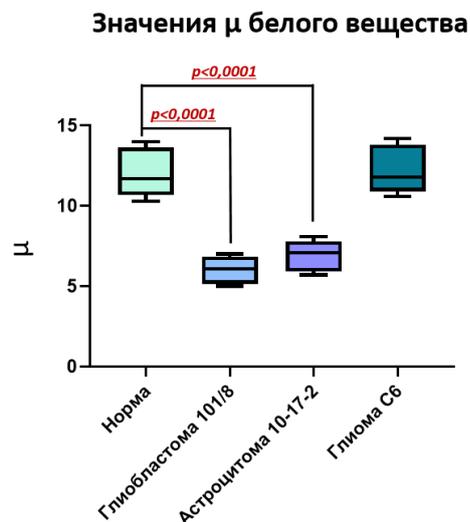


Рисунок 6. Распределение значений коэффициента затухания белого вещества в исследуемых группах экспериментальных животных.

IV. Результаты *ex vivo* оценки коэффициента затухания ОКТ сигнала белого вещества перитуморальной зоны глиальных опухолей пациентов

Финальный этап работы был направлен на построение и анализ цветокодированных карт белого вещества пациентов с глиомами головного мозга с последующим определением диагностической точности применения коэффициента затухания ОКТ сигнала для разграничения поврежденного белого вещества от неповрежденного и от опухолевой ткани. Результаты работы детально представлены в опубликованной работе (Achkasova, 2023).

Следует отметить, что мировые исследования ткани головного мозга при помощи ОКТ направлены, преимущественно, на разграничение нормальных и опухолевых тканей между собой (Böhringer, 2009; Kut, 2015; Yuan, 2017; Juarez-Chambi, 2019; Almasian, 2019). Однако, ранее ни в одной работе поврежденное белое вещество в перитуморальной зоне не служило фокусом исследования, что подчеркивает новизну проделанной нами работы.

Результаты расчета медианных значений коэффициента затухания в изучаемых группах представлены на рис. 7. Видно, что неповрежденное белое вещество характеризуется наивысшими значениями коэффициента затухания (10,3 [9,6; 10,9] мм⁻¹). В перитуморальной зоне значения коэффициента затухания от поврежденного белого вещества статистически значимо снижены ($p < 0,0001$) и составляют 9,2 [6,4; 10,7] мм⁻¹. Большой разброс значений коэффициента затухания в данной группе связан с различным количеством поврежденных миелиновых волокон в зоне исследования. Высокая вариабельность значений также связана с различной степенью инфильтрации ткани опухолевыми клетками: в 70% исследуемых образцов наблюдалась выраженная инфильтрация (диффузное распространение опухолевых клеток, визуализируются их скопления), в 30 % образцов — незначительная (визуализируются единичные опухолевые клетки). Разброс значений коэффициента затухания также определяется выраженностью отека ткани: умеренный отек обнаружен в 25 % образцов; выраженный — в 4% образцов, в остальных случаях (71%) отек был незначительным. Выраженность отека определялась на основании увеличения промежутков между миелиновыми волокнами, заполненных межклеточной жидкостью. Медианные значения коэффициента затухания для группы с опухолью составили 5,8 [4,6; 6,8] мм⁻¹. Следует отметить, что статистически значимые различия показаны для всех исследуемых типов тканей ($p < 0.0001$) (рис. 7).

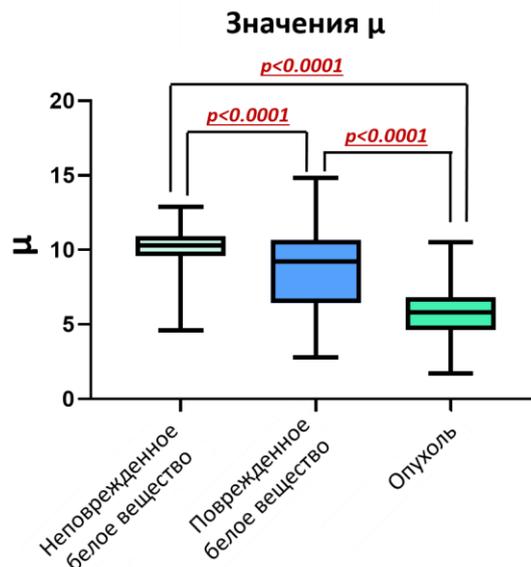


Рисунок 7. Распределение значений коэффициента затухания для исследуемых типов ткани пациентов с глиомами мозга.

Корреляционный анализ выявил статистически значимую отрицательную корреляцию между значениями коэффициента затухания и типами ткани пациентов с глиомами мозга: $\rho = (-0,72)$, $p < 0,0001$. При корреляционном анализе неповрежденное белое вещество было принято за «1», поврежденное белое вещество за «2», опухолевая ткань кодировалась «3». В результате, более низкие значения коэффициента затухания соответствуют более существенному патологическому состоянию ткани.

При визуальном анализе цветокодированных карт было обнаружено, что белое вещество, характеризующееся разрушением миелиновых волокон, демонстрирует преобладание промежуточных оттенков (зелено-желтых, голубых) на оптических картах (рис. 8). Кроме того, данные карты являются более гетерогенными: характеризуются наличием как областей с высокими значениями коэффициента затухания (области с сохраненными миелиновыми волокнами), так и областей с низкими значениями оптического коэффициента (тотальная деструкция волокон).

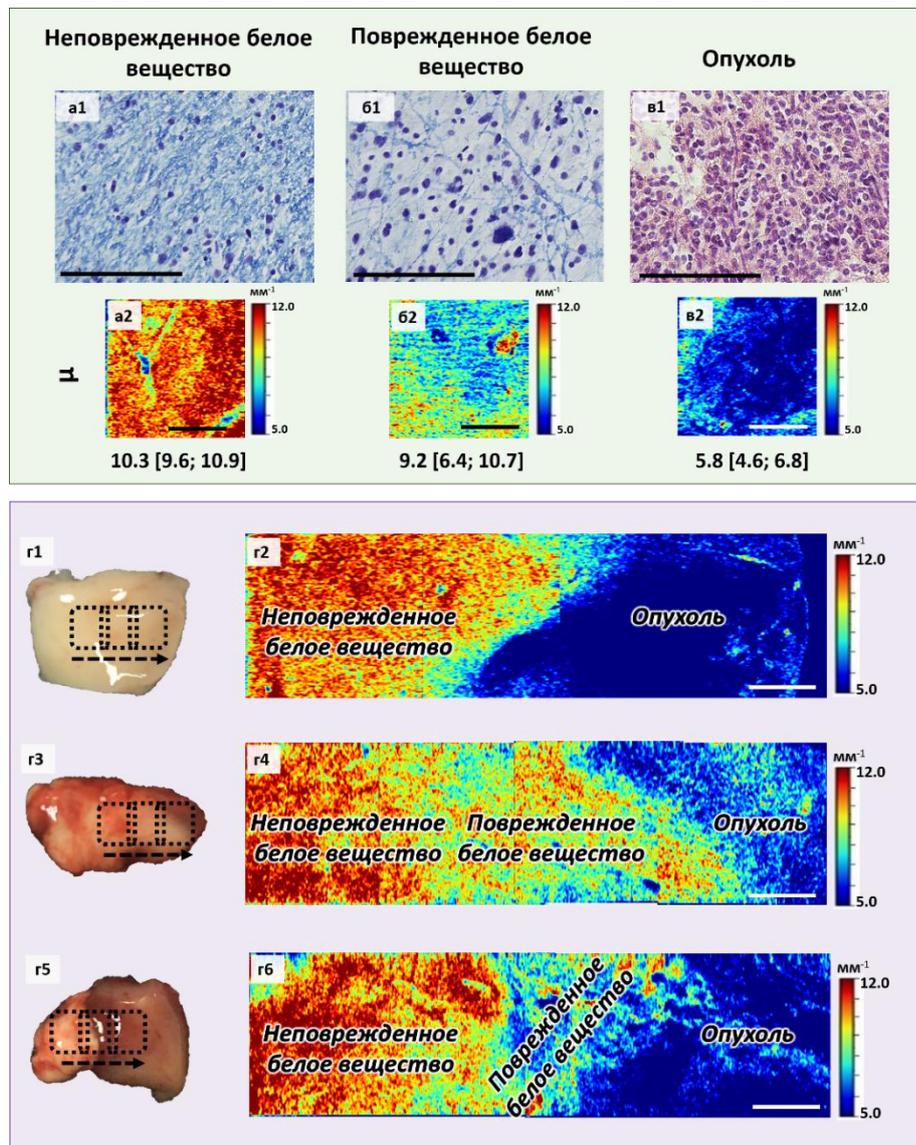
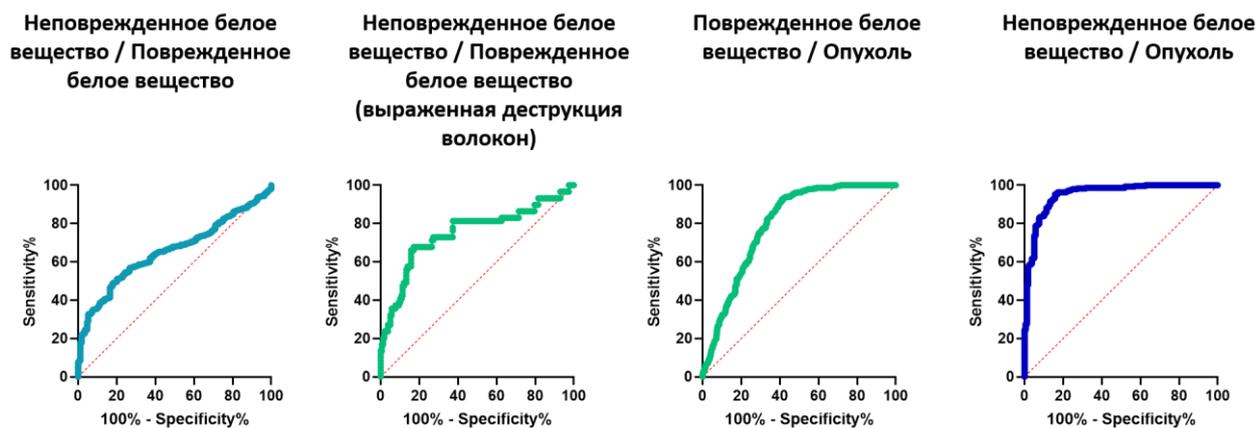


Рисунок 8. Примеры *en face* цветокодированных карт, построенных на основании численных распределений коэффициента μ (a2, b2, v2) для трех исследуемых типов ткани и соответствующие гистологические изображения (a1, b1, v1). g2, g4, g6 – цветокодированные карты коэффициента μ демонстрируют различные варианты границ опухоли, где области неповрежденного и поврежденного белого вещества могут быть визуализированы. Можно отметить, что граница между неповрежденным белым веществом и опухолью может варьироваться от тонкой полосы поврежденного белого вещества (g2), до широкой зоны с меньшим (g4) или большим (g6) количеством разрушенных миелиновых волокон. Области исследования отмечены на постоперационных образцах (g1, g3, g5) черными прямоугольниками. Шкала бар = 200 мкм на гистологических изображениях и 1 мм на цветокодированных картах.

Важно подчеркнуть, что области поврежденного белого вещества включают в себя несколько видов структурных изменений, возникающих вследствие влияния опухоли на ткань проводящих путей (Yen, 2009). С одной стороны, наблюдается деструкция миелиновых волокон, точный механизм возникновения которой до сих пор не установлен (Brooks, 2021). Нами было обнаружено, что диапазон изменения миелиновых волокон в данных областях может варьироваться от незначительного повреждения до тотальной деструкции. При этом, впервые было отмечено, что различия в количестве поврежденных миелиновых волокон находят свое отражение в большем разбросе значений коэффициента затухания по сравнению с неповрежденным белым веществом (межквартильный интервал составил 4,3 мм⁻¹ и 1,3 мм⁻¹ для поврежденного и неповрежденного белого вещества, соответственно) (рис. 5).

Цветокодированные карты коэффициента затухания поврежденного белого вещества также являются гетерогенными и могут включать как области с более высокими значениями коэффициента затухания (соответствующие зонам с большим количеством сохранных миелиновых волокон), так и области с низкими значениями коэффициента затухания в случае зон с тотальной деструкцией волокон. С другой стороны, помимо нарушения целостности миелиновых волокон поврежденные области характеризуются инфильтрацией опухолевыми клетками, а также возникновением вазогенного отека (Cuddapah, 2014), которые также влияют на рассеивающие свойства ткани, регистрируемые методом ОКТ. Таким образом, у каждого конкретного пациента наблюдается индивидуальная комбинация повреждений, включающая в себя различную степень выраженности отека, различное количество поврежденных волокон, а также различную степень инфильтрации опухолевыми клетками.

Финальным этапом исследования явился ROC-анализ применения коэффициента затухания для разграничения поврежденного белого вещества / неповрежденного белого вещества, поврежденного белого вещества / опухоли, а также неповрежденного белого вещества / опухоли (рис. 9). Были предложены пороговые значения коэффициента затухания для каждого случая дифференцировки тканей. В частности, для дифференцировки поврежденного белого вещества, характеризующегося выраженной деструкцией волокон, от областей неповрежденного белого вещества оптимальным стал порог отсечки μ равный 9,2 мм⁻¹. При этом, значения чувствительности, специфичности и диагностической точности составили 67,8%, 80,8% и 77,4%, соответственно (рис. 9).



| | Неповрежденное белое вещество / Поврежденное белое вещество | Неповрежденное белое вещество / Поврежденное белое вещество (выраженная деструкция волокон) | Поврежденное белое вещество / Опухоль | Неповрежденное белое вещество / Опухоль |
|--|---|---|---------------------------------------|---|
| Площадь под кривой | 0,656 | 0,752 | 0,796 | 0,952 |
| Предлагаемое пороговое значение μ , мм ⁻¹ | 10,0 | 9,2 | 6,6 | 7,7 |
| Чувствительность, % | 60,2 | 67,8 | 70,0 | 83,8 |
| Специфичность, % | 62,7 | 80,8 | 72,5 | 91,7 |
| Диагностическая точность, % | 60,7 | 77,4 | 71,3 | 86,7 |

Рисунок 9. ROC-анализ применения коэффициента затухания для разграничения типов ткани мозга.

Таким образом, использование коэффициента затухания ОКТ сигнала с целью обнаружения областей поврежденного белого вещества в перитуморальной зоне глиом головного мозга, является возможным. Необходимо отметить, что поиск областей с незначительным количеством поврежденных миелиновых волокон в поле зрения снижает диагностическую точность метода в сравнении с разграничением неповрежденного белого вещества от зон с выраженной деструкцией волокон. Однако в настоящее время ОКТ является единственным доступным методом для прицельной интраоперационной оценки белого вещества.

Сформулированные ОКТ признаки для неповрежденного и поврежденного белого вещества могут быть применимы для интраоперационного обнаружения поврежденных областей в ходе резекции новообразований головного мозга или процедуры стереотаксической биопсии. Кроме того, перспективным выглядит визуальный анализ цветокодированных карт коэффициента затухания, более наглядно отображающих разницу между неповрежденным и поврежденным белым веществом. В настоящее время существует ряд интраоперационных ОКТ систем, которые рассмотрены в обзоре (Yashin *et al*, 2022), что свидетельствует о возможности интраоперационного применения данного метода с целью получения детальной информации о ткани головного мозга в конкретной области интереса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе применен расчет коэффициента затухания белого вещества головного мозга в норме, а также под влиянием опухолевого роста. Впервые установлены ОКТ признаки поврежденного белого вещества и определена диагностическая точность коэффициента затухания ОКТ сигнала для дифференцировки поврежденного белого вещества от неповрежденного и глиальной опухоли.

Впервые установлена корреляция между коэффициентом затухания нормального белого вещества и его структурными компонентами на основании численной обработки ИГХ и ОКТ изображений. Применение разработанного авторами параметра, описывающего степень наличия миелиновых волокон в зоне интереса, позволило установить достоверную взаимосвязь между характером расположения миелиновых волокон и коэффициентом затухания ОКТ сигнала: коэффициент корреляции для структурного параметра волокон и μ составил (-0,49); [-0,61; -0,37]. Таким образом, области, где миелиновые волокна занимают большую площадь поля зрения, характеризуются большим значением коэффициента затухания. Количество клеточных элементов (глиальных клеток) также оказывает влияние на рассеивающие свойства белого вещества, однако, оно является более низким (коэффициент корреляции для количества клеточных ядер и μ составил 0,29; [0,14, 0,43]). Выявленные корреляционные зависимости демонстрируют возможность использования ОКТ для определения структурных особенностей ткани белого вещества, в частности, характера расположения миелиновых волокон.

Впервые описаны изменения коэффициента затухания белого вещества, возникающие вследствие роста и развития глиом головного мозга на примере животных моделей. Рост глиальных опухолей оказывает комплексное воздействие на ткань белого вещества, вызывая отек, инфильтрацию ткани опухолевыми клетками, компрессию и деструкцию миелиновых волокон. Возникающие структурные повреждения влекут за собой в большинстве случаев снижение рассеивающих свойств белого вещества, что регистрируется при анализе медианных значений μ и визуальном анализе цветокодированных карт.

В данной работе впервые подобраны оптимальные параметры цветокодированных карт перитуморального белого вещества с поврежденными миелиновыми волокнами, а также определена диагностическая точность коэффициента затухания ОКТ сигнала для обнаружения областей поврежденного белого вещества и его разграничения от неповрежденного белого вещества и опухоли у пациентов с глиомами мозга. Снижение рассеивающих свойств в областях поврежденного белого вещества находит свое отражение в статистически значимом снижении значений коэффициента затухания по сравнению с нормой ($p < 0.0001$), при этом они остаются статистически выше, чем у опухолевой ткани ($p < 0.0001$). Таким образом, использование медианных значений коэффициента затухания позволяет разграничивать три типа ткани: неповрежденное белое вещество, поврежденное белое вещество и опухоль между собой с высокой точностью. Построение цветокодированных карт, демонстрирующих распределение

значений коэффициента μ по всему ОКТ изображению, позволяет представить полученные ОКТ данные в наглядном и распознаваемом виде. При этом, сниженные рассеивающие свойства в области поврежденного белого вещества приводят к преобладанию на цветокодированных картах промежуточных цветов (желто-зеленых, голубых), что позволяет разграничивать их от неповрежденного белого вещества (красно-оранжевый цвет) и опухоли (синий).

Нами впервые была определена диагностическая точность применения коэффициента затухания для разграничения областей поврежденного белого вещества от неповрежденного белого вещества и опухоли. Для каждого случая были предложены пороговые значения μ и определены стандартные статистические параметры диагностического теста (чувствительность, специфичность, диагностическая точность). В частности, для дифференцировки поврежденного белого вещества, характеризующегося выраженной деструкцией волокон, от областей неповрежденного белого вещества мы предлагаем порог отсечки равный $9,2 \text{ мм}^{-1}$. При этом, значения чувствительности, специфичности и диагностической точности составили 67,8%, 80,8% и 77,4%, соответственно.

В заключение стоит отметить, что результаты данной работы свидетельствуют о высокой ценности коэффициента затухания ОКТ сигнала белого вещества головного мозга для оценки его морфологических характеристик, а также демонстрируют возможность применения ОКТ с целью обнаружения поврежденного белого вещества в перитуморальной зоне опухоли. Проведение дальнейших клинических исследований и усовершенствование технологии позволит внедрить данный метод в клиническую практику врачей-нейрохирургов с целью нейронавигации при резекциях глиальных опухолей головного мозга в реальном времени.

ВЫВОДЫ

1. Определены оптимальные параметры для расчета коэффициента затухания структур мозга и его демонстрации в виде цветокодированных карт: применен модифицированный алгоритм вычисления коэффициента затухания μ с разрешением по глубине; оптимальная глубина оценки μ находится в диапазоне 120-300 мкм глубин ОКТ изображения; цветовая шкала цветокодированных карт, дающая оптимальный контраст мозговых структур кодируется численным диапазоном μ от 5 до 12 мм^{-1} .
2. Установлена корреляция между коэффициентом затухания неизменного белого вещества и его структурными компонентами на основании численной обработки ИГХ и ОКТ изображений. Показано, что миелиновые волокна оказывают большее влияние на коэффициент затухания ОКТ сигнала в сравнении с клетками.
3. Развитие экспериментальных моделей глиальных опухолей демонстрирует статистически значимое снижение μ белого вещества в сравнении с контрольной группой здорового мозга животных, обусловленное возникновением отека, инфильтрацией опухолевыми клетками и разрушением миелиновых волокон. Развитие изолированной компрессии миелиновых волокон не приводит к снижению коэффициента затухания белого вещества.
4. Области поврежденного белого вещества у пациентов с глиомами головного мозга характеризуются сниженными значениями коэффициента затухания и преобладанием промежуточных цветов на цветокодированных картах в сравнении с неповрежденным белым веществом.
5. Диагностическая точность дифференцировки областей поврежденного белого вещества от неповрежденного при использовании порогового значения коэффициента затухания $\mu = 9,2$

мм⁻¹ составляет 77,4%. Дифференцировка поврежденного белого вещества от опухоли возможна при использовании порогового значения $\mu = 6,6 \text{ мм}^{-1}$, при этом диагностическая точность μ составляет 71,3%. Метод ОКТ может быть использован интраоперационно в реальном времени для выявления морфологического статуса ткани, необходимого для определения предельно допустимой зоны резекции глиом головного мозга.

6. Суммарная диагностическая ценность метода ОКТ для обнаружения повреждений белого вещества перитуморальной области головного мозга определяется использованием медианных значений коэффициента затухания и визуальным анализом цветокодированных карт μ .

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах из списка, рекомендованных ВАК:

1. **Achkasova, K.A.** Nondestructive label-free detection of peritumoral white matter damage using cross-polarization optical coherence tomography / K.A. Achkasova, K.S. Yashin, A.A. Moiseev, E.B. Kiseleva, E.L. Bederina, M.M. Loginova, I.A. Medyanik, G.V. Gelikonov, E.V. Zagaynova and N.D. Gladkova // *Frontiers in Oncology*. — 2023. — V. 13. — P. 1133074 [*WoS, Scopus, Q-2, IF=5.74*]
2. Moiseev, A.A. Brain white matter morphological structure correlation with its optical properties estimated from optical coherence tomography (OCT) data / A.A. Moiseev, **K.A. Achkasova**, E.B. Kiseleva, K.S. Yashin, A.L. Potapov, E.L. Bederina, S.S. Kuznetsov, E.P. Sherstnev, D.V. Shabanov, G.V. Gelikonov, Y.V. Ostrovskaya and N.D. Gladkova // *Biomedical Optics Express*. — 2022. — V. 13, I. 4 — p. 2393-2413 [*WoS, Scopus, Q-1, IF=3,73*]
3. Yashin, K.S. OCT-Guided Surgery for Gliomas: Current Concept and Future Perspectives / K.S. Yashin, M.M. Bonsanto, **K.A. Achkasova**, A.S. Zolotova, A.M. Wael, E.B. Kiseleva, A.A. Moiseev, I.A. Medyanik, L.Ya. Kravets, R. Huber, R. Brinkmann and N.D. Gladkova // *Diagnostics*. — 2022. — V. 12, N. 2 — p. 335 [*WoS, Scopus, Q-2, IF=3.70*]
4. Moiseev, A.A. Depth-resolved method for attenuation coefficient calculation from Optical Coherence Tomography data for improved biological structure visualization/ A.A. Moiseev, E.P. Sherstnev, E.B. Kiseleva, **K.A. Achkasova**, A.L. Potapov, K.S. Yashin, M.A. Sirotkina, G.V. Gelikonov, V. Matkivsky, P.A. Shilyagin, S.Yu. Ksenofontov, E.P. Sherstnev, E.L. Bederina, I.A. Medyanik, E.V. Zagaynova and N.D. Gladkova // *Journal of Biophotonics*. — 2023. — e202100392 [*WoS, Scopus, Q-1, IF=3.21*]
5. Yashin, K.S. Cross-polarization optical coherence tomography probes for intraoperative application in neurosurgery / K.S. Yashin, P.A. Shilyagin, E.B. Kiseleva, G.G. Gelikonov, V.N. Romashov, A.A. Moiseev, I.A. Medyanik, S.Y. Ksenofontov, **K.A. Achkasova**, L.Y. Kravets, and N.D. Gladkova // *Opera Medica et Physiologica*. — 2022. — V. 9 N. 4 — p. 171-183 [*Scopus, Q-4*]

Главы в книгах:

6. Яшин, К.С. Хирургия глиальных опухолей головного мозга: поиск чистого края резекции и определение состояния белого вещества в перифокальной зоне / К.С. Яшин, Е.Б. Киселева, А.А. Моисеев, **К.А. Ачкасова**, Е.Л. Бедерина, С.С. Кузнецов, И.А. Медяник, Л.Я. Кравец, Г.В. Геликонов, П.А. Шилиягин, Н.Н. Карякин, А.А. Потапов и Н.Д. Гладкова / В книге: Мультимодальная оптическая когерентная томография в клинической медицине // Физматлит — 2022. — ISBN 978-5-9221-1926-9 — с. 336
7. Моисеев, А.А. Визуальный и количественный анализ изображений оптической когерентной томографии / А.А. Моисеев, Г.В. Геликонов, С.Ю. Ксенофонтов, Л.А. Матвеев, Е.Б. Киселева, Е.В. Губарькова, М.А. Сироткина, К.А. Ачкасова, Н.Д. Гладкова / В книге: Мультимодальная оптическая когерентная томография в клинической медицине // Физматлит — 2022. — ISBN 978-5-9221-1926-9 — с. 336

8. Gladkova, N.D. Optical coherence tomography in brain gliomas detection and peritumoral white matter state evaluation / N.D. Gladkova, **K.A. Achkasova**, K.S. Yashin, E.B. Kiseleva, A.A. Moiseev, E.L. Bederina, S.S. Kuznetsov, I.A. Medyanik, L.Ya. Kravets, G.V. Gelikonov and P.A. Shilyagin / Book: *Advances in Brain Imaging Techniques* // Springer Nature Publishing – 2022. — ISBN 978-981-19-1351-8 — p. 257

Публикации научных докладов:

9. Yashin, K.S. Quantification of peritumoral white matter damage using cross-polarization OCT / K.S. Yashin, **K.A. Achkasova**, A.A. Moiseev, E.B. Kiseleva, E.L. Bederina, A.A. Epishkina, A.Yu. Ermolaev, I.A. Medyanik, E.V. Zagaynova, N.D. Gladkova // *Proceedings of SPIE*. – 2021. – N. 11629, 116290V [WoS, Scopus]
10. **Achkasova, K.A.** Optical properties of brain structures that could be met by neurosurgeon / K.A. Achkasova, K.S. Yashin, A.A. Moiseev, E.B. Kiseleva, M.M. Karabut, E.V. Zagaynova, N.D. Gladkova // *IEEE Proceedings of 2020 International Conference Laser Optics (ICLO)*. – 2020. – p. 1-1 [WoS, Scopus]
11. **Achkasova, K.A.** Comparison of two approaches for OCT data analysis in white matter imaging / K.A. Achkasova, K.S. Yashin, E.B. Kiseleva, A.A. Moiseev, E.L. Bederina, N.D. Gladkova // *Proceedings of SPIE*. – 2021. – N. 11924, 1192418 [Scopus]
12. **Achkasova, K.A.** Determining the effect of radiotherapy on the optical properties of white matter of the brain using cross-polarization OCT / K.A. Achkasova, K.S. Yashin, A.A. Moiseev, E.B. Kiseleva, E.L. Bederina, I.A. Medyanik, N.D. Gladkova // *Proceedings of SPIE*. – 2022. – N. 11945, 1194507 [Scopus]
13. Kiseleva, E.B. Accurate detection of white matter tracts: mapping of human brain eloquent areas with cross-polarization optical coherence tomography / E.B. Kiseleva, K.S. Yashin, A.A. Moiseev, D.A. Davydova, **K.A. Achkasova**, A.A. Epishkina, E.V. Pyanova, I.A. Medyanik, E.V. Zagaynova, N.D. Gladkova // *Proceedings of SPIE*. – 2020. - № 11360, 113600C [WoS, Scopus]
14. **Ачкасова, К.А.** Кросс-поляризационная оптическая когерентная томография и МРТ при глиомах головного мозга человека: сравнительное исследование / К.А. Ачкасова, К.С. Яшин, Е.А. Ключев, Е.Б. Киселева // *Сборник тезисов V Всероссийской конференции молодых ученых и студентов с международным участием*, г. Нижний Новгород. – 2019. – с. 376-377.
15. **Ачкасова, К.А.** Кросс-поляризационная оптическая когерентная томография как метод определения состояния белого вещества при глиомах головного мозга / К.А. Ачкасова, Е.Б. Киселева, К.С. Яшин // *Сборник тезисов VI Всероссийской конференции молодых ученых и студентов с международным участием*, г. Нижний Новгород. – 2020. – с. 26-28.
16. **Ачкасова, К.А.** Количественная оценка повреждений перитуморального белого вещества с помощью кросс-поляризационной оптической когерентной томографии / К.А. Ачкасова, К.С. Яшин, Е.Б. Киселева, А.А. Моисеев, Е.Л. Бедерина, Н.Д. Гладкова // *Сборник материалов XXV Нижегородской сессии молодых ученых (технические, естественные, гуманитарные науки)*, г. Нижний Новгород. – 2020 – с. 180-181.
17. **Ачкасова, К.А.** Кросс-поляризационная оптическая когерентная томография для интраоперационной навигации в нейрохирургии / К.А. Ачкасова, Е.Б. Киселева, К.С. Яшин, А.А. Моисеев, Н.Д. Гладкова // *Сборник тезисов VII Троицкой конференции с международным участием*, г. Москва. – 2020. – с. 106-107.
18. **Ачкасова, К.А.** Влияние разрушения миелиновых волокон на оптические свойства белого вещества головного мозга в перифокальной зоне опухоли // *Материалы XXIV Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина»*, г. Санкт-Петербург. – 2021. – с. 595-596.
19. **Ачкасова, К.А.** Сравнение эффективности двух алгоритмов количественной обработки данных кросс-поляризационной оптической когерентной томографии для определения состояния белого вещества / К.А. Ачкасова, К.С. Яшин, Е.Б. Киселева, А.А. Моисеев, Н.Д. Гладкова // *Сборник тезисов VII Всероссийской конференции молодых ученых и студентов с международным участием: материалы конференции*, г. Нижний Новгород. – 2021. – с. 32-34.

20. **Ачкасова, К.А.** Сравнительная оценка оптических свойств белого вещества при опухолях головного мозга // Материалы VII Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2021», г. Санкт-Петербург. – 2021. – с. 239.
21. **Ачкасова, К.А.** Кросс-поляризационная оптическая когерентная томография как метод определения состояния белого вещества головного мозга в перифокальной зоне опухоли / К.А. Ачкасова, К.С. Яшин, Е.Б. Киселева, А.А. Моисеев, Н.Д. Гладкова // Тезисы докладов 74-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление», г. Нижний Новгород. – 2021. – с 17-17.
22. **Ачкасова, К.А.** Оптические свойства функционально значимых зон головного мозга человека / К.А. Ачкасова, К.С. Яшин, Е.Б. Киселева, А.А. Моисеев, Е.Л. Бедерина, Н.Д. Гладкова // Материалы XXVI Нижегородской сессии молодых ученых (технические, естественные науки), г. Нижний Новгород. – 2021. – с. 168-169.
23. Sirotkina, M.A. Multimodal optical coherence tomography: biomedical achievements / M.A. Sirotkina, E.V. Gubarkova, E.B. Kiseleva, A.A. Plekhanov, **К.А. Achkasova**, D.A. Vorontsov, A.A. Moiseev, E.V. Zagaynova, G.V. Gelikonov, V.Y. Zaitsev, N.D. Gladkova // Book of abstracts the 28th International Conference Advanced Laser Technologies ALT'21, Moscow. – 2021. – p. 102-102.
24. **Ачкасова, К.А.** Корреляция морфологических характеристик белого вещества головного мозга с его оптическими свойствами / К.А. Ачкасова, А.А. Моисеев, Е.Б. Киселева, К.С. Яшин, Н.Д. Гладкова // Сборник тезисов VIII Всероссийской научно- практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием. Нижний Новгород. — 2022. — с. 48-50
25. Кухнина, Л.С. Применение оптической когерентной томографии для диагностики состояния перитуморального белого вещества / Л.С. Кухнина, **К.А. Ачкасова**, К.С. Яшин, Е.Б. Киселева, А.А. Моисеев // Сборник тезисов VIII Всероссийской научно- практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием. Нижний Новгород. — 2022. — с. 326-328
26. **Ачкасова, К.А.** Оптическая когерентная томография как метод нейронавигации в хирургии опухолей головного мозга / К.А. Ачкасова, К.С. Яшин, А.А. Моисеев, Е.Б. Киселева, Е.Л. Бедерина, Н.Д. Гладкова // Материалы XXVII Нижегородской сессии молодых ученых (технические, естественные науки), г. Нижний Новгород. – 2022. – с. 184-186.
27. **Ачкасова, К.А.** Взаимосвязь оптических свойств белого вещества головного мозга с его структурными характеристиками / К.А. Ачкасова, А.А. Моисеев, Е.Б. Киселева, К.С. Яшин, Н.Д. Гладкова // Тезисы докладов 75-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление», г. Нижний Новгород. – 2022. – с 13-13.