

*На правах рукописи*

Плеханов Антон Андреевич

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ УПРУГИХ СВОЙСТВ ТКАНИ  
МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ЭЛАСТОГРАФИИ  
ДЛЯ ОЦЕНКИ ОТВЕТА ОПУХОЛИ НА ТЕРАПИЮ  
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

1.5.2 – Биофизика

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Нижний Новгород – 2022

**Работа выполнена на базе:** НИИ Экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Приволжский исследовательский медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**Гладкова Наталья Дороевна**

**Научный консультант:**

доктор физико-математических наук

**Зайцев Владимир Юрьевич**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор

**Борсуков Алексей Васильевич**

ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава

России, ПНИЛ «Диагностические исследования и малоинвазивные технологии», директор

доктор биологических наук

**Максимов Георгий Владимирович**

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»,

кафедра биофизики биологического факультета, профессор

**Ведущая организация:**

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

Защита диссертации состоится «    » \_\_\_\_\_ 2022 г. в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 21.2.058.07 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

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

Автореферат разослан «    » \_\_\_\_\_ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор



**Кягова Алла Анатольевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность

Ответ солидных опухолей на лекарственную терапию в клинической практике традиционно оценивается по системе RECIST (Response evaluation criteria in solid tumors), основанной на определении размеров опухоли, измеренных классическими диагностическими методами – рентгеноскопией, ультразвуковой диагностикой, магнитно-резонансной и компьютерной томографией [E.A. Eisenhauer, 2009]. Классический подход предполагает подтверждение результатов терапевтического воздействия на послеоперационном этапе золотым стандартом гистологического исследования. Однако применение новых методов противоопухолевой терапии требует новых подходов к оценке терапевтического ответа, позволяющих получать информацию о многообразии биологических свойств и функциональном состоянии опухоли.

На доклиническом этапе эффективность новых противоопухолевых препаратов оценивается по стандартным критериям, в том числе, по торможению роста опухоли и увеличению продолжительности жизни животных, ориентируясь, в первую очередь, на размер опухолевого узла [G.S. Herter-Sprie, 2013]. Такая оценка предполагает продолжительное наблюдение.

Действие лекарственных агентов напрямую или косвенно направлено на гибель опухолевых клеток. Комплекс индуцированных терапией деструктивных изменений структуры опухоли именуется ответом опухоли на лечение или лечебным патоморфозом [A.H. Грабовой, 2012]. Известно, что морфология мягких биотканей (к которым, в том числе относятся солидные опухоли) определяет их упругие свойства [A.B. Кобелев, 2012]. Исходя из этого, стоит полагать, что патоморфологические изменения опухолевой структуры повлекут за собой изменения её упругих свойств.

Упругие свойства характеризуют способность ткани при сжатии сопротивляться упругим деформациям, количественно выражаются *модулем Юнга*, также часто называемым *модулем упругости* (единица изменения – Паскаль – Па) [С.Р. Аглям, 2000]. В медицинской диагностике уже много веков применяется ручная пальпация, но только в недавнее время появились инструментальные средства и алгоритмы, позволяющие получать количественную оценку упругих свойств с высокой точностью на различной глубине [Л.В. Осипов, 2011]. Методы УЗИ и МРТ были дополнены функцией эластографии для дифференциации доброкачественных и злокачественных образований, что позволило увеличить точность и специфичность диагностики [Б.И. Зыкин, 2012]. Методы УЗИ- и МРТ-эластографии способны определять локализацию и осуществлять мониторинг изменения размеров опухоли, но в силу недостаточной разрешающей способности не ставят перед собой задачи изучения опухолевой морфологии [B.F. Kennedy, 2017]. Стремительно развивающийся в последнее десятилетие метод **компрессионной оптической когерентной эластографии (ОКЭ)** характеризуется высокой разрешающей способностью (40-50 мкм) и способностью проведения на микроуровне прижизненных малоинвазивных (не повреждающих целостность биоткани) исследований без использования контрастирующих агентов [V.Y. Zaitsev, 2020]. Метод ОКЭ визуализирует пространственное распределение упругих свойств в масштабе групп клеток и позволяет детектировать морфологическую структуру опухолевой ткани и патоморфологические изменения в ответ на противоопухолевую терапию по изменению упругих свойств ткани.

**Цель работы** состоит в обосновании использования упругих свойств ткани, измеренных методом оптической когерентной эластографии (ОКЭ), для выявления гистологических структур биологической ткани и оценки эффективности противоопухолевой терапии.

#### **Задачи:**

1. Определить диапазоны значений модуля упругости гистологических структур, возникающих при воздействии таргетного антиангиогенного и алкилирующего препаратов на экспериментальные опухоли, методом ОКЭ.
2. Произвести сегментацию ОКЭ изображений на основе найденных характерных диапазонов значений модуля упругости гистологических структур и определить уровень корреляции результатов ОКЭ-сегментации с результатами традиционного гистологического сегментирования.
3. Определить степень ответа экспериментальной опухоли на химиотерапию по процентному содержанию жизнеспособных опухолевых клеток, выявленных на основе характерных значений модуля упругости методом ОКЭ. Определить диагностическую значимость такого способа.
4. Определить характерные значения модуля упругости гистологических структур послеоперационных образцов рака молочной железы (РМЖ) пациентов, в том числе, после неоадьювантной химиотерапии, и послеоперационных образцов колоректального рака (КР) пациентов. Произвести оценку ответа РМЖ на неоадьювантную химиотерапию по процентному содержанию жизнеспособных опухолевых клеток, выявленных на основе характерных значений модуля упругости методом ОКЭ.

#### **Научная новизна**

Впервые для экспериментальных опухолей солидного строения / гистиоидного типа установлены диапазоны значений модуля упругости следующих гистологических структур: жизнеспособные опухолевые клетки; опухолевые клетки, подвергшиеся дистрофическим изменениям; отёк и некроз опухолевой ткани.

Впервые для опухолевых моделей и послеоперационных образцов опухолей установлена высокая корреляция между площадями гистологических структур, определённых на гистологических изображениях и эластографических картах.

Впервые установлена диагностическая значимость способа определения ответа опухоли на лечение по упругим свойствам жизнеспособных опухолевых клеток, измеренным методом ОКЭ на экспериментальных опухолевых моделях.

Впервые определены значения модуля упругости гистологических структур послеоперационных образцов РМЖ и КР пациентов методом ОКЭ.

Впервые осуществлена оценка степени ответа опухоли молочной железы пациента на неоадьювантную химиотерапию по процентному содержанию жизнеспособных опухолевых клеток, выявленных на основе характерных значений модуля упругости методом ОКЭ.

### **Научно-практическая значимость**

Данная работа раскрывает высокую диагностическую ценность упругих свойств ткани, определённых методом компрессионной ОКЭ, для задач оценки ответа опухоли на терапию в экспериментальных исследованиях и клинической практике. Дальнейшее развитие метода и всестороннее изучение упругих свойств различных гистологических структур, характеризующих определённые клинические нозологии, помогут разработать стандарты для внедрения компрессионной ОКЭ как высокоразрешающего метода экспресс-диагностики микроструктуры ткани для применения в экспериментальных исследованиях и практической медицине.

Выявленные в ходе исследования значения модуля упругости гистологических структур ткани опухолей могут быть использованы как для определения их топографии и границ, так и в качестве экспресс метода оценки ответа опухоли на производимую терапию. Основные результаты работы могут быть включены в соответствующие разделы спецкурсов и лекций курса по биомедицине и биофизике.

**Научная новизна и практическая значимость исследования подтверждены патентом:** А.А. Плеханов, М.А. Сироткина, Е.В. Губарькова, В.Ю. Зайцев, А.А. Советский, С.С. Кузнецов, Л.А. Матвеев, А.Л. Матвеев, Е.В. Загайнова, Н.Д. Гладкова / Способ прижизненной оценки микроструктуры опухолевой ткани в эксперименте // Патент на изобретение № 2732823, заявка № 2020114397, приоритет от 22.04.2020, регистрация от 22.09.2020.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Различия в упругих свойствах таких гистологических структур опухоли как жизнеспособные и дистрофически изменённые опухолевые клетки, строма опухоли, отёк и некроз ткани, и их отличие от свойств нормальной слизистой оболочки кишки и жировой ткани молочной железы могут быть обнаружены методом компрессионной ОКЭ по характерным диапазонам модуля упругости.
2. Сегментация микроструктур опухоли на основе диапазонов модуля упругости сопоставима с традиционным гистологическим сегментированием и имеет с ним высокую прямую корреляционную зависимость ( $r = 0,93-0,99$ ;  $p < 0,001$ ).
3. Метод компрессионной ОКЭ с диагностической точностью 83-94% определяет степень ответа экспериментальной опухолевой модели на проводимую терапию по процентному содержанию жизнеспособных опухолевых клеток.

### **Личный вклад автора**

Личное участие автора заключалось в постановке и проведении экспериментальных исследований, в получении всех видов изображений, систематизации, обработке и интерпретации всех полученных данных. Планирование исследований, обсуждение и обобщение полученных результатов осуществлялось совместно с д.м.н. профессором Н.Д. Гладковой, к.б.н. М.А. Сироткиной и к.б.н. Е.В. Губарьковой. Физико-математическая разработка методики компрессионной оптической когерентной эластографии осуществлялась научной группой ИПФ РАН под руководством д.ф.-м.н. В.Ю. Зайцева. Морфологическая оценка полученных гистологических изображений осуществлялась совместно с д.м.н. доцентом С.С. Кузнецовым.

### **Степень достоверности**

Приведенные в работе научные положения и выводы по полученным результатам основаны на данных, объем которых обеспечивает статистическую достоверность. Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с помощью пакета прикладных программ Statistica 7.0, GraphPad Prism 8.0 и Microsoft Excel 2010.

### **Апробация, внедрение, публикации**

Основные материалы работы доложены и обсуждены на 10 международных, 9 всероссийских и 3 региональных конференциях, 2 научных конкурсах; 7 докладов были отмечены наградой за лучшее выступление.

Результаты доложены на научной сессии молодых учёных и студентов "Медицинские этюды" (Нижний Новгород, 2018); на 23 и 24 Нижегородских сессиях молодых учёных (пансионат «Морозовский», 2018, 2019), где отмечены дипломом за высокий научный уровень доклада; на VI, VII и VIII симпозиумах по оптике и биофотонике (Саратов, 2018-2020), где отмечены дипломами II и III степеней; на V, VI и VII Всероссийских конференция молодых ученых и студентов с международным участием "VolgaMedScience" (Нижний Новгород, 2019-2021), где дважды отмечены дипломами III степени; на XXVI Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных "Ломоносов" (Москва, 2019); на X Российском онкологическом конгрессе (Нижний Новгород, 2019); на 72, 73 и 74 Всероссийских с международным участием школах-конференциях молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2019-2021), где отмечены дипломом I степени; на Международном симпозиуме «Topical Problems of Biophotonics-2019» (Нижний Новгород-Углич-Нижний Новгород, 2019); на VI Съезде биофизиков России (Сочи, 2019); на конкурсе инновационных проектов "УМНИК-2019" (Нижний Новгород, 2019); на XIII областном конкурсе молодёжных инновационных команд "РОСТ 2019" (Нижний Новгород, 2019), где отмечены дипломами I степени и за высокий научный уровень проекта; на Петербургском международным онкологическом форуме «Белые ночи» (онлайн форум, Санкт-Петербург, 2020); на Первом Крымском форуме «Онкология, патоморфология и патофизиология: от теории к практике» (онлайн форум, Симферополь, 2020); на международном форуме «Photonics West 2021» (онлайн форум, Сан-Франциско, США, 2021); на XXIV Международной медико-биологической научной конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье» (онлайн форум, Санкт-Петербург, 2021), на международном конгрессе фотоники «European Conferences on Biomedical Optics 2021» (онлайн форум, Мюнхен, Германия, 2021), на международном конгрессе Европейского медицинского общества онкологии «ESMO» (онлайн форум, Париж, Франция, 2021).

Результаты диссертационной работы были внедрены в научно-исследовательскую деятельность лаборатории оптической когерентной томографии НИИ Экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО "Приволжский исследовательский медицинский университет" Минздрава России.

Апробация диссертации была проведена 06.11.2020 на ученом совете НИИ Экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО "Приволжский исследовательский медицинский университет" Минздрава России.

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликованы 45 печатных работы, из них: 17 публикаций в научных рецензируемых изданиях, входящих в перечень ВАК, индексируемых в Web of Science и Scopus, и 28 публикаций в сборниках материалов научных конференций. Получен патент на изобретение.

### **Конкурсная поддержка работы**

Проведенные исследования поддержаны грантом Президента РФ (МК-905.2017.7), проектами РФФИ (18-75-10068) и РФФИ (18-32-20056). Получен грант РФФИ «№ 19-315-90087 Аспиранты» для молодых учёных, обучающихся в аспирантуре, на выполнение фундаментальных научных исследований.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 189 страницах, включает 14 таблиц и 48 рисунков. Список литературы содержит 250 источников, из них 225 зарубежных.

### **Список используемых сокращений:**

ИПФ РАН – Институт прикладной физики Российской академии наук;

КР – колоректальный рак;

КТ – компьютерная томография;

МРТ – магнитно-резонансная томография;

НАХТ – неоадьювантная химиотерапия;

ОКТ – оптическая когерентная томография;

ОКЭ – оптическая когерентная эластография;

РМЖ – рак молочной железы;

УЗИ – ультразвуковое исследование;

4Т1 – культура клеток рака молочной железы;

СТ-26 – культура клеток колоректального рака.

## **ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Объекты исследования**

Предметом исследования являлись упругие свойства биотканей, в том числе отдельных гистологических структур опухолевой ткани. Исследования одобрены Комитетом по Этике ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России (выписка из протокола № 3 от 29.01.2018).

Для определения возможности визуализации микроструктуры опухоли на основе упругих свойств различных её компонентов, были проведены исследования на *моделях опухолей* гистиоидного строения (в которых паренхима преобладает над стромой) у экспериментальных животных. Работа выполнена на 6-8 недельных самках мышей линии Balb/c, весом 18-23 г. Общее количество животных в эксперименте 114. Используются

опухолевые модели мышей: рак молочной железы 4Т1 (n=62) или колоректальный рак СТ26 (n=52).

На следующем этапе работы были исследованы *послеоперационные образцы* умеренно- и низкодифференцированной аденокарциномы молочной железы (n=20) и толстой кишки (n=17). Выбор данных типов рака в моделях и у пациентов обусловлен, главным образом, актуальностью в клинической практике. Часть образцов рака молочной железы (n=10) получены от пациентов, прошедших курсы неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) согласно клиническим рекомендациям (антрациклин- и таксан-содержащие режимы).

### **Основные методы исследования**

Компрессионный вариант оптической когерентной эластографии (ОКЭ) был реализован на базе спектрального мультимодального оптического когерентного томографа (ИПФ РАН, г. Нижний Новгород) [V.M. Gelikonov, 2018] с использованием разработанных в ИПФ РАН оригинальных методов и методик эластографического анализа ОКТ-сигнала, которые детально описаны в обзоре [V.Y. Zaitsev, 2020].

Получение абсолютных значений модуля упругости (Юнга), выражаемых в кПа, стало возможным при размещении на поверхности ткани калибровочного силиконового слоя с заведомо известным модулем упругости [V.Y. Zaitsev, 2017]. Запись ОКЭ данных производилась во время однонаправленного компрессионного воздействия оптической поверхностью ОКТ-зонда на калибровочный слой и исследуемую биологическую ткань. Величина давления на ткань равнялась 4 кПа (была подобрана как наиболее оптимальная для получения хорошо воспроизводимых результатов и получения достаточно высокого контраста по упругости между различными морфологическими компонентами) и контролировалась по диаграмме деформации калибровочного силиконового слоя. Постобработка ОКЭ данных (в программе MatLab 2015b) состояла в построении карт деформации, которая определялась как градиент межкадровой разницы фаз ОКТ-сигнала по глубине для серии полученных ОКТ изображений [V.Y. Zaitsev, 2016].

Сразу после проведения ОКЭ исследования экспериментальные опухоли и послеоперационные образцы подвергали гистологическому исследованию с окраской гематоксилином и эозином. Полученные гистологические изображения оцифровывались, обрабатывались в программе QuPath software (v0.1.2) с автоматическим предельно точным выделением границ гистологических структур [P. Bankhead, 2017] и затем прицельно сопоставлялись с соответствующими им ОКЭ изображениями. При сопоставлении определялись диапазоны значений модуля упругости для каждой гистологической структуры опухолевой ткани; по оригинальной методике [A.A. Sovetsky, 2020] проводилось сегментирование ОКЭ изображений согласно определённым диапазонам.

На всём протяжении экспериментов на моделях 4Т1 и СТ-26 проводилась макроскопическая оценка опухоли, заключающаяся в измерении объёма опухоли и вычислении коэффициента торможения роста опухоли [T. Friess, 2005].

### **Дизайн эксперимента**

В предварительном эксперименте (на 10 животных) была выбрана локализация опухоли на ухе мыши для удобства проведения длительного ОКЭ мониторинга. Суспензия клеток опухолевой культуры вводилась внутривенно в ушную раковину мышей в

концентрации  $2 \times 10^5$  клеток, в 20 мкл среды PBS. Животных разделили на 3 группы: (1) опытная леченая таргетным антиангиогенным препаратом Бевацизумаб ( $n=38$ ) (препарат вводится внутривенно в дозе 15 мг/кг); 2) опытная леченая алкилирующим препаратом Цисплатин ( $n=38$ ) (препарат вводится внутривенно в дозе 6 мг/кг); (3) контрольная группа животных с внутривенным введением физиологического раствора ( $n=28$ ). Лечение препаратами Бевацизумаб или Цисплатин начинали на 2-ой день после инокуляции, что считалось 0-м днём эксперимента, и повторяли через 2, 5 и 7 дней. Мониторинг производили на 5, 7 и 9 дни после начала лечения. Дизайн эксперимента представлен на рисунке 1.

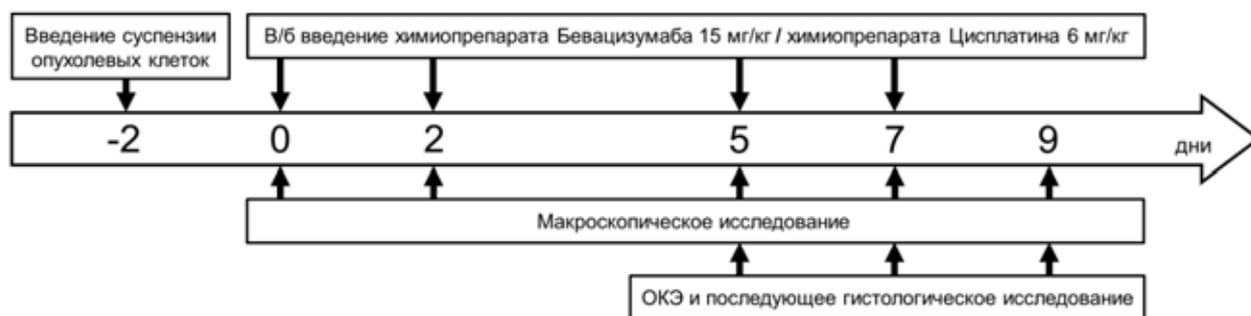


Рисунок 1. Схема проведения основного этапа экспериментальных исследований.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

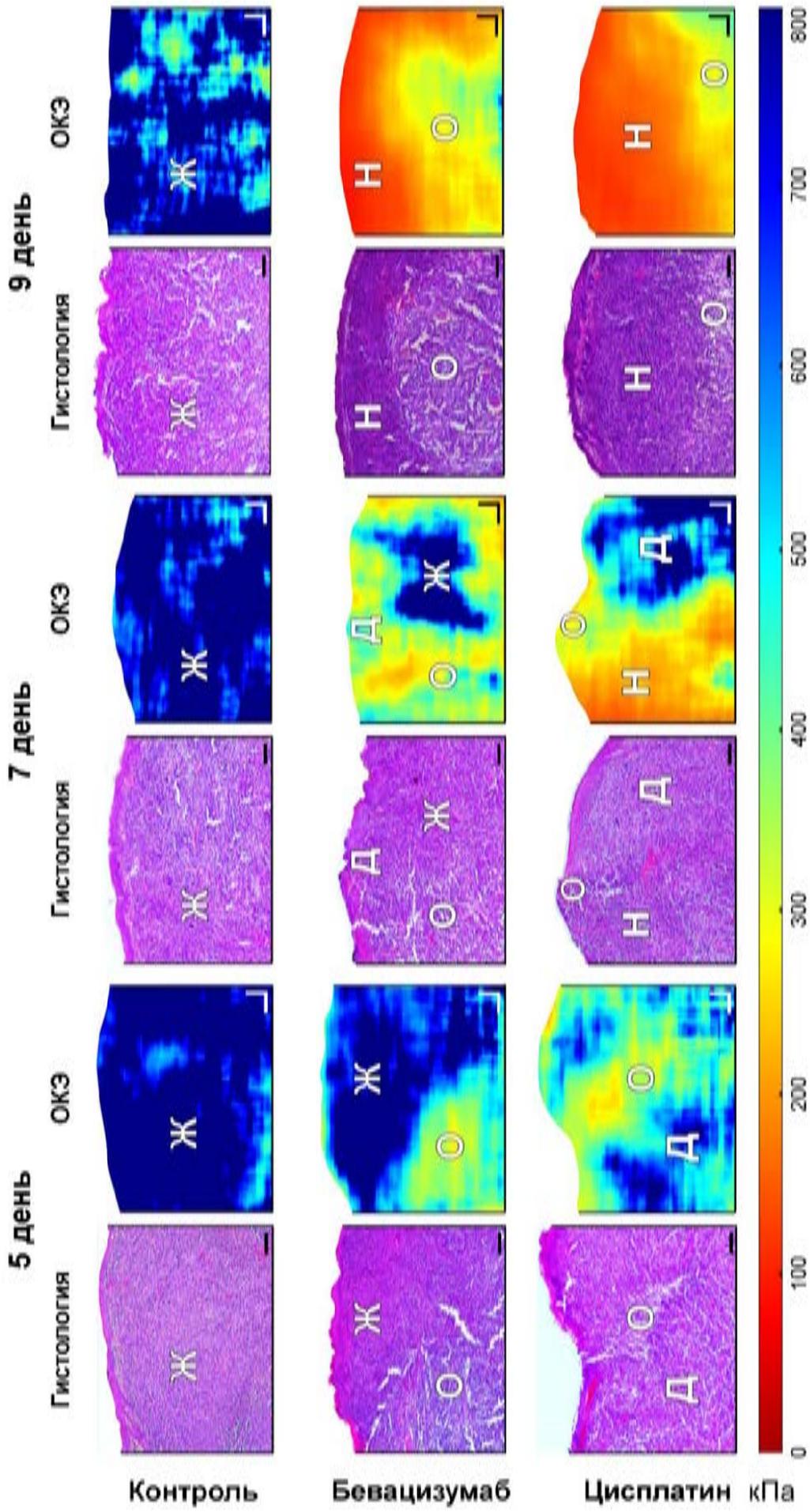
### I. *In vivo* исследование микроструктуры экспериментальных опухолей

*i.* Первым этапом стало пилотное исследование *возможности определения эффективности терапии* (на примере препарата Цисплатин) *методом ОКЭ* опухолевых моделей (на примере модели 4Т1) *при мониторинге изменения упругих свойств ткани*. Уже на 5 день после первого сеанса терапии установлено статистически значимое снижение средних значений модуля упругости в опухолях опытной группы ( $386 \pm 26$  кПа) по сравнению с контрольной ( $600 \pm 66$  кПа), что с наибольшей вероятностью обусловлено появлением дистрофических изменений и участков некроза опухолевых клеток, обнаруженных при гистологическом исследовании после завершения мониторинга. Полученные результаты подтверждают литературные данные [А.В. Кобелев, 2012] о том, что (1) упругие свойства ткани определяются её морфологическим строением и (2) изменение упругих свойств обусловлено изменениями структуры ткани вследствие терапевтического воздействия. По этим причинам оценка модуля упругости опухолевой ткани методом ОКЭ была предложена для определения эффективности терапии (результаты изложены в работе [А.А. Плеханов, 2018]).

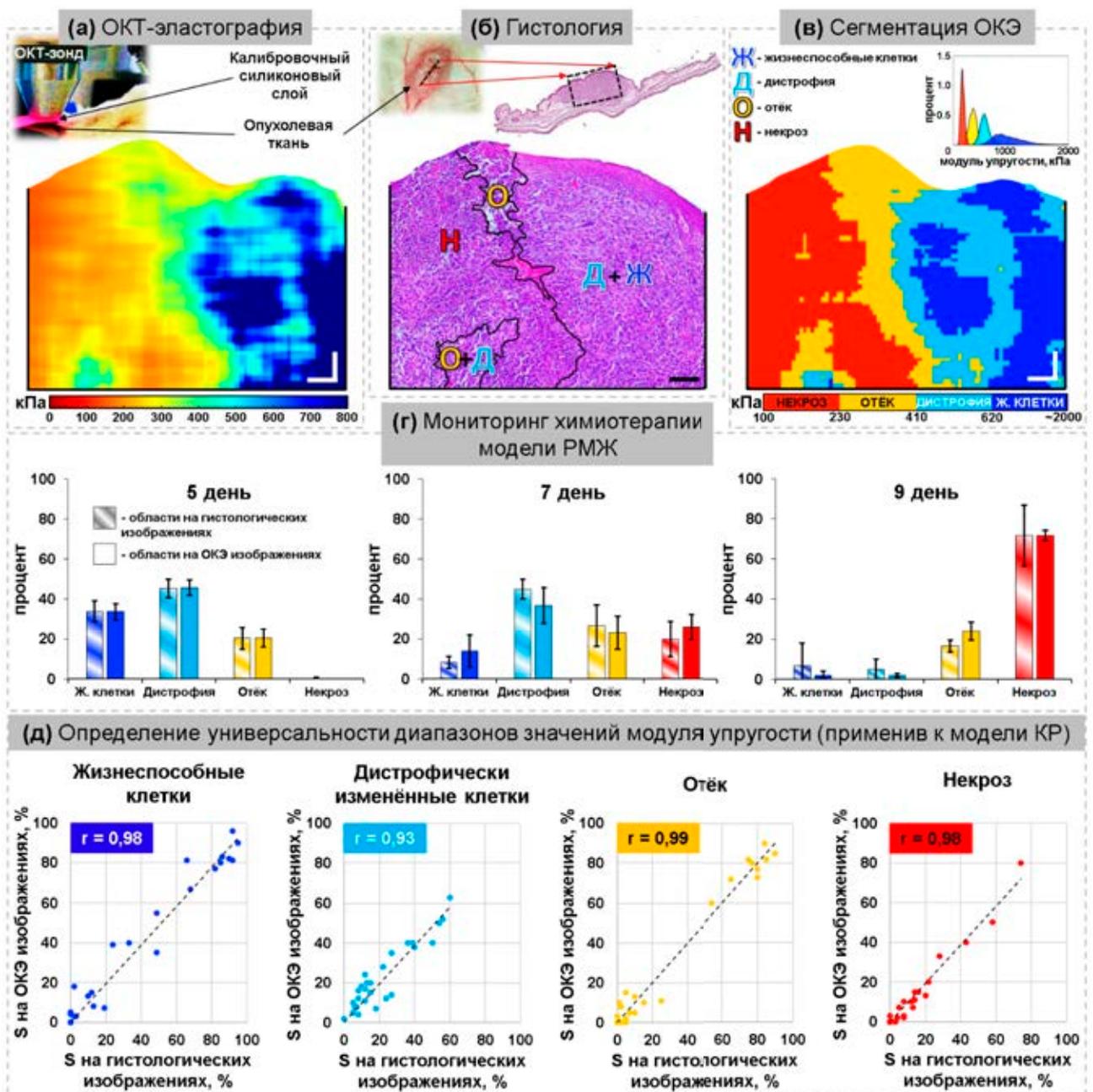
*ii.* На следующем этапе проводили *мониторинг эффективности противоопухолевой терапии* (препаратами Бевацизумаб и Цисплатин) на модели рака молочной железы 4Т1, включающее параллельное ОКЭ и гистологическое исследование опухолей на 5, 7 и 9 дни. Стандартная методика оценки эффективности противоопухолевых препаратов не выявила статистически значимой разницы между Бевацизумабом и Цисплатином (результат описан

в разделе 3.1.1 диссертации). Тогда как модуль упругости ткани продемонстрировал заметные отличия в реакции опухолей на разные препараты. Так, ОКЭ изображения опухолей контрольной группы на протяжении всего эксперимента характеризовались постоянным значением модуля упругости, что связано с сохраняющимися обширными областями жизнеспособных опухолевых клеток на гистологических изображениях (Рис. 2). В группе лечения Бевацизумабом на 5 и 7 дни наблюдались более низкие значения модуля упругости по сравнению с контролем, обусловленные скоплением отёчной жидкости в опухолевой ткани, что свидетельствует об антиангиогенном эффекте препарата – десквамации эндотелия сосудистой стенки и выходе плазмы в межклеточные пространства. На 9 день наблюдались области с очень низкими значениями модуля упругости, соответствующие некрозу опухолевой ткани. В группе лечения Цисплатином на 5 день также наблюдалось снижение значений модуля упругости по сравнению с контролем, но связанное с преобладанием дистрофически изменённых опухолевых клеток, что является следствием цитотоксического действия препарата непосредственно на быстро делящиеся опухолевые клетки. Следует отметить, что небольшие области дистрофически изменённых опухолевых клеток также наблюдались и в опухолях леченых Бевацизумабом, равно как и области отёка были обнаружены в опухолях леченых Цисплатином, но эти изменения не были превалирующими. Уже на 7 день в группе лечения Цисплатином появились области низких значений модуля упругости, соответствующие некрозу. На 9 день при гистологическом сравнении области некроза статистически значимо преобладали в группе терапии Цисплатином по сравнению с Бевацизумабом:  $71,6 \pm 12,5\%$  и  $18,3 \pm 6,2\%$  соответственно ( $p < 0,05$ ). Таким образом, показано, что в ответ на терапию и Бевацизумабом, и Цисплатином выявляется один и тот же набор гистологических структур и изменений, которые отличаются по модулю упругости [А.А. Plekhanov, 2019, 2020].

*iii. Определение характерных значений и диапазонов значений модуля упругости для каждой выявленной гистологической структуры.* При параллельном сопоставлении ОКЭ (Рис. 3а) изображений с гистологическими препаратами (Рис. 3б) были дифференцированы следующие гистологические структуры и изменения: **жизнеспособные опухолевые клетки, дистрофически изменённые опухолевые клетки, отёк и некроз опухолевой ткани.** Разрешающая способность метода ОКЭ составляет 40-50 мкм, что позволяет дифференцировать небольшие скопления дистрофических клеток (числом около 10) среди жизнеспособных опухолевых клеток (результат описан в разделе 3.1.2 диссертации). Характерные значения модуля упругости и диапазоны этих значений для каждой гистологической структуры установлены следующим образом. Получены гистограммы частоты встречаемости значений модуля упругости конкретных структур. Усреднение гистограмм каждой из структур позволило получить спектр этих значений. Полученный спектр был представлен в виде эмпирической функции распределения колоколообразной формы, аппроксимирующей усредненную гистограмму для данной гистологической структуры. Показано, что функции распределения модуля упругости для четырех выделенных гистологических структур хорошо разделяются между собой с небольшими областями перекрытия (Рис. 3в). Некротизированная опухолевая ткань характеризовалась самыми низкими значениями модуля упругости от 101 кПа до 230 кПа ( $161 \pm 18$  кПа); отёк опухолевой ткани имел значения модуля упругости от 231 кПа до 410 кПа ( $335 \pm 41$  кПа);



**Рисунок 2.** Типичные примеры параллельного гистологического и ОКЭ мониторинга опухолей контрольной группы и опухолей при терапии Бевацизумабом и Цисплатином на 5, 7 и 9 дни после начала лечения; шкала значений модуля упругости представлена в кПа, где красный цвет обозначает низкие значения модуля, а синий – высокие значения модуля; обозначения: Ж – жизнеспособные опухолевые клетки, Д – дистрофически изменённые опухолевые клетки, Н – отёк опухолевой ткани, О – некроз опухолевой ткани; размер бара по вертикали и горизонтали на изображениях – 0,1 мм.



**Рисунок 3.** *In vivo* исследование упругих свойств микроструктур экспериментальных опухолей 4Т1 и СТ-26 методом ОКЭ: **а** – получение карт распределения значений модуля упругости – ОКЭ изображений; шкала значений модуля упругости представлена в кПа, где красный цвет обозначает низкие значения модуля, а синий – высокие значения модуля; размер бара по вертикали и горизонтали на изображениях – 0,1 мм; **б** – гистологическое исследование, включающее сегментирование изображений согласно определяемым гистологическим структурам [P. Bankhead, 2017]; **в** – определение спектров распределения и диапазонов значений модуля упругости гистологических структур, сегментирование ОКЭ изображений согласно определённым диапазонам; **г** – сравнительная демонстрация результатов гистологического и ОКЭ мониторинга опухолей 4Т1 леченых Цисплатином; **д** – диаграммы взаимосвязи значений площадей (S) гистологических структур, определённых методом ОКЭ и гистологическим исследованием.

модуль упругости дистрофически измененных опухолевых клеток характеризовался диапазоном от 411 кПа до 620 кПа ( $524 \pm 59$  кПа). Жизнеспособные опухолевые клетки характеризовались самыми высокими значениями модуля упругости, превышающими 621 кПа, со средним значением  $848 \pm 164$  кПа. Средние значения модуля упругости каждой гистологической структуры статистически значимо отличались друг от друга ( $p < 0,05$ ).

Установленные диапазоны значений модуля упругости представлены в виде цветовой шкалы (Рис. 3в), на которой каждый диапазон обозначен своим цветом. Определение границ диапазонов модуля упругости каждой гистологической структуры позволило осуществить *автоматическое сегментирование* ОКЭ изображений [по оригинальной методике *А.А. Sovetsky, 2020*] (Рис. 3в). Полученные сегментированные ОКЭ изображения демонстрируют топографию и границы наблюдаемых структур, подобно гистологическому изображению, однако они построены на разности в значениях модуля упругости той или иной структуры.

iv. Для количественного *подтверждения объективности структур, сегментированных на основании различий модуля упругости*, было проведено сопоставление площадей каждой гистологической структуры, определённых методом гистологического сегментирования (в программе QuPath) и сегментирования ОКЭ изображений (согласно определённым диапазонам значений модуля упругости). Установлена высокая корреляция ( $r = 0,93-0,99$ ;  $p < 0,001$ ) результатов ОКЭ и гистологического исследования при оценке эффективности терапии на примере опухоли 4Т1 (Рис. 3г). Результаты подробно описаны в работе [*А.А. Plekhanov, 2020*]. Как известно, существуют различные системы и градации терапевтического ответа опухоли на лечение, большинство из которых основано на определении областей жизнеспособных опухолевых клеток [*А.Н. Грабовой, 2012*]. Как показали результаты наших исследований, высокая согласованность результатов ОКЭ сегментирования с золотым гистологическим стандартом позволяет устанавливать ответ опухоли на терапию на доклиническом этапе исследования по модулю упругости жизнеспособных опухолевых клеток.

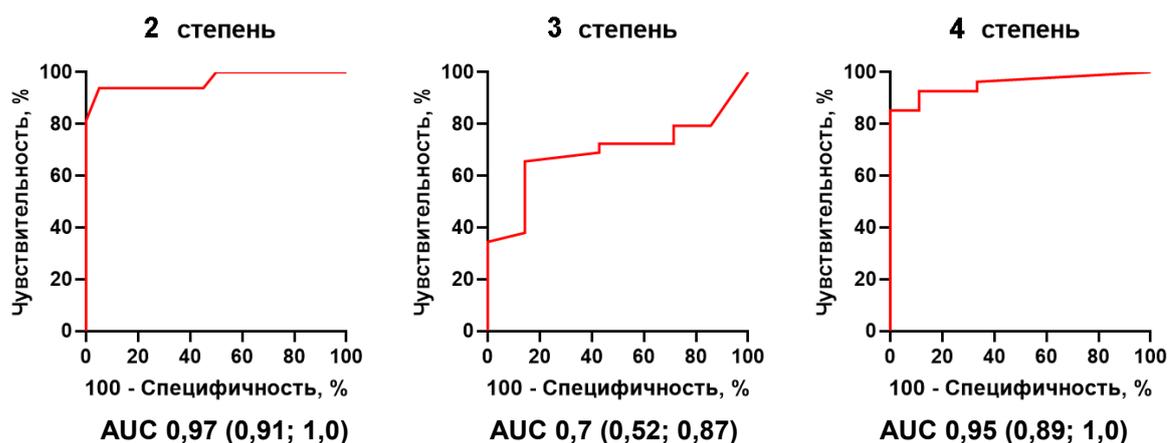
v. На следующем этапе работы диапазоны модуля упругости структур, полученные на примере опухоли 4Т1, были применены к ОКЭ изображениям опухолевой модели СТ-26, леченной Бевацизумабом и Цисплатином. Так же, как и для опухоли 4Т1, получена значительная прямая корреляция ( $r = 0,93-0,99$ ;  $p < 0,001$ ) по Пирсону для гистологических структур опухоли СТ-26 (Рис. 3д). Это позволяет сделать вывод об адекватности установленных значений модуля упругости гистологических структур для опухолей СТ26 и 4Т1, и применимости таких диапазонов для опухолевых моделей солидного строения / гистиоидного типа [*М.А. Sirotkina, 2020*].

vi. Далее предстояло выяснить – может ли оценка упругих свойств морфологических компонентов ткани быть полезна для определения степени лечебного патоморфоза? Для этой цели была выбрана Кельнская система классификации регрессии, учитывающая количество наблюдаемых жизнеспособных опухолевых клеток [*S. Guo, 2019*]. Порогом отсечения при статистическом анализе стали пороговые значения площадей жизнеспособных опухолевых клеток: для 1 степени – более 50% площади опухоли составляют жизнеспособные клетки; для 2 степени – от 11 до 50% площади опухоли составляют жизнеспособные клетки; для 3 степени – до 10% площади опухоли составляют жизнеспособные клетки; для 4 степени – полное отсутствие жизнеспособных опухолевых клеток. Были рассчитаны *стандартные диагностические параметры* (Таб. 1). В наших экспериментах опухолей с первой степенью патоморфоза не обнаружено. Получены значения диагностической точности способа определения ответа опухоли на терапию по

упругим свойствам опухолевых клеток: 94,4% для 2 степени патоморфоза, 83,3% – для 3 степени, и 88,9% – для 4 степени. Проведенный ROC-анализ показал высокую прогностическую ценность по данным определения площади под кривой (Рис. 4): более высокую для 2 и 4 степеней патоморфоза и несколько ниже — для 3 степени, что, вероятно, связано с узким заданным диапазоном критерия данной степени патоморфоза (0-10%). Расчёт стандартных диагностических параметров подтвердил возможность определение степени ответа опухоли на лечение (согласно Кельнской системе классификации регрессии) по значениям модуля упругости опухолевых клеток методом ОКЭ с диагностической точностью 94–83–89% для 2–3–4 степеней лечебного патоморфоза.

**Таблица 1.** Диагностическая значимость способа определения степени ответа опухоли на лечение (согласно Кельнской системе классификации регрессии) по значениям модуля упругости опухолевых клеток методом ОКЭ

| Степень лечебного патоморфоза | Чувствительность, % | Специфичность, % | Диагностическая точность, % |
|-------------------------------|---------------------|------------------|-----------------------------|
| 2 степень                     | 95                  | 93,8             | 94,4                        |
| 3 степень                     | 71,4                | 86,2             | 83,3                        |
| 4 степень                     | 66,7                | 96,3             | 88,9                        |



**Рисунок 4.** ROC-кривые для 2, 3 и 4 степеней лечебного патоморфоза согласно Кельнской системе классификации регрессии; AUC — площадь под кривой; в скобках – AUC<sub>min</sub> и AUC<sub>max</sub>.

Таким образом, на этапе *in vivo* исследований на экспериментальных опухолях животных были разработаны подходы к оценке упругих свойств отдельных гистологических структур, которые затем были применены для *ex vivo* изучения послеоперационных образцов опухолевой ткани пациентов.

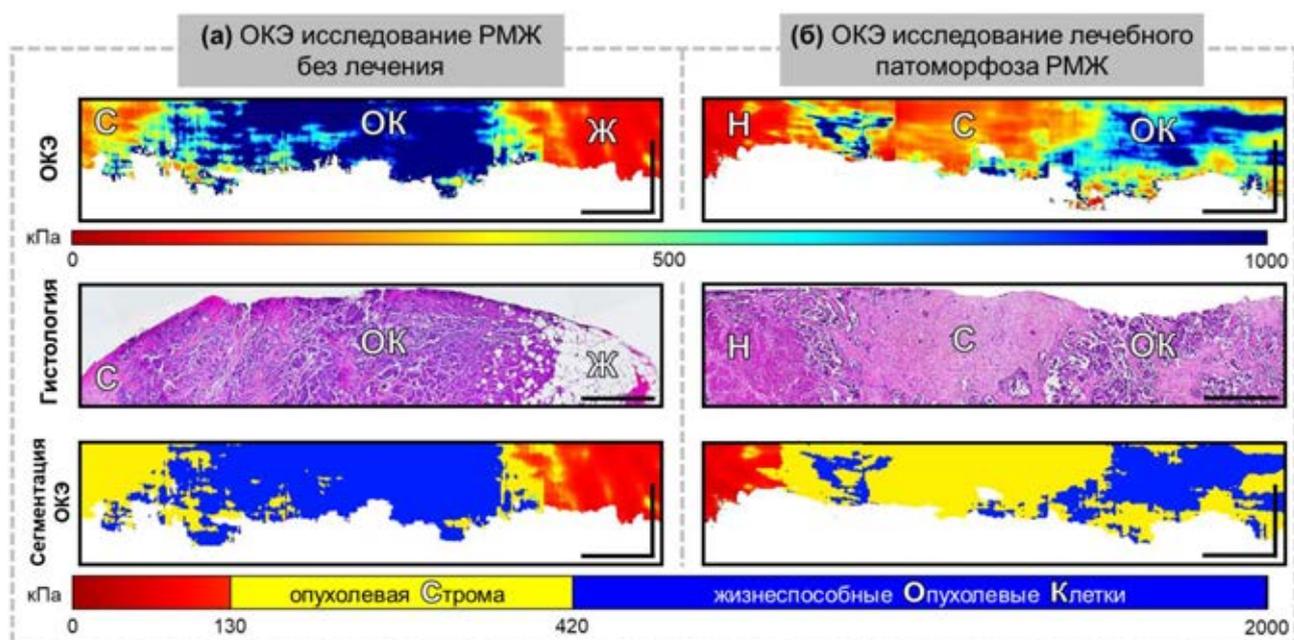
## II. *Ex vivo* исследование микроструктуры образцов опухолей человека

*i.* В нашей работе [E.V. Gubarkova, 2019] впервые были получены характерные значения модуля упругости следующих гистологических структур ткани послеоперационных образцов РМЖ пациентов (с патоморфологическим заключением – умеренно- и низкодифференцированная аденокарцинома Grade II-III молочной железы) (Рис. 5а):

- низкими значениями модуля упругости характеризовалась жировая ткань –  $52 \pm 13$  кПа;

- наибольшие значения модуля упругости наблюдались для жизнеспособных опухолевых клеток –  $849 \pm 113$  кПа;
  - промежуточными значениями характеризовалась опухолевая строма –  $260 \pm 47$  кПа.
- Средние значения модуля упругости каждой микроструктуры статистически значимо отличались друг от друга ( $p < 0,05$ ).

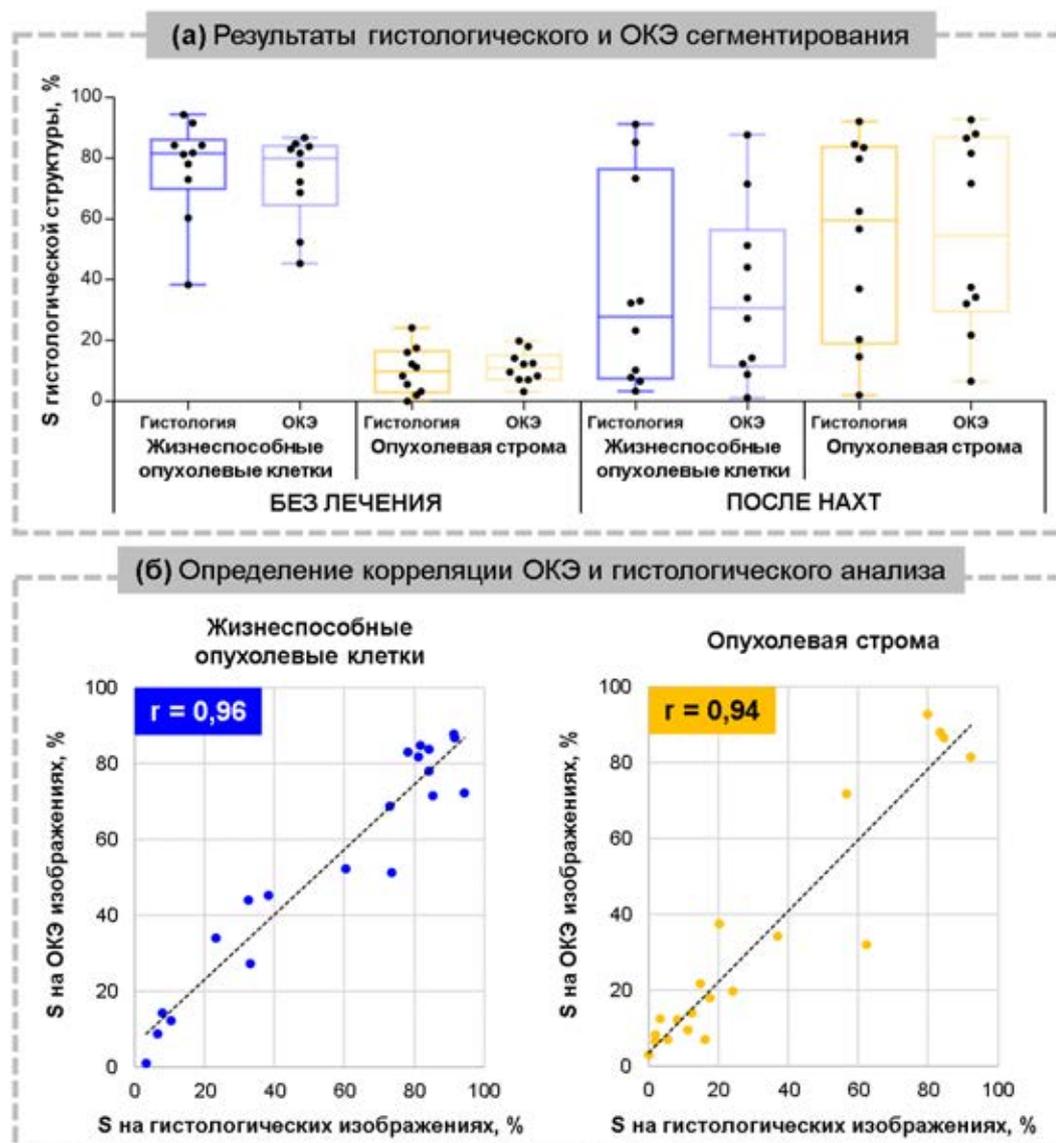
Впервые проведено ОКЭ исследование послеоперационных образцов РМЖ пациентов (с патоморфологическим заключением – аденокарцинома Grade II-III молочной железы), которым были проведены курсы НАХТ согласно клиническим рекомендациям. Операция проводилась через 3-6 недель после курса терапии. На 3-х из 10-ти образцов были обнаружены области некроза опухолевой ткани (Рис. 56). Установлены характерные значения модуля упругости областей некроза опухолевой ткани –  $81 \pm 19$  кПа. Статистически значимых различий в модуле упругости жировой ткани ( $52 \pm 13$  кПа) и некроза не обнаружено. Однако выявлены легко читаемые визуальные признаки, отличающие на структурных ОКЭ изображениях эти два вида ткани – жировая ткань имеет отчетливую зернистую текстуру, в то время как очаги некроза характеризуются как однородные, лишённые структуры (результат описан в разделе 3.2.2 диссертации).



**Рисунок 5.** *Ex vivo* исследование образцов аденокарциномы молочной железы Grade II-III человека с получением карт распределения значений модуля упругости (методом ОКЭ), соответствующих им гистологических изображений и сегментированных ОКЭ изображений: **а** – исследование образцов от пациентов без лечения; **б** – исследование образцов от пациентов, которым проводились курсы НАХТ; обозначения: ОК – жизнеспособные опухолевые клетки, Ж – жировая ткань, С – опухолевая строма, Н – некроз; размер бара по вертикали и горизонтали на изображениях – 0,5 мм.

Были установлены диапазоны значений модуля упругости наиболее важные для оценки лечебного патоморфоза (согласно общепризнанным системам [А.Н. Грабовой, 2012]) гистологических структур РМЖ пациентов для осуществления сегментации ОКЭ изображений (Рис. 5). На ОКЭ изображениях были сегментированы жизнеспособные опухолевые клетки (421-2000 кПа) и опухолевая строма (130-420 кПа). Сегментация жировой ткани молочной железы и некроза опухолевой ткани была невозможна, ввиду значительного перекрытия диапазонов значений модуля упругости для этих структур.

Для подтверждения объективности заданных диапазонов было проведено сравнение площадей гистологических структур, рассчитанных согласно характерным значениям модуля упругости на ОКЭ изображениях и на гистологических изображениях. Из гистограмм на рисунке **6а** можно сделать вывод о высокой степени согласованности результатов определения площадей гистологических структур двумя способами.



**Рисунок 6.** Количественное сравнение площадей гистологических структур, полученных посредством гистологического сегментирования и сегментирования ОКЭ изображений согласно диапазонам модуля упругости компонентов ткани РМЖ: **а** – сравнения результатов гистологического и ОКЭ сегментирования; точками представлены абсолютные значения, диаграммы размаха – средние значения, стандартные отклонения и разброс значений; **б** – диаграммы взаимосвязи значений площадей гистологических структур, определённых сегментированием гистологических и ОКЭ изображений.

Затем была определена взаимосвязь между значениями занимаемой площади каждой гистологической структуры опухолевой ткани, зафиксированными на гистологических и ОКЭ изображениях (Рис. **6б**). Получена сильная прямая корреляция по Пирсону ( $r = 0,94-0,96$ ;  $p < 0,001$ ). Наблюдаемая высокая корреляция результатов ОКЭ и гистологического сегментирования свидетельствует об объективности определённых диапазонов значений

модуля упругости микроструктур РМЖ. Опираясь на это, следующим шагом стала реализация такого способа для задач оценки ответа опухоли на терапию.

При морфометрической оценке гистологических срезов послеоперационных образцов пациенток с аденокарциномой молочной железы Grade II-III можно отметить преобладание площадей жизнеспособных опухолевых клеток над стромой для опухолей пациентов без лечения и преобладание площадей стромы над жизнеспособными опухолевыми клетками для опухолей пациентов, которым проводились курсы НАХТ (через 3-6 недель после окончания терапии) (Рис. 6а). Наблюдаемые тенденции изменения опухолевой структуры, где участки склероза (представленные стромой опухоли, заместившей некротические раковые клетки) граничат с областями сохранившихся жизнеспособных опухолевых клеток, согласуются с общепринятыми представлениями о неполном ответе опухоли на терапию [U. Resende, 2019; T.L. Sutton, 2020].

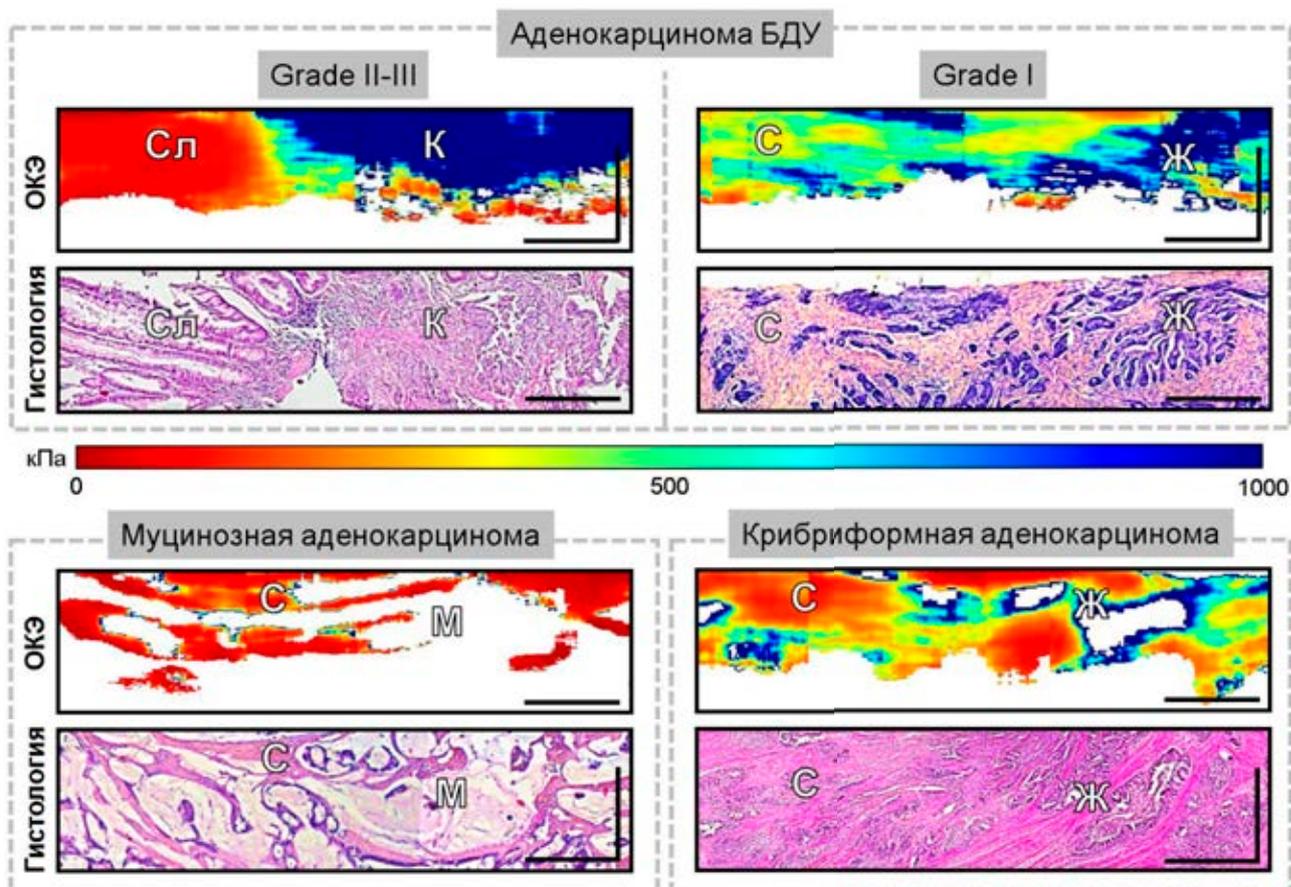
Для оценки ответа опухоли молочной железы на терапию была выбрана Кельнская классификация регрессии, как одна из используемых в клинической практике система, учитывающая количество сохранившихся жизнеспособных опухолевых клеток [А.Н. Грабовой, 2012]. Аналогичная система была использована для оценки экспериментальных опухолей и позволяет выделить до 4 степеней опухолевого ответа (см. стр. 13 данного автореферата). Так, проведенное гистологическое исследование 10 опухолей выявило 3 опухоли с I степенью ответа на терапию, 4 опухоли со II степенью и 3 опухоли с III степенью. В то время как методом ОКЭ на основе характерных значений модуля упругости тот же результат получен в 9 из 10 случаев. Допущенная ошибка связана с пограничным между I и II степенями значением показателя жизнеспособных опухолевых клеток у исследуемого образца. Таким образом, полученный результат подтверждает эффективность нового способа определения ответа опухоли на терапию.

ii. Заключительным этапом работы стало исследование упругих свойств послеоперационных образцов опухоли толстой кишки пациентов, и оно было проведено впервые [А.А. Plekhanov, 2020]. Морфологом при проведении гистологического исследования образцов умеренно- и низкодифференцированной аденокарциномы БДУ (без дополнительного уточнения) толстой кишки выявлена выраженная гетерогенность 6 из 17 исследуемых образцов, отдельные участки которых соответствовали другим степеням дифференцировки аденокарциномы БДУ и другим морфологическим подтипам. Причём, неизменная слизистая оболочка толстой кишки характеризуется низкими значениями модуля упругости ( $75 \pm 6$  кПа) и качественно / количественно отличается на ОКЭ изображениях от опухолевой ткани (Рис. 7). Определены характерные ОКЭ признаки следующих подтипов КР пациентов:

- аденокарцинома БДУ Grade II-III отличается однородным распределением очень высоких значений модуля упругости ( $907 \pm 139$  кПа) за счёт наблюдаемых плотно расположенных друг к другу опухолевых клеток;
- аденокарцинома БДУ Grade I отличается неоднородным распределением областей высоких ( $631 \pm 84$  кПа) и средних ( $419 \pm 21$  кПа) значений модуля упругости от железистоподобных опухолевых структур, расположенных среди инфильтрированной лимфогистиоцитарными элементами опухолевой стромы;
- крибриформная аденокарцинома отличается неоднородным распределением областей высоких ( $631 \pm 84$  кПа) значений модуля упругости с потерей полезного сигнала внутри

и областей низких ( $216 \pm 24$  кПа) значений модуля упругости от обнаруженных крибриформных опухолевых желез с широким просветом и некрозом внутри (не лоцирующимся при ОКЭ исследовании вследствие свободного расположения некротических масс внутри просвета железы и невозможности получению положительного ОКТ-сигнала от постоянно перемещающихся в пространстве структур), наблюдаемых среди опухолевой стромы;

- *муцинозная аденокарцинома* отличается неоднородным распределением областей низких ( $216 \pm 24$  кПа) значений модуля упругости и областей с потерей полезного сигнала за счёт наблюдаемых внеклеточных полей муцина, разделённых участками опухолевой стромы.



**Рисунок 7.** *Ex vivo* исследование образцов аденокарциномы толстой кишки человека разных степеней дифференцировки и морфологических подтипов с получением ОКЭ карт распределения значений модуля упругости и соответствующих им гистологических изображений; обозначения: К – опухолевые клетки, Ж – железистоподобные опухолевые структуры, С – опухолевая строма, М – поля муцина, Сл – слизистая оболочка толстой кишки; размер бара по вертикали и горизонтали на изображениях – 0,5 мм.

Продемонстрирована возможность на основании упругих свойств ткани определять точную топографию опухоли среди неизменённой слизистой оболочки толстой кишки методом ОКЭ. Также установлено, что разные морфологические подтипы и степени дифференцировки аденокарциномы толстой кишки имели характерные особенности распределения значений модуля упругости, что потенциально может быть использовано в дифференциальной диагностике.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе впервые в сравнительном аспекте изучены упругие свойства разных гистологических структур опухолевой ткани, в том числе после проведения противоопухолевой терапии. Исследование проводилось на животных опухолевых моделях РМЖ 4Т1 (n=62) и КР СТ-26 (n=52). Для изучения патоморфологических особенностей ответа опухолей на терапию с разным механизмом действия использовались таргетный антиангиогенный препарат Бевацизумаб и алкилирующий препарат Цисплатин. Также, было проведено исследование 37 послеоперационных образцов опухолевой ткани пациентов: 20 образцов РМЖ и 17 образцов КР. 10 из 20 образцов РМЖ были получены от пациентов, которым проводились курсы НАХТ. Упругие свойства изучались путем анализа карт распределения значений модуля упругости, полученных методом ОКЭ, с параллельным сопоставлением с соответствующими гистологическими препаратами.

На этапе *исследования экспериментальных опухолей* количественная обработка гистологических изображений в программе QuPath позволила объективно выделить границы обнаруженных гистологических структур и рассчитать площадь, занимаемую гистологическими структурами на препаратах. Детальное сопоставление гистологических изображений и карт распределения модуля упругости (ОКЭ изображений) дало возможность определить диапазоны значений модуля упругости каждой гистологической структуры и изменения (жизнеспособных и дистрофически изменённых опухолевых клеток, отёка и некроза опухолевой ткани), на основании которых были построены сегментированные ОКЭ изображения. По своей сути, сегментированные ОКЭ изображения являются, в некотором роде, аналогом гистологического изображения с тем отличием, что в основе сегментированных ОКЭ изображений лежат различия в значениях модуля упругости между гистологическими структурами, и они не имеют пространственного разрешения на уровне клеточных структур, присущих микроскопическому исследованию. Сопоставление площади гистологических структур, выделенных на сегментированных ОКЭ и гистологических изображениях, показало высокую прямую корреляцию (по Пирсону  $r = 0,93-0,99$ ;  $p < 0,001$ ) между этими двумя подходами. Установлена высокая диагностическая точность (83–94%) определения степени ответа опухоли на лечение по значениям модуля упругости опухолевых клеток согласно Кёльнской системе классификации регрессии. На основе полученных данных показана возможность прижизненного изучения структур опухолевых моделей по характерным диапазонам значений модуля упругости методом ОКЭ на микроуровне.

Преимуществами использования значений модуля упругости, полученных методом компрессионной ОКЭ, по сравнению с традиционной гистологической оценкой в определении степени ответа опухоли на терапию по процентному содержанию жизнеспособных опухолевых клеток, являются:

- возможность проведения *прижизненного неповреждающего* мониторинга состояния ткани с высоким пространственным разрешением (на уровне скопления клеток) и высокой диагностической точностью (83-94%);
- получение результата практически в реальном времени (за 1-2 минуты);
- отсутствие необходимости использования контрастирующих агентов и красителей.

В дальнейшем подходы к оценке упругих свойств отдельных гистологических структур были применены для *изучения послеоперационных образцов* опухолевой ткани пациентов. Определены модули упругости для гистологических структур рака молочной

железы (жировой ткани, жизнеспособных опухолевых клеток, опухолевой стромы и зон некроза) и колоректального рака (нормальной слизистой оболочки, жизнеспособных опухолевых клеток, опухолевых железистоподобных структур и опухолевой стромы) пациентов. Высокая корреляция (по Пирсону  $r = 0,94-0,96$ ;  $p < 0,001$ ) площадей гистологических структур РМЖ, определённых на сегментированных ОКЭ и гистологических изображениях, подтверждает возможность с помощью модуля упругости с высокой точностью изучать структуры опухолей пациентов. На примере рака молочной железы также продемонстрирована возможность оценки степени ответа опухоли пациента на НАХТ по процентному содержанию жизнеспособных опухолевых клеток, обнаруженных по характерным значениям модуля упругости.

Проводимые в настоящее время работы по созданию эндоскопических и игольчатых зондов для осуществления ОКЭ исследования в труднодоступных локализациях позволят внедрить метод в клиническую практику для определения локализации опухоли и последующего прицельного забора биопсийного материала (в целях изучения гистологической структуры ткани и оценки ответа опухоли на терапию).

Полученные в нашей работе результаты могут стать основой для проведения дальнейших исследований по изучению упругих свойств различных гистологических структур органов человека, что расширит спектр возможностей ОКЭ и определит актуальные «точки» применения новой высокоразрешающей и неповреждающей ткань технологии.

## ВЫВОДЫ

1. На основе метода ОКЭ на экспериментальных моделях опухолей гистиоидного типа установлены диапазоны значений модуля упругости гистологических структур, возникающих при лечении противоопухолевыми препаратами с различным механизмом действия (Бевацизумаб и Цисплатин): жизнеспособные опухолевые клетки – 621-2000 кПа, дистрофически измененные опухолевые клетки – 411-620 кПа, отёк опухолевой ткани – 231-410 кПа, некроз опухолевой ткани – 101-230 кПа. Средние значения модулей упругости этих структур различаются достоверно ( $p < 0,05$ ).
2. Сегментация ОКЭ изображений на основе диапазонов значений модуля упругости показала высокий уровень корреляции с гистологическим сегментированием ( $r = 0,93-0,99$ ;  $p < 0,001$ ).
3. По значениям модуля упругости жизнеспособных опухолевых клеток, выявленных методом ОКЭ, установлена высокая диагностическая точность (83-94%) определения степени ответа экспериментальной опухоли на лекарственную терапию.
4. На основе метода ОКЭ по характерным значениям модуля упругости продемонстрирована возможность дифференцировать гистологические структуры аденокарциномы Grade II-III молочной железы пациентов (жизнеспособные клетки опухоли, строму и некроз опухолевой ткани), в том числе, после НАХТ, и определять степени ответа опухоли на лечение.
5. Установлена возможность метода ОКЭ на основании характерных значений модуля упругости гистологических структур определять морфологический статус колоректального рака пациентов: различать степени дифференцировки (аденокарциномы Grade I от Grade II-III) и морфологические подтипы (аденокарциному без дополнительного уточнения, крибриформную и муцинозную аденокарциномы).

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### *Патент автора по теме диссертации:*

**Плеханов, А.А.** Способ прижизненной оценки микроструктуры опухолевой ткани в эксперименте / А.А. Плеханов, М.А. Сироткина, Е.В. Губарькова, В.Ю. Зайцев, А.А. Советский, С.С. Кузнецов, Л.А. Матвеев, А.Л. Матвеев, Е.В. Загайнова, Н.Д. Гладкова // Патент на изобретение № 2732823, заявка № 2020114397, приоритет от 22.04.2020, регистрация от 22.09.2020.

### *Публикации в научных рецензируемых журналах:*

1. **Плеханов, А.А.** Оптическая когерентная эластография для задач оценки биомеханических свойств опухоли в ходе химиотерапии: пилотное исследование / А.А. Плеханов, Е.В. Губарькова, А.А. Советский, В.Ю. Зайцев, Л.А. Матвеев, А.Л. Матвеев, Л.Б. Тимофеева, С.С. Кузнецов, Е.В. Загайнова, Н.Д. Гладкова, М.А. Сироткина // Современные технологии в медицине. – 2018. – Т. 10, № 3. – с. 43-51 [*Web of Science, Scopus, Q-3, IF=0,75*].
2. **Plekhanov, A.A.** Histological validation of in vivo assessment of cancer tissue inhomogeneity and automated morphological segmentation enabled by Optical Coherence Elastography/ A.A. Plekhanov, M.A. Sirotkina, A.A. Sovetsky, E.V. Gubarkova, S.S. Kuznetsov, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, E.V. Zagaynova, and N.D. Gladkova, V.Y. Zaitsev // *Scientific Reports*. – 2020. – V. 10, 11781 – p. 1-16 [*WoS, Scopus, Q-1, IF=4,53*].
3. **Plekhanov, A.A.** In vivo morphological segmentation of tumor by OCT-elastography / A.A. Plekhanov, M.A. Sirotkina, E.V. Gubarkova, A.A. Sovetsky, S.S. Kuznetsov, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, E.V. Zagaynova, G.V. Gelikonov, V.Y. Zaitsev, N.D. Gladkova // *Annals of Oncology*. – 2021. – V. 32, S. 5 – p. 924 [*WoS, Q-1, IF=32,9*].
4. Gubarkova, E.V. OCT-elastography-based optical biopsy for breast cancer delineation and express assessment of morphological/molecular subtypes / E.V. Gubarkova, A.A. Sovetsky, V.Y. Zaitsev, A.L. Matveyev, D.A. Vorontsov, M.A. Sirotkina, L.A. Matveev, **A.A. Plekhanov**, N.P. Pavlova, S.S. Kuznetsov, A.Y. Vorontsov, E.V. Zagaynova, and N.D. Gladkova // *Biomedical Optics Express*. – 2019. – V. 10, I. 5 – p. 2244-2263 [*WoS, Scopus, Q-1, IF=3,91*].
5. Sovetsky, A.A. Full-optical method of local stress standardization to exclude nonlinearity-related ambiguity of elasticity estimation in compressional optical coherence elastography / A.A. Sovetsky, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, E.V. Gubarkova, **A.A. Plekhanov**, M.A. Sirotkina, N.D. Gladkova, V.Y. Zaitsev // *Laser Physics Letters*. – 2020. – V. 17, N. 6 – p. 065601 [*WoS, Scopus, Q-1, IF=2,33*].
6. Sirotkina, M.A. In vivo assessment of functional and morphological alterations in tumors under treatment using OCT-angiography combined with OCT-elastography / M.A. Sirotkina, E.V. Gubarkova, **A.A. Plekhanov**, A.A. Sovetsky, V.V. Elagin, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, S.S. Kuznetsov, E.V. Zagaynova, N.D. Gladkova, and V.Y. Zaitsev // *Biomedical Optics Express*. – 2020. – V. 11, I. 3 – p. 1365-1382 [*WoS, Scopus, Q-1, IF=3,91*].
7. Gubarkova, E.V. Diagnostic Accuracy of Cross-Polarization OCT and OCT-Elastography for Differentiation of Breast Cancer Subtypes: Comparative Study / E.V. Gubarkova, E.B. Kiseleva, M.A. Sirotkina, D.A. Vorontsov, K.A. Achkasova, S.S. Kuznetsov, K.S. Yashin, A.L. Matveyev, A.A. Sovetsky, L.A. Matveev, **A.A. Plekhanov**, A.Y. Vorontsov, V.Y. Zaitsev and N.D. Gladkova // *Diagnostics*. – 2020. – V. 10, N. 12 – p. 994 [*WoS, Scopus, Q-2, IF=3,11*].
8. Gubarkova, E.V. Intraoperative assessment of negative resection margins in breast-conserving surgery using optical coherence elastography / E.V. Gubarkova, **A.A. Plekhanov**, M.A. Sirotkina, D.A. Vorontsov, A.A. Sovetsky, A.L. Matveyev, S.S. Kuznetsov, L.A. Matveev, E.V. Zagaynova, G.V. Gelikonov, A.Y. Vorontsov, V.Y. Zaitsev, N.D. Gladkova // *Annals of Oncology*. – 2021. – V. 32, S. 5 – p. 923 [*WoS, Q-1, IF=32,9*].

*Глава в книге:*

9. Gelikonov, G. Multimodal OCT for Malignancy Imaging / G. Gelikonov, V. Gelikonov, A. Moiseev, P. Shilyagin, S. Ksenofontov, I. Kasatkina, D. Terpelov, L. Matveev, A. Matveyev, V. Zaitsev, A. Sovetsky, N. Gladkova, E.V. Zagaynova, M. Sirotkina, E. Gubarkova, E. Kiseleva, **A. Plekhanov**, V. Elagin, K. Yashin, D. Vorontsov, E. Sedova, A. Maslennikova, S. Kuznetsov, A. Vitkin / Book: Multimodal Optical Diagnostics of Cancer // Springer Nature Publishing – 2020. – ISBN 978-3-030-44594-2 – p. 599-647.

*Публикации научных докладов:*

10. **Plekhanov, A.A.** Optical coherence elastography as a new method for estimation of chemotherapy efficacy on triple-negative breast cancer in the experiment / A.A. Plekhanov, M.A. Sirotkina, A.A. Sovetsky, E.V. Gubarkova, E.B. Kiseleva, V.Y. Zaitsev, L.A. Matveev, A.L. Matveyev, S.S. Kuznetsov, E.V. Zagaynova, N.D. Gladkova // Proceedings of SPIE. – 2019. – № 11065, 1106506 – p. 1-9 [*WoS, Scopus*].
11. **Plekhanov, A.A.** Determining morphological structures' stiffness values of tumor tissue by optical coherence elastography / A.A. Plekhanov, M.A. Sirotkina, V.Y. Zaitsev, E.V. Gubarkova, S.S. Kuznetsov, E.N. Grigoreva, A.A. Sovetsky, L.A. Matveev, A.L. Matveyev, E.V. Zagaynova, N.D. Gladkova // Proceedings of SPIE. – 2020. – № 11457, 1145707 – p. 1-5 [*WoS, Scopus*].
12. **Plekhanov, A.A.** OCE-based quasistatic elasto-spectroscopy to characterize tumors by their linear and nonlinear elasticity / A.A. Plekhanov, E.V. Gubarkova, M.A. Sirotkina, A.A. Sovetsky, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, N.D. Gladkova, E.V. Zagaynova, V.Y. Zaitsev // IEEE Proceedings of 2020 International Conference Laser Optics (ICLO). – 2020. – p. 1-1 [*WoS, Scopus*].
13. **Plekhanov, A.A.** Optical coherence elastography to determine the high- and low-grade colon adenocarcinoma / A.A. Plekhanov, M.A. Sirotkina, A.A. Sovetsky, S.S. Kuznetsov, L.A. Matveev, V.E. Zagaynov, E.V. Gubarkova, A.L. Matveyev, E.V. Zagaynova, V.Y. Zaitsev, N.D. Gladkova // Proceedings of SPIE. – 2021. – № 11645, 116450X – p. 1-6 [*Scopus*].
14. **Plekhanov, A.A.** Improvement of breast cancer histological examination by means of multimodal OCT / A.A. Plekhanov, E.V. Gubarkova, A.A. Sovetsky, M.A. Sirotkina, S.S. Kuznetsov, L.A. Matveev, D.A. Vorontsov, A.L. Matveyev, E.V. Zagaynova, V.Y. Zaitsev, N.D. Gladkova // Proceedings of SPIE. – 2021. – № 11924, 119241H – p. 1-4 [*Scopus*].
15. Sovetsky, A.A. OCT-based three-dimensional strain mapping for elastography and relaxography / A.A. Sovetsky, A.L. Matveyev, E.V. Gubarkova, L.A. Matveev, N.P. Pavlova, **A.A. Plekhanov**, D.V. Shabanov, V.M. Gelikonov, G.V. Gelikonov, E.V. Zagaynova, N.D. Gladkova, V.Y. Zaitsev // Proceedings of SPIE. – 2019. – № 11065, 1106503 – p. 1-7 [*WoS, Scopus*].
16. Zaitsev, V.Y. Compressional optical coherence elastography for performing histology-like assessment of breast cancers / V.Y. Zaitsev, E.V. Gubarkova, A.A. Sovetsky, A.L. Matveyev, D.A. Vorontsov, L.A. Matveev, **A.A. Plekhanov**, S.S. Kuznetsov, A.Y. Vorontsov, and N.D. Gladkova // Proceedings of SPIE. – 2019. – № 11078, 110780Z – p. 1-3 [*WoS, Scopus*].
17. Gubarkova, E.V. Assessment of human breast cancer margins by compressional optical coherence elastography / E.V. Gubarkova, A.A. Sovetsky, V.Yu. Zaitsev, L.A. Matveev, A.L. Matveyev, D.A. Vorontsov, **A.A. Plekhanov**, S.S. Kuznetsov, M.A. Sirotkina, A.Yu. Vorontsov, N.D. Gladkova // Proceedings of SPIE. – 2020. – № 11457, 1145709 – p. 1-5 [*WoS, Scopus*].
18. Zaitsev, V.Y. Compressional optical coherence elastography as a tool for feasible in vivo histology-like morphological segmentation of cancer-tissue constituents / V.Y. Zaitsev, E.V. Gubarkova, **A.A. Plekhanov**, A.A. Sovetsky, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, M.A. Sirotkina, S.S. Kuznetsov, E.V. Zagaynova, N.D. Gladkova // Proceedings of SPIE. – 2020. – № 11359, 113590E – p. 1-5 [*Scopus*].

19. Zaitsev, V. OCE-based quasistatic elasto-spectroscopy of living and freshly excised tumor tissue for histology-like morphological segmentation and express assessment of tumor subtypes / V. Zaitsev, A. Matveyev, L. Matveev, A. Sovetsky, **A. Plekhanov**, E. Gubarkova, M. Sirotkina, E.V. Zagaynova, N. Gladkova // Proceedings of SPIE. – 2020. – № 11645, 116450J [*Scopus*].
20. **Плеханов, А.А.** Оценка эффективности противоопухолевой терапии трижды негативного рака молочной железы мышей методом мультимодальной оптической когерентной томографии / А.А. Плеханов, Е.В. Губарькова, А.А. Советский, Н.П. Павлова, Е.Б. Киселева, М.А. Сироткина, Н.Д. Gladkova // Материалы научной сессии молодых учёных и студентов «Медицинские этюды», 21.03.2018, г. Нижний Новгород. – 2018. – с. 306-308.
21. **Плеханов, А.А.** Оценка противоопухолевой активности цисплатина на мышинной модели рака молочной железы методом оптической когерентной эластографии / А.А. Плеханов, Е.В. Губарькова, А.А. Советский, Е.Б. Киселева, Н.П. Павлова, М.А. Сироткина, Н.Д. Gladkova // Сборник тезисов 23 Нижегородской сессии молодых учёных, 22.05.2018, г. Нижний Новгород. – 2018. – с. 143-144.
22. Губарькова, Е.В. Роль ОКТ-эластографии в ранней диагностике и оценки эффективности лечения в онкологии / Е.В. Губарькова, М.А. Сироткина, А.А. Советский, Н.П. Павлова, **А.А. Плеханов**, Д.А. Воронцов, Л.А. Матвеев, Н.Д. Gladkova // Научный студенческий журнал «Клинический случай» по результатам научной сессии молодых учёных и студентов «Медицинские этюды», 21.03.2018, г. Нижний Новгород. – 2018. – с. 51-52.
23. **Плеханов, А.А.** Динамическое исследование упругих свойств трижды негативного рака молочной железы при химиотерапии методом оптической когерентной эластографии / А.А. Плеханов, М.А. Сироткина, Е.Б. Киселева, А.А. Советский, Л.А. Матвеев, В.Ю. Зайцев, С.С. Кузнецов, Е.В. Губарькова, Н.Д. Gladkova // Тезисы XXII Российского онкологического конгресса, 13.11.2018, г. Москва, «Злокачественные опухоли». – 2018. – Т. 3, № 3 – с. 273-274.
24. **Плеханов, А.А.** Возможности оптической когерентной эластографии в определении противоопухолевой эффективности химиопрепаратов на модели опухоли / А.А. Плеханов, Н.Д. Gladkova // Сборник материалов XXVI Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов», 08.04.2019, г. Москва. – 2019. – с. 1-2.
25. **Плеханов, А.А.** Оптическая когерентная эластография как метод визуализации ответа опухоли на лечение / А.А. Плеханов, М.А. Сироткина, Е.В. Губарькова, А.А. Советский, В.Ю. Зайцев, С.С. Кузнецов, Д.А. Воронцов, Н.Д. Gladkova // Сборник материалов X Съезда онкологов России, 17.04.2019, г. Нижний Новгород. – 2019. – с.112-113.
26. **Плеханов, А.А.** Определение локальных изменений жёсткости в опухоли, возникающих под действием химиотерапии методом оптической когерентной эластографии / А.А. Плеханов, М.А. Сироткина, Е.В. Губарькова, А.А. Советский, Н.Д. Gladkova // Сборник тезисов Пятой Всероссийской конференции молодых ученых и студентов с международным участием «VolgaMedScience», 13.03.2019, г. Нижний Новгород. – 2019. – с. 452-453.
27. **Плеханов, А.А.** Изучение эффективности антиангиогенной терапии на модели рака молочной железы методом мультимодальной оптической когерентной томографии / А.А. Плеханов, М.А. Сироткина, Е.В. Губарькова, А.А. Советский, В.Ю. Зайцев, С.С. Кузнецов, Н.Д. Gladkova // Материалы 72 Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых учёных «Биосистемы», 24.04.2019, г. Нижний Новгород. – 2019. – с. 168.
28. **Плеханов, А.А.** Определение противоопухолевой эффективности цитотоксической химиотерапии на моделях рака молочной железы и колоректального рака методом оптической когерентной эластографии в эксперименте / А.А. Плеханов, М.А. Сироткина,

- Е.В. Губарькова, А.А. Советский, В.Ю. Зайцев, С.С. Кузнецов, Н.Д. Гладкова // Сборник тезисов 24 Нижегородской сессии молодых учёных, 22.05.2019, г. Нижний Новгород. – 2019. – с. 47-48.
29. **Plekhanov, A.A.** In vivo detection of tumor response to chemotherapy by optical coherence elastography / A.A. Plekhanov, M.A. Sirotkina, E.V. Gubarkova, A.A. Sovetsky, V.Y. Zaitsev, L.A. Matveev, A.L. Matveyev, S.S. Kuznetsov, N.D. Gladkova // VII International Symposium Topical Problems of Biophotonics 2019, 27.07.2019, Nizhny Novgorod-Uglich. – 2019. – p. 169-170.
  30. Gubarkova, E.V. Quantitative compressional optical coherence elastography for monitoring of tumor response to photodynamic therapy / E.V. Gubarkova, M.A. Sirotkina, V.Y. Zaitsev, A.A. Sovetsky, L.A. Matveev, **A.A. Plekhanov**, S.S. Kuznetsov, A.L. Matveyev, N.D. Gladkova // VII International Symposium Topical Problems of Biophotonics 2019, 27.07.2019, Nizhny Novgorod-Uglich. – 2019. – p. 36-37.
  31. Gladkova, N. Multimodal OCT for malignancy imaging and for predicting of tumor response to treatment / N. Gladkova, A. Moiseev, E. Zagaynova, E. Gubarkova, M. Sirotkina, E. Kiseleva, K. Yashin, D. Vorontsov, S. Kuznetsov, **A. Plekhanov**, V. Elagin, A. Vitkin, G. Gelikonov, P. Shilyagin, S. Ksenofontov, L. Matveev, A. Matveev, V. Zaitsev // VII International Symposium Topical Problems of Biophotonics 2019, 27.07.2019, Nizhny Novgorod-Uglich. – 2019. – p. 123-125.
  32. Zaitsev, V.Y. Application of oct-based elastography for breast cancer delineation and express assessment of morphological/molecular subtypes / V.Y. Zaitsev, E.V. Gubarkova, A.A. Sovetsky, A.L. Matveyev, D.A. Vorontsov, M.A. Sirotkina, L.A. Matveev, **A.A. Plekhanov**, N.P. Pavlova, S.S. Kuznetsov, A.Y. Vorontsov, E.V. Zagaynova, N.D. Gladkova // VII International Symposium Topical Problems of Biophotonics 2019, 27.07.2019, Nizhny Novgorod-Uglich. – 2019. – p. 86-87.
  33. **Плеханов, А.А.** Компрессионная оптическая когерентная эластография для задач оценки биомеханических свойств опухоли в ходе химиотерапии / А.А. Плеханов, М.А. Сироткина, Е.В. Губарькова, А.А. Советский, В.Ю. Зайцев, А.Л. Матвеев, Л.А. Матвеев, С.С. Кузнецов, Н.Д. Гладкова // Тезисы VI Съезда биофизиков России, 16.09.2019, г. Сочи. – 2019. – с. 237.
  34. Гладкова, Н.Д. Оптическая когерентная томография для диагностики структуры, микроциркуляции и эластических свойств тканей человека / Н.Д. Гладкова, Е.В. Губарькова, Е.Б. Киселева, М.А. Сироткина, К.С. Яшин, Д.А. Воронцов, **А.А. Плеханов**, С.С. Кузнецов, Г.В. Геликонов, А.А. Моисеев, В.Ю. Зайцев, Л.А. Матвеев, и Е.В. Загайнова // Сборник материалов VI Съезда биофизиков России, 16.09.2019, г. Сочи. – 2019. – с. 183-184.
  35. Губарькова, Е.В. Визуализация и классификация тканей рака молочной железы методом мультимодальной оптической когерентной томографией / Е.В. Губарькова, А.А. Советский, А.А. Моисеев, В.Ю. Зайцев, Л.А. Матвеев, Д.А. Воронцов, С.С. Кузнецов, **А.А. Плеханов**, Е.Б. Киселева, М.А. Сироткина, А.Ю. Воронцов, Н.Д. Гладкова // Тезисы XXIII Российского онкологического конгресса, 12.11.2019, г. Москва, «Злокачественные опухоли». – 2019. – Т. 9, № 3 – с. 53-54.
  36. **Плеханов, А.А.** Возможности метода оптической когерентной эластографии в определении гистотипов колоректального рака пациентов / А.А. Плеханов, М.А. Сироткина, Е.В. Губарькова, М.А. Плеханова, Н.Д. Гладкова // Сборник тезисов Шестой Всероссийской конференции молодых ученых и студентов с международным участием «VolgaMedScience», 17.03.2020, г. Нижний Новгород. – 2020. – с. 43-45.
  37. **Плеханов, А.А.** Определение возможности интраоперационного выявления гистотипов колоректального рака методом оптической когерентной эластографии / А.А. Плеханов, М.А. Сироткина, А.А. Советский, С.С. Кузнецов, Е.В. Губарькова, В.Ю. Зайцев, Е.В.

- Загайнова, Н.Д. Гладкова // Материалы VI Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2020», 25.06.2020, г. Санкт-Петербург (онлайн). – 2020. – с. 304.
38. Губарькова, Е.В. Кросс-поляризационная ОКТ и ОКТ-эластография для оценки микроструктуры ткани молочной железы / Е.В. Губарькова, А.А. Советский, А.А. Моисеев, Д.А. Воронцов, **А.А. Плеханов**, М.А. Сироткина, Е.Б. Киселева, С.С. Кузнецов, А.Ю. Воронцов, В.Ю. Зайцев, Н.Д. Гладкова // Медицинская физика (ТКМФ-7). Сборник тезисов VII Троицкой конференции с международным участием, г. Москва. – 2020. – с. 120-121.
39. Сироткина, М.А. Мультимодальная оптическая когерентная томография для оценки эффективности противоопухолевой терапии / М.А. Сироткина, Е.В. Губарькова, **А.А. Плеханов**, С.С. Кузнецов, А.А. Моисеев, В.Ю. Зайцев, Е.В. Загайнова, Н.Д. Гладкова // Материалы VI Междисциплинарной конференции «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии», 27.09.2020, г. Нижний Новгород. – 2020. – с. 97.
40. Zaitsev, V.Y. Characterization of tissue elasticity with Optical Coherence Elastography: going beyond the linear paradigm / V.Y. Zaitsev, A.A. Sovetsky, L.A. Matveev, A.L. Matveyev, E.V. Gubarkova, **A.A. Plekhanov**, M.A. Sirotkina, N.D. Gladkova // Abstract of «Chinese-Russian Workshop on Biophotonics and Biomedical Optics», 29-30.09.2020, г. Саратов. – 2020. – p. 85-89.
41. **Плеханов, А.А.** Определение морфологических типов колоректального рака методом оптической когерентной эластографии / А.А. Плеханов, М.А. Сироткина, С.С. Кузнецов, А.А. Советский, Е.В. Губарькова, В.Ю. Зайцев, Е.В. Загайнова, Н.Д. Гладкова // Материалы 73 Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых учёных «Биосистемы», 28.10.2020, г. Нижний Новгород. – 2020. – с. 68.
42. Губарькова, Е.В. Морфологическое сегментирование опухолей методом оптической когерентной эластографии для диагностики и мониторинга эффективности лечения / Е.В. Губарькова, **А.А. Плеханов**, А.А. Советский, М.А. Сироткина, С.С. Кузнецов, Д.А. Воронцов, Л.А. Матвеев, А.Л. Матвеев, В.Ю. Зайцев, Н.Д. Гладкова // Сборник трудов конференции «XVIII Всероссийский молодежный Самарский конкурс – конференция научных работ по оптике и лазерной физике», 10-14.11.2020, г. Москва – 2020. – с. 18.
43. **Плеханов, А.А.** Определение степени дифференцировки колоректальной аденокарциномы по упругим свойствам компонентов ткани методом оптической когерентной эластографии / А.А. Плеханов, М.А. Сироткина, С.С. Кузнецов, А.А. Советский, Е.В. Губарькова, В.Е. Загайнов, В.Ю. Зайцев, Е.В. Загайнова, Н.Д. Гладкова // Материалы 74 Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых учёных «Биосистемы», 21.04.2021, г. Нижний Новгород. – 2021. – с. 167.
44. **Плеханов, А.А.** Оптическая когерентная эластография для задач определения морфологического подтипа и степени дифференцировки колоректального рака / А.А. Плеханов, А.А. Советский, Е.В. Губарькова, Н.Д. Гладкова, М.А. Сироткина, В.Ю. Зайцев, В.Е. Загайнов // Материалы XXIV Международной медико-биологической научной конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье», 24.04.2021, г. Санкт-Петербург. – 2021. – с. 452-453.
45. **Плеханов, А.А.** Повышение информативности гистологического исследования рака молочной железы методом мультимодальной ОКТ / А.А. Плеханов, М.А. Сироткина, А.А. Советский, Е.В. Губарькова, Д.А. Воронцов, Н.Д. Гладкова / Сборник тезисов Седьмой Всероссийской конференции молодых ученых и студентов с международным участием «VolgaMedScience», 16.03.2021, г. Нижний Новгород. – 2021. – с. 41-43.