

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ПОЛЯРИЗАЦИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ

УДК 616.132–005.6–073.756.8

Поступила 13.10.2015 г.

- © **Е.В. Губарькова**, младший научный сотрудник лаборатории изучения оптической структуры биотканей НИИ биомедицинских технологий¹;
Е.Б. Киселева, к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории изучения оптической структуры биотканей НИИ биомедицинских технологий¹;
М.Ю. Кириллин, к.ф.-м.н., старший научный сотрудник лаборатории биофотоники²;
Л.Б. Тимофеева, к.б.н., научный сотрудник отдела морфологии ЦНИЛ, ассистент кафедры гистологии с цитологией и эмбриологией¹;
С.С. Кузнецов, д.м.н., зав. кафедрой патологической анатомии¹;
Ф.И. Фельдштейн, к.ф.-м.н., консультант по биофотонике³; ведущий научный сотрудник НИИ биомедицинских технологий¹;
Н.Д. Гладкова, д.м.н., профессор, зам. директора по науке НИИ биомедицинских технологий¹

¹Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;²Институт прикладной физики РАН, Н. Новгород, 603950, ул. Ульянова, 46;³Dental Photonics, Inc., Walpole, 02081, Boston-Providence Highway, 1600, USA

Цель исследования — разработка способа количественной оценки поляризационных свойств (двулучепреломления и кросс-рассеяния), проявляющихся на кросс-поляризационных ОКТ-изображениях (КП ОКТ) для характеристики стадий развития атеросклеротических бляшек и выявления среди них нестабильных.

Материалы и методы. Представлены результаты количественного анализа изображений семи стадий развития атеросклеротических бляшек *ex vivo*, полученных методом КП ОКТ. В качестве количественной характеристики КП ОКТ-изображений предложено вычисление интегрального фактора деполяризации (ИФД) и эффективного коэффициента двулучепреломления (Δl).

Результаты. Вычисление ИФД и Δl в локальной области интереса (интимы/фиброзной капсулы) показало статистически значимое отличие стабильных (IV стадия) и нестабильных (Va стадия) бляшек ($0,46 \pm 0,21$ против $0,09 \pm 0,04$ для ИФД и $(0,47 \pm 0,10) \cdot 10^{-3}$ против $(0,25 \pm 0,07) \cdot 10^{-3}$ для Δl ; $p < 0,05$). Установлено, что значения Δl в диапазоне значений $(0,22 - 0,29) \cdot 10^{-3}$ (в пределах двух стандартных отклонений) указывают на низкое содержание высокоорганизованного коллагена в фиброзной капсуле нестабильной бляшки, что может свидетельствовать о ее склонности к разрыву. Мы полагаем, что такие изменения связаны с преобладанием в процессе воспаления в фиброзной капсуле нестабильной бляшки дезорганизованных волокон и наличием между ними скоплений пенистых клеток и клеток воспаления.

Заключение. Предложенный подход к количественной оценке КП ОКТ-изображений (вычисление ИФД и построение карт Δl) позволяет оценивать как кросс-рассеяние, так и двулучепреломление атеросклеротических бляшек на разных стадиях развития и более надежно определять степень их нестабильности.

Ключевые слова: кросс-поляризационная оптическая когерентная томография; КП ОКТ; атеросклеротическая бляшка; количественная обработка изображений; кросс-рассеяние; эффективный коэффициент двулучепреломления.

English

Quantitative Evaluation of the Polarization Characteristics of Coronary Arteries Atherosclerotic Plaques at Different Development Stages

E.V. Gubarkova, Junior Researcher, Laboratory for the Study of Optical Structure of Biotissue, Institute of Biomedical Technologies¹;

E.B. Kiseleva, PhD, Junior Researcher, Laboratory for the Study of Optical Structure of Biotissue, Institute of Biomedical Technologies¹;

M.Yu. Kirillin, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Biophotonics²;

L.B. Timofeeva, PhD, Researcher, Morphology Unit, Central Scientific Research Laboratory, Assistant, Department of Histology with Cytology and Embryology¹;

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

S.S. Kuznetsov, MD, DSc, Head of Pathological Anatomy Department¹;
F.I. Feldchtein, PhD, Consultant for Biophotonics³; Leading Researcher, Institute of Biomedical Technologies¹;
N.D. Gladkova, MD, DSc, Professor, Vice Director for Science, Institute of Biomedical Technologies¹

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

²Institute of Applied Physics, Russian Academy of Sciences, 46 Ulianova St., Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation;

³Dental Photonics, Inc., 1600 Boston-Providence Highway, 02081, Walpole, USA

The aim of the investigation was to develop an approach to quantitative evaluation of polarization properties (birefringence and cross-scattering) basing on cross-polarization OCT images (CP OCT) in order to characterize the development stages of atherosclerotic plaques and to reveal unstable ones.

Materials and Methods. We report on quantitative analysis of CP OCT images of the seven development stages of atherosclerotic plaques *ex vivo*. Integral depolarization factor (IDF) and effective birefringence coefficient (Δn) were proposed as parameters for quantitative characterization of the CP OCT images.

Results. Calculation of the IDF and Δn in the local region of interest (intima/fibrous cap) showed a statistically relevant difference between stable (stage IV) and unstable (stage Va) plaques (0.46 ± 0.21 against 0.09 ± 0.04 for IDF and $(0.47 \pm 0.10) \cdot 10^{-3}$ against $(0.25 \pm 0.07) \cdot 10^{-3}$ for Δn ; $p < 0.05$). It was found that Δn value in the range $(0.22 - 0.29) \cdot 10^{-3}$ (within the limits of two standard deviations) indicates the presence of only a small amount of highly organized collagen in the fibrous cap of an unstable plaque which can indicate its tendency to rupture. We believe that these changes are connected with the prevalence of disorganized fibers during the inflammatory process in the fibrous cap of an unstable plaque, and to the presence of clusters of foam cells and inflammatory cells between them.

Conclusion. The proposed approach to the quantitative evaluation of CP OCT images (calculation of IDF and building Δn maps) allows to assess both cross-scattering and birefringence of atherosclerotic plaques at various development stages and more reliably reveal their vulnerability.

Key words: cross-polarization optical coherence tomography; CP OCT; atherosclerotic plaque; quantitative image processing; cross-scattering; effective coefficient of birefringence.

Совершенствование технологий прижизненной диагностики и мониторинга течения атеросклероза, основанных на оценке микроструктурных изменений стенки сосуда, остается основной тенденцией развития методов внутрисосудистой визуализации. Однако очень немногие методы медицинской визуализации сочетают в себе высокое пространственное разрешение, возможности внутрисосудистого применения и наблюдения при этом ключевых тканевых характеристик.

В наибольшей мере перечисленным требованиям отвечает метод оптической когерентной томографии (ОКТ), который обеспечивает формирование двух- и трехмерных изображений структуры тканей путем регистрации обратного рассеяния в режиме реального времени на глубинах до 1–2 мм с пространственным разрешением до единиц микрометров.

Визуальную оценку ОКТ-изображений атеросклеротических бляшек осуществляли разные исследователи [1, 2]. Проводилась идентификация слоев здоровых сосудов и основных компонентов бляшки — фиброзной капсулы, липидного ядра и кальциевых кристаллов [3–6]. Однако накопленный опыт показал, что контраст между фиброзной капсулой и липидным ядром бляшки на традиционных ОКТ-изображениях часто недостаточен для визуализации этих структур. Поэтому в последние годы исследования направлены на идентификацию методом внутрисосудистой ОКТ более детальных особенностей, связанных с уязвимостью бляшки (риск нестабильности), таких как скопления пенящихся клеток и клеток воспаления в фиброзной капсуле бляшки [7–10].

В решении обозначенных задач могут помочь модификации ОКТ, использующие в качестве зондирующего излучения поляризованный свет, что позволяет наблюдать не только обратное рассеяние от компонентов бляшки, но и выделять из них структуры, которые обладают двулучепреломлением или способны к кросс-рассеянию. Так, поляризационно-чувствительная ОКТ (ПЧ ОКТ) основана на построении и анализе карт фазовой задержки [11–13], скорость изменения которой с глубиной характеризует степень структурной организации и ориентацию волокон коллагена на тканевом уровне [14]. В работе S.D. Giattina и соавт. [15] даны визуальная оценка степени изменения двулучепреломления образцов коронарных артерий на ПЧ ОКТ-изображениях и сравнение ее со свойствами коллагена на окрашенных пикросириусом красным гистологических препаратах. Группой S. Nadkarni [11, 16] проанализированы ПЧ ОКТ-изображения атеросклеротических бляшек с высоким и низким содержанием коллагена и разной плотностью гладкомышечных клеток. Они выявили высокую положительную корреляцию между двулучепреломлением, измеряемым по ПЧ ОКТ-изображениям, и накоплением коллагена в бляшке ($r=0,67$; $p<0,001$); между высоким содержанием толстых волокон коллагена ($r=0,76$; $p<0,001$) и плотностью гладкомышечных клеток ($r=0,74$; $p<0,01$).

В это же время группой W.-C. Kuo [17, 18] был разработан алгоритм комплексного количественного анализа ПЧ ОКТ-изображений, позволяющий характеризовать как рассеивающие, так и двулучепреломляющие свойства стенки сосуда при основных стадиях атеро-

склероза. При этом коэффициент двулучепреломления (Δn) фиброзных и фиброкальцинированных бляшек, преобладающим внеклеточным компонентом которых являются толстые коллагеновые пучки, был достоверно выше Δn нормальной стенки сосуда, где содержится незначительное количество тонких коллагеновых волокон ($9,4 \cdot 10^{-4}$ против $5,3 \cdot 10^{-4}$; $p < 0,05$). Однако этот подход не дает разграничения стадий развития бляшек с учетом присутствия липидов/липидного ядра, которое в серьезной мере определяет опасную возможность разрыва «нестабильной» бляшки. Можно предположить, что присутствие липидов в фиброзной капсуле вызывает многократное рассеяние линейнополяризованного излучения (которое используется в качестве зондирующего в ПЧ ОКТ-системах) за счет увеличивающейся неоднородности среды. Кроме того, дезорганизованные волокна капсулы теряют способность к выраженному двулучепреломлению и ПЧ ОКТ становится малоэффективной.

Необходимо подчеркнуть, что и в работах S. Nadkarni [11, 16], и в исследовании W.C.-Kuo [17, 18] область для количественной оценки по ПЧ ОКТ-изображениям выделялась вручную исходя из гистологических данных и анализа поведения сигнала, что позволяет рассматривать результаты обработки ПЧ ОКТ-изображений как попытку количественно характеризовать свойства атеросклеротической бляшки на разных этапах ее развития, но не как разработку критериев для независимой диагностики бляшки методом ПЧ ОКТ.

Авторы настоящей работы взяли за основу этот подход и применили его к кросс-поляризованным (КП) ОКТ-изображениям. В используемой КП ОКТ-системе объект зондируется циркулярно поляризованным светом и производится регистрация сигналов в двух каналах: один канал регистрирует ко-рассеяние, другой — кросс-рассеяние [19], что дает определенные преимущества при проведении количественной оценки изменения поляризационных свойств интимы или фиброзной капсулы на разных стадиях развития атеросклеротической бляшки. Например, методом КП ОКТ можно более надежно и воспроизводимо зарегистрировать поляризационные эффекты: локальное кросс-рассеяние и двулучепреломление, что важно при разработке количественных критериев развития атеросклероза.

Ранее было установлено [20, 21], что использование систем КП ОКТ позволяет лучше распознать структуры с оптической анизотропией и проследить за их изменениями. Кроме того, в последней нашей работе [22] показано, что метод КП ОКТ может повысить надежность и точность визуальной оценки микроструктуры атеросклеротических бляшек благодаря чувствительности к эффектам, связанным с двулучепреломлением и кросс-рассеянием в биоткани.

В работах [23, 24], где объектом исследования служили слизистые оболочки внутренних органов человека, уже представлены результаты количественной обработки КП ОКТ-изображений путем вычисления интегрального фактора деполяризации (ИФД) для при-

жизненного разделения ряда патофизиологических процессов (воспаления, фиброза и неоплазии), связанных главным образом с изменением пространственной и структурной организации коллагеновых волокон. Однако, в отличие от формирования атеросклеротических бляшек, рассматриваемые в данных работах патологические процессы затрагивали значительную часть органа по направлению в глубину, а из поляризационных эффектов преобладало кросс-рассеяние (деполяризация излучения), поэтому ИФД как интегральная величина, автоматически вычисляемая по всему КП ОКТ-изображению, показал высокую диагностическую точность.

Разработка алгоритма количественной обработки КП ОКТ-изображений для характеристики стадий развития атеросклеротических бляшек коронарных артерий по свойствам двулучепреломления и кросс-рассеяния начата нашей группой впервые. Данные поляризационные эффекты не могут быть полностью отделены друг от друга, при этом мы уверены, что их общая разносторонняя количественная оценка повысит надежность и точность интерпретации изображений микроструктуры и определения состава бляшки на разных стадиях развития атеросклероза.

Цель исследования — разработка способа количественной оценки поляризационных свойств (двулучепреломления и кросс-рассеяния), проявляющихся на кросс-поляризованных ОКТ-изображениях для характеристики стадий развития атеросклеротических бляшек и выявления среди них нестабильных.

Материалы и методы. Объектами КП ОКТ-исследований являлись 60 *post mortem* образцов коронарных артерий пациентов (двух мужчин и шести женщин), умерших от сердечно-сосудистых заболеваний в возрасте от 65 до 90 лет. Все образцы получены в ходе аутопсии по протоколу научного исследования, одобренного Этическим комитетом НижГМА (протокол №7 от 26 августа 2014 г.). Артериальные сосуды были получены не позднее 24 ч после смерти, нарезались фрагментами длиной 1–2 см и доставлялись к месту исследования в марле, смоченной фосфатным буфером, при 7°C.

Исследования выполнены на КП ОКТ-устройстве с использованием спектрального принципа приема сигнала, разработанном и сконструированном в Институте прикладной физики РАН (Н. Новгород) [22, 25–27]. Источником света является суперлюминесцентный диод с центральной длиной волны 1310 нм, шириной спектра 100 нм, мощностью излучения 20 мВт, что обеспечивает разрешение по глубине 10 мкм. Прибор одновременно регистрирует два сопряженных изображения: в ко- (верхнее изображение на рисунках) и кросс-поляризациях (нижнее изображение на рисунках).

КП ОКТ-изображения получены со стороны интимы на свежих артериальных образцах (в течение 2 ч после эксцизии). Направление и диапазон сканирования — вдоль сосуда (4 мм) и вглубь (около 1 мм). После получения КП ОКТ-изображений на образце чернилами отмечали область вокруг ОКТ-зонда (6 мм в диаметре),

затем образец фиксировали (в 10% формалине в течение 48 ч) и делали серийные срезы из центральной области, совпадающей с плоскостью получения КП ОКТ-изображения. Серийные срезы окрашивали гематоксилином и эозином и рассматривали в проходящем свете с помощью микроскопа Leica DM2500 DFC (Leica Microsystems, Германия), оснащенного цифровой камерой. Все образцы коронарных артерий были разделены гистопатологоанатомами на группы согласно стадиям развития атеросклероза: незначительное утолщение интимы (I стадия), утолщение интимы с отложением липидов (II/III стадия), стабильная бляшка с фиброзной капсулой и липидным ядром (IV стадия), нестабильная бляшка с тонкой фиброзной капсулой и липидным ядром (Va стадия), фиброкальцинированная бляшка (Vb стадия) и фиброатерома с выраженным фиброзом (Vc стадия) [28–30].

Всего получено и проанализировано 108 пар КП ОКТ- и микроскопических изображений.

Для количественной обработки КП ОКТ-изображений область интереса выделялась вручную, основываясь на гистологических данных и качественных характеристиках ОКТ-изображения. Эта область намеренно содержала только верхнюю часть атеросклеротической бляшки, а именно утолщенную интиму до меди при I–III стадиях, фиброзную капсулу вместе с липидным ядром — при IV стадии, фиброзную капсулу над липидным ядром — при Va стадии, фиброзную капсулу без скоплений кальция — при Vb стадии и утолщенную фиброзную капсулу — при Vc стадии. Такая ручная сегментация изображения позволила нацеленно количественно определять поляризационные свойства строго определенных структур атеросклеротической бляшки.

Количественная обработка КП ОКТ-изображений заключалась в вычислении по выделенным областям ИФД и эффективного коэффициента двулучепреломления (Δn).

В работе использован уже разработанный нами ранее [23, 31, 32] алгоритм вычисления ИФД, который был применен для оценки состояния коллагеновых волокон различных тканей (слизистой оболочки мочевого пузыря, полости рта и аорты). В основе вычисления ИФД лежит усредненное по области интереса отношение яркостей ОКТ-сигнала в кросс-поляризации и в ко-поляризации.

По аналогии с вычислением коэффициента двулучепреломления по ПЧ ОКТ-изображениям [18, 33] для КП ОКТ-изображений (имеющих другой принцип построения) также может быть построена карта эффективного коэффициента двулучепреломления (Δn) как производная по глубине эффективной фазовой задержки:

$$\Delta n(x, z) = \frac{1}{k_0} \frac{\partial}{\partial z} \arctg\left(\frac{10^{I_{xy}(x,z)/10}}{10^{I_{xx}(x,z)/10}}\right),$$

где $I_{xx}(x, z)$ и $I_{xy}(x, z)$ — яркость ОКТ сигнала в ко- и кросс-поляризациях соответственно, выраженная в децибеллах, k_0 — волновой вектор.

Мы называем фазовую задержку и получаемый коэффициент двулучепреломления Δn эффективными, поскольку в формировании КП ОКТ-сигнала участвуют

процессы двулучепреломления и кросс-рассеяния, которые трудно разделить.

Из-за спекл-структуры попиксельное вычисление отношения сигналов ОКТ в кросс- и ко-поляризации может привести к высокому шуму в вычисленных значениях Δn . Для преодоления этого недостатка вычисление Δn проводилось на основании пространственно усредненного ОКТ-сигнала в ко- и кросс-поляризациях (скользящее среднее, усреднение по 10 пикселям), а также выполнялось обнуление величины сигнала в кросс-поляризации для значений, не превышающих уровень шума, поскольку такие пиксели не вносят информативного вклада в обработку изображения.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистического анализа Real Statistics для MS Excel и программы GraphPad Prism 6. Определяли средние значения (M) измеряемых величин и стандартных отклонений среднего ($\pm SD$). Достоверность различий между группами рассчитывали с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Во всех случаях статистически значимыми считали различия при уровне значимости $p < 0,05$. Доверительные интервалы были выражены как $M \pm 2SD$.

Результаты и обсуждение. Используемая система скоростной спектральной КП ОКТ осуществляет регистрацию ОКТ-сигнала в поляризациях, совпадающих с (ко-) и ортогональной (кросс-) исходной, и построение соответствующих ОКТ-изображений. Соотношение между уровнями ОКТ-сигналов в кросс- и ко-поляризациях в отдельно взятой точке зависит от локального кросс-рассеяния и двулучепреломления над наблюдаемой областью.

Анализ КП ОКТ-изображений и карт эффективного двулучепреломления коронарных артерий. Ключевой особенностью начальной стадии развития атеросклеротической бляшки (I стадия) является незначительное утолщение интимы за счет усиления синтеза коллагеновых волокон I типа (рис. 1, а). На полученных КП ОКТ-изображениях все слои (интима, медиа и адвентиция) могут быть хорошо дифференцированы как в ко-, так и в кросс-поляризации (рис. 1, в). Утолщенная интима демонстрирует высокий уровень обратного рассеяния, а медиа, как правило, — более низкий уровень. Адвентиция может также визуализироваться, имея гетерогенный, но, как правило, высокий уровень обратного рассеяния. На карте Δn в выделенной области (черный прямоугольник на рис. 1, д) можно наблюдать изменение поляризационных свойств незначительно утолщенной интимы. Видно, что в целом преобладают более высокие значения Δn с более однородным распределением по поперечной координате. Наряду с гистологией это свидетельствует об организованности и упорядоченности коллагеновых волокон в исследуемой области.

При отложении в стенке сосуда липидов (II/III стадия развития бляшки) происходит небольшое нарушение в организации коллагеновых и эластических волокон в утолщенной интиме в виде их слабого фибриноидного набухания и частичной фрагментации (рис. 1, б).

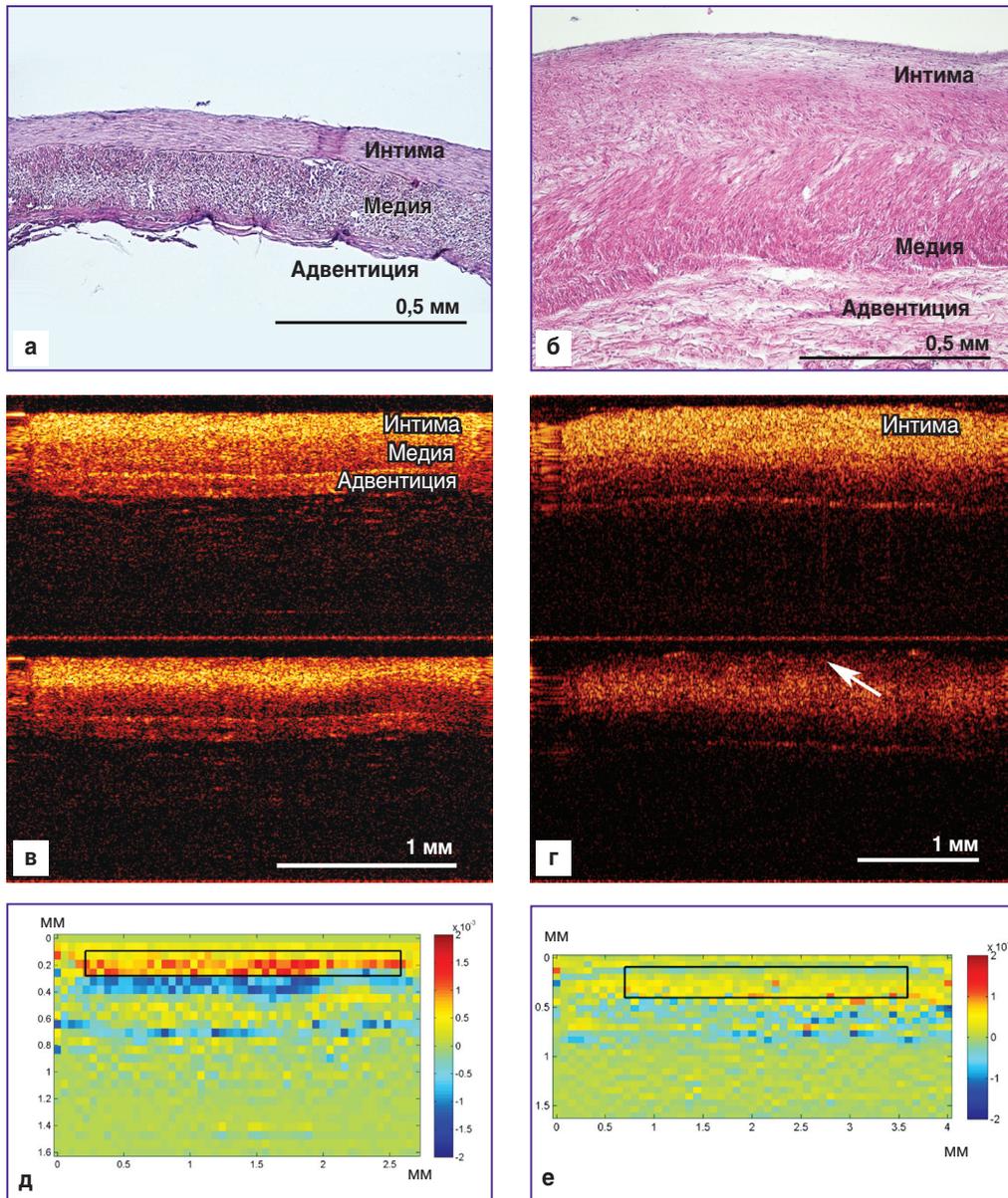


Рис. 1. Гистологические и КП ОКТ-изображения утолщенной интимы незначительно измененной стенки коронарной артерии — I стадия бляшки (левая колонка) и с отложением в ней липидов — II стадия бляшки (правая колонка): гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином (а, б); КП ОКТ-изображения (в, г); карты Δl (д, е). Здесь: в ко-поляризации — верхняя часть изображения, в кросс-поляризации — нижняя часть изображения; радужные шкалы — цветовая кодировка значений Δl

При этом кросс-поляризационный канал показывает снижение уровня обратного рассеяния на поверхности (рис. 1, г, стрелка). Кроме того, на карте Δl видно снижение значений и нарушение однородности распределения Δl в области утолщенной интимы (рис. 1, е) по сравнению с I стадией (рис. 1, д).

Стабильные и нестабильные атеросклеротические бляшки (IV и Va стадии соответственно) могут иметь схожий размер и не приводить к видимому сужению просвета сосуда, поэтому трудно дифференцируются общепринятыми методами внутрисосудистой визуализации [34]. При этом внутреннее устройство фиброзной капсулы и липидного ядра у них совершенно различно.

Фиброатерома (IV стадия), как правило, характеризуется наличием небольшого липидного ядра, покрытого фиброзной капсулой (рис. 2, а). Фиброзная капсула преимущественно содержит плотно расположенные и упорядоченные коллагеновые и эластические волокна в фазе слабого фибриноидного набухания, что обеспечивает стабильность бляшки. На КП ОКТ-изображении в кросс-поляризации видна темная полоса, обусловленная двулучепреломлением (рис. 2, в, нижнее изображение, стрелка). Карта Δl в области волокнистых компонентов фиброзной капсулы характеризуется высокими значениями Δl , в области скопления липидов — низкими значениями (рис. 2, д).

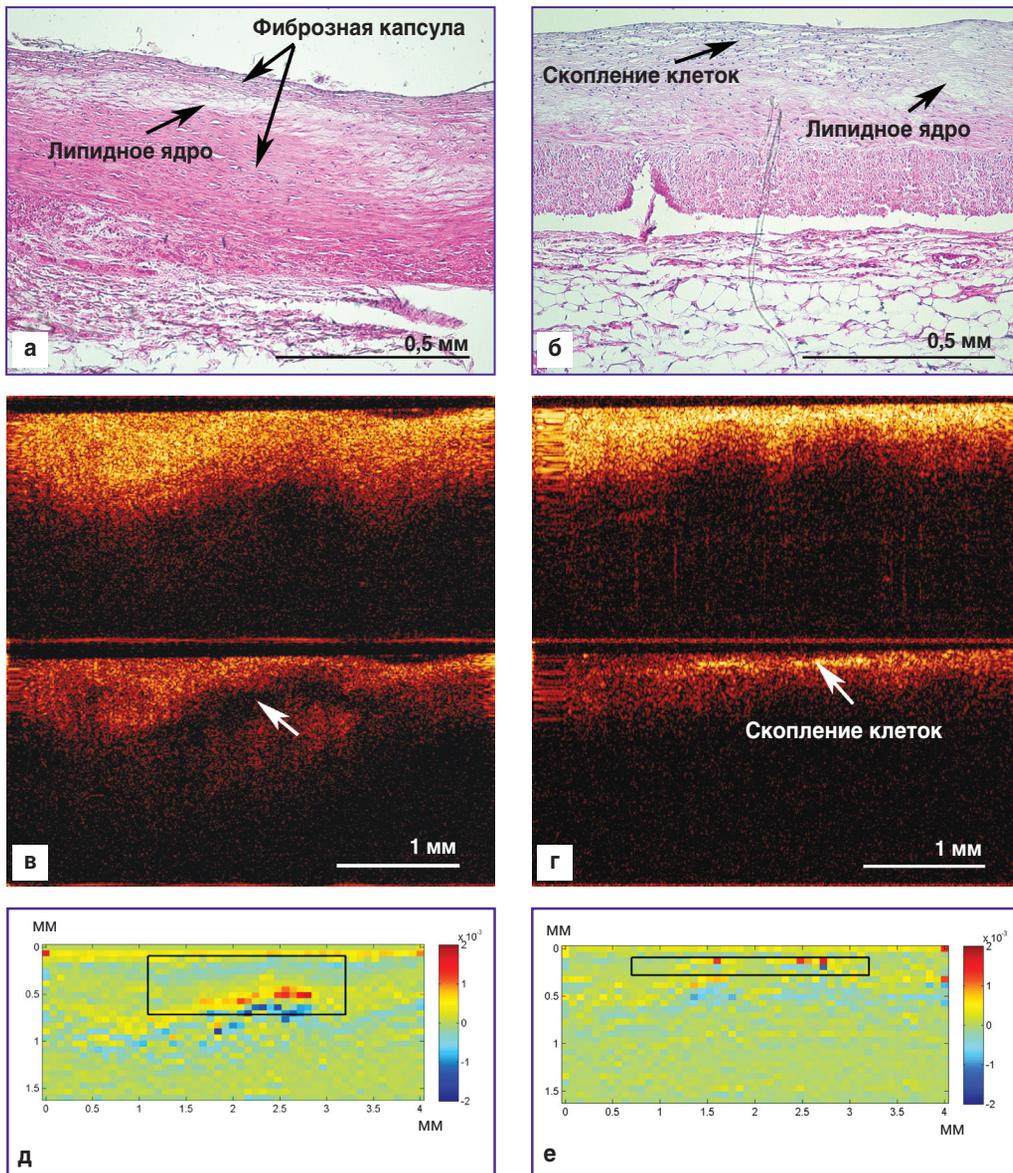


Рис. 2. Гистологические и КП ОКТ-изображения стабильной — IV стадия (левая колонка) и нестабильной — Va стадия (правая колонка) атеросклеротических бляшек: гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином (а, б); КП ОКТ-изображения (в, г); карты ΔI (д, е). Здесь: в ко-поляризации — верхняя часть изображения, в кросс-поляризации — нижняя часть изображения; радужные шкалы — цветовая кодировка значений ΔI

Морфологически Va стадия бляшки в отличие от IV стадии имеет нестабильную фиброзную капсулу, в состав которой входят дезорганизованные в процессе воспаления волокна коллагена и эластина над липидным ядром и скопления пенистых клеток и клеток воспаления (рис. 2, б). На КП ОКТ-изображении в ко-поляризации верхний слой фиброзной капсулы визуализируется как область с высоким гомогенным ОКТ-сигналом, быстро уменьшающимся с глубиной (рис. 2, г, верхнее изображение). В кросс-поляризации соответствующая область демонстрирует гетерогенный ОКТ-сигнал с «яркими» конгломератами, обеспечивающими скачки кросс-рассеяния (см. рис. 2, г, нижнее изображение, стрелка). Сигнал такого характера

указывает на присутствие скоплений клеток воспаления и пенистых клеток в области разрушенных волокон фиброзной капсулы. При анализе изображения это может служить в качестве индикатора нестабильности бляшки. Соответственно, на карте ΔI такие скачки кросс-рассеяния хорошо видны как области высокого значения ΔI на фоне низких значений от дезорганизованных волокон в тонкой фиброзной капсуле (рис. 2, е, черный прямоугольник).

На КП ОКТ-изображениях бляшка с кальцинозом (Vb стадия) в ко-поляризации визуализируется как область с высоким уровнем сигнала и резко выраженной границей в области скопления солей кальция в липидном ядре (рис. 3, в, верхнее изображение), как

и на традиционных ОКТ-изображениях, полученных другими исследователями, например [3]. Однако КП ОКТ-изображение дает больше информации о состоянии фиброзной капсулы в этом типе бляшек. В ко- и кросс-поляризации наблюдается высокий уровень обратного рассеяния (см. рис. 3, в), что свидетельствует о содержании упорядоченных коллагеновых волокон в бляшке (в отличие от нестабильной). В данном случае они находятся в стадии фибриноидного набухания, но сохраняют соосную ориентацию вдоль просвета сосуда и стабильность фиброзной капсулы бляшки (рис. 3, а). На карте Δl в целом преобладают более высокие значения, но по поперечной координате заметно чередование высоких значений с более низкими (рис. 3, д, черный прямоугольник).

На КП ОКТ-изображении фиброатеромы с выраженным фиброзом (Vc стадия) упорядоченно расположенные волокна коллагена в утолщенной фиброзной капсуле (рис. 3, б) обладают выраженным двулучепреломлением (рис. 3, г). Эффективный коэффициент двулучепреломления Δl также в целом имеет более высокие значения, но в отличие от Vb стадии эти значения более однородны по поперечной координате (рис. 3, е).

Подводя итог способности КП ОКТ визуализировать разные стадии атеросклеротических бляшек коронарных артерий человека, можно утверждать, что анализ карт эффективного коэффициента двулучепреломления Δl в конкретной области ткани позволяет с большей уверенностью интерпретировать изображения в ко- и кросс-поляризациях. Так, при начальных стадиях

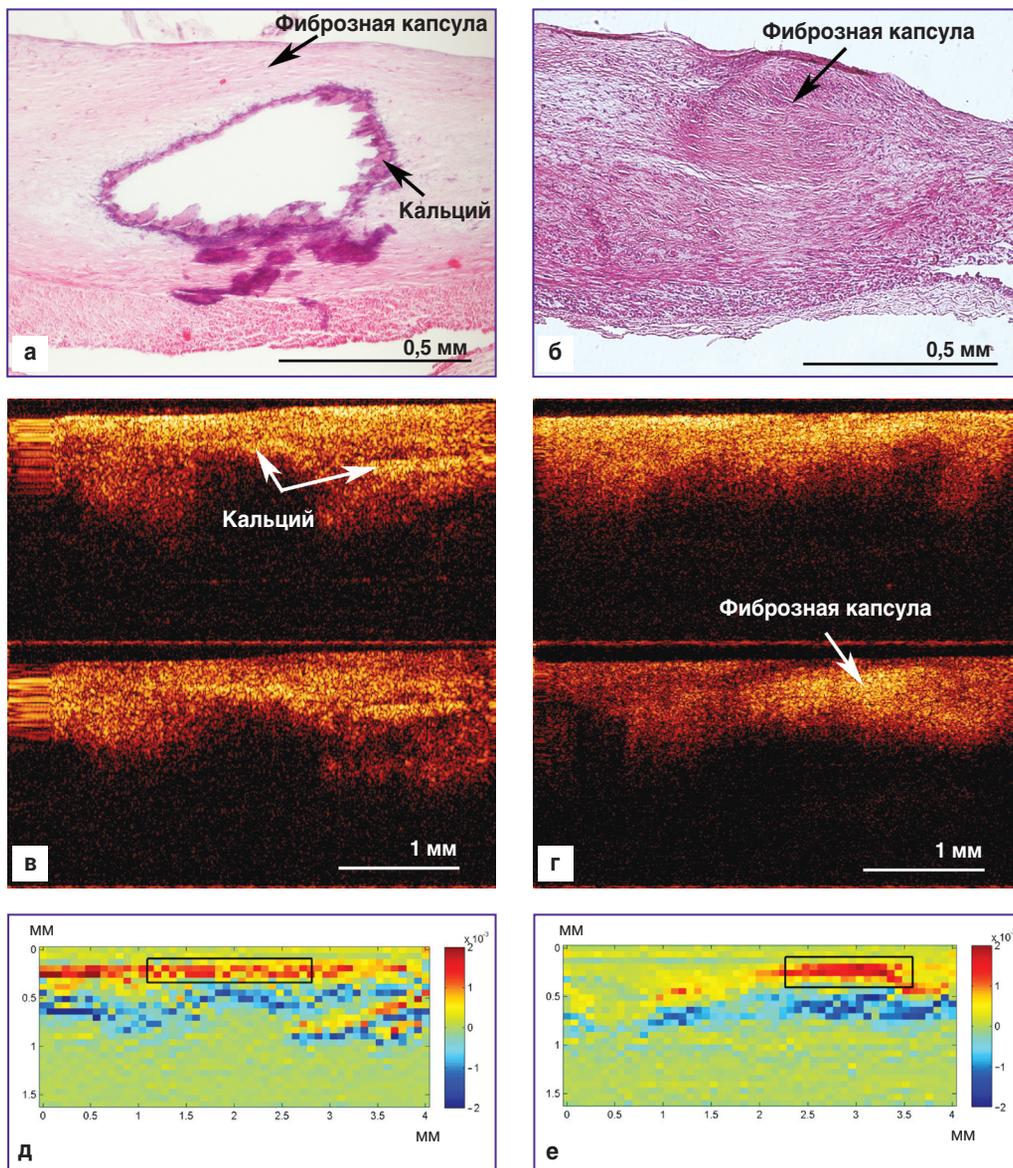


Рис. 3. Гистологические и КП ОКТ-изображения атеросклеротической бляшки с кальцинозом — Vb стадия (левая колонка) и выраженным фиброзом — Vc стадия (правая колонка): гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином (а, б); КП ОКТ-изображения (в, г); карты Δl (д, е). Здесь: в ко-поляризации — верхняя часть изображения, в кросс-поляризации — нижняя часть изображения; радужные шкалы — цветовая кодировка значений Δl

развития атеросклеротической бляшки (утолщенная интима) на картах Δl видно, что кросс-рассеяние — высокое и характеризуется однородным распределением Δl по поперечной координате (см. рис. 1, д). На картах Δl для фиброзных и фиброкальцинированных бляшек Δl также имеет высокие значения в области упорядоченных волокон, но его распределение по поперечной координате менее однородно (см. рис. 3, д, е). Кроме того, карты Δl при II/III, IV и Va стадиях развития бляшки показывают в целом неоднородное распределение по поперечной координате низких и высоких значений Δl (рис. 1, е и 2, д, е). Такие изменения связаны с отложением в интима липидов при II/III и IV стадиях, а также с преобладанием дезорганизованных в процессе воспаления волокон в фиброзной капсуле нестабильной бляшки при Va стадии, что приводит к резким скачкам сигнала в кросс-канале.

Количественная обработка КП ОКТ-изображений. Следует отметить, что при исследовании атеросклероза коронарных артерий человека с толщиной стенки в норме ≈ 1 мм, в ситуации, когда интерес сосредоточен в локальной области (интима или фиброзная капсула), толщина которой в критических ситуациях может составлять менее 65 мкм [35], в подавляющем большинстве случаев требуется сегментация КП ОКТ-изображения и расчет характеристик его определенного участка.

В этом исследовании проведена количественная оценка поляризационных характеристик (кросс-рассеяния и двулучепреломления) атеросклеротических бляшек только для области интереса (утолщенной интима или фиброзной капсулы), основанная на данных гистологии.

1. **Результаты вычисления ИФД** (табл. 1) демонстрируют статистически значимое различие ($p < 0,05$) между начальной (I) и «крайними» стадиями развития бляшки — нестабильной бляшкой (Va) и фиброатеромой с выраженным фиброзом (Vc стадия) (рис. 4). Используя ИФД, можно достоверно дифференцировать и клинически значимые состояния бляшки коронарных артерий — IV и Va стадии ($p < 0,05$), которые обе имеют фиброзные капсулы и липидное ядро, но отличаются по состоянию фиброзной капсулы.

Таким образом, ИФД позволяет характеризовать локальную способность ткани к кросс-рассеянию и двулучепреломлению, где низкие значения в исследуемой области указывают на нарушение содержания коллагеновых и эластических волокон фиброзной капсулы бляшек.

2. **Эффективный коэффициент двулучепреломления (Δl)** характеризует локальную разность показателей преломления для обыкновенной и необыкновенной волн в отдельных структурных компонентах атеросклеротической бляшки.

Внутри области интереса на карте Δl нами вычислялось среднее значение Δl , которое дает представление о локальном распределении способности ткани к двулучепреломлению и кросс-рассеянию, тем самым позволяя более надежно выделять области с нарушением организованности коллагеновых и эластических волокон фиброзной капсулы стабильной и нестабильной бляшек.

Результаты вычисления эффективного коэффициента двулучепреломления Δl (табл. 2, рис. 5) по интересующей области КП ОКТ-изображений при разных стадиях развития атеросклеротических бляшек показали следующее:

Таблица 1

Результаты вычисления интегрального фактора деполяризации (ИФД) по КП ОКТ-изображениям и их доверительные интервалы (ДИ) по стадиям развития атеросклеротической бляшки

ИФД	I стадия (n=11)	II/III стадия (n=17)	IV стадия (n=13)	Va стадия (n=19)	Vb стадия (n=27)	Vc стадия (n=21)
M \pm SD	0,51 \pm 0,04	0,14 \pm 0,05	0,46 \pm 0,21	0,09 \pm 0,04	0,41 \pm 0,19	1,06 \pm 0,46
95% ДИ	0,47–0,55	0,11–0,16	0,29–0,62	0,07–0,12	0,31–0,51	0,83–1,29

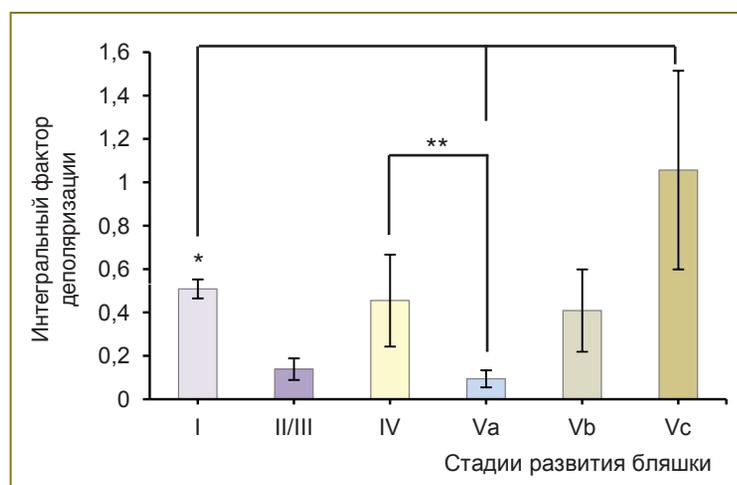


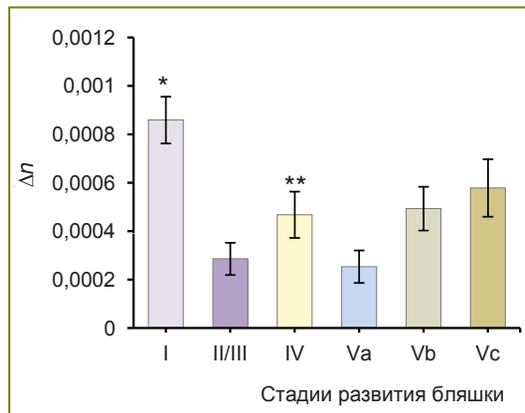
Рис. 4. Гистограмма распределения интегрального фактора деполяризации при всех стадиях развития атеросклеротической бляшки. * — статистически значимое различие между I, Va и Vc стадиями развития бляшки, $p < 0,05$; ** — между стабильной (IV) и нестабильной (Va) стадиями бляшек, $p < 0,05$ (критерий Манна–Уитни)

Таблица 2

Результаты вычисления эффективного коэффициента двулучепреломления (Δn) по КП ОКТ-изображениям и их доверительные интервалы (ДИ) по стадиям развития атеросклеротической бляшки

Δn	I стадия (n=11)	II/III стадия (n=17)	IV стадия (n=13)	Va стадия (n=19)	Vb стадия (n=27)	Vc стадия (n=21)
(M \pm SD) $\cdot 10^{-3}$	0,86 \pm 0,10	0,29 \pm 0,07	0,47 \pm 0,10	0,25 \pm 0,07	0,49 \pm 0,09	0,58 \pm 0,12
(95% ДИ) $\cdot 10^{-3}$	0,77–0,95	0,25–0,32	0,40–0,54	0,22–0,29	0,45–0,54	0,52–0,64

Рис. 5. Гистограммы распределения Δn при всех стадиях развития атеросклеротической бляшки; * — статистически значимое различие значений между I и всеми последующими стадиями развития бляшки, $p < 0,05$; ** — между стабильной (IV) и нестабильной (Va) стадиями развития бляшек, $p < 0,05$ (критерий Манна–Уитни)



высокие средние значения Δn указывают на присутствие большого количества анизотропных структур (коллагеновых и эластических волокон), распределенных однородно и упорядоченно в утолщенной интиме/фиброзной капсуле при I, IV, Vb и Vc стадиях;

низкие средние значения Δn указывают на незначительное содержание анизотропных структур (коллагеновых и эластических волокон), неоднородно и слабоупорядоченно распределенных в утолщенной интиме при начальном отложении в ней липидов (II/III) и тонкой (нестабильной) фиброзной капсуле при Va стадии;

присутствие скопления клеток воспаления при Va стадии обуславливает локальные высокие значения Δn , что может служить индикатором нестабильности бляшки.

В ходе исследования установлено, что среднее Δn организованных упорядоченно расположенных коллагеновых и эластических волокон в незначительно утолщенной интиме при начальной стадии развития бляшки (I стадия) статистически значимо больше, чем дезорганизованных волокон последующих стадий развития бляшки ($p < 0,05$). При этом высокие значения Δn при I, IV, Vb и Vc стадиях указывают на преобладание в интиме или фиброзной капсуле бляшек данных стадий высокого содержания коллагеновых и эластических волокон. Низкие значения Δn при II/III и Va стадиях указывают на преобладание в интиме или фиброзной капсуле бляшек данных стадий дезорганизованных, разрушенных коллагеновых и эластических волокон.

Важным результатом работы является факт статистически значимого различия значений используемых показателей: ИФД — 0,09 против 0,46 ($p < 0,05$) и Δn — 0,25 $\cdot 10^{-3}$ против 0,47 $\cdot 10^{-3}$ ($p < 0,05$) для нестабильных (Va

стадия) и стабильных (IV стадия) бляшек соответственно (рис. 4 и 5). Этот факт подтверждает существенную дезорганизацию структур, отвечающих за поляризационные свойства, при Va стадии. Также установлено, что Δn в диапазоне значений (0,22–0,29) $\cdot 10^{-3}$ (в пределах двух стандартных отклонений) указывают на низкое содержание высокоорганизованного коллагена в фиброзной капсуле нестабильной бляшки, что может свидетельствовать о ее склонности к разрыву.

При вычислении ИФД и среднего Δn применен подход с ручным субъективным выделением области интереса на картах Δn , поэтому результаты обработки КП ОКТ-изображений мы расцениваем больше как количественную характеристику поляризационных свойств атеросклеротической бляшки на разных этапах ее развития, а не как нахождение критериев для независимой диагностики бляшки методом КП ОКТ. Тем не менее сделан важный шаг в направлении количественной обработки КП ОКТ-изображений атеросклеротических бляшек коронарных артерий, и в дальнейшем результаты данной работы могут служить основой для разработки более совершенных алгоритмов автоматической обработки изображения, включающей автоматическую сегментацию и/или другие средства для получения объективных результатов, конечной целью которой будет дифференциальная диагностика стадий атеросклероза.

Заключение. При исследовании патологически измененной стенки коронарных артерий человека карты эффективного двулучепреломления, построенные по КП ОКТ-изображениям, позволяют судить об организации и ориентации анизотропных структур в атеросклеротических бляшках.

Вычисление ИФД и Δl позволяет получить важную информацию о локальном функциональном состоянии интимы/фиброзной капсулы бляшки коронарных артерий. Эти количественные характеристики кросс-рассеяния и двулучепреломления в анизотропной структуре коронарных артерий позволили различать функциональное состояние коллагеновых и эластических волокон фиброзной капсулы стабильной и нестабильной атеросклеротической бляшек, что согласуется с результатами морфометрического анализа. Установлено, что низкие значения ИФД и Δl указывают на низкое содержание высокоорганизованного коллагена в фиброзной капсуле нестабильной бляшки — это может свидетельствовать о ее склонности к разрыву. Мы полагаем, что такие изменения связаны с преобладанием в процессе воспаления в фиброзной капсуле нестабильной бляшки дезорганизованных волокон и наличием между ними скопления пенистых клеток и клеток воспаления.

Продемонстрированный подход к количественной оценке поляризационных свойств атеросклеротической бляшки на разных этапах ее развития в дальнейшем может служить основой для автоматической независимой диагностики нестабильной бляшки методом КП ОКТ.

Благодарность. Численная обработка изображений была поддержана грантом РФФИ №15-32-20250_мол_а_вед. Медико-биологическая часть работы, а также работа по анализу эффективности алгоритмов обработки изображений и выбору наиболее оптимальных численных характеристик была поддержана Российским научным фондом, соглашение №14-15-00538 (ЕВГ, МЮК, ЛБТ, ССК, НДГ).

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература/References

1. Brezinski M.E., Tearney G.J., Weissman N.J., Boppart S.A., Bouma B.E., Hee M.R., Weyman A.E., Swanson E.A., Southern J.F., Fujimoto J.G. Assessing atherosclerotic plaque morphology: comparison of optical coherence tomography and high frequency intravascular ultrasound. *Heart* 1997; 77(5): 397–404, <http://dx.doi.org/10.1136/hrt.77.5.397>.
2. Fujimoto J.G., Boppart S.A., Tearney G.J., Bouma B.E., Pitris C., Brezinski M.E. High resolution in vivo intra-arterial imaging with optical coherence tomography. *Heart* 1999; 82(2): 128–133, <http://dx.doi.org/10.1136/hrt.82.2.128>.
3. Yabushita H., Bouma B.E., Houser S.L., Aretz H.T., Jang I.K., Schlendorf K.H., Kauffman C.R., Shishkov M., Kang D.H., Halpern E.F., Tearney G.J. Characterization of human atherosclerosis by optical coherence tomography. *Circulation* 2002; 106(13): 1640–1645, <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.0000029927.92825.F6>.
4. Jang I.K., Bouma B.E., Kang D.H., Park S.J., Park S.W., Seung K.B., Choi K.B., Shishkov M., Schlendorf K., Pomerantsev E., Houser S.L., Aretz H.T., Tearney G.J. Visualization of coronary atherosclerotic plaques in patients using optical coherence tomography: comparison with intravascular ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39(4): 604–609, [http://dx.doi.org/10.1016/s0735-1097\(01\)01799-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0735-1097(01)01799-5).

5. Stamper D., Weissman N.J., Brezinski M. Plaque characterization with optical coherence tomography. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47(8): C69–C79, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2005.10.067>.
6. Brezinski M.E. Optical coherence tomography for identifying of unstable coronary plaque. *Int J Cardiol* 2006; 107(2): 159–170, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2005.07.066>.
7. Tearney G.J., Yabushita H., Houser S.L., Aretz H.T., Jang I.K., Schlendorf K.H., Kauffman C.R., Shishkov M., Halpern E.F., Bouma B.E. Quantification of macrophage content in atherosclerotic plaques by optical coherence tomography. *Circulation* 2003; 107(1): 113–119, <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.0000044384.41037.43>.
8. Tearney G.J., Jang I.K., Bouma B.E. Optical coherence tomography for imaging the vulnerable plaque. *J Biomed Opt* 2006; 11(2): 021002, <http://dx.doi.org/10.1117/1.2192697>.
9. Kubo T., Xu C., Wang Z., Ditzhuijzen N.S., Bezerra H.G. Plaque and thrombus evaluation by optical coherence tomography. *Int J Cardiovasc Imaging* 2011; 27(2): 289–298, <http://dx.doi.org/10.1007/s10554-010-9790-1>.
10. Flueraru C., Popescu D.P., Mao Y., Chang S., Sowa M.G., Vitkin A. Improved arterial tissue differentiation by spectroscopic optical coherence tomography. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2015; 7(1): 13–20, <http://dx.doi.org/10.17691/stm2015.7.1.02>.
11. Nadkarni S.K., Pierce M.C., Park B.H., de Boer J.F., Whittaker P., Bouma B.E., Bressner J.E., Halpern E., Houser S.L., Tearney G.J. Measurement of collagen and smooth muscle cell content in atherosclerotic plaques using polarization-sensitive optical coherence tomography. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49(13): 1474–1481, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2006.11.040>.
12. de Boer J.F., Milner T.E., van Gemert M.J.C., Nelson J.S. Two dimensional birefringence imaging in biological tissue by polarization-sensitive optical coherence tomography. *Opt Lett* 1997; 22(12): 934–936, <http://dx.doi.org/10.1364/ol.22.000934>.
13. Lim Y., Yamanari M., Fukuda S., Kaji Y., Kiuchi T., Miura M., Oshika T., Yasuno Y. Birefringence measurement of cornea and anterior segment by office-based polarization-sensitive optical coherence tomography. *Biomed Opt Express* 2011; 2(8): 2392–2402, <http://dx.doi.org/10.1364/boe.2.002392>.
14. Liu B., Harman M., Giattina S. Characterizing of tissue microstructure with single-detector polarization-sensitive optical coherence tomography. *Appl Opt* 2006; 45(18): 4464–4479, <http://dx.doi.org/10.1364/ao.45.004464>.
15. Giattina S.D., Courtney B.K., Herz P.R., Harman M., Shortkroff S., Stamper D.L., Liu B., Fujimoto J.G., Brezinski M.E. Assessment of coronary plaque collagen with polarization sensitive optical coherence tomography (PS-OCT). *Int J Cardiol* 2006; 107(3): 400–409, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2005.11.036>.
16. Nadkarni S., Pierce M., Park H., deBoer J., Houser S., Bressner J., Bouma B., Tearney G. Polarization-sensitive optical coherence tomography for the analysis of collagen content in atherosclerotic plaques. *Circulation* 2005; 112(17): U679–U679.
17. Kuo W.-C., Chou N.K., Chou C., Lai C.M., Huang H.J., Wang S.S., Shyu J.J. Polarization-sensitive optical coherence tomography for imaging human atherosclerosis. *Appl Opt* 2007; 46(13): 2520–2527, <http://dx.doi.org/10.1364/ao.46.002520>.
18. Kuo W.-C., Hsiung M.-W., Shyu J.-J., Chou N.-K., Yang P.-N. Assessment of arterial characteristics in human atherosclerosis by extracting optical properties from polarization-

- sensitive optical coherence tomography. *Opt Express* 2008; 16(11): 8117–8125, <http://dx.doi.org/10.1364/oe.16.008117>.
19. Gelikonov V.M., Gelikonov G.V. New approach to cross-polarized optical coherence tomography based on orthogonal arbitrarily polarized modes. *Laser Physics Letters* 2006; 3(9): 445–451, <http://dx.doi.org/10.1002/lapl.200610030>.
20. de Boer J.F., Srinivas S.M., Nelson J.S., Milner T.E., Ducros M.G. Polarization-sensitive optical coherence tomography. In: *Handbook of optical coherence tomography*. Bouma B.E., Tearney G.J. (editors). CRC Press 2001; p. 237–274, <http://dx.doi.org/10.1201/b14024-10>.
21. Kuranov R.V., Sapozhnikova V.V., Turchin I.V., Zagaynova E.V., Gelikonov V.M., Kamensky V.A., Snopova L.B., Prodanetz N.N. Complementary use of cross-polarization and standard OCT for differential diagnosis of pathological tissues. *Opt Express* 2002; 10(15): 707–713, <http://dx.doi.org/10.1364/OE.10.000707>.
22. 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 G.V., Vitkin A., Gladkova N.D. Multimodal optical imaging characterization of atherosclerotic plaques. *J Biophotonics* 2015; accepted for publication 04.11.15.
23. Kiseleva E., Kirillin M., Feldchtein F., Vitkin A., Sergeeva E., Zagaynova E., Streltsova O., Shakhov B., Gubarkova E., Gladkova N. Differential diagnosis of human bladder mucosa pathologies in vivo with cross-polarization optical coherence tomography. *Biomed Opt Express* 2015; 6(4): 1464–1476, <http://dx.doi.org/10.1364/BOE.6.001464>.
24. Gladkova N., Kiseleva E., Robakidze N., Balalaeva I., Karabut M., Gubarkova E., Feldchtein F. Evaluation of oral mucosa collagen condition with cross-polarization optical coherence tomography. *J Biophotonics* 2013; 6(4): 321–329, <http://dx.doi.org/10.1002/jbio.201200059>.
25. Gelikonov V., Gelikonov G., Shilyagin P. Optimization of Fizeau-based optical coherence tomography with a reference Michelson interferometer. *Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics* 2008; 72(1): 93–97.
26. Gelikonov V.M., Gelikonov G.V., Shilyagin P.A. Linear-wavenumber spectrometer for high-speed spectral-domain optical coherence tomography. *Opt Spectrosc* 2009; 106(3): 459–465, <http://dx.doi.org/10.1134/s0030400x09030242>.
27. Moiseev A.A., Gelikonov G.V., Terpelov D.A., Shilyagin P.A., Gelikonov V.M. Noniterative method of reconstruction optical coherence tomography images with improved lateral resolution in semitransparent media. *Laser Physics Letters* 2013; 10(12): 125601, <http://dx.doi.org/10.1088/1612-2011/10/12/125601>.
28. Stary H.C., Chandler A.B., Dinsmore R.E., Fuster V., Glagov S., Insull W.J., Rosenfeld M.E., Schwartz C.J., Wagner W.D., Wissler R.W. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15(9): 1512–1531, <http://dx.doi.org/10.1161/01.atv.15.9.1512>.
29. Virmani R., Kolodgie P.D., Burke A.P., Farb A., Schwartz S.M. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(5): 1262–1275, <http://dx.doi.org/10.1161/01.atv.20.5.1262>.
30. Рагино Ю.И., Волков А.М., Чернявский А.М. Стадии развития атеросклеротического очага и типы нестабильных бляшек — патофизиологическая и гистологическая характеристика. *Российский кардиологический журнал* 2013; 5(103): 88–95. Ragino Y.I., Volkov A.M., Cherniavsky A.M. Stages of development of atherosclerotic hearth and types of unstable plaques — pathophysiological and histological characteristics. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal* 2013; 5(103): 88–95.
31. Киселева Е.Б., Гладкова Н.Д., Сергеева Е.А., Кириллин М.Ю., Губарькова Е.В., Карабут М.М., Балалаева И.В., Стрельцова О.С., Робакидзе Н.С., Масленикова А.В., Кочуева М.В. Способ оценки функционального состояния коллагенсодержащих тканей. Заявка на изобретение №2013135571 от 29.07.2013. Kiseleva E.B., Gladkova N.D., Sergeeva E.A., Kirillin M. Yu., Gubarkova E.B., Karabut M.M., Balalaeva I.V., Strel'tsova O.S., Robakidze N.S., Maslennikova A.V., Kochueva M.V. *Sposob otsenki funktsional'nogo sostoyaniya kollagensoderzhashchikh tkaney. Zayavka na izobretenie No.2013135571 ot 29.07.2013* [Method for evaluating the functional state of collagen tissue. The application for the invention No.2013135571 from 29.07.2013].
32. Gubarkova E.V., Kirillin M.Yu., Sergeeva E.A., Kiseleva E.B., Snopova L.B., Prodanets N.N., Sharabrin E.G., Shakhov E.B., Nemirova S.V., Gladkova N.D. Cross-polarization optical coherence tomography in evaluation of atherosclerotic plaque structure. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2013; 5(4): 45–55.
33. Kuo W.-C. Polarization-sensitive optical coherence tomography in cardiology. In: *Advances in lasers and electro optics*. InTech; 2010, <http://dx.doi.org/10.5772/8660>.
34. Tearney G.J., Regar E., Akasaka T., Adriaenssens T., Barlis P., Bezerra H.G., Bouma B., Bruining N., Cho J.-m., Chowdhary S., Costa M.A., de Silva R., Dijkstra J., Di Mario C., Dudeck D., Falk E., Feldman M.D., Fitzgerald P., Garcia H., Gonzalo N., Granada J.F., Guagliumi G., Holm N.R., Honda Y., Ikeno F., Kawasaki M., Kochman J., Koltowski L., Kubo T., Kume T., Kyono H., Lam C.C.S., Lamouche G., Lee D.P., Leon M.B., Maehara A., Manfrini O., Mintz G.S., Mizuno K., Morel M.-a., Nadkarni S., Okura H., Otake H., Pietrasik A., Prati F., Räber L., Radu M.D., Rieber J., Riga M., Rollins A., Rosenberg M., Sirbu V., Serruys P.W.J.C., Shimada K., Shinke T., Shite J., Siegel E., Sonada S., Suter M., Takarada S., Tanaka A., Terashima M., Troels T., Uemura S., Ughi G.J., van Beusekom H.M.M., van der Steen A.F.W., van Es G.-A., van Soest G., Virmani R., Waxman S., Weissman N.J., Weisz G. Consensus standards for acquisition, measurement, and reporting of intravascular optical coherence tomography studies. A report from the International Working Group for Intravascular Optical Coherence Tomography Standardization and Validation. *J Am Coll Cardiol* 2012; 59(12): 1058–1072, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2011.09.079>.
35. Virmani R., Burke A.P., Farb A., Kolodgie P.D. Pathology of unstable plaque. *Prog Cardiovasc Dis* 2002; 44(5): 349–356, <http://dx.doi.org/10.1053/pcad.2002.122475>.