

# УСИЛЕНИЕ КОНТРАСТА КРОСС-ПОЛЯРИЗАЦИОННЫХ ОКТ-ИЗОБРАЖЕНИЙ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПУТЕМ РАСЧЕТА ОПТИЧЕСКИХ КОЭФФИЦИЕНТОВ

DOI: 10.17691/stm2019.11.3.03

УДК 577.112.6:616.19–006.6–073.756

Поступила 16.05.2019 г.



**Е.В. Губарькова**, к.б.н., старший научный сотрудник научной лаборатории оптической когерентной томографии НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий<sup>1</sup>;  
**Н.П. Павлова**, лаборант научной лаборатории оптической когерентной томографии НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий<sup>1</sup>;  
**Е.Б. Киселева**, к.б.н., старший научный сотрудник научной лаборатории оптической когерентной томографии НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий<sup>1</sup>;  
**Д.А. Воронцов**, хирург-онколог онкологического отделения<sup>2</sup>;  
**А.А. Моисеев**, к.ф.-м.н., старший научный сотрудник лаборатории высокочувствительных оптических измерений<sup>3</sup>;  
**А.А. Плеханов**, аспирант НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий<sup>1</sup>;  
**С.С. Кузнецов**, д.м.н., зав. кафедрой патологической анатомии<sup>1</sup>;  
**М.А. Сироткина**, к.б.н., зав. лабораторией высокоразрешающей микроскопии и геномных технологий НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий<sup>1</sup>;  
**А.Ю. Воронцов**, к.м.н., хирург-онколог, зав. онкологическим отделением<sup>2</sup>;  
**Н.Д. Гладкова**, д.м.н., профессор, зав. лабораторией оптической когерентной томографии НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Н. Новгород, 603005;

<sup>2</sup>Нижегородский областной клинический онкологический диспансер, ул. Деловая, 11/1, Н. Новгород, 603126;

<sup>3</sup>Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН, ул. Ульянова, 46, Н. Новгород, 603950

**Цель исследования** — разработка способов усиления контраста кросс-поляризованных ОКТ (КП ОКТ) изображений рака молочной железы (РМЖ) путем расчета оптических коэффициентов скорости затухания сигнала для дифференциации подтипов рака и анализа поляризационных свойств стромы опухоли.

**Материалы и методы.** Исследование проводилось *ex vivo* на образцах ткани молочной железы, полученных после радикальной мастэктомии. Изучение рассеивающих и поляризационных свойств выполнено на скоростной спектральной ОКТ-установке с возможностью регистрации кросс-рассеяния, что позволяет с большей специфичностью различить соединительную ткань молочной железы в норме и в опухоли. Представлены результаты качественного и количественного анализа *en face* КП ОКТ-изображений ткани молочной железы без опухоли и двух наиболее распространенных типов РМЖ, принципиально отличающихся по состоянию стромы опухоли, — инфильтрирующего протокового РМЖ солидного роста и РМЖ скirrosного строения. Для повышения контрастности КП ОКТ-изображений рассчитывались оптические коэффициенты: скорость затухания в ко-канале (коэффициент 1) и разностный коэффициент скорости затухания в ко- и кросс-каналах (коэффициент 2), которые позволили не только отличить опухолевую ткань от неопухолевой, но и дифференцировать два изученных типа рака молочной железы.

**Результаты.** Особенностью *en face* КП ОКТ-изображений ткани молочной железы без опухоли является их неоднородность, что обусловлено различной рассеивающей способностью жировой, железистой и соединительной тканей с преимущественно низкими значениями обоих оптических коэффициентов. Инфильтративный протоковый РМЖ солидного строения характеризуется однородным распределением самых низких значений обоих оптических коэффициентов. В случае инфильтративного протокового РМЖ скirrosного строения на КП ОКТ-изображениях визуализируется ОКТ-сигнал наибольшей неоднородности и контраста, что связано с преобладанием стромы опухоли над паренхимой и наличием в ней различных дегенеративных изменений (фиброза или гиалиноза).

Для контактов: Губарькова Екатерина Владимировна, e-mail: kgybarkova@mail.ru

**Заключение.** Использование оптических коэффициентов скорости затухания ОКТ-сигнала в двух каналах и построение *en face* цветокодированных карт является наглядным способом представления КП ОКТ-изображений РМЖ и объективным методом количественной оценки ОКТ-сигнала. При этом повышается контраст визуализации, что облегчает дифференцировку различных морфологических подтипов РМЖ, которые могут быть использованы в клинических условиях.

**Ключевые слова:** кросс-поляризационная оптическая когерентная томография; КП ОКТ; рак молочной железы; РМЖ; коэффициент затухания; разностный коэффициент затухания в ко- и кросс-каналах; дифференциальная диагностика; морфологические подтипы рака.

**Как цитировать:** Gubarkova E.V., Pavlova N.P., Kiseleva E.B., Vorontsov D.A., Moiseev A.A., Plekhanov A.A., Kuznetsov S.S., Sirotkina M.A., Vorontsov A.Y., Gladkova N.D. Contrast enhancement of cross-polarization OCT images of breast cancer by optical coefficient calculation. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2019; 11(3): 22–31, <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.3.03>

## English

## Contrast Enhancement of Cross-Polarization OCT Images of Breast Cancer by Optical Coefficient Calculation

**E.V. Gubarkova**, PhD, Senior Researcher, Scientific Laboratory of Optical Coherence Tomography, Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies<sup>1</sup>;

**N.P. Pavlova**, Assistant, Scientific Laboratory of Optical Coherence Tomography, Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies<sup>1</sup>;

**E.B. Kiseleva**, PhD, Senior Researcher, Scientific Laboratory of Optical Coherence Tomography, Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies<sup>1</sup>;

**D.A. Vorontsov**, Oncology Surgeon, Oncology Department<sup>2</sup>;

**A.A. Moiseev**, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Highly Sensitive Optical Measurements<sup>3</sup>;

**A.A. Plekhanov**, PhD Student, Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies<sup>1</sup>;

**S.S. Kuznetsov**, MD, DSc, Head of the Pathological Anatomy Department<sup>1</sup>;

**M.A. Sirotkina**, PhD, Head of Scientific Laboratory of High-Resolution Microscopy and Gene Technologies, Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies<sup>1</sup>;

**A.Y. Vorontsov**, MD, PhD, Oncology Surgeon, Head of the Oncology Department<sup>2</sup>;

**N.D. Gladkova**, MD, DSc, Professor, Head of the Scientific Laboratory of Optical Coherence Tomography, Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia;

<sup>2</sup>Nizhny Novgorod Regional Oncologic Dispensary, 11/1 Delovaya St., Nizhny Novgorod, 603126, Russia;

<sup>3</sup>Federal Research Center Institute of Applied Physics, Russian Academy of Sciences, 46 Ulyanova St., Nizhny Novgorod, 603950, Russia

**The aim of the study** was to develop the techniques for contrast enhancement of cross-polarization OCT (CP OCT) images of breast cancer (BC) by calculating optical attenuation coefficients of OCT signal to differentiate cancer subtypes and analyze polarization properties of tumor stroma.

**Materials and Methods.** The study involved *ex vivo* breast tissue samples after radical mastectomy. Scattering and polarization properties were studied using a high-speed spectral OCT unit suitable for cross-scattering recording with higher specificity enabling to differentiate breast connective tissue in health and cancer. We presented the findings of qualitative and quantitative analysis of *en face* CP OCT images of non-tumor breast cancer and two of the most common BC types, which differ fundamentally by tumor stroma condition — infiltrating ductal carcinoma of solid and sclerosing structures. Optical coefficients were calculated for contrast enhancement of CP OCT images: attenuation coefficient in a co-channel (coefficient 1) and a difference attenuation coefficient in co- and cross-channels (coefficient 2), which enabled both: to differ tumor tissue from non-tumor tissue, and differentiate two breast cancer types under study.

**Results.** *En face* CP OCT images of breast tissue without tumor are characterized by heterogeneity due to different scattering capacity of fat, glandular and connective tissue with predominantly low values of both optical coefficients. Infiltrating ductal BC of a solid structure is characterized by homogenous distribution of lowest values of both optical coefficients. In case of infiltrating ductal BC of a sclerosing structure, CP OCT images have the most heterogeneous and contrast OCT signal related to the tumor stroma dominated over parenchyma, and various degenerative changes are in stroma (fibrosis or hyalinosis).

**Conclusion.** The use of optical attenuation coefficients of OCT signal in two channels and *en face* color-coded mapping is an obvious example presenting CP OCT images of BC and an objective technique for OCT signal quantitative assessment. Moreover, imaging contrast enhances, it eases the differentiation of morphological BC subtypes and can be used in clinical settings.

**Key words:** cross-polarization optical coherence tomography; CP OCT; breast cancer; BC; attenuation coefficient; difference attenuation coefficient in co- and cross-channels; differential diagnosis; morphological breast cancer subtypes.

## Введение

Рак молочной железы (РМЖ) является одним из наиболее распространенных видов рака (ежегодно регистрируют более миллиона новых случаев) и третьей основной причиной смертности среди женщин (ежегодно регистрируют более 500 тыс. случаев смерти) во всем мире [1, 2]. В России РМЖ занимает первое место по показателям заболеваемости (21,1%) и смертности (16,4%) среди злокачественных новообразований у женщин [3]. РМЖ представляет собой генетически гетерогенное заболевание с различными молекулярно-биологическими и морфологическими особенностями [4], которые позволяют выделить ряд подтипов заболевания; их своевременное определение важно при выборе тактики ведения и лечения пациентов. Наиболее распространенными являются инфильтративные протоковые типы РМЖ (до 75% всех случаев) [5].

Морфологический/молекулярный подтип РМЖ устанавливается при гистологическом/иммуногистохимическом и генетическом исследовании биопсийного или операционного материала и не имеет альтернативного интраоперационного метода оценки. Развитие и применение высокоразрешающих прижизненных методов визуализации, сопоставимых с морфологическим исследованием, может улучшить качество ранней и интраоперационной диагностики РМЖ.

Стремительно развивающиеся методы диагностики и успехи в лечении РМЖ способствуют тому, что при хирургическом лечении все чаще предпочтение отдается органосохраняющим операциям. В связи с этим возрастает клиническая потребность в интраоперационном выявлении «чистого» края резекции в ходе лампэктомии (локальное иссечение опухоли с небольшим участком нормальной ткани вокруг). Оставленные опухолевые очаги увеличивают вероятность развития локального рецидива, что требует повторного хирургического вмешательства или лучевой терапии [6, 7].

Современные методы визуализации РМЖ, такие как ультразвук, рентгеновская маммография, позитронно-эмиссионная томография и магнитно-резонансная томография, могут определить размер опухолевого узла, представить общую морфологическую информацию [8–10]. Однако их низкое пространственное разрешение не позволяет обнаружить новообразования размером менее 1 мм и фиксировать негативный край резекции *in vivo*. К тому же некоторые морфологические подтипы РМЖ (такие как рак *in situ* и опухоли с фиброзной стромой) являются трудно визуализируемыми [11]. В настоящее время доступны несколько методов оценки края резекции, однако все они также имеют свои недостатки. К примеру, широко распространенные традиционные микроскопические методы, такие как экспресс-биопсия и цитологическое исследование мазков-отпечатков, имеют свои ошибки и трудности проведения из-за недостаточности количества забранного материала, технических трудно-

стей в работе с жировой тканью и дополнительного времени для проведения исследования [12].

Оптическая когерентная томография (ОКТ) является трехмерным перспективным методом оптической визуализации с разрешением до единиц микрон для дифференциации нормальной, доброкачественной и злокачественной опухолевой ткани, в том числе молочной железы [13, 14], а также точного интраоперационного определения «чистого» края резекции в режиме реального времени [15–17]. Для автоматизированной классификации нормальной ткани молочной железы от опухолевой с помощью традиционной (не поляризационно-чувствительной) ОКТ применялись и были количественно измерены оптические показатели преломления, рассеяния и затухания [17, 18]. Установлено, что неоднородное распределение высоких и низких значений коэффициента обратного рассеяния характерно для жировой ткани, которая состоит из «пустых», наполненных липидами клеток и ядра на периферии. Средние уровни значения коэффициента рассеяния с низкими значениями коэффициента затухания характерны для соединительной ткани. Высокие значения коэффициента рассеяния с высоким эффектом затухания сигнала характерны для опухолевой ткани, так как опухолевые клетки очень плотно расположены, что делает ткань мало проницаемой для света [17, 19]. Тем не менее плотные инвазивные опухоли могут быть трудно отличимы от нормальной соединительной ткани из-за схожих оптических показателей преломления и интенсивности рассеяния [20, 21].

Для повышения контрастности изображений, которая может способствовать облегчению дифференциальной диагностики нормальной и опухолевой ткани молочной железы человека при использовании технологий в клинике, были использованы ОКТ-системы, позволяющие получать поляризационно-зависимую [22, 23] и эластографическую [24–26] информацию, оценивающие соответственно оптическое двулучепреломление и эластичность биологических тканей. С их помощью установлено, что нормальная строма молочной железы имеет значительно более высокий показатель двулучепреломления по сравнению с опухолевой стромой и это обусловлено особенностями строения последней (наличие дегенеративных изменений коллагеновых волокон, изменение их пространственной ориентации) [22]. Показан высокий потенциал применения метода оптической когерентной эластографии для выявления контраста между злокачественными и нормальными тканями молочной железы на основе анализа деформируемости ткани при сдавливании [25, 26].

Коллагеновые волокна составляют основу стромы ткани молочной железы в норме. Состояние волокон (физические параметры) меняется при развитии РМЖ, причем разные подтипы РМЖ характеризуются особым строением соединительной ткани и ее определенной пропорцией с опухолевыми клетками. Все применяемые сегодня в клинике прижизненные ме-

тоды визуализации не могут с высоким разрешением свидетельствовать о состоянии соединительной ткани молочной железы. Традиционные структурные ОКТ-изображения инфильтративных солидных вариантов РМЖ трудноотличимы от инфильтративных опухолей с преобладанием фиброзной или гиалинизированной стромы из-за сходного высокого уровня коэффициента обратного рассеяния. Ожидается, что детектирование кросс-рассеивающих свойств коллагеновых волокон методом кросс-поляризационной ОКТ (КП ОКТ) в режиме реального времени при солидных и скirrosных типах РМЖ позволит не только выявлять наличие опухоли, но и достоверно определять ее подтип. Кроме того, не решен вопрос определения критериев количественной оценки ОКТ-сигнала как для дифференциации подтипов РМЖ, так и для интраоперационного определения «чистого» края резекции опухоли в реальном масштабе времени.

**Целью данного исследования** является разработка способов усиления контраста КП ОКТ-изображений РМЖ путем расчета оптических коэффициентов скорости затухания сигнала для дифференциации подтипов рака и анализа поляризационных свойств стромы опухоли.

## Материалы и методы

Объектами КП ОКТ-исследований явились 75 образцов ткани молочной железы *ex vivo*, полученных при радикальной мастэктомии от 52 пациенток в возрасте 38–77 лет. Все исследования одобрены Этическим комитетом Приволжского исследовательского медицинского университета. Образцы доставлялись к месту исследования в марле, смоченной фосфатным буфером, при 7°C и были изучены в течение 1–2 ч после взятия материала.

**Кросс-поляризационная ОКТ-система.** В работе использовалась скоростная спектральная 3D ОКТ-система (Институт прикладной физики РАН, Н. Новгород) с центральной длиной волны 1310 нм, шириной спектра 100 нм, мощностью излучения 2 мВт, поперечным пространственным разрешением ~20 мкм, разрешением по глубине ~15 мкм, глубиной сканирования в воздухе 1,7 мм. Скорость сканирования составляла 20 кГц/с, запись 3D-изображения размером 2,4×2,4×1,25 мм занимала 26 с. КП ОКТ-прибор был оснащен торцевым волоконно-оптическим зондом с внешним диаметром объектива 10 мм, который подводится к исследуемой поверхности ткани контактно.

Прибор одновременно регистрирует два сопряженных изображения: в ко- и кросс-поляризационных каналах [27]. Наличие кросс-поляризационного канала дает очевидные преимущества при исследовании состояния соединительной ткани (в частности, коллагеновых волокон, поскольку в ряде работ [28, 29] показано, что они обладают поляризационными свойствами).

В данной работе КП ОКТ-изображения представ-

лены в виде двумерных *en face* изображений в ко- и кросс-поляризационных каналах.

**Морфологический анализ.** После КП ОКТ-сканирования все образцы направлялись на гистологическое исследование. Плоскость, в которой получали серийные гистологические срезы, совпадала с плоскостью получения КП ОКТ-изображений. Серийные срезы окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван-Гизону для постановки общего клинического диагноза и оценки состояния коллагеновых волокон ткани соответственно.

Все образцы были разделены врачом-патологоанатомом на 3 группы согласно морфологическому диагнозу и особенностям строения опухоли [30]: ткань молочной железы без опухоли (n=14); инфильтративный неспецифический (протоковый) РМЖ солидного (n=17) и скirrosного (n=44) строения. Всего получено и проанализировано 150 пар КП ОКТ- и гистологических изображений.

**Количественный анализ *en face* КП ОКТ-изображений.** Количественный анализ рассеивающих и поляризационных свойств исследуемых образцов ткани выполнен по 3D ОКТ-данным. Каждое 3D ОКТ-изображение содержит 256×256 А-сканов и представляет собой профиль затухания ОКТ-сигнала по глубине в каждой поляризации. По А-сканам рассчитаны коэффициенты скорости затухания света в ко- и кросс-каналах.

Для количественного анализа рассеивающих свойств ткани был использован коэффициент затухания (коэффициент 1). Он отражает скорость затухания фотонов в ко-канале, которое может быть вызвано различными причинами, такими как поглощение, рассеяние в сторону либо рассеяние в кросс-поляризации. Способ расчета этого коэффициента в нашей работе принципиально не отличается от способа, которым он рассчитывается другими исследователями [31].

Для описания поляризационных свойств использован разностный коэффициент затухания света (коэффициент 2). Он отражает разницу в рассеянии и поглощении фотонов в ткани в ко- и кросс-поляризационных каналах.

Учет всех вышеупомянутых процессов, изменение интенсивности сканирующего луча с глубиной  $z$  может быть записано как

$$I_{co} \sim \exp(-2zu), \quad (1)$$

$$I_{cross} \sim \exp(-2z(u-u_D)), \quad (2)$$

где  $I_{co}$ ,  $I_{cross}$  — сигнал в ко- и кросс-каналах соответственно;  $u$ ,  $u-u_D$  — коэффициенты затухания в соответствующих каналах.

Примеры случайных А-сканов из трехмерных массивов данных в ко- (*синий цвет*) и кросс-каналах (*оранжевый цвет*) показаны на рис. 1, д, 2, д, 3, д и демонстрируют значительную разность в скоростях затухания ОКТ-сигнала. Черный пунктирный прямоугольник на А-сканах указывает диапазон глубины

(80–720 мкм), в котором рассчитывались оптические коэффициенты.

На основе полученных значений двух коэффициентов строились двумерные (*en face*) цветокодированные карты (рис. 1–3, е и ж). Диапазон значений для карт подобран так, чтобы цвета наилучшим образом отображали разные типы ткани (опухолевую и неопухолевую, жир и коллаген).

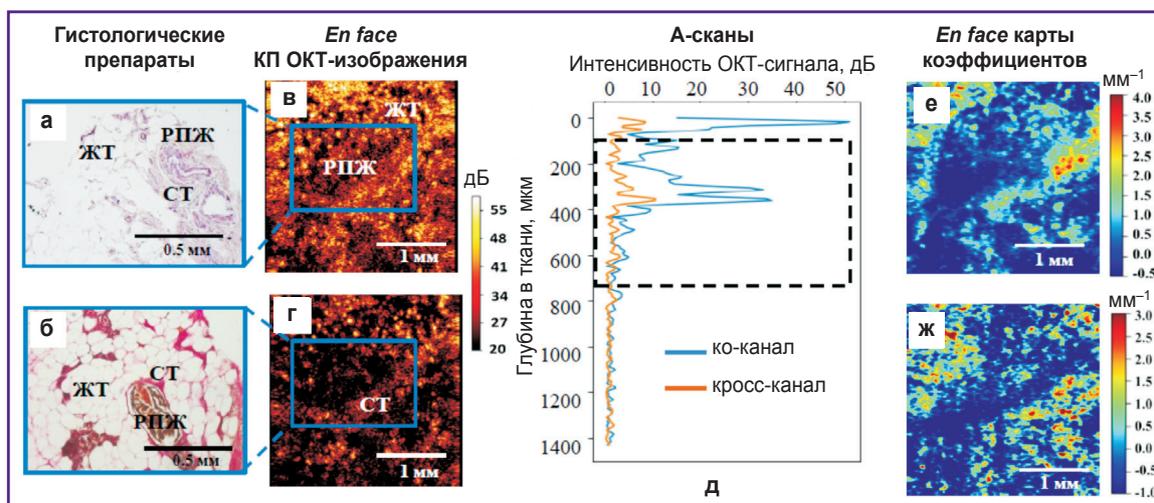
Для сравнения карт в исследуемых группах между собой было предложено условно выделить области с высокими значениями коэффициента 1 — более  $1,5 \text{ мм}^{-1}$  и коэффициента 2 — более  $0,5 \text{ мм}^{-1}$  (зеленый и желто-красный цвета) и области с низкими их значениями — менее  $1,5 \text{ мм}^{-1}$  и менее  $0,5 \text{ мм}^{-1}$  соответственно (голубой и синий цвета). Построенные таким образом цветокодированные карты отлично контрастируют клеточный (по низким значениям коэффициентов) и стромальный (по высоким значениям коэффициентов) компоненты ткани молочной железы, в том числе внутри различных инфильтративных подтипов РМЖ.

Оптические коэффициенты были рассчитаны для 150 КП ОКТ-изображений (по две зоны интереса каждого из образцов), которые включали ткань молочной железы без опухоли (n=28), инфильтративный протоковый РМЖ солидного (n=34) и скirroзного строения (n=88).

## Результаты и обсуждение

### Визуальный анализ рассеивающих и поляризационных свойств ткани молочной железы и морфологических подтипов РМЖ по *en face* КП ОКТ-изображениям

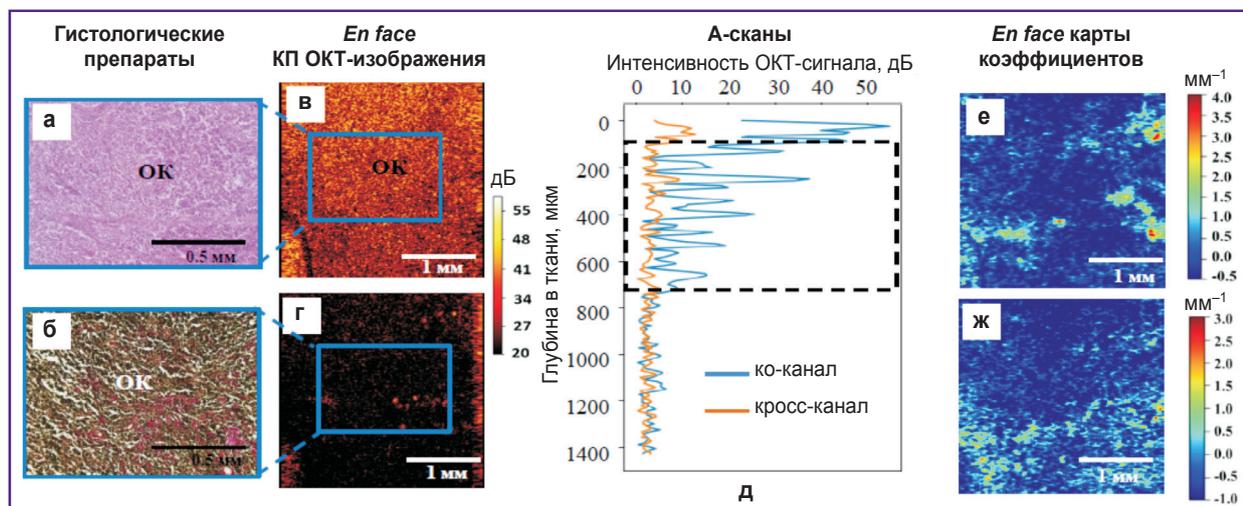
**Ткань молочной железы без опухоли.** В норме молочная железа образована терминальной дольково-протоковой единицей, жировой и соединительной тканью (рис. 1, а, б), что делает ее неоднородной, обладающей разными рассеивающими и поляризационными свойствами. Этим объясняется неоднородность распределения ОКТ-сигнала на полученных структурных *en face* КП ОКТ-изображениях ткани молочной железы без опухоли в ко- и кросс-поляризационных каналах (рис. 1, в, г). Жировая ткань молочной железы визуализируется как скопление округлых структур с низким уровнем сигнала от цитоплазмы и высоким — от мембраны клеток. Соединительная ткань дает высокий уровень сигнала как в ко-, так и в кросс-поляризационных каналах благодаря наличию упорядоченных, параллельно расположенных волокон коллагена, однако сигнал быстро затухает с глубиной. Терминальная дольково-протоковая единица или единственный расширенный проток железы визуализируются



**Рис. 1. Образец ткани молочной железы без опухоли**

Гистологические изображения с окраской гематоксилином и эозином (а) и по Ван-Гизону (б); *en face* структурные КП ОКТ-изображения в ко- (в) и кросс-поляризационных (г) каналах; случайные А-сканы из трехмерного массива данных в ко- (синий цвет) и кросс-каналах (оранжевый цвет) (д); соответствующие *en face* цветокодированные карты оптических коэффициентов: коэффициент 1 затухания в кросс-канале (е) и разностный коэффициент 2 затухания в ко- и кросс-каналах (ж). Черный пунктирный прямоугольник на А-сканах указывает диапазон глубины (80–720 мкм), в котором рассчитывались оптические коэффициенты. СТ — соединительная ткань; ЖТ — жировая ткань; РПЖ — расширенный проток железы.

На картах оптических коэффициентов: для ткани молочной железы без опухоли характерно неоднородное распределение значений коэффициентов 1 и 2. Низкие значения коэффициента 1 (голубые и синие поля) преобладали в области жировой ткани и расширенных протоков, а высокие значения (зеленые и желто-красные поля) — в области нормальной рыхлой соединительной ткани. Коэффициент 2 — преимущественно невысокий и характеризуется распределением средних значений (зеленые и желто-красные поля), обеспечивая визуализацию областей соединительной ткани



**Рис. 2. Инфильтративный протоковый РМЖ солидного роста**

Гистологические изображения с окраской гематоксилином и эозином (а) и по Ван-Гизону (б); *en face* структурные КП ОКТ-изображения в ко- (в) и кросс-поляризационных (г) каналах; случайные А-сканы из трехмерного массива данных в ко- (синий цвет) и кросс-каналах (оранжевый цвет) (д); соответствующие *en face* цветокодированные карты оптических коэффициентов: коэффициент 1 затухания в кросс-канале (е) и разностный коэффициент 2 затухания в ко- и кросс-каналах (ж). Черный пунктирный прямоугольник на А-сканах указывает диапазон глубины (80–720 мкм), в котором рассчитывались оптические коэффициенты. ОК — опухолевые клетки.

Данный тип рака своими цветокодированными картами обоих оптических коэффициентов резко отличается от других изученных форм РМЖ. Он характеризуется однородным распределением самых низких значений как коэффициента 1 (менее  $1,0 \text{ мм}^{-1}$ ), так и коэффициента 2 (менее  $0,5 \text{ мм}^{-1}$ ) (синий и голубой цвет, без желто-красного)

как область с низким уровнем сигнала в ко- и кросс-поляризационных каналах.

**Инфильтративный протоковый РМЖ солидного строения.** Метод КП ОКТ позволяет различить разновидности инфильтративного протокового РМЖ высокой степени злокачественности, который характеризуется неблагоприятным прогнозом течения заболевания. Удаётся выделить его морфологические варианты: солидный или скirrosный подтипы в зависимости от наличия по-разному рассеивающих свет компонентов ткани — соединительнотканной стромы опухоли и конгломератов опухолевых клеток.

Инфильтративный протоковый РМЖ солидного строения (с преобладанием паренхимы опухоли над стромой) характеризуется однородным низким ОКТ-сигналом в ко- и кросс-поляризационных каналах КП ОКТ-изображений (рис. 2, в, г), который обусловлен плотной упаковкой опухолевых клеток в конгломераты, что делает опухолевую ткань мало проницаемой для света. При этом анизотропные (волокнистые) структуры в данном подтипе опухоли практически отсутствуют (рис. 2, а, б). Такое распределение ОКТ-сигнала позволяет легко визуально отличить инфильтративный протоковый РМЖ солидного строения от ткани молочной железы без опухоли.

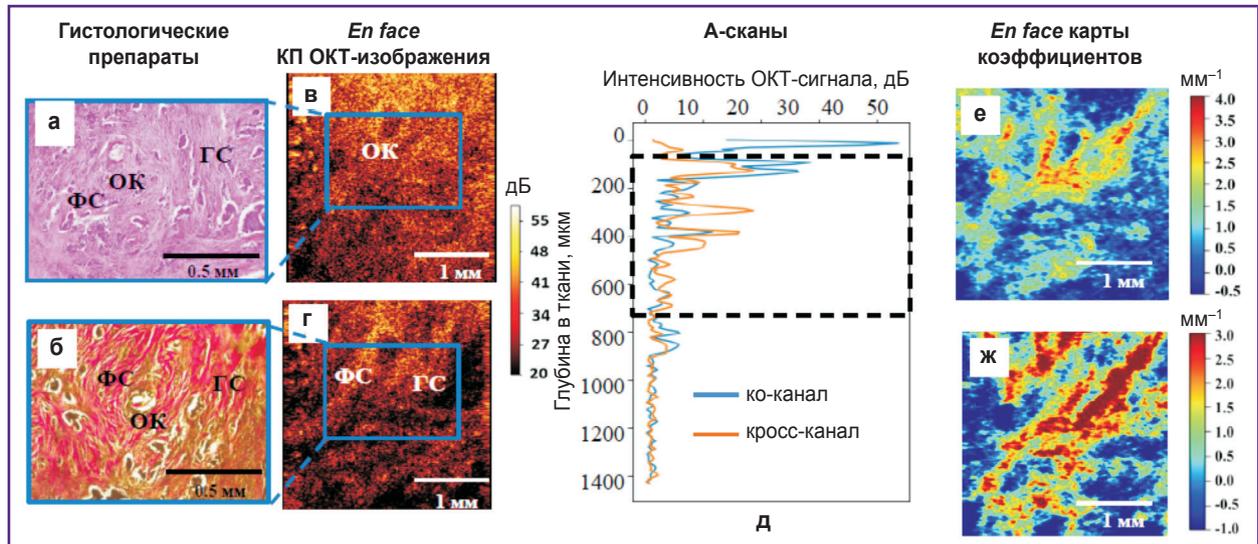
**Инфильтративный протоковый РМЖ скirrosного варианта.** Для данной разновидности рака

характерно преобладание стромы опухоли над паренхимой (рис. 3, а, б), ОКТ-сигнал распределен неоднородно (рис. 3, в, г), что создает сложность визуальной дифференциальной диагностики данного типа РМЖ с тканью молочной железы без опухоли (хотя на изображениях нормальной молочной железы мелкие структуры контрастируются лучше). На соответствующих гистологических препаратах вокруг кластеров опухолевых клеток наблюдаются дегенеративные изменения волокнистых структур стромы опухоли (фиброз или гиалиноз), что приводит к повышению или понижению уровня ОКТ-сигнала в кросс-поляризационном канале. При этом известно, что важно оценить состояние стромы, так как коллагеновая матрица опухоли играет решающую роль в инвазии и метастазировании РМЖ [32].

#### Количественный анализ рассеивающих и поляризационных свойств ткани молочной железы и разных подтипов РМЖ при построении цветокодированных карт оптических коэффициентов затухания в ко- и кросс-каналах

Использование такого подхода позволило резко повысить контрастность КП ОКТ-изображений.

**Молочная железа без опухоли.** Для ткани молочной железы без опухоли характерно неодно-



**Рис. 3. Инфильтративный протоковый РМЖ скirroзного строения**

Гистологические изображения с окраской гематоксилином и эозином (а) и по Ван-Гизону (б); *en face* структурные КП ОКТ-изображения в ко- (в) и кросс-поляризованных (г) каналах; случайные А-сканы из трехмерного массива данных в ко- (синий цвет) и кросс-каналах (оранжевый цвет) (д); соответствующие *en face* цветокодированные карты оптических коэффициентов: коэффициент 1 затухания в кросс канале (е) и разностный коэффициент 2 затухания в ко- и кросс-каналах (ж). Черный пунктирный прямоугольник на А-сканах указывает диапазон глубины (80–720 мкм), в котором рассчитывались оптические коэффициенты. ОК — опухолевые клетки; ФС — фиброзная строма; ГС — гиалинизированная строма.

При данном типе РМЖ наблюдается наиболее контрастное неоднородное распределение высоких значений как коэффициента 1, так и коэффициента 2 (зеленые и желто-красные поля)

родное распределение значений коэффициента 1 (см. рис. 1, е, ж). Низкие значения коэффициента 1 (голубые и синие поля) преобладали в области жировой ткани и расширенных протоков желез (менее  $0,5 \text{ мм}^{-1}$ ), а высокие значения (более  $1,0 \text{ мм}^{-1}$ ) (зеленые и желто-красные поля) — в области нормальной рыхлой соединительной ткани. Важно, что изображения с распределением коэффициента 1 контрастнее, чем стандартные КП ОКТ-изображения, визуализируют прозрачные расширенные протоки с ободком, создаваемым стенкой протока, что соответствует гистологическим данным. Коэффициент 2 в данном типе ткани — преимущественно невысокий (менее  $1,5 \text{ мм}^{-1}$ ) и характеризуется средними значениями, обеспечивая визуализацию областей нормальной соединительной ткани (зеленые и желто-красные поля).

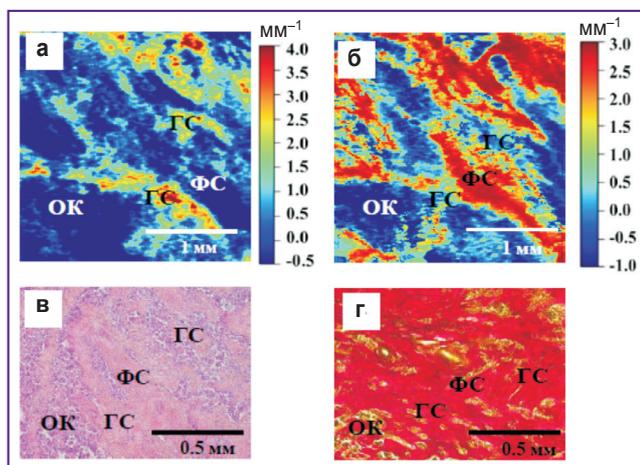
**Инфильтративный протоковый РМЖ солидного строения.** Данный тип рака своими цветокодированными картами обоих оптических коэффициентов резко отличается от других изученных форм РМЖ. Он характеризуется однородным распределением самых низких значений как коэффициента 1 (менее  $1,0 \text{ мм}^{-1}$ ), так и коэффициента 2 (менее  $0,5 \text{ мм}^{-1}$ ) (синие и голубые поля, без желтого и красного) (см. рис. 2, е, ж).

**Инфильтративный протоковый РМЖ скirroзного строения.** Наблюдается наиболее контрастное неоднородное распределение высоких значений как

коэффициента 1, так и коэффициента 2 (в диапазоне  $1,0\text{--}3,0 \text{ мм}^{-1}$ ) (см. рис. 3, е, ж).

Однако значения коэффициентов 1 и 2 при скirroзном раке зависят от состояния волокон коллагена стромы опухоли (рис. 4). Важно, что волокнистая соединительная ткань при выраженном гиалинозе становится плотной и коэффициент 1 повышается (более  $2,5 \text{ мм}^{-1}$ ) (поля желто-красного цвета) в отличие от состояния фиброза, при котором коэффициент 1 ниже (менее  $2,0 \text{ мм}^{-1}$ ) (зелено-голубые поля). Коэффициент 2, на котором состояние соединительнотканной стромы опухоли отражается наиболее четко, ведет себя следующим образом: при фиброзных изменениях наблюдается неоднородное распределение его высоких значений (в диапазоне  $1,0\text{--}3,0 \text{ мм}^{-1}$ ) (желто-красные поля); при гиалинозе стромы опухоли его значения, напротив, снижаются (менее  $0,5 \text{ мм}^{-1}$ ) (синий, голубой и зеленый цвета). Это связано с деструкцией коллагена, образованием однородных полупрозрачных плотных масс (схожих с гиалином) и, следовательно, низкой способностью к кросс-рассеянию.

Таким образом, цветокодированные карты изображений ткани РМЖ, построенные на основе коэффициента 1, по сравнению со структурными КП ОКТ-изображениями обеспечивают четкий контраст нормальной и опухолевой ткани молочной железы (преимущественно солидного строения).



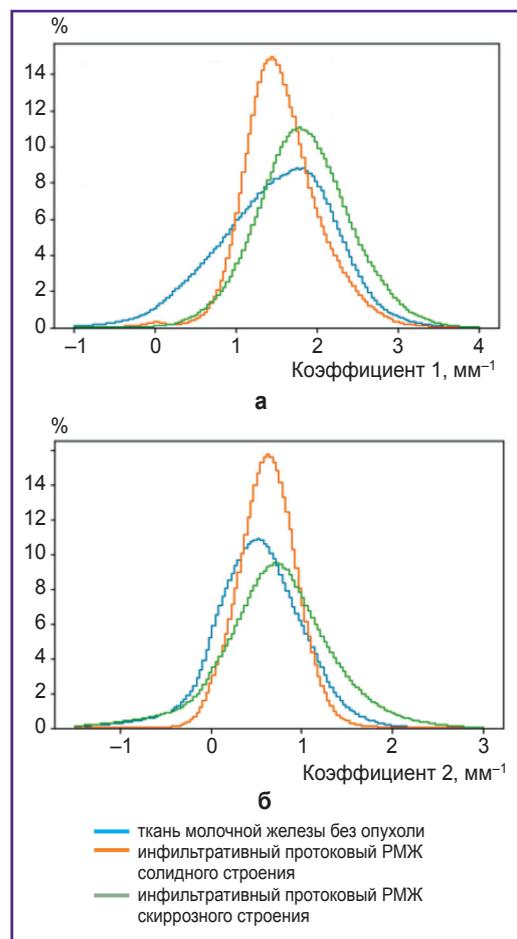
**Рис. 4.** *En face* цветокодированные карты изображений ткани РМЖ с фиброзом и гиалинозом стромы опухоли

Оптический коэффициент 1 затухания в кросс-канале (а) и разностный коэффициент 2 затухания в ко- и кросс-каналах (б). Гистологические изображения с окраской гематоксилином и эозином (в) и по Ван-Гизону (г). ОК — опухолевые клетки; ФС — фиброзная строма; ГС — гиалинизированная строма.

При выраженном гиалинозе волокнистая соединительная ткань становится плотной и коэффициент 1 (а) повышается (более  $2,5 \text{ мм}^{-1}$ ) (полю желто-красного цвета), в состоянии фиброза его значение ниже (менее  $2,0 \text{ мм}^{-1}$ ) (зелено-голубое поле). Коэффициент 2 (б), на котором состояние соединительнотканной стромы опухоли отражается наиболее четко, ведет себя следующим образом: при фиброзных изменениях наблюдается неоднородное распределение его высоких значений (в диапазоне  $1,0\text{--}3,0 \text{ мм}^{-1}$ ) (желто-красные поля); при гиалинозе стромы опухоли значения, напротив, снижаются (менее  $0,5 \text{ мм}^{-1}$ ) (синий, голубой и зеленый цвета)

Распределение коэффициента 2 позволяет отобразить специфические особенности состояния стромы опухоли скirrosного строения по высокому значению в области фиброзной стромы и, напротив, по низкому — в области ее гиалиноза.

Результирующие гистограммы распределения значений двух оптических коэффициентов для исследуемых групп приведены на рис. 5. Поскольку жировая, железистая и соединительная ткани молочной железы без опухоли обладают разной рассеивающей способностью, наблюдается неоднородное распределение как высоких, так и низких значений оптических коэффициентов (рис. 5, синие кривые). Инфильтративный РМЖ солидного строения, который преимущественно состоит из опухолевых клеток, характеризуется преобладанием низких значений оптических коэффициентов и, соответственно, слабыми рассеивающими и поляризационными свойствами (рис. 5, оранжевые кривые). В случае инфильтративного протокового РМЖ скirrosного строения установлено



**Рис. 5.** Гистограммы распределения значений коэффициента 1 (а) и коэффициента 2 (б) для неопухолевой и опухолевой ткани молочной железы

неоднородное распределение преимущественно более высоких значений оптических коэффициентов, что приводит к более высокому обратному рассеянию, а также к более заметным эффектам поляризации (рис. 5, зеленые кривые).

## Заключение

КП ОКТ способна дифференцировать основные структурные компоненты ткани молочной железы (жировая ткань, соединительнотканная строма и опухолевые клетки) с высоким контрастом по ОКТ-сигналу в кросс-поляризационном канале и по значениям оптических коэффициентов затухания.

Цветокодированные карты распределения коэффициента 1 и коэффициента 2, построенные по *en face* КП ОКТ-изображениям образцов ткани молочной железы, позволяют:

по контрастным изображениям карт легко, с высокой уверенностью дифференцировать неопухолевую и опухолевую ткани молочной железы;

получить важную информацию о соотношении и со-

стоянии клеточного и стромального компонентов различных морфологических подтипов РМЖ.

Установлено, что высокие значения оптических коэффициентов 1 и 2 указывают на высокое содержание нормальной соединительной ткани или фиброзной стромы опухоли. Напротив, низкие их значения говорят о преобладании клеточного компонента опухоли. Разностный коэффициент затухания в ко- и кросс-каналах (коэффициент 2) позволяет более информативно отразить разные дегенеративные изменения коллагеновых структур стромы опухоли. Низкие его значения указывают на рост гиалиноза стромы опухоли, что свидетельствует о ее вторичных глубоких (дегенеративных) изменениях.

Количественный анализ рассеивающих и поляризационных свойств различных морфологических подтипов РМЖ путем расчета оптических коэффициентов скорости затухания ОКТ-сигнала в ко- и кросс-поляризационных каналах с последующим построением цветокодированных карт может служить основой для независимой автоматической интраоперационной диагностики различных морфологических подтипов инфильтративного РМЖ, а также для точного определения интраоперационного края резекции при лампэктомии. Интраоперационная идентификация положительных опухолевых полей снизит количество рецидивов опухоли и необходимость повторных хирургических процедур.

**Финансирование исследования.** Проведение анализа рассеивающих и поляризационных свойств рака молочной железы поддержано Российским научным фондом, соглашение №18-75-10068. Метод расчета оптических коэффициентов поддержан проектом Российского фонда фундаментальных исследований 16-32-60178 мол\_а\_дк.

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

## Литература/References

1. <https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/breast-cancer-facts-figures.html>.
2. <https://media.nenaprasno.ru/cancer-catalog/additional-articles/1652/>.
3. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Петровой Г.В. М: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2018; 250 с. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2017 godu (zabolevaemost' i smertnost')* [Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality)]. Pod red. Kaprina A.D., Starinskogo V.V., Petrovoy G.V. [Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. (editors)]. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena — filial FGBU "NMITs radiologii" Minzdrava Rossii; 2018; 250 p.
4. Aleskandarany M.A., Vandenberghe M.E., Marchiò C., Ellis I.O., Sapino A., Rakha E.A. Tumour heterogeneity of breast cancer: from morphology to personalised

medicine. *Pathobiology* 2018; 85(1–2): 23–34, <https://doi.org/10.1159/000477851>.

5. *WHO classification of tumours of the breast*. Edited by Lakhani S.R., Ellis I.O., Schnitt S.J., Tan P.H., van de Vijver M.J. International Agency for Research on Cancer; 2012.

6. Cèfaro G.A., Genovesi D., Marchese R., Ursini L.A., Cianchetti E., Ballone E., Di Nicola M. Predictors of local recurrence after conservative surgery and whole-breast irradiation. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 98(3): 329–335, <https://doi.org/10.1007/s10549-006-9169-0>.

7. Luini A., Rososchansky J., Gatti G., Zurrida S., Caldarella P., Viale G., Rosali dos Santos G., Frasson A. The surgical margin status after breast-conserving surgery: discussion of an open issue. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 113(2): 397–402, <https://doi.org/10.1007/s10549-008-9929-0>.

8. Catalano O.A., Horn G.L., Signore A., Iannace C., Lepore M., Vangel M., Luongo A., Catalano M., Lehman C., Salvatore M., Soricelli A., Catana C., Mahmood U., Rosen B.R. PET/MR in invasive ductal breast cancer: correlation between imaging markers and histological phenotype. *Br J Cancer* 2017; 116(7): 893–902, <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.26>.

9. Kuhl C.K. Abbreviated magnetic resonance imaging (MRI) for breast cancer screening: rationale, concept, and transfer to clinical practice. *Annu Rev Med* 2019; 70(1): 501–519, <https://doi.org/10.1146/annurev-med-121417-100403>.

10. Taylor K.J., Merritt C., Piccoli C., Schmidt R., Rouse G., Fornage B., Rubin E., Georgian-Smith D., Winsberg F., Goldberg B., Mendelson E. Ultrasound as a complement to mammography and breast examination to characterize breast masses. *Ultrasound Med Biol* 2002; 28(1): 19–26, [https://doi.org/10.1016/s0301-5629\(01\)00491-4](https://doi.org/10.1016/s0301-5629(01)00491-4).

11. Evans A., Trimboli R.M., Athanasiou A., Balleyguier C., Baltzer P.A., Bick U., Camps Herrero J., Clauser P., Colin C., Cornford E., Fallenberg E.M., Fuchsjaeger M.H., Gilbert F.J., Helbich T.H., Kinkel K., Heywang-Köbrunner S.H., Kuhl C.K., Mann R.M., Martincich L., Panizza P., Pediconi F., Pijnappel R.M., Pinker K., Zackrisson S., Forrai G., Sardanelli F.; European Society of Breast Imaging (EUSOBI), with language review by Europa Donna—The European Breast Cancer Coalition. Breast ultrasound: recommendations for information to women and referring physicians by the European Society of Breast Imaging. *Insights Imaging* 2018; 9(4): 449–461, <https://doi.org/10.1007/s13244-018-0636-z>.

12. Esbona K., Li Z., Wilke L.G. Intraoperative imprint cytology and frozen section pathology for margin assessment in breast conservation surgery: a systematic review. *Ann Surg Oncol* 2012; 19(10): 3236–3245, <https://doi.org/10.1245/s10434-012-2492-2>.

13. Yao X., Gan Y., Chang E., Hibshoosh H., Feldman S., Hendon C. Visualization and tissue classification of human breast cancer images using ultrahigh-resolution OCT. *Lasers Surg Med* 2017; 49(3): 258–269, <https://doi.org/10.1002/lsm.22654>.

14. Zhou C., Cohen D.W., Wang Y., Lee H.C., Mondelblatt A.E., Tsai T.H., Aguirre A.D., Fujimoto J.G., Connolly J.L. Integrated optical coherence tomography and microscopy for ex vivo multiscale evaluation of human breast tissues. *Cancer Res* 2010; 70(24): 10071–10079, <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-10-2968>.

15. Ha R., Friedlander L.C., Hibshoosh H., Hendon C., Feldman S., Ahn S., Schmidt H., Akens M.K., Fitzmaurice M.,

Wilson B.C., Mango V.L. Optical coherence tomography: a novel imaging method for post-lumpectomy breast margin assessment—a multi-reader study. *Acad Radiol* 2018; 25(3): 279–287, <https://doi.org/10.1016/j.acra.2017.09.018>.

16. Nguyen F.T., Zysk A.M., Chaney E.J., Kotynek J.G., Oliphant U.J., Bellafiore F.J., Rowland K.M., Johnson P.A., Boppart S.A. Intraoperative evaluation of breast tumor margins with optical coherence tomography. *Cancer Research* 2009; 69(22): 8790–8796, <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-08-4340>.

17. Savastru D., Chang E.W., Miclos S., Pitman M.B., Patel A., Iftimia N. Detection of breast surgical margins with optical coherence tomography imaging: a concept evaluation study. *J Biomed Opt* 2014; 19(5): 056001, <https://doi.org/10.1117/1.jbo.19.5.056001>.

18. Mujat M., Ferguson R.D., Hammer D.X., Gittins C., Iftimia N. Automated algorithm for breast tissue differentiation in optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2009; 14(3): 034040, <https://doi.org/10.1117/1.3156821>.

19. Zysk A.M., Boppart S.A. Computational methods for analysis of human breast tumor tissue in optical coherence tomography images. *J Biomed Opt* 2006; 11(5): 054015, <https://doi.org/10.1117/1.2358964>.

20. Zysk A.M., Chaney E.J., Boppart S.A. Refractive index of carcinogen-induced rat mammary tumours. *Phys Med Biol* 2006; 51(9): 2165–2177, <https://doi.org/10.1088/0031-9155/51/9/003>.

21. Hsiung P.-L., Phatak D.R., Chen Y., Aguirre A.D., Fujimoto J.G., Connolly J.L. Benign and malignant lesions in the human breast depicted with ultrahigh resolution and three-dimensional optical coherence tomography. *Radiology* 2007; 244(3): 865–874, <https://doi.org/10.1148/radiol.2443061536>.

22. South F.A., Chaney E.J., Marjanovic M., Adie S.G., Boppart S.A. Differentiation of ex vivo human breast tissue using polarization-sensitive optical coherence tomography. *Biomed Opt Express* 2014; 5(10): 3417, <https://doi.org/10.1364/boe.5.003417>.

23. Patel R., Khan A., Quinlan R., Yaroslavsky A.N. Polarization-sensitive multimodal imaging for detecting breast cancer. *Cancer Res* 2014; 74(17): 4685–4693, <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-13-2411>.

24. Chin L., Latham B., Saunders C.M., Sampson D.D., Kennedy B.F. Simplifying the assessment of human breast cancer by mapping a micro-scale heterogeneity index in optical coherence elastography. *J Biophotonics* 2016; 10(5): 690–700, <https://doi.org/10.1002/jbio.201600092>.

25. Kennedy B.F., McLaughlin R.A., Kennedy K.M., Chin L., Wijesinghe P., Curatolo A., Tien A., Ronald M., Latham B.,

Saunders C.M., Sampson D.D. Investigation of optical coherence microelastography as a method to visualize cancers in human breast tissue. *Cancer Res* 2015; 75(16): 3236–3245, <https://doi.org/10.1158/0008-5472>.

26. Gubarkova E.V., Sovetsky A.A., Zaitsev V.Y., Matveyev A.L., Vorontsov D.A., Sirotkina M.A., Matveev L.A., Plekhanov A.A., Pavlova N.P., Kuznetsov S.S., Vorontsov A.Y., Zagaynova E.V., Gladkova N.D. OCT-elastography-based optical biopsy for breast cancer delineation and express assessment of morphological/molecular subtypes. *Biomed Opt Express* 2019; 10(5): 2244, <https://doi.org/10.1364/boe.10.002244>.

27. Gelikonov V.M., Romashov V.N., Shabanov D.V., Ksenofontov S.Y., Terpelov D.A., Shilyagin P.A., Gelikonov G.V., Vitkin I.A. Cross-polarization optical coherence tomography with active maintenance of the circular polarization of a sounding wave in a common path system. *Radiophys Quantum El* 2018; 60(11): 897–911, <https://doi.org/10.1007/s11141-018-9856-9>.

28. Gubarkova E.V., Dudenkova V.V., Feldchtein F.I., Timofeeva L.B., Kiseleva E.B., Kuznetsov S.S., Shakhov B.E., Moiseev A.A., Gelikonov V.M., Gelikonov G.V., Vitkin A., Gladkova N.D. Multi-modal optical imaging characterization of atherosclerotic plaques. *J Biophotonics* 2015; 9(10): 1009–1020, <https://doi.org/10.1002/jbio.201500223>.

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

30. Рак молочной железы. Морфологическая диагностика и генетика. Под ред. Франка Г.А., Завалишинской Л.Э., Пожарисского К.М. М: Практическая медицина; 2014. *Rak molochnoy zhelezy. Morfologicheskaya diagnostika i genetika* [Breast cancer. Morphological diagnosis and genetics]. Pod red. Franka G.A., Zavalishinskoy L.E., Pozharisskogo K.M. [Frank G.A., Zavalishinskaya L.E., Pozharisskiy K.M. (editors)]. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2014.

31. Kut C., Chaichana K.L., Xi J., Raza S.M., Ye X., McVeigh E.R., Rodriguez F.J., Quiñones-Hinojosa A., Li X. Detection of human brain cancer infiltration ex vivo and in vivo using quantitative optical coherence tomography. *Sci Transl Med* 2015; 7(292): 3010611, <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3010611>.

32. Provenzano P.P., Eliceiri K.W., Campbell J.M., Inman D.R., White J.G., Keely P.J. Collagen reorganization at the tumor-stromal interface facilitates local invasion. *BMC Med* 2006; 4(1): 38, <https://doi.org/10.1186/1741-7015-4-38>.