ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИНСТИТУТ ПРИКЛАДНОЙ ФИЗИКИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» (ИПФ РАН)

На правах рукописи

tofer

Советский Александр Александрович

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ДЕФОРМАЦИЙ И УПРУГИХ СВОЙСТВ ТКАНЕЙ НА ОСНОВЕ КОМПРЕССИОННОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ЭЛАСТОГРАФИИ

Специальность 1.3.4 — «Радиофизика»

ДИССЕРТАЦИЯ на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук

Научный руководитель: доктор физ.-мат. наук, Зайцев Владимир Юрьевич

Консультант: кандидат биологических наук Губарькова Екатерина Владимировна

Нижний Новгород — 2022

оглавление

ВВЕДЕНИЕ
Глава 1. Реконструкция пространственного распределения деформаций на основе анализа фазочувствительных ОКТ сканов
1.1 Традиционный корреляционный и фазовый подходы к реконструкции смещений и деформаций в ОКТ
1.2 Векторная форма фазового подхода к реконструкции межкадровых деформаций и ее упрощенная вычислительно-эффективная версия
1.3 Модификация ОКТ-визуализации деформаций для медленных процессов
1.4 Нахождение больших деформаций на основе накопления инкрементальных межкадровых деформаций 36
1.5 Заключение 45
Глава 2. Количественное оценивание упругих свойств биотканей с использованием калибровочных силиконовых слоев
2.1 Верификация линейности упругого поведения силиконов и принцип получения пространственно-разрешенных нелинейных зависимостей «напряжение-деформация»
2.2 Компрессионный принцип ОКТ эластографии как альтернатива волновому подходу и важность учета искажающей роли эффектов прилипания и неровностей границ в компрессионной ОКЭ
2.3 Получение воспроизводимых оценок текущего модуля Юнга нелинейно-упругих тканей при априорно неизвестном неоднородном распределении напряжения по полю ОКТ скана
2.4 Заключение
Глава 3. Демонстрации применений ОКТ-картирования деформаций для различных биомедицинских применений71
3.1 Визуализация термомеханических деформаций в коллагеновых тканях хрящей и роговицы глаза при изменении их формы лазерным облучением 71
3.2 Использование картирования необратимых лазерно-индуцированных деформаций и сопутствующих изменений модуля Юнга для диагностики структурных изменений в коллагеновых тканях
3.3. Использование ОКТ-визуализации медленных релаксационных деформаций для оценки стабильности хрящевых имплантов,

сформированных с использованием лазерного облучения
3.4. Демонстрация возможностей использования ОКТ-картирования деформаций для визуализации осмотических деформаций в хрящевых образцах
3.5. Заключение 102
Глава 4. Компрессионная ОКЭ как основа метода квазистатической эласто- спектроскопии и его применение для дифференцирования подтипов опухолевых тканей, контроля чистоты границы резекции и <i>in vivo</i> мониторинга морфологических изменений в модельных опухолях 103
4.1 Определение «спектров жесткости» и характерных диапазонов упругого модуля для различных морфологических компонент рака для выполнимой <i>in vivo</i> морфологической сегментации ОКЭ-сканов
4.2 Автоматизированная морфологическая сегментация на основе ОКТ- эластографии и ее использование для контроля чистой границы резекции опухоли на пост-операционных образцах тканей молочной железы 113
4.3 Сравнение компрессионной оптической когерентной эластографии и компрессионной УЗИ-эластографии 119
4.4. Использование нелинейности связи «напряжение-деформация» для высокоселективного дифференцирования подтипов опухолевой ткани 130
4.5 Заключение
ЗАКЛЮЧЕНИЕ
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

введение

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Диссертационная работа посвящена развитию оптической когерентной эластографии (ОКЭ) – одному из наиболее динамично развивающихся «расширений» оптической когерентной томографии (ОКТ). По мнению авторов опубликованного в конце 2021 года фундаментального обзора, вышедшего к 30-летию создания оптической когерентной томографии, развитие эластографической модальности станет одним из основных направлений в развитии ОКТ на ближайшее десятилетие [1].

В настоящее время под термином "эластография" обычно понимают группу методов, обеспечивающих визуализацию пространственного распределения упругих свойств (как правило, модуля Юнга или модуля сдвига) биотканей. При этом иногда к эластографическим техникам причисляют и другие методы измерений, позволяющие получать информацию об упругих свойствах материалов (например, такие как атомно-силовая микроскопия и т.п. инденторные устройства). Исторически интерес к развитию инструментальных методов характеризования модуля Юнга или модуля сдвига для биомедицинских приложений связан с применяющимся уже многие сотни лет методом субъективной пальпации, позволявшей прощупыванием выявлять в биотканях наличие различных патологических включений по их повышенной "жесткости" и, соответственно, меньшей деформируемости по сравнению с окружающей нормальной более мягкой тканью. Довольно часто для обозначения субъективных отличий свойств включений, выявляемых при пальпации, помимо терминов «повышенной жесткости» или «твердости», некорректно используется термин «повышенная плотность». С точки зрения корректных физических определений, по плотности (т.е. массы на единицу объема) такие области практически не отличаются от окружающих тканей, а пальпация выявляет различия тканей по их способности изменять свою форму при приложении к ним негидростатической (т.е. не всесторонней) механической нагрузки.

Эти различия в способности изменять/поддерживать свою форму при приложении негидростатического нагружения обусловлены различиями тканей по величие модуля сдвига G, который для различных мягких тканей может отличаться во много раз и даже на порядки величины. При этом другая важная характеристика – модуль объемного сжатия K, характеризующий способность ткани менять свой объем при гидростатическом всестороннем сжатии, может оставаться почти неизменным, поскольку он в основном определяется насыщающей ткани водой (поэтому соответствующие различия для различных тканей могут оставаться в пределах единиц процентов). Важно подчеркнуть, что за исключением костной ткани, для практически всех мягких биотканей модуль сдвига G многократно (обычно на порядки)

меньше модуля объемного сжатия K, что соответствует тому, что для таких тканей коэффициент Пуассона v = (1/2)(3K - 2G)/(3K + G) очень близок к предельной величине 0.5, типичной для жидкостей [2,3]. При деформировании (сжатии или растяжении) материалов с $v \rightarrow 0.5$ под действием одноосного напряжения (когда в боковых направлениях материал может свободно расширяться), возникающие латеральные деформации имеют противоположный знак и такую величину, что объем деформируемого материала не меняется, несмотря на изменение формы. В связи с такой способностью сохранять объем при изменении формы, биоткани с $v \rightarrow 0.5$ часто называют «почти несжимаемыми», хотя даже при небольшом механическом нагружении изменения формы мягких биотканей с малыми значениями модуля сдвига *G* могут быть значительными и очень сильно различаться для различных тканей, у которых модуль объемного сжатия отличается очень слабо, оставаясь близким к модулю объемного сжатия воды, являющейся основным компонентом большинства биотканей.

Таким образом, возможность характеризовать мягкие биоткани по величине их модуля сдвига может обеспечить очень высокий контраст между компонентами биоткани и, соответственно, диагностическую информативность, часто недостижимую для других диагностических методов. Например, в такой широко используемой технологии, как медицинский ультразвук, скорость ультразвука почти полностью определяется модулем объемного сжатия (фактически – насыщающей водой) и потому даже значительные изменения механических свойств биотканей (в частности, их модуля сдвига) почти не проявляются на ультразвуковых сканах. Именно в связи с высокой информативностью и потенциально высоким контрастом, который может быть обеспечен возможностью оценивания и пространственного картирования модуля сдвига биотканей (ниже, для краткости, также называемой картированием жесткости), в последние десятилетия все возрастающее внимание привлекает развитие различных инструментальных эластографических методов, а также проводятся активные работы по исследованию биомеханических свойств тканей, в том числе развиваются модели, описывающие их упругие свойства.

Интересно отметить, что сам термин "эластография" (от лат. elasticus – "упругий" и от греческого grapho (γραφω) - пишу, черчу, рисую) возник значительно ранее, чем были продемонстрированы возможности, собственно, визуализации упругих свойств биотканей. Здесь можно отметить пионерские работы, проводившиеся в СССР еще в 1970е гг. [4,5,6] В этих работах исследовались выделенные образцы биотканей, используя нагружающие устройства, подобные тем, которые применяются в инженерных приложениях для характеризования упругих свойств биотканей проводились и зарубежными авторами [7,8]. Однако наиболее широко термин "эластография" стал применяться после начала широкого использования ультразвуковых медицинских исследований (УЗИ) для характеризования различий биотканей по жесткости. При этом врачи

пытались оценить различия жесткости биотканей задолго до появления у УЗИ сканеров специального эластографического режима. Исследуемую область нагружали и визуально наблюдали, как деформируются при этом различные области обычных УЗИ изображения (такой субъективный метод неформально назывался "eyeball sonoelastography" [9,10]). В широком смысле аналогичные попытки сочетать УЗИ-визуализацию с различными механическими воздействиями на биоткани предпринимались и другими авторами в 1980е гг. [11,12,13,14].

Важной вехой в развитии эластографии в современном понимании стала вышедшая в 1991 г. работа [15], в которой был предложен так называемый компрессионный подход к реализации УЗИ-эластографии. В этой работе было отмечено, что при нажатии поверхностью УЗИ-зонда на границу исследуемой биоткани, которая может достаточно свободно раздаваться в боковых направлениях, под поверхностью зонда в ткани создается приблизительно одноосное упругое напряжение. В этом случае упругая реакция ткани (т.е. ее деформации в осевом направлении), в соответствии с уравнениями теории упругости, определяется модулем Юнга Е. Также было отмечено, что поскольку модуль Юнга и модуль сдвига связаны известным соотношением E = 2(1+v)G, для мягких биотканей с коэффициентом Пуассона $v \rightarrow 0.5$ с высокой точностью можно считать, что E = 3G. В связи с этим картирование модуля сдвига G (отвечающего реакции среды на сдвиговое нагружение) и модуля Юнга Е (отвечающего реакции среды на одноосное продольное напряжение) несут фактически одинаковую диагностическую информацию о биомеханических свойствах тканей. Создание требуемого продольного почти одноосного напряжения может быть обеспечено достаточно просто нажатием (компрессией) плоской поверхностью УЗИ-зонда на поверхность исследуемой области. При этом можно использовать УЗИ-визуализацию для оценивания вызываемых компрессией продольных деформаций биоткани. Реализовать такое картирование деформаций (которые должны быть обратно пропорциональны интересующим значениям модуля Юнга) предлагалось на основе корреляционного отслеживания смещений рассеивателей на УЗИ изображениях деформируемой ткани [16]. Далее, определяя аксиальные градиенты найденного поля смещений, можно восстановить распределение локальных аксиальных деформаций, определяемых модулем Юнга. Предложенный в [15] квазистатический компрессионный подход был в последующие годы реализован на основе нескольких платформ ультразвуковых медицинских сканеров (например, таких как Siemens, Hitachi, Samsung [17]). Получаемая при этом карта продольных деформаций в цветовом кодировании накладывается на обычное структурное УЗИ изображение и значительно повышает информативность УЗИ обследования. При этом обеспечивается высококонтрастная визуализация отличающихся по жесткостным свойствам опухолей, даже если они практически не отличаются по эхогенности и не являются контрастными на исходных структурных изображениях.

Хотя еще в работе [15] было отмечено, что если в какой-то части скана значения модуля Юнга известно, то открывается возможность количественно характеризовать значения модуля по визуализируемой области, выпускаемые УЗИ сканеры, реализующие всей принцип компрессионной эластографии, визуализируют лишь относительное распределение жесткости, точнее говоря, деформаций в визуализируемой области. По этой причине компрессионную УЗИ эластографию часто называют деформационной эластографией (по-английски - "strain elastography"). Методы "strain elastography" широко и успешно используется, например, в задачах молочной железы [18,19,20,21,22,23,24,25], диагностики рака при этом опухоль на эластографических изображениях выделяется по сниженной в несколько раз величине деформации по сравнению с областями заведомо нормальной ткани. Помимо эластографии на основе УЗИ-визуализации аналогичные подходы опробованы и с использованием изображений MPT [11].

В связи с тем, что получаемые на основе анализа УЗИ-сканов (либо иных изображений) распределения деформаций обычно также называются эластографическими изображениями, часто «эластографией» называют методы, обеспечивающие визуализацию локальных деформаций и даже просто визуализацию смещений рассеивателей. Здесь уместно отметить, что, независимо от использования в задачах визуализации распределения упругих свойств биотканей, картирование деформаций может представлять большой интерес и само по себе для других применений, в который деформации не обязательно вызваны механическим нагружением (например, это может быть визуализация термических деформаций, деформаций осмотической природы, процессов высыхания, химической усадки и т.д.)

Обсуждавшийся выше подход к визуализации модуля Юнга использует картирование квазистатических деформаций, вызываемых вспомогательным компрессионным нагружением ткани. С другой стороны, поскольку модуль сдвига G определяет скорость распространения сдвиговых волн, в качестве вспомогательного воздействия на среду можно использовать и возбуждение сдвиговых волн (а также поверхностных волн, скорость которых близка к скорости сдвиговых). В мягких биотканях, для которых $G \ll K$, скорость сдвиговых (и поверхностных) волн также много ниже скорости продольных ультразвуковых волн, что позволяет использовать УЗИ для визуализации распространения вспомогательных сдвиговых (поверхностных) волн и оценивать их скорость и модуль G. Важным достоинством такого волнового подхода является получение не просто относительного значения, но и абсолютной величины модуля сдвига. Широкое использование волнового подхода в УЗИ эластографии также связано с тем, что сдвиговые волны в объеме ткани могут возбуждаться фокусированными ультразвуковыми пучками [26]. Такой вариант УЗИ-эластографии был реализован в 2000х годах во многом благодаря работам французских исследователей (из группы проф. Matthias Fink и проф. Мikael

Tanter [27] и впервые реализован на выпускаемой во Франции платформе SuperSonic Aixplorer [28].

УЗИ Помимо реализация эластографической модальности с использованием дополнительных механических воздействий на исследуемые ткани возможна и для других типов биомедицинской визуализации. Это относится к таким методам как магнитно-резонансная томография (со стороны больших масштабов и более грубого разрешения, чем в случае УЗИ), а также оптической когерентной томографии (ОКТ), для которой характерно значительно более высокое, по сравнению с УЗИ, разрешение, но, соответственно, меньший размер визуализируемой области. ОКТ как технология биомедицинской визуализации появилась значительно позднее ультразвуковых медицинских сканеров, история которых началась в середине 20 века. Существенно позднее, в 1991 г., вышла работа [29], от которой принято отсчитывать историю развития ОКТ, реализующей получение структурных оптических изображений на основе принципа низкокогерентной интерферометрии. Получаемые в ОКТ структурные изображения, характеризующие интенсивность обратного рассеяния оптических волн в визуализируемой области. Глубина ОКТ-визуализации сильно-рассеивающих биотканей ограничивается ослаблением зондирующей оптической волны и обычно не превышает 1-2 мм. Разрешение по глубине определяется длиной когерентности зондирующего оптического пучка, а по латеральной координате – его диаметром. Как правило, разрешение по обоим направлениям для "типичных" ОКТ систем составляет порядка 10 мкм (но по глубине оно может быть дополнительно повышено за счет использования более широкой полосы и, соответственно, меньшей длины когерентности, а по латеральной координате – за счет использования более высокой степени фокусировки пучка). Размеры области ОКТ-визуализации сопоставимы с размерами гистологических изображений. Интересно, отметить, что появление работы [29] с демонстрацией самого принципа получения ОКТ сканов совпало с появлением уже отмечавшейся выше работы [15], от которой принято отсчитывать историю возникновения УЗИ-эластографии, основанной на анализе серий структурных УЗИ сканов деформируемой биоткани. Структурные изображения ОКТ (с поправкой на меньший размер и более высокое разрешение) имеют большое сходство со структурными УЗИ сканами. В связи с этим неудивительно, что по аналогии с предложенной в работе [15] идеей о возможности эластографической визуализации на основе УЗИ было предложено реализовать эластографическую модальность и на основе сравнительного анализа структурных ОКТ сканов деформирующейся ткани [30]. При этом по сравнению с УЗИ в случае реализации эластографии на основе ОКТ можно было ожидать существенно более высокого разрешения и получения новой имеющей важное биомедицинское значение информации.

В первой работе [30] по ОКТ-эластографии по аналогии с УЗИ при сравнении интенсивностных структурных ОКТ сканов предполагалось использовать корреляционное отслеживание для выполнения первоначальной реконструкции смещений рассеивателей. Далее на основе найденного поля смещений предполагалось определять локальные деформации, возникающие, например, в ходе компрессии материала, и тем самым реализовать идею компрессионной эластографии. Появление работы [30] простимулировало начало активных исследований по созданию эластографической модальности на основе ОКТ. Первоначально эти работы проводились с акцентом на восстановление полей смещений и локальных деформаций, прежде всего, в рамках компрессионного подхода к реализации эластографии. Был проведен ряд тестирований возможностей корреляционного трекинга смещений в ОКТ на образцах реальных тканей (см., например, [31,32,33] или обзорную работу [34]). Однако, прямой перенос корреляционных принципов сравнения сканов, успешно применявшийся как в УЗИ, так и в инженерных приложениях при анализе фотографических изображений различных деформируемых образцов [35], оказался недостаточно эффективным в ОКТ. Корреляционный трекинг смещений в ОКТ подвержен довольно большим ошибкам, связанным со специфичной для ОКТ-изображений спекловой структурой, для которой характерна весьма сильная изменчивость из-за вызываемых деформацией ткани движений рассеивателей. Эта изменчивость является своего рода «декорреляционным шумом», ухудшающим точность корреляционного поиска смещений. В связи с неточностью первоначального восстановленных смещений дальнейшее нахождение локальных деформаций (т.е. градиентов смещений) возможно лишь при использовании достаточно большой базы данных (окна усреднения), что многократно ухудшает разрешение получаемого поля деформаций по сравнению с разрешением исходных структурных ОКТ сканов [36,37]. Улучшение точности корреляционного поиска смещений требует снижения деформационной чувствительности спеклов, которое может быть достигнуто лишь в случае очень специальных ОКТ приборов с использованием сверхширокополосных источников (как, например, в работе [38]). Таким образом, прямой перенос корреляционных принципов реализации компрессионной эластографии из УЗИ в ОКТ не оправдывал ожиданий о возможности получения эластографических изображений с существенно более высокой детализацией по сравнению с УЗИ эластографией.

В эти же годы в связи с началом активного использования в УЗИ динамической эластографии, основанной на измерении скорости сдвиговых волн, аналогичное направление возникло и в ОКТ-эластографии. Такой вариант представляет интерес, прежде всего, для офтальмологических применений, где вместо, собственно, сдвиговых волн большое внимание привлекло использование поверхностных волн для характеризования упругих свойств роговицы глаза [39,40,41,42]. Эти вспомогательные волны могут возбуждаться почти бесконтактно, например, при помощи воздушного удара тонкой струей воздуха [43] или радиационным давлением сфокусированного ультразвукового пучка [44]. Более того, таким ультразвуковым пучком удается возбуждать механическую волну даже на границе хрусталика глаза (по крайней

мере, в исследованиях на выделенных глазах) и регистрировать ее с помощью ОКТ. Однако, для неофтальмологических применений (например, исследования образцов различных раковых опухолей) волновой подход не очень удобен. Кроме того, для достаточно точных оценок скорости вспомогательной волны требуется обеспечивать достаточно большую длину пробега, что ограничивает обеспечиваемое таким методом разрешение вдоль направления распространения (обычно несколько сотен микрометров и хуже) [42]. Еще более проблематично обеспечение разрешения в направлении поперечном к направлению распространения волны. Далее, можно отметить, что скорость волновых возмущений (обычно поверхностных волн) несет информацию лишь о модуле сдвига при весьма малых амплитудах деформации (т.е. значения модуля в линейном приближении), хотя уже с конца 1990х годов обсуждается потенциальная диагностическая ценность исследования нелинейных зависимостей «давление-деформация» для биотканей, прежде всего, образцов рака груди [7]. По этой причине большой интерес представляло бы развитие метода, обеспечением пространственного разрешения.

На момент начала работы над данной диссертацией ни одна из известных и активно эластографических технологий не обеспечивала получение нелинейных применяемых зависимостей «напряжение-деформация» с одновременным обеспечением пространственного разрешения, хотя первые тестирования, компрессионного подхода в ОКТ-эластографии даже в линейном традиционном приближении уже начали демонстрировать обнадеживающие результаты при исследовании образцов рака груди [45]. Сами методы оценивания деформаций для задач ОКТэластографии также требовали новых решений, т.к. заимствованное из других областей прямое использование корреляционных принципов для анализа интенсивностных (амплитудных) томограмм, оказалось недостаточно эффективным. В связи с этим начали рассматриваться другие подходы на основе анализа фазы ОКТ-сигналов [46], однако они также требовали дальнейшего развития, особенно в связи с необходимостью корректного оценивания достаточно больших (единицы процентов и более) деформаций, часто имеющих место при компрессионном воздействии на ткань. Большой интерес вызывала задача обеспечения количественного оценивания упругих свойств биотканей на основе компрессионной ОКТ-эластографии, что стало бы еще одним важным преимуществом этого нового метода по сравнению с традиционной компрессионной УЗИ-эластографией, дающей лишь относительные результаты на основе различия деформаций в различных частях УЗИ-сканов. Наконец, требовало прояснения, какие же именно новые возможности может открыть более высокое разрешение ОКТ-эластографии для биомедицинской диагностики и для каких биомедицинских задач эти новые возможности могут стать особенно эффективными по сравнению с уже применяющимися эластографическими технологиями.

Исследования, составившие основу данной диссертации, были направлены на решение перечисленных выше задач, сама постановка которых уточнялась по мере выполнения работы, поскольку, несмотря на общие аналогии с другими эластографическими технологиями, реализация эластографической модальности в ОКТ требовала в ряде случаев использования новых решений, не имевших прямых параллелей в других областях.

Целями диссертации, таким образом, являлись развитие метода оптической когерентной эластографии для обеспечения высокоразрешающей визуализации деформаций, количественного картирования упругих свойств биоматериалов с учётом нелинейности их уравнений состояния, а также реализация на этой основе высокоизбирательного дифференцирования подтипов и состояний биотканей по различиям их упругих свойств (такой метод был назван «эласто-спектроскопией» по аналогии с используемым в биомедицине методом «масс-спектроскопии» [47])

Достижение поставленных целей потребовало решения следующих задач:

1. Развитие эффективных и робастных методов картирования малых и больших деформаций на основе фазочувствительной ОКТ

2. Использование развиваемых методов картирования деформаций для реализации количественной оценки не только модуля Юнга биотканей, но и получения для них нелинейных зависимостей «напряжение-деформация»

3. Постановка и проведение экспериментов для выяснения новых перспективных типов биомедицинских применений создаваемых методов высокоразрешающего картирования деформаций

4. Развитие метода квазистатической «эласто-спектроскопии» для высокочувствительного дифференцирования подтипов и/или состояний тканей и экспериментальное тестирование этих новых возможностей на реальных биотканях.

Научная новизна.

Исследования, представленные в настоящей диссертационной работе, новы и оригинальны и во многих отношениях не имеют аналогов в мире. По итогам их выполнения можно отметить следующие важные аспекты новизны:

- В ходе выполнения диссертации развит новый подход к картированию деформаций на основе анализа фазочувствительных ОКТ сигналов. Этот подход назван векторным, т.к. все промежуточные преобразования сигналов до последнего этапа выполняются без явного выделения фазы, оперируя с сигналами в комплексной форме как векторами на комплексной плоскости. Достоинствами такого метода является исключительная робастность, получение пространственного разрешения, не используя обычно требующиеся локальные поисковые

операции, а также значительно более высокая вычислительная эффективность, которая позволила реализовать в реальном времени ОКТ-визуализацию деформаций и упругих свойств ткани без использования обычно применяемых вычислений на многоядерных графических картах.

- Впервые на основе компрессионного принципа эластографии с использованием калибровочных силиконовых слоев в качестве оптических датчиков упругого напряжения разработаны процедуры получения пространственно-разрешенных зависимостей «напряжениедеформация» для биологических тканей в широком диапазоне деформаций (до десятков процентов, а также разработан не имеющий аналогов метод оценивания текущего модуля Юнга нелинейно-упругой ткани при заранее выбираемой величине упругого напряжения.

- Впервые выполнены экспериментальные демонстрации целого ряда новых применений развитого метода высокоразрешающего картирования деформаций: для исследования непериодических термомеханических деформаций в образцах роговицы глаза и хрящей в процессе лазерно-индуцированного изменения их формы; медленных релаксационных деформаций, деформаций осмотической природы, в частности, при воздействии на биоткани оптическими просветляющими агентами с различной степенью осмотической активности.

- Разработаны физические основы нового метода оптической биопсии на основе ОКТэластографии, позволяющей по различиям упругих свойств автоматизировано выполнять морфологическое сегментирование тканей раковых опухолей непосредственно на свежевырезанных образцах тканей (в том числе для задачи интраоперационного контроля чистоты границы резекции опухоли) и даже in vivo (для модельных опухолей животных с целью контроля морфологических изменений в ходе лечения и естественного роста таких опухолей). Методология и методы исследования

При развитии методов визуализации деформаций и распределения упругих свойств на основе анализа фазо-чувствительных ОКТ сканов использовались методы Фурье-анализа комплексных сигналов и численное моделирование для предварительного тестирования разрабатываемых методов. При проведении экспериментов использовались данные изготовленных в ИПФ РАН и используемых в Приволжском исследовательском медицинском университете (ПИМУ) спектральных ОКТ систем с частотой получения А-сканов 20 кГц, имеющих осевое разрешение ≈ 10 мкм, поперечное разрешение ≈ 15 мкм и позволяющих визуализировать глубину 2 мм в воздухе. ОКТ-сканы имели размер 256х256 пикселей, обычно покрывающие 4 мм в боковом направлении (автоматическая система позиционирования обеспечивала возможность сшивания нескольких сканов в боковом направлении, чтобы покрыть до 15...20 мм). Постобработка ОКТ данных проводилась в пакете Matlab.

Эксперименты на модельных опухолях, прививаемых животным, а также обследования образцов опухолей молочной железы проводились в ПИМУ совместно с коллегами-биологами и

медиками с соблюдением протоколов, одобренных этическим комитетом ПИМУ. Для результатов ОКЭ использовалось верификации сравнение с данными последующих гистологических биологических исследований же образцов, выполнявшихся тех квалифицированными гистопатологами. Развиваемые методы также апробировались на фантомных образцах, а для верификации выводов, получаемых по результатам ОКЭ измерений, использовались альтернативные методы, такие как измерении давления с помощью пьезо-датчика силы и сравнение с результатами УЗИ-эластографии на приборах, одобренных для клинического применения.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Анализ фазы сравниваемых ОКТ сканов с использованием предложенного векторного метода позволяет выполнять оценивание аксиальных деформаций даже при наличии сверхволновых смещений рассеивателей без необходимости предварительного снятия неопределенности фазовых вариаций с точностью до целого числа периодов. Развитый векторный метод обладает исключительной робастностью по отношению к ошибкам измерений и шумам и является вычислительно эффективным.

2. Установленная высокая линейность биоподобных полимерных материалов (таких как силиконы) позволяет использовать слой такого материала в качестве оптического датчика упругого напряжения и выполнять не только количественные оценки модуля Юнга на основе компрессионного подхода, но и получать нелинейные зависимости «напряжение-деформация» для реальных биотканей, характеризующихся выраженной нелинейностью.

3. Накопление межкадровых деформаций с отслеживанием текущих смещений рассеивающих частиц позволяет визуализировать достаточно большие деформации (до десят ков процентов) и использовать такой метод для бесконтактного изучения деформационных процессов различной природы (термических, производимых механически, вызываемых релаксацией внутренних напряжений, осмотических деформаций и т.д.) с характерными временами изменчивости от ~десятка миллисекунд до тысяч секунд.

4. Развитый метод квазистатической ОКТ-эластоспектроскопии на основе установленных различий упругих свойств морфологических компонент биотканей позволяет дифференцировать подтипы опухолей рака молочной железы и контролировать чистоту границы резекции, исследуя непосредственно свежие образцы ткани (с возможностью интраоперационного применения), а для модельных опухолей животных позволяет вести мониторинг происходящих в них морфологических изменений даже in vivo.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты диссертационной работы внесли существенный вклад в развитие новой диагностической технологии на основе ОКТ – компрессионной оптической когерентной эластографии, заполняющей нишу между широко применяемой ультразвуковой эластографией и методами атомно-силовой микроскопии с субклеточным разрешением. Представленные в диссертации методы позволяют характеризовать деформации и упругие свойства среды, начиная с масштабов порядка нескольких десятков микрон (т.е. масштабов ~5-10 клеток, на которых одиночные клетки уже формируют ткань). Ранее возможности эластографических исследований на таких масштабах не были возможны. В связи с этим полученные в диссертации результаты открывают ранее недоступные перспективы для широкого спектра биомедицинских применений (как в исследовательских целях, так и клинического использования). Также возможны и немедицинские применения для характеризования различных полимеров и т.п. материалов.

Так, развитые методы ОКТ-картирования деформаций открыли широкие возможности исследования деформационных процессов различной природы. В частности, выполненные при подготовке диссертации исследования позволили экспериментально проверить ранее теоретически предсказанный эффект, что максимальные лазерно-индуцированные деформации локализуются не просто в области максимальной температуры, но также определяются и термоупругими деформациями, локализующимися в области максимальных градиентов температуры. Выясненные особенности будут использованы для дальнейшей оптимизации пространственновременной структуры облучающего лазерного поля, с целью обеспечения эффективности новых технологий лазерного изменения формы биотканей при использовании более низкой температуры, что должно одновременно обеспечить снижение биологических повреждений ткани. Развитая ОКТ-технология обнаружения медленных деформаций уже подтвердила возможности ее интраоперационного использования для контроля стабильности хрящевых имплантов. Новые возможности по исследованию осмотических деформаций будут способствовать углублению понимания сложной пространственно-временной динамики осмотических явлений.

Разработанные методы высокоразрешающей визуализации упругих свойств биотканей с возможностью получения нелинейных зависимостей «напряжение-деформация» открывают новые возможности для исследования биомеханических свойств различного типа тканей. Развитый при подготовке диссертации подход к автоматизированной морфологической сегментации биотканей с использованием различий упругих свойств морфологических компонент может быть использован как in vivo в биомедицинских исследованиях на животных (прежде всего для задач онкологии). Более того, в контексте будущих клинических применений продемонстрированы эластографической возможности развитого В диссертации метода сегментации для интраоперационного определения чистоты границы резекции опухоли в ходе операций по

удалению рака груди. Очевидно также, что развитые эластографические методы представляют большой интерес для характеризования механических свойств различных биоматериалов, используемых в качестве имплантов и скаффолдов, получаемых как модификацией различных реальных биотканей, так и создаваемых методами тканевой инженерии.

Результаты, полученные в диссертации, использовались при выполнении проектов в рамках грантов Российского Научного Фонда, Российского Фонда фундаментальных исследований, Фонда содействия инновациям и Правительства Нижегородской области (грант РНФ № 16-15-10274 грант РФФИ № 18-32-00608 мол_агрант РФФИ № 18-32-20056 мол_а_вед грант РФФИ № 18-42-520018 р_а рант РФФИ № 19-32-90110-Аспиранты , грант УМНИК-18 №14017ГУ/2019, грант Правительства Нижегородской области для молодых ученых в честь 800-летия г. Нижнего Новгорода, в рамках программы Министерства науки и высшего образования (соглашение No. 075-15-2020-906 - НЦМУ «Фотоника»).

Апробация и степень достоверности результатов и публикации

Основные результаты диссертации докладывались на семинарах ИПФ РАН, Конференции по радиофизике (2016, 2018), Всероссийской молодежной Самарской конкурс – конференции научных работ по оптике и лазерной физике (2019, 2020), Международной конференции "Topical Problems of Biophotonics " (годы 2017, 2019), Нижегородской сессии молодых ученых (2019), международном симпозиуме "Photonics West" (San Francisco) (2017, 2018, 2019, 2020, 2022), международной конференции Seventh International Conference on Lasers in Medicine (Romania) (2018), SPIE Photonics Europe (Strasbourg) (2018,2020), European conferences on Biomedical Optics (ЕСВО) (2017,2019, 2021), International Conference on Laser Optics (ICLO – 2018), международных конференциях SYMPOSIUM ON OPTICS & BIOPHOTONICS (проводимых в рамках конференции Saratov Fall Meeting –2017,2018, 2019, 2020) и международной конференции ICPPP (International Conference on Photoacoustic and Photothermal Phenomena) (2019).

Достоверность полученных результатов подтверждает большое количество публикаций, прошедших жесткие процедуры рецензирования и опубликованных в высокорейтинговых международных рецензируемых журналах индексируемых в WoS и Scopus (Journal of Biomedical Optics, Laser Physics Letters, Journal of Biophotonics, Biomedical Optics Express, Photonics, Materials, Coвременные технологии в медицине) и трудах ведущих конференции (SPIE Conference Proceedings, IEEE eXplore и др.) По теме диссертации опубликовано 16 журнальных статей и более 20 докладов в трудах конференций, а также получен патент на изобретение (на новый метод морфологической сегментации биотканей).

Личный вклад автора

Все результаты диссертации получены при непосредственном участии автора, как в части создания методов и алгоритмов эластографического анализа ОКТ сканов, так и в части проведения совместных с соавторами- биологами и медиками экспериментов по эластографическому

исследованию опухолей на экспериментальных животных и образцов пост-операционных опухолевых тканей.

Автор диссертации участвовал в развитии алгоритмов картирования деформаций на основе векторного подхода и играл ведущую роль при формулировке его упрощенного варианта с повышенной вычислительной эффективностью для реализации эластографической визуализации в реальном времени. Также автору принадлежит ведущая роль при разработке метода синтезирования «стандартизованных» по уровню упругого напряжения эластографических изображений сильнонелинейных и пространственно-неоднородных тканей на основе анализа и пересобирания исходных ОКТ изображений. Автором полностью разработан и реализован пользовательский интерфейс, интегрированный с программами эластографической обработки ОКТ данных, которые в последние годы используются в Приволжском медицинском университете (г. Нижний Новгород) и Институте фотонных технологий (г. Москва) с ОКТ приборами, произведенными в ИПФ РАН.

Структура и объем работы

Работа состоит из введения, четырех глав, заключения, списка цитированной литературы и списка опубликованных работ по теме диссертации. Общий объем диссертации - 153 страницы, включая 69 рисунков, 1 таблицы, список цитированной литературы, состоящий из 173 работ.

Краткое содержание диссертационной работы.

Во Введении обосновывается актуальность работы, формулируются её цели, кратко излагается содержание диссертации, приводятся положения, выносимые на защиту.

В Главе 1, посвященной визуализации локальных деформаций на основе анализа серии ОКТ сканов деформируемой области рассмотрены основные принципы получения оценок деформаций в ОКТ, начиная с традиционного корреляционного подхода и заканчивая детальным обсуждением фазового подхода и, прежде всего, варианта фазового метода названного «векторным», предложенного в работах с участием диссертанта. Обсуждаются достоинства такого подхода, обеспечившего не только беспрецедентную робастность (т.е. устойчивость к разного рода измерительным ошибкам), но и высокую вычислительную эффективность, позволившую реализовать эластографическую обработку серий ОКТ сканов даже в реальном времени без необходимости использования дорогих специализированных вычислительных средств, что важно для перспективного широкого применения новых эластографических технологий.

В Главе 2 рассматриваются вопросы, связанные с количественной оценкой упругих свойств биотканей, в том числе не только в рамках традиционной парадигмы линейной теории упругости, но и методы характеризования упругих свойств реальных биотканей, для большинства которых типично ярко-выраженное нелинейно-упругое поведение. Описываются развитые технологии получения нелинейных кривых «давление-деформация» с использованием калиброванных по величине модуля Юнга слаборассеивающих полимерных слоев в качестве

оптических датчиков локального упругого напряжения. В главе представлен созданный на этой основе и пока не имеющий аналогов в других группах метод оценивания текущего значения модуля Юнга нелинейно-упругих тканей при выбираемой одинаковой («стандартизованной») величине давления по всему полю кадра. При этом демонстрируется, что на отдельных исходных ОКТ сканах записи упругое напряжение может быть сильно неоднородно по полю скана из-за влияния механической неоднородности образца и различных неустранимых геометрических факторов.

В Главе 3 представлены результаты нескольких применений картирования локальных деформаций. В частности, продемонстрированы новые возможности, открываемые развитыми методами количественного оценивания деформаций на основе ОКТ для исследования деформационных процессов в образцах таких коллагеновых тканей, как роговица глаза и хрящевые ткани, подвергаемых умеренному, биологически недеструктивному нагреву облучением инфракрасного лазера. Такая высокочувствительная и высокоразрешающая эластографическая визуализация представляет интерес для развития новых технологий нехирургической коррекции формы роговицы глаза, а также для контроля стабильности хрящевых аутоимплантов, форму которых можно корректировать с помощью термо-механического лазерного воздействия. Еще одно из описываемых в главе перспективных применений связано с визуализацией деформаций биотканей, вызываемых осмотически-активными агентами, в частности, используемыми для оптического просветления тканей.

В Главе 4 представлены результаты применения развитой технологии получения нелинейных зависимостей «давление-деформация» и оценивания текущего модуля Юнга в условиях выбираемой стандартизованной величины локального давления (упругого напряжения) для характеризования сильно гетерогенных образцов. Для ех vivo исследований использовались образцы биотканей, полученные от пациентов в ходе хирургических вмешательств по удалению рака молочной железы, a in vivo исследования проводились на привитых модельных опухолях в лабораторных экспериментах на животных. Проведенное прицельное сравнение модуля Юнга в различных областях получаемых эластографических ОКТ изображений с результатами гистологического исследования (считающегося «золотым стандартом»), позволило выяснить, что различные морфологические компоненты опухолевых и неопухолевых тканей имеют сильно отличающиеся упругие свойства, демонстрирующие отсутствие существенного перекрытия по величине модуля Юнга. Это позволило определить для таких морфологических компонент характерные диапазоны модуля Юнга и затем использовать установленные значения для реализации своего рода «квазистатической эласто-спектроскопии» (названной так по аналогии с масс-спектроскопией). В главе описаны возможности развитого эластографического подхода различать подтипы раковых опухолей человека и с высокой точностью контролировать чистоту

границы резекции опухолей на свежих образцах, удаляемых в ходе операций. Более того, на модельных опухолях животных впервые продемонстрирована возможность в ходе лечения и естественного развития опухолей по результатам выполняемых *in vivo* эластографических исследований автоматизировано выполнять морфологическую сегментацию основных компонент опухолевой ткани с детализацией, сравнимой с результатами традиционного метода сегментации, выполняемой опытными гистопатологами на основе инвазивного гистологического исследования.

В Заключении сформулированы основные результаты, полученные в диссертации.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность и глубокую признательность своему научному руководителю доктору физ.-мат. наук Зайцеву Владимиру Юрьевичу за постановку задач и ценные указания в научной работе, а также за помощь и поддержку в исследованиях и при подготовке диссертации. Автор также благодарит Матвеева Александра Львовича и Матвеева Льва Александровича за наставления, поддержку, ценные советы и участие в обсуждении полученных результатов и благодарит всех соавторов статей за их вклад в проведенные исследования. Автор искренне признателен коллективу НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ПИМУ и в особенности Губарьковой Екатерине Владимировне, Плеханову Антону Андреевичу, Гладковой Наталье Дорофеевне за помощь в исследованиях и возможность экспериментальной апробации разработанных методов и программ. Автор благодарит сотрудников Лаборатория высокочувствительных оптических измерений ИПФ РАН и в частности Геликонова Григория Валентиновича и Геликонова Валентина Михайловича за разработку уникальных ОКТ-систем, без которых развитие эластографической модальности для ОКТ в ИПФ РАН было бы невозможно.

Глава 1. Реконструкция пространственного распределения деформаций на основе анализа фазочувствительных ОКТ сканов

Несмотря на достаточно успешную реализацию компрессионного принципа в УЗИ эластографии, прямой перенос тех же принципов визуализации деформации/жесткости из ультразвука в ОКТ, предложенный в [15], оказался недостаточно эффективным. Поэтому работоспособные реализации компрессионной ОКЭ обычно используют другой, фазовый, подход к картированию деформации. В п.1.1. сначала кратко обсуждаются причины такой ситуации, а далее основное внимание уделено фазовому подходу к оцениванию смещений и деформаций в компрессионной ОКЭ. Специальное внимание уделено реконструкции локальных деформаций в том числе, реализованной в вычислительно эффектной матричной форме, позволившей выполнять эластографическую визуализацию в реальном времени. При этом сама по себе визуализация локальных деформаций является уникальным инструментом, представляющим большой интерес не только для визуализации пространственного распределения упругих свойств биотканей. Соответствующие примеры использования описываемого в данной главе метода визуализации деформаций будет продемонстрированы в Главе 3.

1.1 Традиционный корреляционный и фазовый подходы к реконструкции смещений и деформаций в ОКТ

Чтобы продемонстрировать различия между основными подходами к визуализации локальных смещений ниже кратко обсудим традиционный корреляционный метод. Корреляционные принципы используются для отслеживания движения рассеивателей во многих приложениях, включая медицинскую ультразвуковую эластографию [11] и инженерные задачи, где такая обработка применяется к сериям фотографий деформированной поверхности [35].

Корреляционный метод определения локальных смещений основан на максимизации коэффициента взаимной корреляции, который можно представить в следующей форме:

$$C_{x,z}(x',z') = \frac{\iint I_1(x,z)I_2(x-x',z-z')dxdz}{\left[\iint I_1^2(x,z)dxdz \iint I_2^2(x-x',z-z')dxdz\right]^{1/2}}$$
(1.1)

Здесь распределения интенсивности $I_1(x,z)$ и $I_2(x,z)$ изначального и деформированного изображений зависят от продольной и поперечной к сканированию координат x и z. Интегралы от коэффициентов взаимной корреляции в уравнении (1.1) находятся по площади окна обработки W

размером $m_1 \times m_2$. В изначальном скане окно обработки W центрировано в точке (x, z). Соответствующее окно обработки Ш идентичного размера берётся на деформированном изображении и центрируется на координате (x - x', z - z'). При этом позиция центра окна обработки деформированного изображения может быть изменена на величину координаты смещения (x',z'), при которой коэффициент взаимной корреляции $C_{x,z}(x',z')$ максимален. Важным моментом является предварительное удаление среднего значения у распределения интенсивности $I_1(z,x)$ в исходном изображении (и аналогично у $I_2(x-x',z-z')$ деформированного изображения) путём вычитания соответствующих средних величин. В связи с этим величины $I_1(z,x)$ и $I_2(x-x',z-z')$ в уравнении (1.1) имеют нулевые среднее значение. Для совпадающих изображений (не подверженных деформациям и смещению) при отсутствии шумов коэффициент x', z' = 0. Для корреляции (1.1) достигает своего максимума, равного единице при деформированного изображения положения рассеивателей смещаются и коэффициент $C_{x,z}(x',z')$ достигает максимума при ненулевых координатах (x'*,z'*). Координаты (x'*,z'*) определяют вектор смещения для нового положения окна обработки, по которому оценивается корреляция. Процесс восстановления локальных смещений на основе корреляции схематически показан на рисунке 1.1.



Рисунок 1.1 — Схематическая демонстрация корреляционного поиска локальных смещений путем нахождения сдвига, для которого взаимная корреляция между фрагментами изначального скана и скана, снятого после деформирования образца, максимальна.

Этот подход имеет аналогии как в ультразвуковой эластографии [11,15], так и в инженерных приложениях, основанных на анализе фотографических изображений [35]. В работе [30] аналогичные принципы предполагалось перенести и на анализ ОКТ-изображений. Учитывая пиксельную структуру ОКТ сканов, позднее были предложены процедуры для нахождения

корреляционным методом смещений субпиксельной величины (например, с использованием процедур интерполяции [48] или с использованием теоремы сдвига для преобразований Фурье [37]).

Однако попытки прямого переноса в ОКТ корреляционных принципов оценки деформаций с помощью отслеживания перемещений оказались недостаточно успешными [31,32], так как полученные поля смещений были сильно зашумленными. Поэтому численное дифференцирование, необходимое для деформаций, вычисления локальных не дало удовлетворительных результатов.

Причина этого связана с тем, что, в отличие от фотографических изображений, ОКТ-сканы характеризуются своеобразной спекловой структурой, возникающей из-за интерференции оптических волн, отражённых от близкорасположенных, еще не разрешаемых на скане рассеивателей. Эта характерная для ОКТ спекл-структура достаточно чувствительна к деформации материала, поскольку деформирование ткани приводит к относительным смещениям рассеивателей, находящихся в пределах элемента разрешения. Такое изменение расстояния между рассеивателями на величину, равную четверти длины волны в аксиальном направлении, изменяет характер интерференции от конструктивного к деструктивному и наоборот (т.е. яркий спекл может стать темным, а темный - ярким). Из-за этого даже для умеренных деформаций порядка нескольких процентов спеклы могут "кипеть" и "мигать", что приводит к сильной амплитудной декорреляции сравниваемых ОКТ-изображений.

Интуитивно привлекательная идея – использовать корреляционный спекл-трекинг для "достаточно малых деформаций", для которых можно было бы избежать вышеупомянутой декорреляции, не оправдала себя. Причина заключается в том, что как маскирующие искажения, вызывающие как декорреляцию, так и вариации спекл-структуры, используемые для отслеживания смещений, появляются одновременно и на начальном этапе имеют один и тот же порядок по деформации. Таким образом, с самого начала деформирования «полезные» и маскирующие искажения нарастают пропорционально друг другу [36]. При этом для «типичных» параметров ОКТ систем обычно даже при сколь угодно малых деформациях декорреляция ОКТизображений обычно не позволяет достаточно точно отслеживать смещения рассеивателей, необходимые для последующего дифференцирования и нахождения деформации. Возможности корреляционного спекл-трекинга в ОКТ подробно проанализированы [37]. где показано, что корреляционный подход к оценке деформаций может реализовываться только для ОКТ систем с очень широким спектром источника, для которых сильно подавляется спекловое мигание/кипение при деформации ткани (как, например, в работе [38]). Для чаще всего используемых систем, не имеющих сверхширокополосных источников, корреляционный подход применим только для приближенных оценок деформации с усреднением по достаточно большим участкам ОКТ-скана. Поэтому, несмотря на то что метод корреляционного отслеживания используется и в настоящее

время, например, [34, 49,50,51,52,53,54], можно сказать, что в последние годы при разработке методов визуализации деформации и упругости на основе ОКТ основное внимание уделяется фазовым методам [10,46,55,56]. По этой причине в дальнейшем мы будет обсуждать только фазовый вариант определения смещений и деформаций [10,46,55,56]. Этот подход оказался достаточно перспективным и активно развивается в последние годы.

Фазовый подход известен в различных областях, где требовалось отслеживание смещений рассеивателей (например, в радиолокации или ультразвуке). Во многом аналогичным образом фазовый метод в ОКТ основан на вычислении вариации фазы между сканами, снятыми в начальном и деформированном состоянии ткани, и дальнейшем определении аксиального градиента, пропорционального деформации ткани. Зависимость между осевым смещением *и* и изменением фазы Ф ОКТ сигнала имеет вид:

$$u = \frac{\lambda_0 \Phi}{4\pi n}, \qquad (1.2)$$

где, λ_0 - центральная длина волны ОКТ-сигнала в вакууме, а *n* - показатель преломления ткани. Принимая во внимание, что искомая осевая деформация определяется градиентом смещений, $s = \partial u / \partial z \sim \partial \Phi / \partial z$, задача оценки деформации сводится к нахождению осевого градиента межкадровых фазовых вариаций. Одной из первых работ по фазочувствительным измерениям смещений в ОКТ была работа [57], а далее важный шаг к оценке локальных деформаций в ОКТ был сделан в работе [46]. В этой работе локальные градиенты фазовых вариаций (и, следовательно, деформации) оценивались среднеквадратичной регрессией зависимости межкадровых фазовых вариаций от глубины.

Прежде чем более подробно рассматривать анализ фазовых вариаций, стоит отметить, что вместо амплитуды А и фазы Ф, ОКТ сигнал удобно представлять в комплексной форме $A\exp(i\Phi) = A\cos(\Phi) + iA\sin(\Phi),$ действительной состоящей ИЗ И мнимой компонент, соответствующих косинусной и синусной квадратурам сигнала. Комплексную амплитуду можно рассматривать как вектор на комплексной плоскости, в которой длина вектора соответствует амплитуде, а угол, определяющий ориентацию, - фазе. В контексте обсуждавшегося выше явления «мигания» и «кипения» спеклов при деформировании среды важно подчеркнуть, что изменения амплитуд спеклов носят случайный характер (т.е. может иметь место и возрастание, и убывание уровня сигнала в зависимости от случайных начальных положений рассеивателей в пределах элемента разрешения). Такое случайное изменение амплитуд спеклов снижает корреляцию сравниваемых сканов и существенно ухудшает качество корреляционного отслеживания смещений. В отличие от случайных вариаций амплитуд, изменения фазы спеклов при деформировании имеют преимущественно регулярный характер (это различие схематически поясняется на рис. 1.2).



Рисунок 1.2 — Схематическая демонстрация изменений амплитуды и фазы при чисто поступательном сдвиге (а) и деформации (б) на примере двух аксиально расположенных рассеивателей одинаковой рассеивающей амплитуды, находящихся на расстоянии $D < L_{coher}$ с амплитудами рассеяния $A_{1,2}$. Согласно формуле (1.2) в случае идентичных поступательных смещений $u = \lambda_0 \Phi / 4\pi n$ сдвиг фазы Φ одинаков для каждого из рассеивателей, как показано в (а). На схеме (б) смещение вызвано деформацией $s = \partial u / \partial z$, так что центральная точка между рассеивателями испытывает одинаковое смещение, в то время как рассеиватели испытывают несколько разные смещения $u \pm (D/2)\partial u / \partial z$. Результирующий вектор рассеянной волны изменил амплитуду $\vec{A}_1 + \vec{A}_2$, но испытывает тот же сдвиг фазы Φ , что и в (а) для чисто поступательного смещения. Конечно, при не идеально равных амплитудах рассеяния результирующее изменение фазы также колеблется из-за деформации, но в любом случае в реальных тканях вызванные деформацией изменения в фазах спеклов более регулярны, чем в амплитудах.

Хотя при картировании разности фаз из-за «затекания» фазы рассеивателей в соседние пиксели имеет место и некоторая случайность. Тем не менее, как обсуждается в [37] фазовые вариации Ф оказываются существенно более устойчивыми по отношению к деформационнообусловленным декорреляционным эффектам и очень просто связаны с величиной смещения через уравнение (1.2). Типичный пример получаемой межкадровой разности фаз приведен на рис. 1.3, где показано, что на исходном и деформированном сканах фазы отдельных пикселей случайны, но распределение межкадровой разности фаз оказывается достаточно регулярным.



Рисунок 1.3 — Схема получения двумерного распределения межкадрового изменения фазы с использованием поэлементного умножения эталонного и деформированного комплексных ОКТ-сканов $a_1^*(m, j)$ и $a_2(m, j)$. Отдельные распределения фазы $\arg(a_1(m, j))$ и $\arg(a_2(m, j))$ являются нерегулярными функциями из-за случайного расположения рассеивателей. Напротив, разность фаз $\Phi(m, j) = \arg\{a_2 \cdot a_1^*\}$ детерминировано связана с полем смещения u(x, z) через уравнение (1.2). Однако соотношение (1.2) является однозначным только для достаточно малого субволнового смещения, тогда как для сверхволновых смещений в типичном представленном (из реального эксперимента) примере изменение фазы демонстрирует многократный переход от минус π к π (множество "радужных полос" на карте изменения фазы).

При фазовом методе оценки смещений, однако, имеется другая проблема. Она связана с тем, что для смещений больше, чем $\lambda_0/2$, отношение между смещением и изменением фазы определено лишь с точностью до $2\pi \cdot m$, где m целое число. Для ОКТ-сканов с типичными глубинами ~10³ мкм и $\lambda_0 \sim 1$ мкм сильная неоднозначность вариаций фазы может появляться даже при умеренных деформациях в диапазоне $10^{-3}..10^{-2}$. В таком случае общепринятым подходом к оценке сверхволновых смещений является либо суммирование достаточно малых инкрементальных межкадровых смещений, не превышающих $\pm \lambda_0/4$, [58], либо использование метода устранения фазовой неоднозначности (т. е. добавление целого периода, если измеренная вариация фазы испытывает скачки между $\pm \pi$ [54]), как показано на рисунке 1.4. Из приведённого примера, видно, что качество смещений после снятия неоднозначности может сильно ухудшаться из-за шума.



Рисунок 1.4 — Пример изменения фазы при деформировании ткани (а) и графики зависимости межкадрового изменения фазы от глубины вдоль помеченного белым пунктиром А-скана для исходных фазовых изменений без устранения неоднозначности (б) и с её устранением для выделенного А-скана (в) и для всего скана (г). Размер бара – 500мкм.

Однако для решения задачи нахождения искомых локальных деформаций снятие неоднозначности может вообще не понадобиться. А именно, производная $\partial u/\partial z \sim \partial \Phi/\partial z$, т. е. локальный градиент зависимости $\Phi(z)$ может быть найден даже в том случае, когда фаза известна с неоднозначностью до произвольного целого числа периодов. В таком случае для нахождения локального градиента $\Phi(z)$ можно, например, находить осевой градиент межкадровых вариаций фазы, используя аппроксимацию измеренной зависимости $\Phi(z)$ методом наименьших квадратов в достаточно малом интервале глубин. В пределах такого небольшого интервала глубин смещения частиц могут отличаться менее чем на $\lambda_0/2$, и неоднозначность фазы ещё не проявляется, так что локальные деформации могут быть корректно найдены. Этот метод подробно обсуждается в работе [46]. Кроме того, не только локальные, но и интегральные сверхволновые смещения могут быть реконструированы путем суммирования первоначально найденных локальных деформаций, полученных без устранения неоднозначности в визуализируемом диапазоне глубин [55, 59]).

Важной особенностью фазового метода оценки локальных деформаций, предложенного в [46], является дополнительное использование амплитудного взвешивания при выполнении процедур среднеквадратичной подгонки. Действительно, обычно на ОКТ скане пиксели с наименьшими амплитудами являются наиболее зашумленными и имеют сильно шумную фазу. Этот эффект значительно подавляется при использовании амплитудного взвешивания.

1.2 Векторная форма фазового подхода к реконструкции межкадровых деформаций и ее упрощенная вычислительно-эффективная версия

Существенным шагом в развитии предложенного в [46] подхода является его реализация в виде векторного метода, в котором все промежуточные преобразования комплексного ОКТсигнала выполняются в виде векторов в комплексной плоскости [60,61], как показано на рисунке 1.5. Этот метод, аналогично методу наименьших квадратов [46], оценивает наклон $\Phi(z)$ в выбранном малом диапазоне глубин. Обычно для улучшения отношения сигнал/шум (SNR) используется дополнительное усреднение по горизонтальной координате в небольшой области в несколько десятков микрон.



Рисунок 1.5 — Схема оценки осевого градиента фазы в векторном подходе, адаптированном для латерально неоднородных деформаций с негоризонтальными изофазными линиями. Все промежуточные преобразования выполняются с комплексными сигналами, а искомый градиент фазы выделяется на последнем этапе.

Векторный метод сохраняет преимущества амплитудного взвешивания, предложенного в работе [46], и позволяет дополнительно подавлять самые сильные фазовые ошибки $\sim \pi$ радиан в измеряемых вертикальных приращениях фазы. Действительно, как видно из рисунка 1.5 (б), векторы с наиболее сильными ($\sim \pi$ рад) фазовыми ошибками не влияют на направление результирующего вектора, оцениваемого с усреднением по окну обработки. Векторный метод демонстрирует бо́льшую устойчивость к шумам. Еще одним преимуществом является то, что векторный метод является вычислительно очень эффективным, что важно для визуализации деформаций в реальном времени.

В первоначальном варианте [60] векторный метод был предложен для фазовых вариаций

слабо неоднородных в латеральном направлении, для которых боковое усреднение давало отличные результаты. Однако в случае латерально-неоднородных деформаций с наклонными изофазными линиями такое усреднение могло привносить лишь дополнительные ошибки в оценку фазы. Для таких ситуаций была предложена улучшенная версия [61], которая сочетает в себе преимущества метода наименьших квадратов и векторного подхода, а также при оценивании локальных деформаций не нуждается в устранении неоднозначности изменений фазы, даже если эта неоднозначность достигает нескольких периодов в пределах окна обработки.

На рис. 1.5 в соответствии с [60,61] представлены последовательно выполняемые операции векторного метода для скользящего окна обработки. Первый шаг, заключается в попиксельном умножении деформированного $a_2(m, j) = A_2(m, j) \exp\{i \cdot [\varphi_2(m, j)]$ ОКТ-скана и комплексносопряженного недеформированного $a_1^*(m, j)$ скана для получения комплекснозначной матрицы $a_2(m, j)a_1^*(m, j) = b(m, j)$, в которой пиксели содержат информацию о межкадровом изменении фазы $\Phi(m, j) = \varphi_2(m, j) - \varphi_1(m, j)$, в неявном виде:

$$a_2(m,j)a_1^{*}(m,j) \equiv b(m,j) = B(m,j)\exp[i \cdot \Phi(m,j)], \qquad (1.3)$$

где $B(m, j) = A_2(m, j)A_1(m, j)$. Комплекснозначные величины b(m, j) (представленные в виде векторов в комплекснозначной плоскости) обычно заметно зашумлены из-за декорреляции, вызванной деформацией и другими шумами. Чтобы уменьшить эту неопределенность и получить более регулярный массив, величины b(m, j) могут быть усреднены в векторной форме в пределах небольшого окна усреднения $Mp \times Jp$ (обычно 2х2 пикселя):

$$\overline{b(m,j)} \equiv \hat{B}(m,j) \exp[i \cdot \hat{\Phi}(m,j)] = \sum_{m'=m}^{m+Mp-1} \sum_{j'=j}^{j+Jp-1} b(m',j').$$
(1.4)

Графическое представление такого усреднения, реализуемого суммированием отдельных векторов b(m, j), как показано на рис. 1.5(б), ясно демонстрирует, что наиболее грубые ошибки фазы автоматически подавляются, так что пиксели с ошибками фазы (~ π рад.) не влияют на направление (т.е. угол, соответствующий разности фаз сканов) результирующего вектора.

В дополнение к векторному усреднению начальной межкадровой разности фаз, показанной на рис. 1.5б, еще одной еще более важной особенностью этого метода является то, что векторное представление используется и для нахождения градиентов изменения фазы по вертикальной оси вместо метода наименьших квадратов, используемого в [46]. Соответствующие процедуры в векторной форме проиллюстрированы на рис. 1.5(в,г). Во-первых, как показано на рис. 1.5(в), межпиксельная разность фаз оценивается для пикселей, разделенных в вертикальном (осевом) направлении, с вертикальными индексами j+g и j (в простейшем случае g=1, но если нет переноса фазы в масштабе k > 1 пикселей, большее k > 1 может значительно улучшить качество оценки градиента). Таким образом, матрица

$$d(m,j) = \overline{b}(m,j+g)\overline{b}^*(m,j) \tag{1.5}$$

28

содержит информацию о требуемых вертикальных градиентах изменения фазы (рис. 1.5(в)). Конечно, при g > 1 для оценки градиента разности фаз следует использовать значение $\arg[d(m, j)]/g)$ вместо $\arg[d(m, j)]$. В свою очередь SNR оценки градиента фазы увеличивается пропорционально параметру разделения g.

Конечно, выбранное значение g не должно быть слишком большим, чтобы избежать набега фазы в вертикальном масштабе g пикселей больше, чем 2π . Если есть вертикальная деформация s, то условие сохранения однозначности фазы:

$$s \cdot g \cdot d_z < \lambda/2, \tag{1.6}$$

где *d_z* - вертикальный размер пикселя. Таким образом, ограничение на максимально допустимую деформацию для заданного *g* выглядит следующим образом:

$$s < \lambda / (2gd_z) \,. \tag{1.7}$$

Предполагая типичный вертикальный размер пикселя $d_z = 5 \,\mu\text{m}$ и длину волны $\lambda = 1 \,\mu\text{m}$ (которая близка к длине волны в ткани для часто используемых источников ОКТ с центральной длиной волны в вакууме ~ 1,3 мкм), условие сохранения однозначности фазы дает, например для g = 1, s < 0.1. Для ОКТ это огромная деформация, которая обычно вызывает почти полную декорреляцию исходного и деформированного ОКТ-сканов. Для большего на порядок g = 10 фазовая неоднозначность ограничивает деформацию меньшим, но все же довольно высоким значением $s \sim 0.01$ для ОКТ. При наличии шумов фазовая неоднозначность может возникать даже при меньших деформациях, для нивелирования этого факта можно использовать значение g = 5 при межкадровых деформациях s < 0.005, что вполне приемлемо во многих приложениях. Оптимальное g > 1 может быть выбрано эмпирически для конкретной ситуации, обеспечивая разумный компромисс между ухудшением качества отображения деформации для недостаточно большого g (когда искомый градиент маскируется шумами измерения) и слишком большого g (для которого качество снова ухудшается из-за неоднозначности фазы).

Следует также понимать, что использование g > 1 соответствует усреднению деформаций по вертикальному масштабу ~ gd_z , в связи с этим одновременно с увеличением SNR уменьшается вертикальное пространственное разрешение по сравнению с разрешением исходных структурных изображений. На практике $g \sim 2-3$ пикселей может быть разумным компромиссом между улучшением SNR и снижением вертикального разрешения поля деформаций.

Для дальнейшего улучшения SNR в оцененных градиентах фазы может быть выполнено дополнительное векторное усреднение комплекснозначных векторов d(m, j) по некоторому окну обработки для получения еще более высокого SNR восстановленных деформаций, как показано на рис. 1.5(г).

В качестве замечания о предварительном усреднении первоначально найденной матрицы изменения фазы b(m, j) стоит отметить, что в реальных ситуациях для деформированных тканей линии изофазы, соответствующие матрице, могут быть явно не горизонтальными. Более подробно такая ситуация проиллюстрирована на рисунке 1.6, показаны специально смоделированные эластографические Б-сканы, полученные для деформированного образца, в которых на смещения, вызванные деформацией, дополнительно накладывается трансляционный сдвиг, форма которого показана на рис. 1.6(а4)



Рисунок 1.6 — Иллюстрация, демонстрирующая результаты обработки модельных данных, полученных различными способами векторного усреднения. Панель (a1) - необработанная (не усредненная) карта межкадровых изменений фазы $\arg[b(m, j)]$ между модельными исходным и деформированным Б-сканами, для которых деформации и дополнительный сдвиг (красная кривая) показаны на панели (а4). (а2) изменения фазы, полученные после предварительного векторного усреднения комплекснозначной матрицы b(m, j) довольно большим окном размерами 8x8 пикселей. Как видно на панели (б2) для такого окна качество реконструкции деформаций сильно ухудшается в области наклонных изофазных линий. (а3) аналогичная карта изменения фазы после предварительного векторного усреднения меньшим окном размерами 3x3 пикселя, для которой средний шум снижается в меньшей степени, чем в левой части панелей (а2), но зато область наклонных изофазных линий не ухудшает качество в отличие от панели (а2). (б1) - карта очень зашумленной деформации, найденной на основе неусредненной карты изменения фазы (а1). (б2) представляет собой реконструированную карту деформаций для распределения изменения фазы с панели (a2), демонстрирующую превосходящее по качеству картирование в области горизонтальных изофазных линий и сильное ухудшение для наклонных изофазных линий. (б3) - карта деформаций, полученная по карте изменения фазы (a3) без последующего усреднения матрицы d(m, j), содержащей осевые градиенты. (64) представляет собой карту деформаций, полученную из предварительно векторно усредненной матрицы b(m, j) с панели (a3) в сочетании с последующим векторным усреднением матрицы *d*(*m*, *j*) окном 16х16 пикселей.

Пример на рис. 1.6 получен с использованием моделей [62, 63], описывающих формирование ОКТ-сканов для часто используемых в ОКТ слабо сфокусированных лучей с диаметром, не зависящим от глубины с большой степенью точности (сфокусированные лучи также могут быть смоделированы с использованием более продвинутых вариантов этой модели

[64,65]). При моделировании использовались следующие основные параметры, типичные для ОКТ: диаметр луча 15 мкм, центральная длина волны (в ткани) 1 мкм, ширина спектра 90 нм, глубина Б-скана 2 мм и ширина 4 мм. В недеформированном Б-скане 65000 рассеивателей с одинаковой силой рассеяния были случайным образом распределены по всей площади скана. Для имитации шумов измерения использовались случайные комплексные числа с распределением по Гауссу, добавленные к каждому пикселю структурного скана со средней интенсивностью, равной средней интенсивности структурного Б-скана без шума (т.е. шум в этом примере довольно сильный с SNR = 0 дБ для структурного изображения). В деформированном комплексном Б-скане рассеиватели были смещены, предполагая, что деформация в трех слоях несколько отличается, как показано на рис. 1.6(а4). Дополнительно к смещениям, вызванным деформацией, были добавлены поступательные смещения в правой половине скана, величина этих смещений постепенно увеличивается, как схематично показано красной кривой на рис. 1.6(а4). Поступательные смещения не влияют на осевую деформацию (и осевые градиенты изменения фазы), но вызывают изгиб изофазных линий, представленных на картах изменения фазы на рис. 1.6(a1,a2,a3). Карта изменения фазы на рис. 1.6(a1) выглядит довольно шумной из-за воздействий "декорреляционного шума" и сгенерированных аддитивных шумов, присущих реальным изображениям. Качество карты изменения фазы может быть повышено с помощью векторного усреднения. Однако в областях наклонных изофазных линий фаза может довольно быстро изменяться в боковых направлениях (рис. 1.6(а2) сильно ухудшается, поскольку выбранное скользящее окно усреднения слишком велико по сравнению с масштабом горизонтальной неоднородности карты разности фаз), так что положительный эффект усреднения матрицы (как в уравнении (1.4)) может быть получен только при использовании скользящего окна усреднения малых размеров.

Восстановленные карты деформации на рис. 1.6(б1-б4) демонстрирует насколько важно использование предварительного векторного усреднения скользящим окном малой площади и финального векторного усреднения вертикальных градиентов разности фазы. Градиенты, содержащиеся в матрице, достаточно однородны в поперечном направлении, поэтому финальное усреднение может быть выполнено с использованием гораздо большего по площади скользящего окна векторного усреднения (16х16 пикселей), чем 3х3 пикселя, используемого для предварительного усреднения. Полученная таким образом карта деформаций, показанная на рис. 1.6(б4), демонстрирует высокое сходство с распределением деформаций, заложенным при моделировании (рис. 1.6(а4)).

Следует еще раз подчеркнуть, что при моделировании для структурных сканов, показанных на рис. 1.6, был добавлен очень сильный шум с SNR=0 дБ, что подтверждает высокую устойчивость векторного метода к различным шумам, продемонстрированную и в работах других групп, также начавших применять векторный метод (см., например, [66,67]).

Наряду с помехоустойчивостью векторный подход позволяет отображать локальные деформации без каких-либо скользящих окон, используя матричные операции.

Напомним, что первый шаг нахождения матрицы b(m, j) уже был представлен в матричном виде в уравнении (1.5) как поэлементное умножение исходной и деформированной матриц $a_1^*(m, j)$ и $a_2(m, j)$. Следующим шагом, показанным на рис. 1.5(б), является усреднение матрицы b(m, j) по области с размерами $p \times q$ пикселей. Требуемый на втором шаге результат, эквивалентный усреднению по скользящему окну $p \times q$ пикселей, может быть получен путем суммирования всей матрицы со своими копиями, сдвинутыми с шагом 1,2,... p пикселей в поперечном направлении для горизонтального усреднения с последующим вертикальным усреднением, соответствующим суммированию усредненной по горизонтали матрицы с ее репликами, сдвинутыми на 1,2,... q пикселей вертикально. Эти процедуры усреднения схематически проиллюстрированы на рис. 1.7.



Рисунок 1.7 — Схема реализации матричного векторного усреднения по площади размером в $p \times q$ пикселей (для p = q = 3 на рисунке), заключающегося в суммировании матрицы с ее репликами, которые пошагово сдвигаются несколько раз по горизонтальному индексу (полностью на p пикселей), а затем получившейся усреднённой матрицы с её репликами по вертикальному индексу (полностью на q пикселей), что эквивалентно усреднению с использованием скользящего окна $p \times q$ пикселей.

Вычислительную эффективность матричного векторного метода по сравнению с векторным методом, выполняемым скользящим окном, нетрудно оценить. Для матрицы размером $M \times N$ пикселей (где $M \gg p$ и $N \gg q$) усреднение матричным методом требует выполнения $(M - p) \times (N - q) \times (p + q) \sim M \times N \times (p + q)$ суммирований. Полученный результат следует сравнить с количеством суммирований $(M - p) \times (N - q) \times p \times q \sim M \times N \times p \times q$ с использованием скользящего окна. Например, даже для умеренных размеров p = q = 4 матричная форма требует вдвое меньшего количества операций; для p = q = 8 разница уже в 4 раза и т.д. Конечно, это достигается за счет компромисса между требуемой памятью и количеством операций, но для ускорения вычислений сокращение количества операций часто имеет ключевое значение. Векторный метод получения деформаций очень устойчив к различным измерительным шумам и позволяет отображать как довольно быстрые и большие деформации (например, при обработке хрящевых имплантатов для применений в отоларингологии и челюстно-лицевой хирургии [68,69,70]), так и малые по величине и медленные деформации. Оценка деформаций таких медленных процессов с характерными временными интервалами ~ десятков минут важна для контроля новых методов лазерной модификации формы коллагеновых тканей (например, для оценки стабильности после изменения формы обработанных хрящевых имплантатов) или изучения медленных деформаций осмотического происхождения в биологических тканях (например, при процессах, сопровождающих оптическое просветление тканей [71,72,73]). Стоит отметить, что оценивание локальных деформаций по первоначально найденным полям смещения часто усложняется объемным движением ткани, которое может доминировать и сильно маскировать вклад искомых деформаций в общие наблюдаемые смещения.

Длительный (десятки минут и более) мониторинг медленных деформаций скоростными ОКТ системами приводит к накоплению больших объемов данных порядка нескольких гигабайт и более, что усложняет дальнейшее хранение и обработку. Однако использование максимальной скорости сбора данных не всегда является оптимальным для картирования медленных деформаций с точки зрения улучшения отношения сигнал/шум.

Рассмотрим ОКТ запись, состоящую из N кадров, полученных с максимальной скоростью сканирования (см. схему на рисунке 1.8). Для медленных деформаций с характерным временем изменения, намного превышающим межкадровый интервал, инкремент межкадровой деформации может рассматриваться как приблизительно постоянная величина $s_0 \ll 1$. Ошибка оценки межкадровой деформации, связанная с шумом приемной решетки, характеризуется дисперсией σ_0^2 . Другим основным вкладом в ошибку оценки деформации является дисперсия σ_s^2 , связанная с шумом спекл-декорреляции для сравниваемых кадров. Эта декорреляция вызвана движением/деформацией ткани между соседними кадрами. Общая дисперсия $\sigma_{total}^2 = \sigma_0^2 + \sigma_s^2$.

Если мы проведём разрежение записи и сохраним только каждый р-й кадр (см. рис. 1.8), то приращение деформации в разреженной записи станет в р раз больше ($s_0 \rightarrow ps_0$). Дисперсия оценки деформации из-за декорреляции спеклов также становится больше $\sigma_{sp}^2 = \sigma_s^2 [1 + f(p)]$, где f(p) - функция, описывающая связь между деформацией и декорреляцией спеклов.





Для изначальной записи с максимальной плотностью, содержащей N кадров, оценку отношения сигнал/шум (SNR) можно произвести, рассматривая кумулятивную деформацию к концу записи равную NS_0 и стандартное отклонение оценки деформации $\sqrt{N}\sqrt{\sigma_0^2 + \sigma_s^2}$. Следовательно, SNR для измеренной кумулятивной деформации записи без разрежения представляется в виде:

$$SNR_{cum} = \frac{\sqrt{Ns_0}}{\sqrt{\sigma_0^2 + \sigma_s^2}} \,. \tag{1.8}$$

Для разреженной записи кумулятивная деформация остается неизменной (Ns_0), тогда как дисперсия оценки кумулятивной деформации определяется в p раз меньшим количеством слагаемых, так что стандартное отклонение оценки равно $\sqrt{N/p}\sqrt{\sigma_0^2 + \sigma_s^2[1 + f(p)]}$. Следовательно, выражение результирующего SNR принимает следующий вид:

$$SNR_{cum} = \frac{\sqrt{NpS_0}}{\sqrt{\sigma_0^2 + \sigma_s^2 [1 + f(p)]}} \,. \tag{1.9}$$

Анализируя данное выражение при умеренно большом p, когда декорреляция спеклов еще незначительна и знаменатель $\sqrt{\sigma_0^2 + \sigma_s^2 [1 + f(p)]}$ также увеличивается незначительно, можно приближенно считать, что

$$\sqrt{\sigma_0^2 + \sigma_s^2 [1 + f(p)]} \approx \sqrt{\sigma_0^2 + \sigma_s^2} . \qquad (1.10)$$

Для разреженной записи значение SNR, заданное выражением (1.9), превышает в \sqrt{p} раз значение SNR, заданное уравнением (1.8) для максимальной скорости сбора данных. Физический смысл этого повышения отношения сигнал/шум легко понять: после р-кратного разрежения регулярное приращение деформации увеличивается в *p* раз, тогда как ошибки растут пропорционально $p^{1/2}$, что приводит к повышению SNR в $p^{1/2}$.

Когда степень разрежения становится слишком большой, межкадровая декорреляция становится значительной (т.е. в знаменателе выражения (1.9) функция $f(p) \gg 1$), так что SNR может снова уменьшиться.

Дифференцируя SNR, заданный уравнением (1.9), по параметру *p* (удобно дифференцировать обратную величину в квадрате), можно легко получить неявное выражение для оптимального параметра разрежения:

$$p_{opt} = \frac{1 + r + f(p_{opt})r}{rf'(p_{opt})},$$
(1.11)

где параметр $r = \sigma_s^2 / \sigma_0^2$.

Таким образом, для конкретной функции f(p), описывающей влияние спекл-декорреляции на эффективную дисперсию декорреляционного шума, может быть определена оптимальная разреженность записи для получения максимально возможного SNR. Для быстро меняющихся деформаций разрежение записи может сразу привести к ухудшению SNR, однако для медленно изменяющихся деформаций декорреляция спеклов может быть не очень значительной, так что разрежение записи может быть полезно для улучшения SNR в \sqrt{p} . При этом параметр разрежения p может быть выбран с учетом желаемого временного разрешения деформаций.

В качестве экспериментального примера, на рисунке 1.9(а) показан фрагмент реальной 50секундной записи эволюции кумулятивной деформации, полученной с использованием описанной выше установки ОКТ для образца хряща, который периодически облучался ИК-лазером, работающим при 1,56 мкм, аналогично экспериментам [74,75,76]. После нескольких нагревающих импульсов, создающих импульсно-периодические термически-индуцированные деформации в первой половине записи, во второй половине записи наблюдается стадия релаксации деформации после нагрева. Кривая 1 на рис. 1.9(а) соответствует максимальной скорости сбора данных, а кривые 2 и 3 получены с разрежением записи 4 раза и 9 раз. Рисунок 1.9(а) ясно показывает, что разрежение по-разному воздействует на отображение быстро и медленно изменяющихся деформаций. Для первой (быстрой) части записи разрежение приводит к сильному увеличению межкадровой декорреляции и неоднозначности фазы, так что набег фазы может превысить 2π даже между соседними по вертикали пикселями, так что градиент фазы не может быть корректно оценен. Соответственно, оцененные для разреженных записей межкадровые деформации заметно искажаются (что видно из сравнения левых половин кривых 1, 2 и 3). Кроме того, временной шаг в разреженных записях становится недостаточным для точного определения формы импульсов.

В отличие от левых половин записей 2 и 3, для которых разрежение ухудшает качество, правые половины этих же кривых, в соответствии с представленными выше выводами, демонстрирует повышение качества в результате разрежения. Это хорошо видно на рис. 1.9(б), где отдельно показаны только правые половины записей для медленно изменяющихся деформаций, для которых при разрежении значительно уменьшаются погрешности измерений, в соответствии с уравнениями (1.8) и (1.9). Таким образом, разрежение может быть эффективно использовано для уменьшения влияния ошибок измерений на оценку медленных деформаций. Кроме того, разрежение также помогает легко увеличить продолжительность мониторинга деформации до десятков минут и более без значительного увеличения размера записи.



Рисунок 1.9 — Кумулятивные деформации в образце хряща, полученные путем эластографической обработки ОКТ-сканов. На левой половине панели (а) видны 5 пиков деформации, соответствующих нагревающим импульсам ИК-лазера, а затем более медленные деформации при охлаждении образца. Кривая 1 соответствуют накопленным деформациям, для записи с максимальной скоростью 20 кадров в секунду, кривая 2 получена при разрежении в 4 раза, а кривая 3 – при разрежении в 9 раз. Для быстро меняющихся импульсных деформаций разрежение приводит к заметному снижению качества оценки деформации (см. левую половину панели (а)). Напротив, при более медленном изменении деформации на стадии остывания (правая половина панели (а)) разрежение повышает качество оценки деформации. На панели (б) отдельно показаны только медленные деформации (при этом начальное значение совмещено для всех трех кривых). Для медленно изменяющейся деформации на панели (б) разрежение явно приводит к заметному увеличению SNR (см. кривые 2 и 3) по сравнению с неразреженной записью (кривая 1).

Важным моментом длительного мониторинга медленных деформаций малой амплитуды является временная стабильность ОКТ системы, которая определяет минимальные надежно измеримые деформации. Для проверки временной стабильности ОКТ системы были оценены деформации в течение длительного интервала времени (~ 1200 секунд) в стабильном однородном материале (силиконовом образце). На рисунке 1.10 показаны соответствующие результаты с использованием разреженных Б-сканов снятых со скоростью 1 кадр/сек. Прямоугольник на рис. 1.10(а) показывает область, по которой усреднялась деформация. Зависимость кумулятивных деформаций, на рис. 1.10(б) демонстрирует, что нестабильность измеренной деформации в течение этого интервала составляет порядка ~ 10^{-5} . В разделе 3.3 будет продемонстрировано, что этот уровень является достаточным для таких применений, как проверка стабильности формы в задачах обработки хрящевых имплантатов с помощью лазерного термомеханического изменения формы.



Рисунок 1.10 — Оценка стабильности разработанной методики определения деформации в течение интервала наблюдения 1200 с. Панель (а) представляет структурное ОКТ изображение стабильного образца силикона, где прямоугольником показана область, по которой усредняется деформация. Панель (б) показывает кумулятивную деформацию в зависимости от времени наблюдения. Использовался разреженный захват Б-сканов с частотой 1 кадр в секунду.

1.4 Нахождение больших деформаций на основе накопления инкрементальных межкадровых деформаций

Для "типичных" ОКТ-систем обычно максимальная измеримая величина межкадровых деформаций, ограниченная декорреляционными искажениями, не превышает значения ~1% [77], хотя для многих задач требуется исследовать значительно большие деформации до нескольких десятков процентов (например, для изучения термомеханических явлений, процессов высыхания, осмотических деформаций, [74,78,79,80]). Кроме того, большой интерес представляет изучение зависимостей «напряжение-деформация» для биотканей, поведение которых может существенно отличаться от линейного, начиная с деформаций порядка нескольких процентов [56,81,82]).

Непосредственная оценка таких больших деформаций с помощью прямого попарного сравнения ОКТ-сканов невозможна, тем не менее, можно применить инкрементальный подход, выполняя накопление меньших по величине измеряемых межкадровых деформаций [74,81].

В отличие от малых деформаций (условно таковыми можно считать деформации меньше нескольких процентов) большие деформации можно характеризовать различными способами, при этом выбор способа накопления инкрементальных деформаций может отличаться в зависимости от конкретной задачи. Различия не всегда очевидны, но в некоторых случаях неправильно выбранный метод поиска кумулятивных деформаций может привести к ошибочным выводам.

Первоначально поставим задачу корректного нахождения сверхпиксельных смещений рассеивателей в толще ткани, деформация которой в последующем и будет определяться, в том числе в условиях, когда отслеживаемые границы неоднородностей в исследуемом объекте непосредственно не дифференцируются на структурных ОКТ-сканах.
Одной из основных задач ОКЭ является использование разного уровня деформируемости различных областей неоднородного материала для количественного оценивания упругого модуля в этих областях, испытывающих в процессе деформации достаточно большие смещения. Чтобы в таких условиях получать корректные выводы, окно обработки, в пределах которого оценивается деформация, должно содержать одну и ту же область материала, в связи с чем, требуется отслеживать ее текущее положение. Отслеживание конкретной части материала требует оценки текущей толщины слоя материала, разделяющего поверхность ОКТ-зонда, и положение окна обработки.

Рассмотрим достаточно тонкий слой механически однородного материала с изменяемой в ходе компрессии от кадра к кадру толщиной, величина которой равна h_{i-1} к (*i*-1) кадру. Небольшая добавочная деформация s_i изменяет толщину слоя $h_i = h_{i-1}(1+s_i)$, так что результирующая толщина после серии *n* межкадровых деформаций равна

$$h_n = h_0 \prod_{i=1}^n (1 + s_i) , \qquad (1.12)$$

где h_0 - начальная толщина. Достаточно малая инкрементальная осевая деформация s_i , как уже обсуждалось, может быть определена, оценивая градиент межкадровой разности фаз

$$s = \frac{\lambda_0}{4\pi n} \frac{\partial \Phi}{\partial z} \,. \tag{1.13}$$

Нахождение градиента может выполняться, например, с использованием метода наименьших квадратов [46] или векторного метода [61], описанного в предыдущем разделе. Предположим для простоты, что инкрементные деформации идентичны *s_i* = *s* :

$$h_n = h_0 (1+s)^n = h_0 (1+ns + \frac{n(n-1)}{2!}s^2 + \frac{n(n-1)(n-2)}{3!}s^3 \dots + s^n).$$
(1.14)

Для достаточно малых накопленных деформаций (на практике – порядка нескольких процентов) в уравнение (1.14) можно ограничиться только линейное слагаемое $S \equiv ns \ll 1$:

$$h_n \approx h_0 (1+S)$$
. (1.15)

В общем случае, когда инкрементальные межкадровые деформации не обязательно идентичны, определение кумулятивной деформации *S* принимает вид

$$S = \sum_{i} s_i . \tag{1.16}$$

Однако, если условие $S \ll 1$ не выполняется, уравнение (1.15) для текущей толщины дает заметную ошибку. Для точной оценки изменения толщины $\Delta h = h - h_0$ может быть сформулировано другое определение кумулятивной деформации (обозначим *C*), где

$$\Delta h = h_0 C$$
 или $h = h_0 (1 + C)$. (1.17)

В случае идентичных инкрементальных деформаций *s* из сравнения уравнений (1.14) и (1.17) получаем:

$$C_n = ns + \frac{n(n-1)}{2!}s^2 + \frac{n(n-1)(n-2)}{3!}s^3 \dots + s^n \quad . \tag{1.18}$$

Когда инкрементные межкадровые деформации s_i не идентичны, может быть сформулировано удобное рекуррентное определение C_n :

$$C_{n+1} = C_n + (C_n + 1)s_n.$$
(1.19)

При механически неоднородном образце, чтобы найти изменение толщины всего слоя, разделяющего поверхность ОКТ-зонда и отслеживаемую часть материала, следует учитывать неоднородность вышележащего слоя. Смысл такого учета проиллюстрирован на рис. 1.11 на примере 3-слойного материала. В общем случае распределение и характер неоднородности априори неизвестны, поэтому кумулятивная деформация должна быть найдена для каждого пикселя $J_{,}$ так что и изменение общей толщины материала $\Delta H_n(J)$ выше пикселя J можно представить в виде:

$$\Delta H_n(J) = H_{px} \sum_{i=1}^{J} C_n(J), \qquad (1.20)$$

где H_{px} - вертикальный размер пикселя. Положение окна обработки для каждого изначального положения пикселя должно сдвигаться на один пиксель каждый раз, когда обнаруженное дополнительное смещение отслеживаемой части материала ΔH превышает H_{px} , как показано на рис. 1.11.



Рисунок 1.11 — Схема коррекции глубины окна обработки путем отслеживания через кумулятивные деформации C_n смещения отслеживаемого участка материала.

Можно также отметить полезную связь между кумулятивной деформацией S, вычисляемой с помощью простого суммирования межкадровых деформаций (уравнение (1.16)), и кумулятивной деформацией C, определенной с помощью уравнений (1.17) и (1.19) и отвечающей за изменение толщины объекта. Используя уравнение (1.14) и учитывая, что произвольное S

может быть представлено в виде суммы большого числа p бесконечно малых идентичных инкрементных деформаций $s_{inf} \ll 1$, так что $S = p \cdot s_{inf}$, уравнение (1.14) может быть переписано как

$$h = h_0 \lim_{p \to \infty} (1 + s_{\inf})^p = h_0 \lim_{p \to \infty} (1 + \frac{S}{p})^p = h_0 \exp(S).$$
(1.21)

Сравнение уравнения (1.21) и уравнения (1.17) показывает, что между кумулятивной деформацией *С*, определяющей изменение толщины, и простой суммой относительных деформаций *S* имеется связь

$$C = \exp(S) - 1 \quad \text{i} \quad S = \ln(1 + C). \tag{1.22}$$

Для достаточно малых деформаций (на практике, в пределах ~10%) оба определения кумулятивных деформаций почти неразличимы $S \approx C$. Однако для некоторых приложений требуются достаточно большие деформации, при которых *S* и *C* отличаются довольно значительно, а также становится важен знак *S* и *C* (сжатие или растяжение), определяющий, какая из величин больше по абсолютной величине. Для сжатия (когда *S* и *C* отрицательны) |C| < |S|, а для расширения (когда *S* и *C* положительны) C > S.

Отметим далее, что достаточно большие (~20% и более) кумулятивные деформации имеют место при исследованиях нелинейных механических свойств биотканей. В этом случае различия между S и C оказываются важными при получении правильных выводов о свойствах тканей. Проиллюстрируем это утверждение следующим простым примером. Рассмотрим процесс сжатия двухслойного материала под действием одноосного напряжения. Предположим, что оба слоя являются идеально линейными материалами, отличающимися ровно в два раза по величине модуля Юнга, $E_1 = E_2 / 2$. В этом случае межкадровые деформации будут связаны обратно пропорционально величине s(2) = s(1)/2. Для количественной оценки возьмем реалистичные значения s(2) = 0.005 и s(1) = 0.01 межкадровых деформаций, полагая для наглядности, что они каждой кадров. Предполагая реалистичное одинаковы лля пары число p = 101зарегистрированных кадров, получим, что кумулятивные деформации, соответствующие измерениям толщин слоев, связаны с s(1) и s(2) следующими соотношениями:

$$C(1) = [1 + s(1)]^{p-1} - 1 = [1 + 0.01]^{100} - 1 \approx 1.7,$$
(1.23)

$$C(2) = [1 + s(2)]^{p-1} - 1 = [1 + 0.005]^{100} - 1 \approx 0.6.$$
(1.24)

Отношение изменений толщин этих слоев $C(1)/C(2) \approx 2.83$ оказывается значительно отличающимся от отношения модулей Юнга $E_2/E_1 = 2$, которое предполагается неизменным. Следовательно, для идеально линейных материалов с постоянным отношением модулей оценивание кумулятивных деформаций через приращения полных толщин слоев (т.е. деформации *C*) вводит очевидную нелинейность (геометрического происхождения).

Таким образом, если учитывать основную цель процедур ОКЭ - оценку соотношения модулей упругости в соответствии с соотношением кумулятивных деформаций, кумулятивные деформации должны быть найдены путем простого суммирования межкадровых деформаций:

$$S(1) = \sum_{i=1}^{p-1} s_i(1) = (p-1) \cdot s(1), \qquad (1.25)$$

$$S(2) = \sum_{i=1}^{p-1} s_i(2) = (p-1) \cdot s(2), \qquad (1.26)$$

такое простое суммирование дает неизменное соотношение $S(1)/S(2) = s(1)/s(2) = E_2/E_1 = 2$, хотя значения *S* и не согласуются с общими изменениями толщины слоев. Суммирование *S*, конечно, даст неизменное отношение и для приблизительно монотонного ручного деформирования с неравномерными по величине межкадровыми деформациями.

Следует подчеркнуть, что рассмотренный пример не является умозрительным. Именно оценивание деформаций через изменения толщины материала используется в некоторых подходах (например, [55]) для количественного оценивания модуля Юнга биотканей и может приводить к заметным ошибкам. Кроме того, в Главе 2, связанной с оценкой упругих свойств биотканей, будет продемонстрировано, что реальные биоподобные силиконы демонстрируют практически идеальное линейно-упругое поведение, подобное рассмотренному выше примеру.

В продолжение обсуждения оценивания накопленной деформации отметим также, что при наличии случайных ошибок в определении межкадровых деформаций, процедуры накопления могут быть эффективно использованы для снижения шума при оценивании непериодических деформаций, когда неприменим традиционный подход на основе периодического накопления. Действительно, пусть межкадровая деформация содержит регулярную $s = s_{reg} + s_{irreg}$ составляющую s_{reg} и нерегулярную s_{irreg} (с нулевым средним значением $< s_{irreg} >= 0$ и ненулевой дисперсией $\langle s_{irreg}^2 \rangle$), связанную с декорреляцией, вызванной деформацией и другими аддитивными шумами измерения. Тогда кумулятивная деформация также будет содержать регулярные и нерегулярные компоненты $S = S|_{reg} + S|_{irreg}$, хотя и с разной скоростью накопления. Регулярная часть накапливается последовательно, в соответствии с уравнениями (1.25) и (1.26)

$$S\big|_{reg} \sim (p-1)s_{reg}, \qquad (1.27)$$

где для простоты предполагается, что регулярная межкадровая деформация s_{reg} постоянна.

Суммирование случайных значений, напротив, дает случайное значение с нулевым средним значением $\langle S |_{irreg} \rangle >= 0$ и гораздо более медленной скоростью накопления стандартного отклонения от среднего нулевого значения,

$$\left[S\right]_{irreg}^{2} \sim \sqrt{p-1}\sqrt{}$$
(1.28)

Следовательно, определение кумулятивной деформации *S* через уравнения (1.25) и (1.26) для *p* >> 1 позволяет значительно повысить соотношение между регулярными и нерегулярными вкладами по сравнению с исходным соотношением для соответствующих межкадровых значений:

$$\frac{S|_{reg}}{S|_{irreg}} \sim \sqrt{p-1} \frac{s_{reg}}{\sqrt{\langle s_{irreg}^2 \rangle}} \Longrightarrow \frac{s_{reg}}{\sqrt{\langle s_{irreg}^2 \rangle}}$$
(1.29)

Экспериментальная демонстрация эффективности использования нахождения кумулятивных деформаций для снижения зашумленности приведена на рисунке 1.12.



Рисунок 1.12 — Демонстрация повышения уровня полезного сигнала при использовании кумулятивных деформаций вместо межкадровых на примере типичной ОКЭ записи компрессии двух материалов (силиконового слоя и роговицы глаза кролика) [81]. Панель (а) –зависимость логарифма отношения межкадровых деформаций в силиконе и роговице от номера кадра, демонстрирующая сильную зашумленность, несмотря на усреднение по прямоугольным областям, показанным на карте межкадровых деформаций (б). Панель (в) –зависимости от номера кадра для кумулятивных деформации S в силиконе (1) и роговице (2); панель (г) — связь кумулятивных деформаций в силиконе и роговице, полученная исключением номера кадра из зависимостей, показанных на панели (в), штриховая кривая показывает аппроксимирующую функцию.

По сравнению с исходным очень зашумленным отношением межкадровых деформаций на рис. 1.12(а) для силиконового слоя и исследуемой роговицы глаза кролика кумулятивные деформации на рис. 1.12(в) и (г) выглядят значительно менее зашумленными. В Главах 2 и 4 будет подробно обсуждаться, как зависимости подобные рис. 1.12(г) могут быть использованы для оценок модуля Юнга биотканей и более полного исследования нелинейных зависимостей «напряжениедеформация» для различных биотканей.

Описанная выше процедура определения кумулятивных деформаций может быть

эффективной для повышения качества оценки деформации, если кумулятивные деформации достигают по величине нескольких процентов и более. Однако такие значительные деформации могут быть получены не всегда, например, при исследовании очень жёстких материалов. В такой ситуации для биологически безопасных нагрузок максимальные монотонно создаваемые деформации могут оставаться довольно малыми (~ $10^{-4}..10^{-3}$), для которых фазовые градиенты остаются слишком зашумленными для надежного отображения деформаций. Традиционно в случае столь малых деформаций для повышения отношения сигнал/шум (SNR) обсуждается когерентное периодическое усреднение, для реализуемости которого могут использоваться вспомогательные пьезо-приводы, создающие стабильные периодические деформации (например, [83,78]). В случае ручного управления ОКТ зондом, представляющего большой практический интерес, когерентное усреднение невыполнимо. Тем не менее, остаётся возможность значительно улучшить SNR, благодаря процедуре, основанной на аналогичных с (1.25) и (1.26) уравнениях, но с использованием абсолютных значений межкадровой деформации | *s*_i(1) | и | *s*_i(2) |:

$$S^{abs}(1) = \sum_{j} |s_{j}(1)|, \qquad S^{abs}(2) = \sum_{j} |s_{j}(2)|$$
(1.30)

При ручной компрессии с приблизительно периодичной деформацией малой амплитуды этот способ суммирования позволяет найти эффективную кумулятивную деформацию S^{abs} , значительно превышающую по амплитуде деформации при отдельных циклах компрессииразгрузки. Если для отдельных межкадровых деформаций SNR не слишком низок, то измеренная межкадровая деформация $s(n) = s^{reg}(n) + s^{irreg}(n)$ не меняет знака в пределах возрастающего и нисходящего циклов деформации (за исключением малых окрестностей поворотных точек). Другими словами, в течение большей части каждого монотонного полуцикла деформации абсолютное значение фактической регулярной межкадровой деформации $|s^{irreg}(n)|$ для *n* циклов нагрузка-разгрузка больше, чем шумовые нерегулярные деформации $|s^{irreg}(n)|$. При этом:

$$|s_{j}(n)| = s_{j}(n) = |s_{j}^{reg}(n)| + s_{j}^{irreg}(n),$$
для $s(n) > 0,$ (1.31)

$$|s_j(n)| = -s_j(n) = |s_j^{reg}(n)| - s_j^{irreg}(n),$$
для $s(n) < 0.$ (1.32)

Следовательно, если шум не слишком высок ($|s^{reg}(n)| > |s^{irreg}(n)|$), то суммирование абсолютных значений измеренных межкадровых деформаций в соответствии с уравнениями (1.30) эффективно суммирует регулярные фактические деформации. Напротив, вызванные шумом искажения межкадровых деформаций случайным образом меняют знак, так что суммирование (1.30) может значительно повысить эффективное SNR. Однако ситуация менее благоприятна вблизи поворотных точек и областей ОКТ-сканов со слишком слабым рассеянным сигналом от ткани, где $|s^{reg}(n)| < |s^{irreg}(n)|$. В таких случаях суммирование в уравнении (1.26) накапливает шум и даже

ухудшает SNR.

На рисунке 1.13 показан пример усреднения абсолютной деформации при периодической компрессии и разгрузке высококонтрастных по жёсткости материалов (силиконового слоя с *E* = 200 кПа и хрящевой пластины с жесткостью на порядок выше).



Рисунок 1.13 — Демонстрация эффективного усреднения с помощью абсолютной кумулятивной деформации S^{abs} . Панель (a) – структурное ОКТ изображение с указанными окнами пространственного усреднения; панель (б) - зависимости абсолютных кумулятивных деформаций $S^{abs}(cunukoh)$ в силиконе и $S^{abs}(xpsuq)$ в хряще от номера кадра (зависимость на вставке в верхнем левом углу показывает отношение межкадровых деформаций, сильно флуктуирующих в окрестности среднего значения $S^{abs}(cunukoh)/S^{abs}(xpsuq) \sim 10$); панель (в) – абсолютные кумулятивные деформации $S^{abs}(cunukoh)$ и $S^{abs}(xpsuq)$, перестроенные друг относительно друга и демонстрирующие значительно менее зашумленное отношение, чем для инкрементальных межкадровых деформаций.

Резюмируя полученные выводы по отслеживанию смещений рассеивателей и накоплению кумулятивных деформаций при картировании жёсткости материала, в том числе с учётом нелинейности жёсткости при деформациях >20%, можно сформулировать алгоритм обработки данных (рис.1.14).



Рисунок 1.14 — Схема получения кумулятивных деформаций *С* и *S* при пошаговой обработке серии ОКТ сканов деформируемой среды.

Учитывая цели и процесс компрессионной эластографии, при котором происходит сжатие материала, представляется логичным рассматривать и анализировать распределение жесткости в различных областях недеформированного образца. Следовательно, оцениваемое накопление деформаций (пересчитываемое затем в значения упругого модуля ткани) должно выполняться с переносом найденных значений из текущего пикселя с отслеживаемыми рассеивателями в их начальное положение. Поэтому картирование межкадровых деформаций следует вести с привязкой к изначальному распределению пикселей, содержащих отслеживаемые рассеиватели. Сверхпиксельное отслеживание смещений рассеивателей позволяет определять текущие деформации и жесткость рассеивателей из исходного пикселя в их текущем пикселе. Отслеживание смещений и накопление межкадровых деформаций (с последующим оцениванием жесткости, подробно обсуждаемом в Главе 2) должно выполняться, как показано на рис. 1.14 с переносом значений из текущего пикселя с отслеживаемыми рассеивателями в их начальный пиксель [84].

Предлагаемый способ картирования деформаций векторным методом был реализован в режиме реального времени. Следует подчеркнуть, что благодаря эффективной в вычислительном отношении матричной обработке не потребовалось дополнительных вычислительных средств (таких как, многоядерные графические карты или мощный центральный процессор управляющего компьютера).

В результате обработки ОКТ данных визуализируются следующие изображения: текущий структурный Б-скан, карта разности фаз между соответствующими пикселями текущего и предшествующего Б-сканов, карта межкадровых деформаций, карта модуля Юнга. Карта модуля Юнга получается путем сравнения локальных деформаций в исследуемой ткани и в слое эталонного материала с предварительно откалиброванным модулем Юнга (такие слои изготовлены из полупрозрачного мягкого силикона, подробнее см. Главу 2).

Пример полученных таким образом структурных и эластографических изображений показан на рисунке 1.15 (представленные изображения получены для кожи на тыльной стороне ладони добровольца). Важно, что карты распределения деформации и модуля Юнга были получены с использованием только попарного сравнения сканов, обработанных в реальном времени по встроенным параметрам. Обычно ОКЭ в реальном времени играет лишь вспомогательную роль во время обследования, далее серия сканов может быть сохранена и легко обработана для получения эластографических изображений гораздо лучшего качества. На примере эластографической визуализации в реальном времени дифференцируется более мягкий слой эпидермиса между значительно более жестким роговым слоем и дермой.



Рисунок 1.15 — Пример реализованного интерфейса для эластографической визуализации в реальном времени (левая сторона). Производилось ОКЭ обследование кожи тыльной стороны ладони добровольца. Поджатие осуществляется ОКТ-зондом через слой полупрозрачного мягкого силикона. Модельный рисунок в правой половине демонстрирует соответствие визуализированных областей с различной деформацией и модулем Юнга на эластографических изображениях структуре кожи (свободно распространяемое изображение структуры кожи взято из https://www.shutterstock.com/ru/image-illustration/anatomy-skin-layers-elements-that-compose-79599691). Зоны белого цвета на эластографических изображениях соответствуют областям слишком слабого и зашумленного сигнала.

1.5 Заключение

В главе описан векторный подход к картированию межкадровых деформаций на основе сравнения фазочувствительных ОКТ сканов. Специальное внимание уделено упрощенному и особенно вычислительно эффективному варианту векторного подхода, при котором локальные деформации находятся без выполнения операций поиска (типичных для методов на основе корреляционного трекинга), используя матричные операции и обрабатывая ОКТ сканы целиком.

Отдельно рассмотрено оценивание медленно меняющихся деформаций, для которых межкадровые значения могут быть очень малы (например, ~10⁻⁶) и сильно зашумлены. Для улучшения отношения сигнал/шум и одновременного снижения объема регистрации и передачи излишних данных рассмотрен метод разрежения потока ОКТ данных. При таком разрежении измерительные шумы приемной линейки фотоприемников остаются на неизменном уровне, тогда как искомые вариации фазы увеличиваются при увеличении временного интервала между ОКТ

сканами. В Главе 1 показано, что если это увеличение не слишком большое и еще не ведет к существенной декорреляции сравниваемых ОКТ сканов, удается существенно улучшить отношение сигнал/шум при оценивании медленных и малых деформаций.

Из-за отмеченного выше эффекта межкадровой декорреляции обычно непосредственно могут быть оценены лишь достаточно малые деформации порядка 1% и менее, тогда как для многих приложений требуется оценивание на порядки больших по величине деформаций. Для решения этой задачи рассмотрено оценивание больших деформаций путем накопления инкрементальных непосредственно измеримых межкадровых деформаций. Обсуждены особенности такого накопления с необходимостью постепенного отслеживания положения частиц среды при ее деформации, что особенно важно для картирования свойств механически неоднородных биотканей. Основные результаты, представленные в Главе 1, отражены в публикациях [81,84] из списка работ по теме диссертации.

Глава 2. Количественное оценивание упругих свойств биотканей с использованием калибровочных силиконовых слоев

Активные исследования ОКТ-эластографии были инициированы пионерской работой Дж. Шмитта [30], в которой было предложено перенести в ОКТ идею компрессионной эластографии с задержкой около 10 лет по сравнению с началом реализации этой идеи в ультразвуке (после работы [15]). Кроме того, по аналогии с УЗ-эластографией, в оптической когерентной эластографии (ОКЭ) в последние годы активно развивается подход, основанный на измерении с помощью ОКТ скоростей сдвиговых или поверхностных упругих волн. Обзоры его реализации представлены в [85,86,87,42]. Однако в этой главе основное внимание уделено компрессионной ОКЭ, и, в частности, методам количественного картирования упругих свойств биотканей в компрессионной ОКЭ.

2.1 Верификация линейности упругого поведения силиконов и принцип получения пространственно-разрешенных нелинейных зависимостей «напряжениедеформация»

Рассмотренная в п.1.4. предыдущей главы ситуация с деформированием сэндвичной структуры из двух идеально-линейных материалов с различными модулями Юнга фактически предлагает идею теста (своего рода "самокалибровки"), позволяющего проверить линейность реальных упругих материалов. Например, можно экспериментально реализовать сжатие двуслойной структуры, состоящей из двух отдельных силиконовых слоев с достаточно сильно (в 5-10 раз) отличающимися модулями упругости. В рамках линейной парадигмы (т.е. для бесконечно малых деформаций), для одноосного давления $\sigma(s)$, создаваемого вблизи ОКТ-зонда, который сжимает слои материалов с модулями Юнга $E_{1,2}$, результирующие деформации связаны линейным законом Гука:

$$\sigma = E_1 s_1 = E_2 s_2. \tag{2.1}$$

Если сжатие производится ОКТ зондом, играющего роль поршня, выражение (2.1) неплохо выполняется для глубин, существенно меньших диаметра зонда [88]. Для типичных значений диаметра ОКТ зонда ~ 10 мм и глубины визуализации 1-2 мм это условие выполняется с хорошим запасом, однако в УЗИ глубина визуализации может быть уже сравнима и даже превышать диаметр зонда, так что на таких больших глубинах имеет место спадание давления [89]. Согласно уравнениям Буссинеска (1885 г.) вертикальная составляющая напряжения в любой точке *T*

полубесконечной среды под воздействием точечной нагрузки, приложенной перпендикулярно поверхности в точке *I*, составляет:

$$\sigma_T = \frac{3P}{2\pi} \frac{Z_T^3}{r_{L \to T}^5},\tag{2.2}$$

где P - параметр давления, Z_T - вертикальная координата точки I, $r_{I \to T}$ - радиус вектор из точки Iв точку T. Тогда при компрессии зондом цилиндрической формы (чаще всего используемым в ОКТ) можно рассчитать распределение напряжения в глубину (рисунок 2.1) [90].



Рисунок 2.1 — Распределение вертикального напряжения в линейном упругом полупространстве под равномерно нагруженной круглой областью [90]. Красным прямоугольником отмечена стандартная область сканирования ОКТ зонда (ширина скана ~ 4 мм, глубина сканирования ~ 2 мм) при стандартном диаметре зонда $2a \sim 1$ см.

Для мягких биологических тканей линейное приближение закона Гука обычно хорошо выполняется для деформаций менее 10^{-2} . В этом случае, даже если приложенное давление неизвестно, относительное значение модулей упругости на разных глубинах соответствует обратному отношению деформаций $E_1/E_2 = s_2/s_1$.

Ситуация, однако, может быть более сложной, если создаваемые деформации не являются бесконечно малыми и, особенно, если уравнения $\sigma(s)$, связывающие деформации в материале и приложенное давление, являются нелинейными. Переходя от инкрементальных (межкадровых) деформаций к кумулятивным деформациям вплоть до нескольких десятков процентов, в п.1.4 обсуждались два определения кумулятивных деформаций - *C* (определяемое через полное изменение толщины материала) и *S* (которая соответствует прямому суммированию малых

инкрементальных деформаций). Например, в работе [55] где использовался прозрачный силиконовый слой, так что сигнал в толще слоя отсутствовал и были видны только его границы, естественным было использовать определение осевой деформации через изменение толщины слоя:

$$s = (h - h_0) / h_0 = \Delta h / h_0 .$$
(2.3)

Принимая во внимание уравнение (1.24) и уравнение (1.17), можно сделать вывод, что деформация эталонного силиконового слоя фактически определялась как деформация C (см. уравнения (1.12), (1.17) и (1.19)). Поэтому в измерениях в работе [55], в которой приложенное к силиконовому слою напряжение оценивалось по показаниям вспомогательного датчика силы, фактически зависимость напряжения от деформации соответствовала зависимости следующего вида:

$$\sigma = \sigma(C) . \tag{2.4}$$

Другая форма зависимости «напряжение-деформация» может быть получена в виде $\sigma = \sigma(S)$ для кумулятивной деформации *S*, определяемой прямым суммированием (1.16). Для малых инкрементальных деформаций имеет место линейная пропорциональность между напряжением и деформацией, как в уравнении (2.1). Если при этом материал является линейным, т.е. выражение (2.1) для инкрементальных деформаций выполняется независимо от начальной деформации слоя, то прямая пропорциональность вида (2.1) с неизменным коэффициентом должна быть справедлива и для немалых приращений напряжения и деформации с неизменным коэффициентом пропорциональности:

$$\sigma = E_1 S_1 = E_2 S_2 , \qquad (2.5)$$

где кумулятивные деформации $S_{1,2}$, полученные прямым суммированием (1.16), должны быть линейно пропорциональны друг другу. Фактически экспериментальная проверка соотношения (2.5) является тестом линейности деформируемых материалов без необходимости независимого измерения оказываемого на них упругого напряжения. Результаты такой экспериментальной проверки показаны на рис. 2.2 для двух пар силиконов с приблизительными пропорциями модулей упругости 550/40 и 550/100. Здесь важно подчеркнуть, что точные значения модулей Юнга не требуются для проверки линейности соотношения (2.5).

Для использованных сильно контрастирующих по жесткости силиконов деформации при сжатии также сильно различаются, так что для более мягкого силикона кумулятивная деформация может достигать десятков процентов, тогда как для более жесткого силикона деформация может оставаться достаточно небольшой. Для таких малых деформаций (в пределах нескольких процентов) два определения кумулятивных деформаций практически не различаются $S \approx C$, так что зависимости $\sigma(C)$ и $\sigma(S)$ практически неразличимыми. Однако для дальнейшего рассмотрения важно подчеркнуть, что для кумулятивной деформации *S* зависимость (2.5)

остается линейной и для довольно больших деформации порядка нескольких десятков процентов. Так что даже достаточно большие деформации *S* можно считать линейно пропорциональными приложенному напряжению, что позволяет использовать такой силиконовый слой как оптический датчик напряжения (хотя определение коэффициента пропорциональности *E* требует дополнительной калибровки).

Как видно из рисунка 2.2(б), для кумулятивной деформации *S*, найденной путем прямого суммирования межкадровой деформации, действительно имеет место высоко линейная зависимость вида (2.5) вплоть до деформаций ~ 0.4-0.5, тогда как для кумулятивных деформаций *C* зависимость явно нелинейна уже при деформациях ~0.2 и более.

Также интересно отметить, что зависимость упругого напряжения от кумулятивной деформации (фактически, деформации *C*, находимой через изменение толщины слоя силикона), найденная в независимой работе [55] и демонстрирующая выраженную нелинейность связи $\sigma = \sigma(C)$ после пересчета и представления в виде $\sigma = \sigma(S)$ (как показано на рис. 2.2(в)) также демонстрирует линейную пропорциональность вплоть до достаточно больших деформаций ~ 0.4-0.5, подобно нашим результатам для силиконов (рис. 2.2(б)). При еще большем давлении и деформации становится заметным ужесточение силиконов.



Рисунок 2.2 — Проверка линейности зависимостей давления от кумулятивных деформаций *C* и *S* для силиконов разной жёсткости. Панель (а) представляет собой схему элементов "самокалибровки", основанную на сжатии двух слоев с сильно отличающейся жесткостью, при этом достаточно малая деформация ($S \approx C < 0.1$) в более жестком первом силиконе линейно пропорциональна напряжению с хорошей точностью. На графике (б) вертикальная ось соответствует деформации для более жесткого силикона (пропорциональной напряжению с хорошей точностью), а горизонтальная ось соответствует значениям *S* или *C* в более мягком силиконе. Для экспериментальных иллюстраций использовались ОКТ-сканы, полученные с помощью ОКТ-систем, работающих на длине волны 1300 нм (со спектральной шириной 90-100 нм). Панель (в) для сравнения показывает данные из статьи [55] для независимо измеренной зависимости давления от деформации *C* для силиконового слоя (красная пунктирная линяя) и пересчитанную зависимость давления от деформации *S* (сплошная красная линия), чёрная линия отражает идеальную линейную зависимость.

По-видимому, такое ужесточение в основном вызвано эффектами адгезии на границах зонд-силикон, силикон-силикон, силикон-опорная поверхность. Действительно, при одноосном нагружении упругий отклик материала определяется модулем Юнга, когда материал может свободно расширяться в поперечном направлении. Прилипание либо к стеклу ОКТ-зонда либо к жесткой нижней поверхности (или к обоим) может значительно препятствовать боковому расширению, так что материал начинает испытывать уже не чисто осевое напряжение, а напряжение с примесью латеральных компонент напряжения. Когда вклад таких компонент становится большим, характер нагружения становится ближе к объемному (всестороннему) обжатию гидростатического типа. Реакция среды на такое обжатие определяется уже объемным модулем K, а не модулем Юнга $E \ll K$. Для биологических тканей и аналогичных материалов (например, мягких силиконов) разница между модулями Е и К может достигать 5-6 порядков, так что даже, казалось бы, незначительное прилипание может вызвать «примешивание» объемного сжатия, которое приводит к довольно значительной разнице между истинным модулем Юнга и кажущимся значением, оцениваемым по осевой деформации. Очень четко это влияние прилипания на артефактное увеличение модуля Юнга можно увидеть, используя не полностью прозрачные, а слабо рассеивающие силиконовые слои, в которых можно легко визуализировать локальные деформации с разрешением по толщине слоя силикона (экспериментальные примеры такого ужесточения из-за прилипания на границе раздела силикон-стекло показаны в [56]). Устранение подобного эффекта на практике может быть выполнено путём нанесения на поверхность соприкосновения смазки (физиологического раствора при исследовании биотканей).

Представленные на рис. 2.2 результаты указывают на то, что для не малых (порядка нескольких процентов и более) кумулятивных деформаций, при оценке механической нелинейности материала следует использовать S. При этом, когда различные участки материала могут испытывать значительные смещения (достигающие на практике - десятки пикселей), такие смещение следует отслеживать, рассчитывая кумулятивную деформацию C, как показано на рис. 1.11 в разделе 1.4.

Рассмотренный метод проверки линейности силиконов может быть использован и как основа для исследования нелинейного упругого отклика тканей, в измерениях, когда ОКТ зонд деформирует ткань, через слой калибровочного силикона. Чтобы получить зависимость «напряжение-деформация» для ткани, следует построить зависимости кумулятивной деформации *S* в эталонном силиконе от величины деформации *S* в исследуемой ткани. Согласно уравнению (2.5) деформация в предварительно откалиброванном силиконе пропорциональна напряжению, которое легко найти количественно, если предварительно определен модуль Юнга *E* силикона.

Определить модуль Юнга калибровочного силикона, а также независимо (в дополнение к тестам типа «самокалибровки») определить диапазон давления или деформации, на котором материал демонстрирует приблизительно линейное поведение при квазистатической нагрузке, можно в экспериментах с использованием датчика силы. На рисунке 2.3 представлена схема такого эксперимента. Чтобы оценивать оказываемое на силикон давление со стороны ОКТ зонда, площадь силикона должна превышать контактную площадь зонда. Определяя по датчику приложенную силу и зная площадь зонда, можно рассчитать упругое напряжение, прикладываемое к силикону. Картируя деформации и накапливая их для получения кумулятивной деформации *S* (рис. 2.3(в)), можно оценить жёсткость и линейность материала на рабочем диапазоне давления — до 20кПа (рис. 2.4(г)).



Рисунок 2.3 — Реализация эксперимента по определению жёсткости и диапазона механической линейности материала с помощью пьезо-датчика силы и ОКТ. Панель(а) демонстрирует схему эксперимента, на панели (б) отражено структурное ОКТ изображение, снятое во время записи поджатия материала, панель (в) — карта кумулятивной деформации *S*, панель (г) — зависимость давления от кумулятивной деформации.

Демонстрация отличий упругого поведения реальной биоткани от силиконового слоя приведена на рис. 2.4, где в качестве нижнего слоя для сэндвич-структуры использовалась роговица кролика. Межкадровые карты деформации ясно демонстрируют, что изначально слой роговицы деформируется намного сильнее, чем силикон (т.е. роговица намного мягче), а при кумулятивных деформациях порядка нескольких процентов роговица деформируется намного слабее (т.е. становится намного жестче силикона). На рисунке 2.4(з) показан результирующий график зависимости деформации в силиконе от деформации в роговице. Поскольку в силиконе деформация пропорциональна напряжению, используя предварительно откалиброванный силикон, можно получить количественную зависимость напряжения от деформации для роговицы, которая сильно нелинейна в отличие от силиконов, линейность которых демонстрирует рис. 2.4(г) (аналогичный по смыслу рис.2.2). Для роговицы наклон кривой напряжение-деформация на рис.2.4(з) увеличивается более чем в 10 раз при деформации всего на 6-7%. Используя серию ОКТ-сканов, записанных во время сжатия образца, по восстановленным картам кумулятивных деформаций можно получить кривую напряжения-деформации для исследуемой ткани в разных областях.



Рисунок 2.4 — Иллюстрация высокой линейности силиконов в тесте "самокалибровки" для сэндвичструктуры из двух силиконов с контрастной жесткостью (верхний ряд панелей) и демонстрация высокой нелинейности биологических тканей с использованием роговицы кролика, сжатой до деформации ~ 9% с предварительно калиброванным силиконовым слоем поверх с жесткостью 200 кПа (нижний ряд панелей). Для двух силиконов в верхнем ряду изображений отношение возрастающих межкадровых деформаций остается довольно постоянным в широком диапазоне деформаций до нескольких десятков процентов. Напротив, в нижнем ряду изображений, первоначально при деформациях <1%, роговица в несколько раз мягче силиконового слоя (с жесткостью 200 кПа). Затем при напряжениях 6-8% роговица становится в несколько раз жестче силикона. Точки на кривой кумулятивной деформации силикона (~напряжению) от кумулятивной деформации роговицы на панели (3) соответствуют картам межкадровой деформации (е) и (ж). Наклоны касательных пунктирных линий соответствуют текущим значениям модуля Юнга для образца роговицы.

В отличие от высокой линейности силиконов, продемонстрированная на рисунке 2.4 высокая нелинейность зависимости давления от кумулятивной деформации ткани роговицы (подтверждаемая и другими методами [42]) означает, что даже при кажущемся умеренном предварительном сжатии (кумулятивные деформации ~ нескольких процентов) текущее значение жесткости ткани может изменяться в несколько раз. Использование предварительно откалиброванного силиконового слоя открывает возможность локального контроля напряжения, прикладываемое к исследуемой ткани. Без такого контроля уровня созданного в ткани напряжения интерпретация получаемого значения модуля Юнга может привести к некорректным выводам.

Отметим, что еще задолго до создания технологий эластографии на основе ОКТ сам факт выраженной нелинейности зависимости «напряжение-деформация» для биотканей уже стал хорошо понятен на основе механических измерений, проводимых на образцах тканей методами, подобными используемым в материаловедении [7]. Близкий по типу к [7] метод получения нелинейных кривых нагружения биоткани был описан в работе [82] на основе упрощенного компрессионного ОКЭ подхода с непосредственным измерением силы, прикладываемой к исследуемому образцу. При этом усредненная величина давления оценивалась через величину силы, измеряемой вспомогательным оптическим датчиком, и площадь контакта нагружающего устройства с образцом ткани. Для определения деформации ткани использовалась грубая упрощенная оценка (с усреднением и по глубине, и по горизонтальной координате) – как отношение смещения частиц на фиксированной глубине к значению этой глубины (0.6 мм). Получаемые таким способом нелинейные кривые напряжение-деформация качественно согласовывались с результатами механических измерений в работе [7].

Выполненные с использованием описанного выше метода с использованием калибровочных силиконовых слоев исследования различных биотканей, показывают, что подобная сильная нелинейность присуща многим другим тканям [56,81,91,92].

Рисунок 2.5 показывает пример такой нелинейной кривой «напряжение-деформация» для образца ткани рака груди [56]. Из этого графика видно, что наклон кривой "напряжениедеформация» (т.е. текущий модуль ткани) меняется более чем в три раза в очень умеренном диапазоне деформаций менее ~2.5%. Другие примеры выраженного нелинейного поведения различных типов тканей и различных состояний ткани одного типа могут быть найдены в работах [7,81,82,93,94].



Рисунок 2.5 — Нелинейные кривые «напряжение-деформация» для поджатия и разгрузки образца ткани рака груди, полученные путём определения приложенного напряжения через деформации в калибровочном силиконовом слое с определением деформаций в исследуемой биоткани.

Полученные описанным методом примеры показывают, что для довольно умеренных деформаций (порядка единиц процентов), многие биоткани демонстрируют выражено нелинейные зависимости «напряжение-деформация», для которых локальных наклон (т.е. текущий модуль Юнга) меняется очень значительно, до нескольких раз и даже более. Такие нелинейные кривые могут быть аппроксимированы подходящей аналитической функцией и охарактеризованы соответствующими подгоночными параметрами. Например, в работе [82] был использован закон Вердана-Вайса (Verdana-Weiss law), чтобы аппроксимировать нелинейное поведение кожи. В работе [95,91] было использовано нелинейное уравнение состояния, подобное тем, которые используются в геофизике для описания нелинейности горных пород [96], применительно к

описанию нелинейности роговицы глаза. В настоящее время нелинейная парадигма в ОКЭ еще только формируется, однако уже полученные в этом направлении результаты позволяют рассчитывать, что, наряду с обычно обсуждаемым модулем Юнга, новые параметры, характеризующие нелинейность биоткани, могут дать дополнительную полезную информацию, повышающую качество и точность диагностических заключений, как подробнее показано в Главе 4.

2.2 Компрессионный принцип ОКТ эластографии как альтернатива волновому подходу и важность учета искажающей роли эффектов прилипания и неровностей границ в компрессионной ОКЭ

Как отмечалось по Введении к диссертации, оба основных эластографических подхода в ОКТ - волновой и компрессионный, имеют как свои преимущества, так и ограничения. Выбор воздействия на среду либо в форме квазистатического сжатия, либо сдвиговой (или поверхностной) волны во многом зависит от конкретного применения. Важным преимуществом волнового подхода к оцениванию модуля сдвига является то, что он больше подходит для бесконтактного исследования, например, с использованием импульсной воздушной струи или импульсного сфокусированного высокочастотного ультразвука для генерации зондирующей сдвиговой (а чаще – поверхностной) волны [39,97,98]. Бесконтактная ОКЭ выглядит особенно привлекательной для исследований in vivo таких деликатных тканей, как роговица и хрусталик глаза [42].

Стоит также отметить, что, по аналогии с развитием аналогичных эластографических подходов в ультразвуке в ОКТ на начальных стадиях развития компрессионный метод давал представление только об относительном распределении упругости ткани, тогда как при волновом подходе по измеренной скорости волны рассчитывалась количественная оценка жесткости. Однако в последние годы этот недостаток компрессионной ОКЭ был преодолен и были предложены ее количественные реализации, например, [55,56]. При этом важно, что компрессионная ОКЭ позволяет исследовать более широкий диапазон значений упругого модуля, не изменяя процедуру измерений. Компрессионная ОКЭ имеет некоторые преимущества по скорости получения изображений, разрешению (по крайней мере, на данный момент) и визуализации на больших площадях. Также сжимающее воздействие открывает возможность оценки нелинейных зависимостей напряжения от деформации для исследуемых тканей в широком диапазоне деформаций, что пока вообще не реализовано на основе волновых вариантов ОКЭ. Отметим также, что волновая ОКЭ получает информацию о жесткости ткани путем измерения

скоростей волн, для чего достаточно простейшего отслеживания небольших смещений рассеивателей в поле волны по любым параметрам сигнала. Для реализации компрессионной ОКЭ оценки смещений совершенно недостаточно, она основана на оценке именно локальной деформации, подобно ультразвуковой компрессионной эластографии. Ниже будет подробно обсуждаться именно компрессионный вариант ОКЭ, который основан на измерении только аксиальных (продольных деформаций), но с точки зрения диагностической ценности дает информацию эквивалентную оцениванию модуля сдвига с использованием сдвиговых волн во волновой эластографии.

Для пояснения причин такой эквивалентности напомним, что соотношение, связывающее тензоры напряжений и деформаций σ_{ij} и s_{ij} в предположении линейно-упругой деформации изотропной среды, можно представить в виде:

$$\sigma_{ij} = \frac{E}{1+\nu} \left(s_{ij} + \frac{\nu}{1-2\nu} s_{kk} \delta_{ij} \right), \tag{2.6}$$

где *E* и *v* - модуль Юнга и коэффициент Пуассона, δ_{ij} – дельта функция Кронекера, равная 1, если *i* = *j* и 0 в противном случае. Если деформация достаточно мала, то тензор деформации можно выразить через пространственные производные компонент смещения u_i :

$$s_{ij} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right).$$
(2.7)

Модуль Юнга E, входящий в уравнение (2.6), и модуль сдвига G, определяющий скорость v_s сдвиговых волн, связаны следующим образом через коэффициент Пуассона v:

$$E = 2(1+v)G$$
. (2.8)

Поэтому для различных материалов, в которых обычно 0 < v < 1/2 отношение E/G может изменяться довольно значительно:

$$2 < E/G < 3. \tag{2.9}$$

Оценку характерных значений коэффициента Пуассона v для различных биотканей можно дать, исходя из характерных скоростей поперечной волны для биотканей $v_s = \sqrt{G/\rho}$ и скорости продольной волны $v_p = \sqrt{K/\rho}$, где ρ - плотность ткани обычно близкая к 10³ кг/м³. Подставляя выражения для скоростей в известное уравнение связи коэффициента Пуассона с объёмным модулем и модулем сдвига

$$\nu = \frac{3K - 2G}{2(3K + G)},$$
(2.10)

получаем

$$v = \frac{3v_p^2 - 2v_s^2}{2(3v_p^2 + v_s^2)}.$$
(2.11)

Подставив вместо v_s характерные значения (0.5-100*м/c*) и $v_p \cong 1500 \, \text{м/c}$ типичные для большинства мягких биотканей (включая и хрящи), можно представить результат для v в следующей таблице.

Таблица 2.1. Значения коэффициента Пуассона и модуля Юнга для различных величин скорости поперечной волны.

<i>∪</i> _s , м/с	0.1	1	10	100
V	0,499999998	0,499999778	0,499977778	0,497781065
E, кПа	0,03	3	300	29 956

Как видно из таблицы 1, коэффициент Пуассона *v*, остается очень близок к 1/2, хотя значения сдвиговой скорости меняются на 3 порядка, так что для мягких тканей соотношение (2.8) сводится к

$$E = 3G$$
 . (2.12)

Уравнение (2.12) и условие $v \rightarrow 1/2$ выполняются с высокой точностью, даже если модули *E* и *G* изменяются в широком диапазоне, оставаясь значительно меньше объемного модуля *K*, при этом, если ткань при деформировании не является всесторонне сжатой, ее объем практически не меняется (т.е. имеет место, так называемое, условие несжимаемости ткани при $v \rightarrow 1/2$). С учетом простой пропорциональности в уравнении (2.12), модули *E* и *G* можно считать эквивалентными с точки зрения их диагностической ценности [99].

Для определения модуля сдвига *G* волновая эластография использует оценку скорости сдвиговой волны v_s [27], связанной с *G* как

$$G = \rho v_s^2 , \qquad (2.13)$$

где ρ - плотность ткани. Поэтому для оценки *G* через скорость сдвиговой волны необходимо создать сдвиговые деформации в ткани. В ряде случаев, в качестве альтернативы вместо сдвиговых волн можно использовать измерения поверхностных волн Рэлея [100]. Для них деформация содержит сдвиговую составляющую, а их скорость близка к скорости сдвиговой волны [101]:

$$\nu_R = \frac{0.87 + 1.12\nu}{1 + \nu} \nu_s \approx 0.953 \cdot \nu_s \,, \tag{2.14}$$

при этом искомый модуль Юнга можно определить через:

$$E = 3\rho v_R^2 \left(\frac{0.87 + 1.12\nu}{1 + \nu}\right)^{-2}.$$
 (2.15)

Альтернативным способом вычисления модуля *Е* является методика, основанная на одноосном сжатии. Действительно, рассматривая продольную одноосную компрессию с одной

составляющей σ_{11} и учитывая, что, согласно определению коэффициента Пуассона [2], в таком случае $s_{22} = s_{33} = -vs_{11}$, для мягких тканей с $v \rightarrow 1/2$, уравнение (2.6) сводится к

$$\sigma_{11} = 3Gs_{11} = Es_{11} . \tag{2.16}$$

Это уравнение еще раз показывает, почему для мягких биологических тканей диагностически эквивалентную информацию о сдвиговой жесткости можно получить либо измерением скорости сдвиговой волны, определяемой модулем сдвига, либо создавая в ткани аксиальное напряжение σ_{11} . При этом достаточно использовать измерение одной продольной составляющей деформации s_{11} , для которой пропорциональность напряжению определяется модулем Юнга. Такая эквивалентность информации, полученной при сдвиговом деформировании и продольном одноосном сжатии, выглядит несколько парадоксальной, но она справедлива только для мягких тканей с $v \rightarrow 1/2$. Для осевой компоненты деформации s_{11} , уравнение (2.7) упрощается:

$$s_{11} = \frac{\partial u_1}{\partial x_1} , \qquad (2.17)$$

это означает, что на практике необходимо измерить осевое смещение u_1 и оценить его градиент в этом направлении. В дальнейшем мы опускаем нижние индексы, обозначая аксиальные смещения и деформации как *u* и *s*, соответственно, а аксиальную координату x_1 обозначим как *z*. Именно эта идея оценки единственной составляющей деформации при одноосном квазистатическом поджатии ткани была предложена в работе [15] в качестве основы УЗИ эластографии. По аналогии с ультразвуком Дж. Шмитт в работе [30] перенес эту идею на ОКТ для измерения деформации в биологических тканях с помощью анализа последовательно получаемых ОКТсканов (рис.2.6).



Рисунок 2.6 — Принцип оценивания различий модуля Юнга по различиям деформируемости ткани в компрессионной эластографии, предложенной Офиром в ультразвуке [15] и по аналогии предложенной для использования в ОКТ Шмиттом [30]

Как видно из уравнения (2.16), для количественной оценки модуля Е недостаточно знать

только локальную деформацию s_{11} , так как требуется также оценка напряжения σ_{11} . В принципе, можно попытаться оценить напряжение σ_{11} , измерив силу, приложенную к ткани ОКТ-зондом с известной площадью контакта. В работах Офира и Шмитта было отмечено, что на основе измеряемых напряжений и реконструированного пространственного распределения деформаций, оцениваемых как осевые градиенты смещений рассеивателей (рис. 2.6) уже можно получить представление о пространственном распределении модуля Юнга (по крайней мере, в относительном смысле).

На рисунке 2.6 ткань с зависящим от глубины модулем Юнга представлена в виде последовательности пружин в исходном и деформированном состояниях. Если деформация вызвана напряжением вдоль одной оси (т. е. ткань может свободно расширяться в боковом направлении), то напряжение σ одинаково для разных глубин.

Вместе с этим модули Юнга $E_{1,2}$ могут быть различны и, соответственно, деформации ткани $s_{1,2}$ также отличаться:

$$\sigma = E_1 s_1 = E_2 s_2 , \qquad (2.18)$$

что эквивалентно:

$$E_1 / E_2 = s_2 / s_1 \tag{2.19}$$

Таким образом, измерение распределения аксиальной деформации является ключевым шагом в реконструкции распределения модуля Юнга (который для краткости мы будем называть жесткостью, поскольку его повышенное значение создает субъективное впечатление повышенной жесткости при пальпации опухолей в мягких тканях). Уравнения (2.18) и (2.19) означают, что распределение локальных деформаций по глубине прямо пропорционально относительному распределению обратного модуля Юнга 1/E. Если же в какой-то области известен модуль Юнга, это открывает возможность количественной оценки жесткости по всей изображаемой области. Такая возможность была отмечена еще в работе [15], но в основанной на этой работе компрессионной УЗИ эластографии обычно визуализируется лишь относительное распределение жесткости, а для количественной оценки жесткости в медицинском ультразвуке доминирует волновой подход.

Описанные в Главе 1 методы картирования деформаций на основе фазочувствительной ОКТ, позволили эффективно реализовать идею компрессионной эластографии биотканей, причем не только для получения относительного распределения жесткости в визуализируемой области, но и для количественного оценивания упругих свойств биотканей на основе использования предварительно откалиброванных по жёсткости слоев силикона, свойства которых обсуждались в разделе 2.1. На рис. 2.7 воспроизведен из работы [55] рисунок, иллюстрирующий использование прозрачного калибровочного слоя. В такой реализации ОКТ сигнал в толще слоя отсутствует, так что его деформацию приходилось оценивать методом отслеживания смещения границ, а в толще ткани находить деформацию используя другой метод – на основе среднеквадратичной оценки аксиального градиента межкадровых вариаций фазы.



Рисунок 2.7 — Схема использования предварительно откалиброванного эталонного слоя для количественной оценки модуля Юнга исследуемой ткани. Деформация прозрачного эталонного слоя может быть оценена путем измерения изменения его толщины. В качестве альтернативы деформация полупрозрачного слоя может быть оценена с помощью градиента изменения фазы.

В случае слабо рассеивающего калибровочного слоя его деформация оценивается таким же методом, как и деформация в биоткани [56] – например, векторным методом. При этом дополнительным плюсом является возможность получения не просто среднего по толщине значения деформации в калибровочном слое, а разрешенной по глубине деформации внутри этого слоя. Это позволяет контролировать искажающее влияние прилипания калибровочного слоя к поверхности стекла, нагружающего этот слой. Чтобы можно было считать, что упругая реакция калибровочного слоя определяется его модулем Юнга, при сжатии ему должна быть обеспечена возможность свободно сдвигаться (расширяться) в боковом направлении. Возможность визуализировать распределение деформации по толщине слоя позволяет непосредственно проверить, что деформация внутри эталонного слоя однородна, как и следует ожидать для однородного материала. Последний момент важен, поскольку даже кажущееся незначительным прилипание/трение в месте контакта сжимающей жесткой поверхности и калибровочного силикона может быть достаточным для препятствования его свободному расширению в боковом направлении. Это приведёт к тому, что напряжение, оцененное внутри силикона, будет значительно отличаться от предполагаемого одноосного и будет содержать боковую составляющую, что, как обсуждалось в п. 2.1 может приводить к кажущемуся возрастанию жесткости материала.

На рис. 2.8 приведен экспериментальный пример, демонстрирующий, что прилипание может вызвать значительную неоднородность деформации в однородном силиконовом слое. На

рисунке 2.8 (б) показано, что в области ближе к окну ОКТ-зонда на структуре цветокодированного межкадрового изменения фазы заметно увеличенное расстояние между изофазными линиями (соответствующее пониженной величине деформации). Рисунок 2.8 (в) показывает тот же эффект в другой форме: на показанном профиле деформация демонстрирует сильно уменьшенную величину в силиконе вблизи нагружающей стеклянной пластины. Другими словами, вблизи стекла силикон выглядит гораздо более жестким (менее деформируемым), хотя на самом деле он однороден. Такая вызванная прилипанием неоднородность деформаций в калибровочном слое может привести к ошибкам до нескольких раз при применении уравнения (2.19) для оценки жесткости ткани. Далее, рисунок 2.8 (г) показывает аналогичный профиль, полученный после добавления капли физиологического раствора для смазки на границе силиконстекло. Из-за уменьшения прилипания профиль деформации на рисунок 2.8 (г) внутри силикона становится гораздо более однородным. Поэтому важность предотвращения прилипания не следует недооценивать, иначе недостаточно свободное боковое расширение эталонного слоя может вызвать сильные ошибки в количественной оценке жесткости ткани.



Рисунок 2.8 — Использование слабо рассеивающего слоя в качестве датчика напряжений. На панели (а) показана схема эксперимента; панель (б) - реальный пример межкадрового изменения фазы в ткани и слое, демонстрирующий неоднородный градиент фазы, вызванный прилипанием силикона на границе стеклосиликон; панель (в) - экспериментальный пример зависимости уровня нормализованной деформации от глубины в направлении от поверхности зонда, показано снижение уровня деформации внутри однородного силикона, вызванной прилипанием силикона к поверхности зонда; панель (г) - прилипание было уменьшено добавлением капли смазочной жидкости на границе раздела, и деформация стала достаточно однородной.

Помимо функции датчика напряжений, мягкий калибровочный слой между тканью и сжимающей жесткой поверхностью играет другую важную роль: он сглаживает возможную неоднородность напряжений на границе раздела ткань-стекло для неидеально плоской поверхности ткани. Даже если высота шероховатостей составляет малые доли миллиметра, последствия такой, казалось бы, незначительной шероховатости могут оказаться неожиданно сильными. Для иллюстрации на рисунке 2.9 показано распределение деформации внутри кончика пальца, прижатого непосредственно к жесткому стеклянному окну ОКТ-зонда. Парадоксально, но, будучи в среднем сжатой, кожа кончика пальца демонстрирует квазипериодические зоны сжатия и расширения (см. карту деформаций на рисунке 2.9(б)). Такие переменные напряжения вызваны волнистой поверхностью кончика пальца. При контакте с жестким плоским стеклом кожа в области выступов начинает сжиматься, тогда как в области впадин между стеклом и кожей еще остается зазор. Поскольку мягкая кожа с коэффициентом Пуассона, близким к 0.5, имеет тенденцию сохранять свой объем при деформации, уменьшение объема ткани за счет осевого сжатия ткани под выступами компенсируется осевым расширением участков кожи ниже впадин, как показано на карте деформаций на рисунке 2.9 (б). Для еще более сильного давления области под впадинами также могут постепенно сжиматься, но по сравнению с областями выступов даже в этом случае их деформация сжатия все еще существенно меньшей, так что такие области более слабого контакта могут выглядеть как очень жесткие зоны. Подобные артефактные неоднородности упругих свойств могут появляться для любых реальных образцов с неидеально плоскими поверхностями. В таких ситуациях наличие промежуточного мягкого силиконового слоя помогает согласовать форму контакта между ОКТ-зондом и поверхностью ткани, как показано на рисунке 2.9 (в) и 2.9 (г), выравнивая давление, оказываемое зондом на ткань. Тем не менее, на рисунке 2.9(г) видно, что деформация (и, следовательно, упругое напряжение) в однородном силиконе имеет заметные неоднородности по горизонтальному направлению, что следует учитывать при количественной оценке жесткости ткани, как это обсуждается ниже.



Рисунок 2.9 — Демонстрация появления знакопеременной деформации при нажатии ОКТ зондом на ткань с неидеально плоской границей (данный пример относится к имеющей естественный папиллярный узор коже кончика пальца). Панель (а) - структурное ОКТ изображение, панель (б) - карта деформаций, на которой видны знакопеременные по горизонтальной координате деформации. Впадины на коже еще не касаются стекла, тогда как выступы уже аксиально сжаты, вызывая осевое аксиальное расширение кожи в области впадин. Это происходит, так как мягкая ткань при деформировании имеет тенденцию сохранять свой объем (почти несжимаема). Панели (в) и (г) показывают аналогичные изображения, в случае, когда промежуточный слой мягкого силикона помещается между стеклом ОКТ-зонда и кончиком пальца.

Силикон заполняет волнистые неровности на поверхности кожи, создавая гораздо более равномерное распределение напряжений по всей поверхности пальца; размер бара по вертикали и горизонтали – 0,5 мм.

Как видно из примеров распределения деформации на рисунках 2.8 и 2.9, такие изображения показывают неоднородности деформации с несколько худшей детализацией (меньшим разрешением), чем на исходных структурных изображениях. Это не удивительно, поскольку при оценивании деформации через градиент межкадрового изменения фазы его оценка выполняется с усреднением по некоторому окну обработки (обычно размером более десятка пикселей по обоим направлениям). Поэтому разрешение реконструируемого распределения деформации, в основном и определяется размером окна обработки. Для "типичных" ОКТ-систем с разрешением 5-10 мкм на структурных изображениях, разрешение карт деформаций по крайней мере в несколько раз ниже, - масштабы ~25-50 мкм в обоих направлениях можно считать типичным значением.

Хотя разрешение карт деформаций и полученных карт жесткости тесно связаны, следует отметить, что вопрос о разрешении на картах жесткости является более сложным вопросом, требующим учета дополнительных факторов (таких как величина контраста жесткости, связь между локализованной неоднородностью жесткости и результирующими более плавными неоднородностями полей деформаций, создаваемых сжатием). Тем не менее, если отличающееся по упругим свойствам включение в ткани имеет размер, сравнимый с размером окна обработки и характеризуется контрастом по величине упругого модуля порядка нескольких раз относительно окружающей ткани, то в окрестности такого контрастного по жесткости включения возникает такого же порядка контраст по уровню деформаций. В таких ситуациях можно считать, что и разрешение построенного распределения упругого модуля тоже, в основном, определяется размерем окна обработки.

2.3 Получение воспроизводимых оценок текущего модуля Юнга нелинейно-упругих тканей при априорно неизвестном неоднородном распределении напряжения по полю ОКТ скана

Ключевым моментом для корректного нахождения текущего значения модуля Юнга для реальных нелинейных тканей при ОКЭ исследовании является первоначальное получение нелинейных кривых напряжение-деформация для каждого пикселя визуализируемой области. Исходной информацией при этом является серия ОКТ-сканов, получаемая в процессе одноосного сжатия ткани через эталонный слой мягкого силикона с предварительно откалиброванной жесткостью. Такие силиконы механически близки к мягким биологическим тканям с точки зрения близости коэффициента Пуассона к "жидкостному пределу" ($v \rightarrow 0,5$) и абсолютных значений модуля Юнга (~10-10³ кПа). Однако, в отличие от большинства биологических тканей, как было показано выше, силиконы высоко линейны, что позволяет их использовать в качестве линейного оптического датчика напряжения. При этом построение зависимости деформации в силиконе (пропорциональной напряжению) от деформаций в ниже лежащей биоткани позволяет получить зависимость напряжения от деформации для исследуемого образца в разных областях.

На рисунках 2.10(а) и 2.10(б) и 2.10(в) показаны структурный скан и пример карты кумулятивной деформации в постепенно сжимаемой ткани (удаленный в ходе операции образец рака молочной железы) под эталонным силиконовым слоем. Ввиду высокой линейности предварительно откалиброванного силикона, по локальным деформациям в силиконе можно определить локальное напряжение, которое может существенно меняться по полю кадра (рис. 2.10(б)). Используя кумулятивные деформации можно локально восстановить кривые напряжения-деформации для ткани под силиконом. На рисунке 2.10(в) показаны примеры трех кривых, найденных для центров прямоугольных областей, обозначенных 1,2 и 3 на рис. 2.10(б). Ясно, что эти кривые давления-деформации сильно различаются в разных областях, и текущий ("касательный") модуль Юнга также очень сильно меняется для каждой из трех кривых напряжение-деформации (рис. 2.10(в)). Эти кривые могут быть аппроксимированы плавными зависимостями, а их производные, построенные как функции текущей деформации, иллюстрируют сильную изменчивость текущего модуля Юнга, как показано на рис. 2.10(г).



Рисунок 2.10 — Демонстрация типичной неоднородности напряжения при ОКЭ обработке. Панель (а) представляет собой структурный ОКТ-скан, полученный во время сжатия образца рака молочной железы, панель (б) - карта кумулятивных деформаций, полученная из межкадровых деформаций, как описано в [81]. На панели (в) показаны три зависимости локального давления от деформации, соответствующие центрам прямоугольников, отмеченных 1,2 и 3 в (б). На панели (г) приведены зависимости модуля Юнга от кумулятивной деформации, найденные путем дифференцирования гладких кривых, аппроксимирующих экспериментальные зависимости напряжения от деформации на панели (в). Точки на панелях (в) и (г) соответствуют давлениям, определённым по деформациям в силиконе, на соответствующие области 1, 2 и 3 на карте кумулятивных деформаций (б).

Неоднородность напряжения (давления) в поперечном направлении, показанная на рис. 2.10(б), является типичной ситуацией и возникает по целому ряду причин: внутренняя

механическая неоднородность поджимаемого материала, неровность поверхности исследуемого объекта и/или промежуточного силиконового слоя, наличие небольшого наклона поджимающей поверхности зонда и т.д. Механическая неоднородность материала в совокупности с ограниченным вертикальным размером образца приводит к повышению давления в областях большей жёсткости в условиях одинакового смещения зонда в направлении опорной поверхности. Все эти факторы являются практически неконтролируемыми и приводят к неоднородности напряжения по полю скана. Даже в однородном, но нелинейном по жёсткости материале, из-за неровностей границы при поджатии может быть неоднородное распределение напряжения и, соответственно, неоднородное распределение жёсткости по полю кадра. Дополнительно усложняет интерпретацию эластографических изображений наличие механической неоднородности биоткани. В итоге в зависимости от происходящего в процессе измерений предварительного довольно умеренного поджатия биоткани (при ее деформациях порядка единиц процентов) текущий модуль Юнга может изменяться в несколько раз, так что получаемая карта распределения жесткости может изменяться очень существенно. В случае выраженной нелинейности биоткани ее текущий модуль Юнга E_{tis} должен оцениваться как локальный наклон кривой «напряжение-деформация» через отношение инкрементов деформаций в калибровочном силиконе с модулем Юнга *E*_{sil} и исследуемой ткани:

$$E_{tis} = \frac{\Delta S_{sil}}{\Delta S_{tis}} E_{sil}, \qquad (2.20)$$

при этом, имея в виду, что данное отношение может сильно меняться в зависимости от положения на нелинейной нагрузочной кривой, для осмысленной интерпретации оцениваемых значений модуля следует понимать и контролировать, какому положению на нагрузочной кривой соответствуют полученные значения жесткости биоткани.

Одной из возможностей обеспечить такое понимание представляется использование очень малых деформаций (на практике – в пределах одного процента), соответствующих начальной части нагрузочной кривой. Такого уровня деформации естественным образом получаются при создании деформаций в ткани с помощью вспомогательных пьезо-устройств, на поверхности которых смещения имеют микронный и даже субмикронный масштаб (см., например, [55]). Применение таких пьезо-преобразователей дополнительно позволяет создавать периодическое поджатие и использовать периодическое усреднение для повышения отношения сигнал/шум (причем без такого усреднения из-за малости производимых пьезо- преобразователями деформаций результаты измерений оказываются слишком зашумленными). Однако при столь малых деформациях, обеспечиваемых пьезо-преобразователем и практически всегда имеющей место естественной неровности границ исследуемой ткани очень трудно исключить неполный контакт между поверхностью ткани и поверхностью нагружающего ткань зонда. При этом даже незначительные неровности (порядка микрон) могут приводить к появлению сильно

неоднородной в поперечном направлении структуры создаваемых деформаций, вплоть до формирования неоднородных деформаций разного знака, подобно примеру, показанному на рисунке 2.11 (б). Для исключения такой артефактной неоднородности либо поверхность исследуемой ткани должна быть очень ровной (что обычно недостижимо на практике), либо к ткани должно быть приложено достаточно сильное начальное поджатие.

Таким образом, практически всегда в различных областях эластографического изображения на исследуемую ткань оказывается существенно различное давление, что затрудняет непосредственное сопоставление величины оцениваемого модуля Юнга для различных областей ткани. Чтобы исключить такую неоднозначность, в работе [102] была предложена процедура обработки эластографических записей, позволяющая обеспечивать выбираемое по величине и одинаковое по всему полю кадра давление на ткань.

Смысл такой процедуры заключается в том, что для каждого вертикального одномерного скана (А-скана) карты накопленных деформаций в силиконе и ткани из всей записи компрессии выбираются номера сканов, для которых давление в калибровочном слое силикона достигает некоторого заранее выбранного уровня. Затем такие А-сканы, выбранные из исходных двумерных сканов с различными номерами кадра, пересобираются в единый двумерный эластографический скан, для которого при всех значениях поперечной координаты величина давления на силикон и биоткань оказывается одинаковой и равной выбранной величине. Рисунки 2.11 (б) и 2.11 (в), иллюстрируют процедуру отбора стандартизованных по давлению А-сканов на исходных сканах с различными номерами и их последующей пересборкой в стандартизованное на давление эластографическое изображение. Таким образом, даже если ткань под калибровочным силиконом сильно нелинейна и неоднородна, упругий модуль можно оценивать при одинаковой заранее выбранной величины давления значений модуля как в разных частях одного двумерного скана, так и для различных образцов и экспериментов при одинаковой («стандартизированной») величине давления.



Рисунок 2.11 — Демонстрация процедуры стандартизации давления, используя пространственнонеоднородные распределения накопленной деформации (и, соответственно, локального давления) в калибровочном слое силикона, через который производится поджатие исследуемого образца ткани рака молочной железы, характеризуемого как неровностью поверхности, так и неоднородностью упругих свойств в объеме образца, заметной на панели (а). Панель (б) схематически показывает последовательность исходных двумерных сканов кумулятивно накопленной деформации, из которых выбираются вертикальные A-сканы, соответствующие выбранному одинаковому уровню давления. Панель (в) показывает примеры синтезированных «стандартизированных» сканов кумулятивно накопленной деформации, для которых по всей площади обеспечены выбранные заранее одинаковые величины давления. На основе таких синтезированных сканов с использованием формулы (2.20) может быть оценено текущее значение модуля Юнга для конкретной величины давления. Панели (г) - (ж) показывают примеры получаемых таким способом карт распределения модуля Юнга для различных значений давления, оказываемого на ткань (2 кПа, 4 кПа, 6 кПа и 8 кПа). Как видно, результирующие распределения жесткости оказываются существенно отличающимися при различии давления на единицы кПа; размер бара по вертикали и горизонтали – 0,5 мм.

Следует еще раз специально подчеркнуть, что из-за возможной неоднородности ткани в визуализируемой области даже при возможности контролирования усредненной величины давления в пределах скана (с использованием прецизионных датчиков силы) все равно локальные значения давления в пределах скана могут очень значительно различаться. В таком случае именно описанная процедура стандартизации давления с использованием калибровочного силиконового слоя в качестве датчика локального давления для каждой координаты по полю скана позволяет синтезировать эластографические сканы с одинаковой величиной лавления по всей визуализированной области, даже если в исходно получаемых сканах давление могло сильно (в несколько раз) отличаться в разных частях скана. Без выполнения процедур стандартизации собственная нелинейность ткани может непредсказуемым образом очень значительно менять получаемые карты распределения упругого модуля. Представленные на рисунке 2.11 (г-ж) карты распределения модуля Юнга для реального образца ткани рака молочной железы, полученные для

нескольких величин выбранного стандартизованного давления, демонстрируют, насколько сильно может меняться визуализируемое распределение модуля Юнга при изменениях давления на несколько кило Паскалей.

Приведенные ниже примеры иллюстрируют высокую эффективность и полезность предлагаемых процедур стандартизации давления. Во-первых, на рисунке 2.12 показана повторная обработка сканирований ОКЭ для того же образца роговицы, что и на рисунке 2.4. На рисунке 2.12(а) показана начальная карта кумулятивной деформации, а на рисунке 2.12 (б) воспроизведена карта явно неоднородной жесткости, полученная путем прямого применения уравнения (2.20). Карта жесткости на рисунке панели 2.12(в) получена путем применения стандартизации давления на 10 кПа по всему сканированию, так что артефактная неоднородность ткани устраняется, и распределение жесткости становится намного более равномерным. Значительно более однородная карта жесткости, показанная на рисунке 2.12 (в), хорошо согласуется с довольно похожими кривыми напряжения-деформации, показанными на рисунке 2.12 (г) для правой (область 2 на 2.12(а)) и левой (область 1 на 2.12(а))) частей сканирования. Наконец, на рисунке 2.12(е) показаны горизонтальные профили жесткости вдоль пунктирных линий, показанных на панелях (б) и (в), чтобы продемонстрировать в другой форме, что используемая стандартизация давления сильно уменьшает артефактную неоднородность свойств ткани.



Рисунок 2.12 — Демонстрация эффективности стандартизации давления для ОКЭ образца роговицы. (а) первоначальная накопленная карта деформаций с выраженным градиентом кумулятивной деформации; (б) – карта жесткость полученная без алгоритма стандартизации давления с значительной неоднородностью жесткости биоткани, которая может быть ошибочно истолкована как неоднородность структуры тканей; (в) – карта жесткости, полученная с применением стандартизации давления на давление 10 кПа, которая наглядно демонстрирует, что на самом деле ткань достаточно однородна; (г)- зависимость давления от деформации для областей 1 и 2 роговицы, отмеченных на панели (а). На (г) продемонстрированы различные наклоны касательной к кривым в точках, соответствующих приложенному к роговице давлению к концу компрессии. Аналогичная разница продемонстрирована на панели (д) – зависимость жёсткости от давления. На (е) показаны профили жесткости вдоль пунктирные линии на панели (б) и (в).

Таким образом, выполнение процедур стандартизации давления и получение соответствующих такому одинаковому по полю скана давлению синтезированного эластографического изображения имеет ключевое значение для исключения неконтролируемого изменения модуля Юнга ткани из-за ее нелинейности и обеспечения возможности корректного количественного сравнения и интерпретации визуализируемых упругих свойств образцов (в частности, для выполнения последующей сегментации эластографических изображений на основе различий упругого модуля в разных частях скана). Такая процедура стандартизации величины локального давления по всей площади эластографического скана будет использоваться во всех представленных в следующих главах применениях компрессионной ОКЭ в онкологии.

2.4 Заключение

В данной главе представлены принципы реализации компрессионного подхода к эластографии в ОКТ на основе описанного в Главе 1 векторного метода количественной визуализации деформаций. Для обеспечения количественной оценки модуля Юнга рассмотрен принцип использования калибровочных слоев (обычно приготовляемых из силикона) с предварительно определённым модулем Юнга. Описаны эксперименты, доказывающие высокую линейность упругого поведения силиконов, благодаря чему такой слой силикона может использоваться как оптический высоко линейный датчик упругого напряжения даже при достаточно больших деформациях калибровочного слоя (порядка нескольких десятков процентов). Высокая линейность калибровочных слоев силиконов открывает очень удобную возможность получения пространственно разрешенных нелинейных зависимостей «напряжениедеформация» для реальных обычно сильно нелинейных биотканей.

Важной особенностью предложенного метода является также использование слаборассеивающих силиконовых слоев, в отличие от прозрачных силиконов, используемых рядом зарубежных авторов. При использовании слаборассеивающих слоев как в объеме слоя, так и в объеме исследуемой ткани деформации можно определять единым способом, оценивая стандартным аксиальные градиенты межкадровых вариаций фазы (например, среднеквадратичным методом или векторным методов, описанным в Главе 1). Если же используется прозрачный слой, то в нем деформации возможно определять только совсем другим методом – оценивая изменения его толщины, отслеживая смещения границ. Этот метод менее чувствительный и точный и, кроме того, позволяет оценивать только среднюю по толщине слоя деформацию, не обеспечивая разрешение по толщине слоя. Между тем получение пространственно разрешенных деформаций в толще слоя является еще одним важным достоинством использования слаборассеиваюших слоев, т.к. позволяет контролировать эффекты прилипания, искажающие величину модуля Юнга калибровочного слоя.

На основе развитого метода получения пространственно-разрешенных нелинейных зависимостей «напряжение-деформация» также был разработан метод оценивания текущего значения модуля Юнга нелинейной ткани при произвольно выбираемой величине упругого напряжения. Далее выполняется построение соответствующей карты распределения найденного модуля для выбираемой стандартизированной величины упругого напряжения по всей области эластографического скана, даже если на исходных сканах распределение упругого напряжения было существенно пространственно неоднородным. В Главе 4 будет описано еще одно использование развитого метода получения нелинейных кривых нагружения биотканей не только для оценивания модуля Юнга, но и коэффициента нелинейности, совместное использование которых позволяет существенно повысить точность дифференцирования морфологических компонент и подтипов злокачественных опухолей.

Глава 3. Демонстрации применений ОКТ-картирования деформаций для различных биомедицинских применений

Разработанная технология эластографической визуализации на основе ОКТ может быть использована как в контактном варианте для картирования модуля упругости, так и для картирования собственно деформаций, что выполнимо, в том числе, и бесконтактно. Такая детальная визуализация деформаций различной природы (не только вызываемых механическими воздействиями на биоткань, но и, например, термо-индуцированных, обусловленных высыханием, осмотическими процессами и т.д.) представляет самостоятельный интерес для широкого спектра различных применений, ряд примеров которых описан в данной главе.

3.1 Визуализация термомеханических деформаций в коллагеновых тканях хрящей и роговицы глаза при изменении их формы лазерным облучением

Одним из таких применений является исследование деформационных процессов, происходящих при лазерном изменении формы таких коллагеновых тканей как роговица глаза и хрящи. Такого типа новые технологии нехирургического изменения формы тканей стали развиваться во многом благодаря работам российских исследователей [68,103]. В этих работах было выяснено, что для хрящей и роговицы глаза, состоящих из почти чистого коллагена, умеренное кратковременное повышение температуры до 50-70 С, вызываемое облучением инфракрасным лазером, может быть биологически недеструктивным (еще не вызывало необратимых и нежелательных процессов коагуляции, не повреждало хондроциты и даже стимулировало их развитие). При таком нагреве кратковременно и обратимым образом в коллагеновой матрице разрывается часть межмолекулярных связей, так что ткань отчасти становится пластичной, что позволяет изменить ее форму и снять возникающие при этом внутренние напряжения. После охлаждения ткани такие деформации могут оставаться достаточно стабильными, так что ткань сохраняет приданную форму. Интерес к таким исследованиям связан с перспективами создания новых методов нехирургического корректирования формы и, следовательно, рефракции технологий роговицы, а также развитием лазерного термомеханического формирования хрящевых имплантов. Для офтальмологических применений эти исследования пока носят предварительный характер, тогда как технологии лазерного формирования хрящевых аутоимплантов из пластин реберного хряща пациента для закрытия дефектов трахеи уже успешно применялись интраоперационно и показали положительные долговременные результаты [70].

Визуализация на основе ОКТ позволила глубже понять сложную пространственновременную динамику лазерных деформаций [74,75,76,78]. Схематически экспериментальная конфигурация этих исследований показана на рис. 3.1. В частности, разработанная технология высокоразрешающей ОКТ-визуализации деформаций позволила детально исследовать особенности совместного влияния повышения температуры, которая максимальна на оси нагревающего лазерного пучка, и сопутствующих термоупругих деформаций с существенно иным пространственным распределением.



Рисунок 3.1 — Схема ОКТ-исследования лазерно-индуцированных деформаций. 1 —полупрозрачные силиконовые слои (защищали образец от высыхания и могли использоваться для выполнения эластографии при сжатии для определения модуля Юнга ткани [76]), 2 — образец хряща или роговицы, 3 — поддерживающая стеклянная пластина. Нагрев производился эрбиевым лазером (λ = 1,56 мкм).

Теоретическая модель описывает тепловые лазерно-индуцированные напряжения, создаваемые изменением температурного поля $\Delta T(\mathbf{r})$, которое может быть аппроксимировано как осесимметричная функция расстояния r от оси нагревательного луча. Выражение для теплового напряжения при лазерном облучении поверхности имеет следующий вид [104,105,106]:

$$\sigma_{therm} = \alpha E \left(-\Delta T(r) + \frac{2}{r^2} \int_0^r \Delta T(r') r' dr' \right)$$
(3.1)

где b - расстояние границы интегрирования от оси лазерного луча, α - коэффициент теплового расширения, E - модуль Юнга, $\Delta T(r)$ - изменение температуры.

Рассматривая облученную область хряща в виде слоистой структуры, состоящей из слоев (толщиной $d \ll r$), для каждого из таких слоев можно заменить функцию $\Delta T(r')$ ее аналитическим выражением и для каждого момента времени численно найти распределение поля напряжений. Принимая во внимание, что для биологических тканей с коэффициентом Пуассона, близким к 0.5, модуль Юнга *E* связан с модулем сдвига *G* как *E* = 3*G*, а нормализованное увеличение температуры может быть записано как
$$\Delta \widetilde{T}(r) = \Delta T(r) / \Delta T(r=0), \qquad (3.2)$$

73

тогда уравнение (3.1) может быть переформулировано в виде:

$$\sigma_{thermal} = 3\alpha G \Delta T(r=0) \left(-\Delta \widetilde{T}(r) + \frac{2}{r^2} \int_{0}^{r} \Delta \widetilde{T}(r') r' dr' \right), \qquad (3.3)$$

для которого простая приблизительная оценка максимального значения составляет $|\sigma_{thermal}|_{max} \sim \alpha G \Delta T(r=0)$ для колоколообразного распределения $\Delta T(r')$. С целью более точной оценки в уравнениях (3.1) и (3.3), можно использовать аналитическую аппроксимацию экспериментально измеренного распределения температуры T(r') за заданное время, чтобы численно найти распределение поля напряжений. При численном моделировании в качестве температурного поля были взяты экспериментальные данные, измеренные камерой FLIR A615 в процессе лазерного облучения.

Важным следствием уравнения (3.3) является то, что $\sigma_{thermal}(r \rightarrow 0) = 0$ и $\sigma_{thermal}(r \rightarrow \infty) = 0$ для любого колоколообразного распределения T(r) с максимумом при r = 0 и $T(r \rightarrow \infty) = 0$. Следовательно, положение максимального теплового напряжения $\sigma_{thermal}$ не совпадает с положением температурного максимума r = 0, а расположено на склоне распределения температуры T(r). Тем самым, наиболее интенсивные термоупругие деформации возникают там, где температура уже не максимальна и потому ее потенциальные нежелательные эффекты не столь выражены, как на оси пучка в области максимальной температуры.

Экспериментально с помощью ИК-камеры был получен типичный профиль температуры поверхности роговицы, представленный на рисунке 3.2(а) красными символами, где сплошной линией показана аппроксимирующая функция (в виде суммы трех гауссовых функций с радиусами 2, 1.2 и 0.6 мм). Используя аппроксимирующую функцию и численно интегрируя уравнение (3.1), было смоделировано поле термомеханических напряжений на поверхности хрящевой ткани, пропорциональное разнице между угловой и радиальной составляющими тензора теплового напряжения (см. рис. 3.2(б)). Как указывалось ранее при обсуждении уравнения (3.1), тепловое напряжение равно нулю на оси нагревающего пучка, где температура максимальна, и напротив, тепловые напряжения максимальны на склонах температурного профиля, где повышение температуры значительно меньше, чем в центре.



Рисунок 3.2 — Панель (а) - типичное экспериментально наблюдаемое радиальное распределение температуры (красные квадратные точки) и его аппроксимирующая кривая (сплошная чёрная линия), и панель (б) - соответствующее распределение тепловых напряжений $\sigma_{therm}/[\alpha E\Delta T(r = 0)]$, нормированных на максимальное значение. Расстояние отсчитывается от оси нагревательного луча.

эксперименты с ОКТ-визуализацией термо-механических деформаций Выполненные подтвердили, пространственное распределение соответствует что их ожидаемому комбинированному влиянию собственно распределения температуры при лазерном нагреве ткани и возникающих при этом термо-механических напряжений. На рис. 3.3 показаны примеры такого рода ОКТ-визуализации деформаций в роговице выделенного глаза кролика при ее облучении нагревающим импульсно-периодическим излучением инфракрасного лазера. На рисунке хорошо виден отмеченный выше эффект сильного влияния термомеханических напряжений, обеспечивающих формирование максимальных накопленных деформаций на периферии пучка вне области максимальной температуры. нагревающего Достигнутое понимание особенностей сложной пространственно временной динамики лазерно-индуцированных деформаций позволяет оптимизировать пространственно-временные характеристики облучения для достижения требуемого эффекта И минимизации нежелательных температурных повреждений, что может быть использовано в системах управления для будущих практических приложений в офтальмологии. Более детально данный цикл исследований описан в работе [78], где также показано, что аналогичное поведение деформаций является очень схожим для таких коллагеновых тканей, как роговица глаза или хрящевая ткань.



Рисунок 3.3 — Визуализация межкадровых и накопленных (кумулятивных) деформаций на основе развитой фазочувствительной ОКТ-технологии в роговице глаза кролика при облучении ее импульснопериодическим излучением инфракрасного лазера с длиной волны 1.5 мкм. Панель (а) - двумерное распределение межкадровой деформации в роговице по глубине в начале нагревающего импульса, когда скорость деформации первоначально максимальна на оси пучка. Панель (б) - межкадровая деформация, зарегистрированная на ~ 2 с позже, когда скорость деформации имеет уже два максимума на склоне температурного распределения. Графики (в) и (г) показывают соответствующие горизонтальные профили деформации вдоль пунктирных линий, показанных на панелях (а) и (б). Из профилей хорошо видно, что формы распределения деформации первоначально имеют один центральный максимум, а затем формируются даже более интенсивные расщепленные максимумы на более поздней стадии нагрева. Панель (д) представляет временную эволюцию межкадровых деформаций при импульсно-периодическом нагреве роговицы. Отчетливо виден постепенный переход от изначально одного центрального максимума к расщепленным максимумам на склонах греющего пучка. Панель (е) соответствуют панели (д), но показывает уже эволюцию накопленных (кумулятивных) деформаций, также демонстрирующих расщепление первоначально единственного максимума и формирование двух боковых максимумов, значительно превышающих по амплитуде центральный.

Развитый метод ОКТ-визуализации деформаций позволил также детально исследовать особенности развития термо-механических деформаций от времени и сопоставить их с расчетными изменениями температуры, вызываемыми нагревающим лазерным пучком.

На рис. 3.4(а) приведен типичный пример результирующей кумулятивной деформации, созданной серией из нескольких лазерных импульсов в выделенной роговице кролика, помещенной в сэндвич-структуру (силикон-биоткань-силикон, рис. 3.1). Использовался импульсно-периодический режим [75] с постепенным повышением температуры ткани до ~50°С. После каждого импульса нагрева формируется некоторое остаточное расширение, даже если температура возвращается почти к исходному значению. Этот факт хорошо виден на рисунке 3.4а

из сравнения с рассчитанной кривой изменения температуры в центре области расширения. Распределение температуры в объеме ткани было найдено с помощью численного моделирования для используемой интенсивности и длительности нагревных импульсов и расстояния от конца оптического волокна до ткани [75]. Соответствующая постановка задачи теплопроводности были ранее описаны в [104,107]. Для используемой длины волны нагревного лазера 1,56 мкм коэффициент поглощения был принят равным 1 мм⁻¹. В работе [75], была проверена достоверность таких температурных расчетов, используя сравнение с данными ИК-камеры для температуры вблизи поверхности. Наложенные кривые для найденной температуры и кумулятивной деформации на рис. 3.4(а) демонстрируют существенно различающиеся зависимости от времени, что свидетельствует об отсутствии простой пропорциональности. На графиках рис. 3.4(б,в) показаны кумулятивные деформации и изменение температуры для двух отдельных импульсов, отложенные от предыдущих минимальных значений и наложенные с использованием коэффициента теплового расширения β_{emp} , подобранного эмпирически, для получения изначально совпадающих наклонов. Величины β_{emp} несколько варьировались. На начальном этапе нагрева β_{emp} возрастал от $0.8 \times 10^{-3} \,^{\circ}\text{C}^{-1}$ до $1.5 \times 10^{-3} \,^{\circ}\text{C}^{-1}$ (в диапазоне температур от 20°С до примерно 40°С), а для еще более высоких температур (40-50°С) коэффициент β_{етр} снижался до 1.2×10⁻³ °C⁻¹. Значения того же порядка наблюдались для образцов хряща. Во всех исследованных образцах значения β_{emp} были значительно выше, чем коэффициент теплового расширения для воды, что согласуется с аналогичными наблюдениями для лазерного облучения сетчатки, приведенными в [58].

Отдельные импульсы четко демонстрируют, что термически вызванное расширение включает как обратимые, так и необратимые компоненты. На рисунке 3.4(б) показано, что при достижении некоторой пороговой температуры деформация может особенно сильно отклоняться от прямой пропорциональности росту температуры. Часто зависимость деформации от времени демонстрирует точку перегиба, после которой в ткани расширение сильно ускоряется в сравнении с ростом температуры. Интересно отметить, что непосредственно перед точкой перегиба скорость расширения обычно демонстрировала некоторое снижение по сравнению с началом импульса (что хорошо видно на рис. 3.4(а) и 3.4(б)). Аналогичная особенность выявлена и у образцов хряща (см. вставку на рис. 3.4(в)).

Похожее поведение с нарушением пропорциональности между деформацией и температурой и образованием точки перегиба также наблюдалось в работе [58] при повышении температуры до коагуляции (около 40-45 °C) в сетчатке (см. рис. 8 в [58]). Подобное поведение указывает на довольно общий характер этого явления. После достижения точек перегиба остаточная деформация после нагрева значительно увеличивается (см. рис. 3.4(б) и 3.4(в)). Однако, даже если температура точки перегиба еще не достигнута, как показано на рисунке 3.4(в), остаточная деформация после температурного равновесия все еще заметна.

Деформация ткани, показанная на рисунке 3.4, значительно отличается от обычного обратимого теплового расширения. Наличие остаточной деформации может быть объяснено образованием межтканевых пустот (пор) между плотно упакованными слоями коллагеновых волокон, которые формируют такие ткани, как роговица, склера или хрящ.



Рисунок 3.4 — Примеры кумулятивно накопленной деформации, создаваемой нагревательными лазерными импульсами в роговице (панели (а-в)) и образце хряща (вставка на панели (в)). Сплошная черная линия на (а) показывает постепенное накопление деформаций (со специфическими точками перегиба) в ткани роговицы вблизи центра пятна расширения. Пунктирная красная линия на панели (а) отвечает за температуру в максимуме на оси луча, найденную с помощью численного моделирования. Формы кривых температуры и деформации сильно отличаются в соответствии с предыдущими результатами [75]. На панелях (б) и (в) показаны отдельные импульсы в роговице, а вставка на панели (в) показывает аналогичный импульс расширения для образца хряща (пунктирные линии на вставке наглядно подтверждают разницу в скорости накопления деформации до и после точки перегиба). На панелях (б) и (в) всплески кумулятивной деформации (сплошные линии) накладываются на соответствующие моделируемые изменения температуры $\beta_{\rm emp}\Delta T$ (красные пунктирные линии), где эмпирические коэффициенты расширения $\beta_{\rm emp} \sim 10^{-3}$ выбраны для обеспечения совпадения с начальным наклоном кумулятивной деформации.

Появление дополнительных межтканевых пор, способствует увеличению скорости наблюдаемого теплового расширения. В насыщенных водой тканях, таких как роговица и хрящ, образовавшиеся пустоты заполняются межклеточной жидкостью. Поэтому заполненные жидкостью пустоты не отличаются значительно от окружающей ткани по показателю преломления, и на структурных ОКТ-сканах такие поры практически не визуализируются, тем более, что размер пор (по крайней мере, по одному из измерений) обычно заметно меньше разрешающей способности ОКТ. Тем не менее, по вызываемой появлением пор деформации ткани и сопутствующему снижению величины упругого модуля, которое может быть оценено с использованием развитой технологии ОКТ-эластографии, становится возможным определить усредненные параметры пористости. Подробнее эти возможности рассмотрены в следующем параграфе.

3.2 Использование картирования необратимых лазерно-индуцированных деформаций и сопутствующих изменений модуля Юнга для диагностики структурных изменений в коллагеновых тканях

Еще одной интересной возможностью, предоставляемой методом ОКЭ, является оценка микроструктурных изменений в коллагеновых тканях (роговица и хрящ), подвергнутых лазерной модификации. Как показано в работе [76] (в том числе сопоставлением с данными гистологии), возникающие в коллагеновой ткани необратимые термо-индуцированные деформации приводят к формированию пор (частичных расслоений между слоями коллагена), геометрия которых напоминает узкие трещины. Так например, недавние сравнительные исследования структурных особенностей образцов коллагеновой ткани до и после нагрева (хряща, склеры и роговицы) с использованием атомно-силовой микроскопии (АСМ) и электронной микроскопии [104,106] показали, что термомеханическая лазерная обработка вызывает появление микроскопических пор. Пример визуализации отдельных термически полученных пор приведен на рис. 3.5, на котором показаны АСМ-изображения (воспроизведенные из [104]) необработанной и термически обработанной склеры импульсно-периодическим облучением эрбиевым ИК-лазером (работающим на длине волны 1,56 мкм с длительностью нагревательных импульсов и межимпульсных пауз порядка нескольких секунд, достигаемая температура в максимумах импульсов составляет ~55-60°С).

Аналогичное образование субмикрометровых пор наблюдалось в образцах суставного хряща свиньи. Полученные с помощью атомно-силового микроскопа и микроскопии структурированного освещения топографические профили в необработанном состоянии имеют шероховатость порядка нескольких десятков нанометров, тогда как в термически обработанном состоянии величина шероховатости достигает сотен нанометров, что четко указывает на образование пор [104].



Рисунок 3.5 — Изображения с атомно-силового микроскопа (ACM), показывающие гладкий слой коллагена в необлученной склере с параллельными коллагеновыми волокнами (рис. 3.5а) и расслоением коллагеновых волокон и образованием пор из-за вызванного лазером термомеханического напряжения в облученной ткани (рис. 3.5б). Размер бара составляет 1 мкм.

Недавно выполненное моделирование [106] такого термически индуцированного образования пор в коллагеновых тканях продемонстрировало довольно хорошее согласие с результатами наблюдений.

Другой пример, демонстрирующий микроструктурные различия между необработанной и облученной ИК-излучением роговицей кролика, показан на рис. 3.6, где представлены два гистологических изображения роговицы. Панель (а) показывает однородную структуру необработанной роговицы с хондроцитами (синие штрихи). Второе изображение (рис. 3.6(б)) соответствует облученной ИК-излучением роговице живого кролика, изображение получено через 4 месяца после процедуры облучения. В отличие от довольно однородной структуры на рис. 3.6(а), на рис. 3.6(б) отчетливо видны многочисленные удлиненные поры. Поры анизотропно ориентированы, а именно горизонтально выровнены вдоль направления слоев коллагеновых волокон в роговице. Следует также отметить, что в гистологических образцах, подвергнутых дегидратации и другим вспомогательным процедурам перед гистологическими исследованиями, геометрия пор может сильно отличаться по сравнению с порами в естественном состоянии ткани.



Рисунок 3.6 — Гистологические изображения роговицы кролика в необработанном и облучённом состояниях. Изображение (а) показывает однородную структуру необлученной роговицы (где хондроциты видны в виде темно-синих штрихов в объеме ткани). Изображение (б) было получено через 4 месяца после облучения, когда животное было выведено из эксперимента. В отличие от панели (а) на панели(б) отчетливо видны многочисленные трещиноподобные поры с профилями, ориентированными вдоль слоев коллагена. Размер бара составляет 0,5 мм.

В биологических тканях, которые не содержат кровеносных сосудов, таких как хрящи суставов и носовой перегородки, роговица глаза, поры играют важную роль в процессах массопереноса кислорода и питательных веществ, обеспечивая полноценное функционирование клеток. Лазерно-индуцированное образование пор является основой новых технологий, таких как лечение остеоартрита и нормализация внутриглазного давления при глаукоме. В частности, существует оптимальный размер пор: слишком мелкие поры не дают достаточного положительного (терапевтического) эффекта. Слишком большие поры снижают прочность тканей и могут способствовать развитию нежелательных побочных эффектов. Поэтому для клинических

применений принципиально важно характеризовать изменения микроструктуры, вызванные лазерным нагревом во время выполнения процедур или, по крайней мере, сразу после, исключая дополнительные процедуры подготовки ткани, которые могут влиять на характеристики пор. По этой причине использование с этой целью неинвазивного ОКЭ-обследования in vivo представляет большой интерес для биомедицинских применений.

В этой связи важно отметить, что показанные на рисунке 3.6 поры сильно анизотропны и похожи на удлиненные трещины с профилем, ориентированным вдоль коллагеновых слоев. За счёт этой ориентации такие анизотропные поры вносят доминирующий вклад в расширение материала в ортогональном направлении к слоям коллагена, что позволяет описывать процесс в этом направлении в одномерном приближении.

Следующее важное утверждение заключается в том, что узкие поры должны вести себя как трещины в ответ на одноосную механическую нагрузку, которая обычно прикладывается ОКТзондом к их поверхностям. Даже если такие трещиноподобные пустоты заполнены промежуточной жидкостью, достаточно медленное сжатие должно позволить жидкости выдавиться из пор в окружающие ткани. Таким образом, такие поры должны реагировать на медленное одноосное сжатие аналогично пустым трещинам, которые, как хорошо известно, гораздо более податливы, чем окружающий матричный материал [108,109].Следовательно, такие поры должны механически вести себя как незаполненные трещины и вызывать заметное уменьшение модуля Юнга в облучённых областях. Таким образом, используя измеренное снижение модуля Юнга в сочетании с картированием расширения тканей, можно извлечь важную количественную информацию о свойствах пор.

Для реализации этой идеи в работе [76] было выполнено ОКЭ картирование пространственного распределения модуля Юнга до и после лазерного нагрева. А именно, сэндвичструктура из силиконовых слоёв и роговицы была слегка сжата с помощью ОКТ-зонда. На рис. 3.7(а,в) показаны структурные изображения многослойного образца до и после лазерного нагрева, демонстрирующие расширение роговицы после нагрева. На рисунке 3.7 видно, что распределение обратного модуля Юнга (мягкости) в роговице до нагрева (рисунок 3.7(б)) не демонстрирует выраженных изменений, тогда как после нагрева возникает область значительного уменьшенного модуля Юнга, хорошо заметная на рисунке 3.7(г).



Рисунок 3.7 — Структурные и эластографические изображения (распределения обратной величины модуля Юнга 1/Е) в роговице до (панели а и б) и после (панели в и г) лазерного нагрева, для которого кумулятивная деформация показана на рисунке 3.8. До облучения распределение модуля Юнга довольно равномерное, тогда как после облучения область расширения ткани (отмеченная пунктирными эллипсами) демонстрирует явно сниженный модуль. Пунктирные горизонтальные линии на панелях (в) и (г) соответствуют профилям 1/Е, показанным на рис. 3.9. Вертикальные бары на панелях (а) и (в) имеют одинаковую высоту, чтобы продемонстрировать, что толщина роговицы локально увеличивается после облучения.

На рис. 3.8. показаны соответствующие рис.3.7 распределение накопленной деформации и структурное изображение в конце нагрева.



Рисунок 3.8 — Визуализация остаточной кумулятивной деформации, вызванной облучением, в многослойной структуре силикон-роговица-силикон. Панель (а) представляет собой структурное ОКТизображение, где метка 1 - силикон, а 2 - роговица. Пометкой "Sct" показаны два скопления довольно сильных рассеивателей, которые иногда присутствуют в силиконе и создают сильное затенение в осевом направлении. Панель (б) представляет собой реконструированное поле остаточной деформации с выраженным пятном расширения в центре, соответствующим области нагрева лазера, где образовались поры (эта область обозначена пунктирными овалами на обеих панелях). Важно отметить, что в отличие от ярко выраженных теней от сильных рассеивателей (помеченных как "Sct"), иногда присутствующих в силиконе, на структурном изображении (а) нет затенения ниже расширенной области после нагрева. Панель (б) также показывает, что вызванное облучением расширение роговицы вызывает сжатие в окружающих областях, особенно в верхнем и нижнем слоях силикона. Белая горизонтальная пунктирная линия на (б) соответствует профилю деформации, показанному на рисунке 3.9(а), а маленький чёрный прямоугольник соответствует области, для которой временная эволюция деформации была показана на рисунке 3.4(а).

нормированного обратного модуля вдоль горизонтальной пунктирной линии, проходящей через центр пятна расширения на рисунке 3.8(б). Также на рисунке 3.9(а) показан профиль повышения температуры для последнего импульса нагрева на рисунке 3.4 (когда температура в максимуме была ~47°С). Профиль возрастания температуры был получен моделированием [75,76] и нанесен на график в нормированном на максимальное значение виде. Температурная ось масштабирована так, чтобы в максимуме нормализованная температура соответствовала максимум профиля деформации. Такое представление ясно показывает, что распределение температуры существенно шире, чем у результирующей деформации. Этот факт согласуется с результатами [75], где подробно обсуждается, что имеет место экспоненциальная зависимость между возрастанием температуры ткани и вызванной ей необратимой деформацией.



Рисунок 3.9 — Измеренные горизонтальные профили накопленной деформации (а) и нормированного обратного модуля Юнга (б). На экспериментальные кривые наложены аппроксимации гауссовыми функциями, показанные пунктирными линиями. На панели (а) сплошная кривая представляет собой измеренный профиль деформации через центр пятна расширения вдоль пунктирной линии на рисунке 3.8(б); пунктирная линия представляет собой гауссову аппроксимацию профиля пятна расширения, а синие кружки показывают моделируемое повышение температуры, нормализованное к значению в максимуме. На панели (б) сплошная чёрная кривая 1 представляет собой профиль умягчения 1/Е после облучения, синяя кривая 2 представляет собой профиль умягчения 1/Е до воздействия вдоль пунктирной линий, показанной на рисунке 3.7(г). Обе кривые нормализованы к значению до облучения 1/Е в центре области расширения, так что до облучения вблизи центра нагрева $1/E \approx 1$, а после облучения 1/Е ≈ 6.5 . Пунктирная кривая представляет собой гауссову аппроксимацию профиля 1/Е после облучения.

Совместное измерение кумулятивной деформации и сопутствующих изменений модуля Юнга может быть использовано для получения информации о характеристиках пор. Увеличение объёма биоткани, вызванное облучением, непосредственно соответствует дополнительному объему созданных пор. Сопутствующее снижение модуля упругости определяется совокупным влиянием количества (объема) пор и их относительной мягкостью (по сравнению с окружающим неповрежденным матриксом ткани). Как уже упоминалось при обсуждении гистологического изображения облученной роговицы (рис. 3.6(б)), ориентация трещиноподобных пор вдоль слоев коллагена позволяет описать их влияние на свойства ткани в одномерном приближении в направлении перпендикулярном к ориентации пор и слоев коллагена. В таком сильно анизотропном случае появление трещиноподобных пор приводит к расширению ткани преимущественно в ортогональном порам направлении с гораздо более слабым эффектом в боковом направлении. Таким образом, визуализируемая с помощью ОКЭ вертикальная (осевая) деформация приблизительно соответствует относительному объемному содержанию таких горизонтально ориентированных плоских пор. В этом приближении, если начальный объем ткани равен V_0 , то конечный объем равен $V_0 + V_{pore}$, где V_{pore} - объем пор. Тогда для деформации, в направлении, ортогональном плоскости пор, показанной на рис. 3.8(б), можно записать

$$\frac{V_0 + V_{pore}}{V_0} = 1 + \frac{V_{pore}}{V_0} = 1 + \upsilon = 1 + S$$
(3.4)

Здесь $v = V_{pore} / V_0 = S$ - объемное содержание пор, соответствующее визуализированной деформации S на эластографическом ОКТ-изображении на рис. 3.8.

В одномерном приближении при описании влияния мягких включений на жёсткость среды, можно представить уменьшение модуля Юнга в следующей форме, которая выглядит особенно просто для идентичных включений [110]:

$$E_0 / E \approx 1 + \upsilon / \varsigma . \tag{3.5}$$

Здесь, как и в уравнении (3.4), v - объемное содержание включений, E_0 - модуль Юнга материала матрицы и $E < E_0$ - модуль материала с мягкими включениями; а малый параметр $\varsigma \ll 1$ характеризует отношение эффективного модуля включений/пор к величине модуля материала матрицы. Для включений /пор с различными значениями параметра мягкости ς , описываемых дифференциальным распределением $v_{diff}(\varsigma)$, выражение (3.5) может представлено в интегральной форме [111]:

$$E_0 / E \approx 1 + \int \frac{\nu_{diff}(\varsigma)}{\varsigma} d\varsigma.$$
(3.6)

Для неидентичных пор можно определить среднее значение параметра ς_{mean} , так что уравнении (3.6) преобразуется к виду подобному (3.5)

$$\int \frac{v_{diff}(\varsigma)}{\varsigma} d\varsigma \equiv (1/\varsigma_{mean}) \int v_{diff}(\varsigma) d\varsigma = v/\varsigma_{mean} .$$
(3.7)

Здесь объёмное содержание пор v имеет тот же смысл, что и в уравнении (3.4) для идентичных пор. Следовательно, уравнение (3.6) может быть переписано в более простой форме, аналогичной уравнению (3.5)

$$E_0 / E = 1 + \upsilon / \varsigma_{mean} \,. \tag{3.8}$$

Из уравнения (3.5) можно легко выразить отношение $\upsilon / \varsigma_{mean}$ через экспериментально измеряемый коэффициент уменьшения модуля E_0 / E (см. экспериментальный рисунок 3.9(б)), для которого даже не требуется абсолютная калибровка модуля:

$$\upsilon / \varsigma_{mean} \approx E_0 / E -1, \tag{3.9}$$

Здесь, согласно уравнению (3.4), объемное содержание включения/пор v соответствует измеряемой кумулятивной деформации, которая визуализирована на рисунках 3.9(а) и 3.8(б). Таким образом, выполняя ОКЭ обследование, картируя вызванные облучением остаточные деформации в ткани и определяя уменьшение модуля Юнга в области термического расширения ткани, можно получить информацию об объемном содержании пор v и о среднем значении податливости пор ς_{mean} .

Отметим, что в приведенных выше уравнениях фактически использовались минимальные предположения о природе мягких включений. Показанная на рисунке 3.6 гистология помимо анизотропной ориентации пор также указывает на то, что поперечные сечения таких трещиноподобных пор похожи на эллипсоиды с соотношением сторон $h/l \ll 1$, где h - высота трещины, а l - длина трещины. Модели таких трещин широко используются в геофизике и механике разрушения для описания уменьшения упругого модуля в твердых телах, содержащих трещины [108,109]. При необходимости приведенное выше упрощенное 1D описание уменьшения модуля Юнга (выражения (3.5) и (3.6)) может быть легко переформулировано в 3D-описании для материала с плоскими включениями различной ориентации[112,113]. Согласно [108,109] параметр податливости ς для монетообразных пор приблизительно равен аспект-отношению узких трещин: $\varsigma \sim h/l$, при этом точный коэффициент пропорциональности может в некоторой степени зависеть от модели трещины, но он остается порядка единицы [114]. Следовательно, механическая податливость пор ς позволяет судить об их геометрии: чем тоньше трещиноподобная пора, тем выше ее податливость.

Чтобы получить количественные оценки из представленных выше ОКТ-данных, нужно использовать аппроксимирующие функции отношения $v(x)/\varsigma_{mean}(x)$ (штриховая линия на рис. 3.9(б)) и горизонтального профиля v(x) объемного содержания пор (штриховая линия на рис. 3.9(а)). Соотношение этих двух зависимостей дает профиль $1/\varsigma_{mean}(x)$. Все три перечисленных профиля показаны на рис. 3.10, где функция v(x) домножена на коэффициент 10^2 , а $v(x)/\varsigma_{mean}(x)$ - на коэффициент 4, чтобы для удобства привести все три зависимости к приблизительно одинаковому вертикальному масштабу.



Рисунок 3.10 — Получение параметра $1/\varsigma_{mean}(x) \sim l/h$ для трещиноподобных пор на оснвое показанных на рисунке 3.9 аппроксимирующих кривых для деформации S(x) = v(x) и соотношения $v(x)/\varsigma_{mean}(x) = E_0/E(x) - 1$,. Чтобы получить примерно одинаковый вертикальный масштаб на графиках, были подобраны коэффициенты масштабирования 100 и 4 перед v(x) и $v(x)/\varsigma_{mean}(x)$ соответственно. Принимая во внимание, что $1/\varsigma_{mean} \sim l/h$, параметр $1/\varsigma_{mean} \sim 5-25$, полученная из отношения v/ς_{mean} и v, достаточно хорошо согласуется с аспект отношением узких пор, видимых на рисунке 3.6(б).

Распределение $1/\zeta_{\text{inean}}(x)$ на рис. 3.10 пространственно неоднородно: в центре пятна нагрева поры имеют меньшее соотношение сторон $h/l \sim \zeta$ и значительно более податливы, а их объемное содержание максимально. На периферии объемное содержание пор v(x) плавно уменьшается, тогда как соотношение сторон $h/l \sim \zeta$, напротив увеличивается. Уменьшение $h/l \sim \zeta$ означает, что такие поры ближе к сферическим и, соответственно, более жесткие. Таким образом, они вызывают менее выраженное снижение модуля Юнга ткани. Такие выводы подтверждаются независимыми данными прямой визуализации отдельных пор с помощью микроскопии высокого разрешения [104,106]. Микроскопия демонстрируют, что в отличие от явно удлиненных больших пор, показанных на рис. 3.5, поры меньшего размера с микрометровыми и субмикрометровыми размерами близки к сфероидальным. Такие поры возникают преимущественно на периферии лазерного пятна [104]. Оцененный на рисунке 3.10 диапазон значений $l/h \sim 1/\varsigma \sim 5-22$ разумно согласуется с геометрией пор на гистологическом изображении на рисунке 3.6, хотя вполне вероятно, что пропорции пор на этом изображении могут быть несколько искажены процедурами гистологической подготовки образца.

Чтобы убедиться, что подобное поведение характерно для других коллагеновых тканей, были проведены аналогичные эксперименты с образцами суставного хряща свиней. Образцы имели форму пластин толщиной около 0,5 мм и 5-7 мм в длину и были вырезаны вдоль ориентации коллагеновых волокон (аналогично ориентации волокон в роговице). Режим импульсно-периодического нагрева также был аналогичен режиму облучения роговицы. Процедура компрессионной ОКЭ образцов хряща проводилась до и после облучения. Использованные силиконовые слои в сэндвич-структуре «силикон-биоткань –силикон» имели модуль Юнга в 10-15 раз ниже, чем у хряща, в связи с этим деформации хряща были существенно ниже, чем в роговице, а потому для более точной оценки жесткости хряща использовался метод накопления межкадровых деформаций по абсолютной величине, описанный в [43] и п.1.4.



Рисунок 3.11 — ОКЭ визуализация накопленных деформаций и изменений модуля Юнга в облученной области образца хряща. Панель (а) представляет собой структурный ОКТ скан, на котором видна трехслойная структура силикон-хрящ-силикон (см. рис. 3.1 со схемой эксперимента); область нагрева помечена пунктирным эллипсом. Панель (б) показывает остаточную кумулятивную деформацию после нагрева: хрящ в облученной области демонстрирует расширение, которое вызывает сжатие соседних слоев силикона. Панели (в) и (г) показывают распределение модуля Юнга, полученное компрессионной ОКЭ. Перед нагреванием распределение модуля Юнга хряща довольно однородное (панель (в)), тогда как после нагрева видно выраженное (около 3 раз) уменьшение модуля Юнга в центре зоны нагрева (панель(г)).

Результаты ОКЭ обследования хряща подверженного лазерному облучению весьма схожи с результатами для роговицы на рисунках 3.7 и 3.8, только на рисунке 3.11 карты жесткости даны в более традиционной форме для модуля Юнга, а не для обратной величины 1/Е. Сравнение центральной части на панелях (в) и (г) рисунка 3.11 показывает, что соотношение $E_0/E \approx 3$, так что в соответствии с уравнением (3.8) теперь $E_0/E - 1 = v(x)/\varsigma_{mean}(x) \approx 2$ в центре пятна расширения (обозначено прямоугольником). Карта кумулятивной деформации (рис. 3.11(6)) соответствует $v\sim0,06 - 0,07$ в центре пятна облучения. Отношение этих параметров соответствует параметру податливости пор (и, следовательно, соотношению сторон пор) $1/\varsigma_{mean}(x)\sim l/h\sim30$. Последнее значение несколько больше, но сопоставимо с приведенной выше оценкой $1/\varsigma_{mean}(x)$ для ткани роговицы. Для другого образца хряща значение податливости пор было еще больше $1/\varsigma_{mean}(x)\sim l/h\sim50$ (и соответствовало расширению $v \sim 0,02$ с $E_0/E - 1 = v(x)/\varsigma_{mean}(x) \approx 1$). Такие значения означают, что в этом образце хряща геометрия пор была еще ближе к узким трещинам с малым аспект отношением h/l.

В силу подобия узких пор трещинам, можно ожидать, что возникновение таких пор приводит к изменению нелинейности кривой "напряжения-деформации" по аналогии с известным фактом повышенной нелинейности трещиноватых горных пород [96]. Качественно можно аргументировать, что при повышении приложенного напряжения сначала будут закрываться

самые тонкие и податливые поры, затем поры с большим значением аспект отношения, а модуль Юнга ткани должен при этом возрастать. По-видимому, даже в естественном состоянии роговицы глаза имеются тонкие несплошности между слоями коллагена, которые аналогичным образом постепенно закрываются, повышая модуль ткани, т.е. приводя к нелинейности в связи «напряжение-деформация». Экспериментальный пример такого поведения был приведен в п.1.4 на рис. 1.12, на котором видно, что модуль Юнга роговицы от начальных значений ниже 100 кПа может увеличиться на порядок при довольно умеренных деформациях ~ 5-8% (см. 81]). В связи с развитием пор в облученной области можно ожидать, что в ней зависимость напряжения от деформации может значительно измениться по сравнению с исходной кривой для ненагретой области. Данные зависимости можно измерить экспериментально, что даёт возможность получить не только характерные размеры пор через $1/\varsigma_{mean}(x) \sim l/h$, но и построить распределение пор в зависимости от давления их закрытия. С этой целью уравнение (3.6) может быть переписано в следующей форме

$$E_0 / E(P) \approx 1 + \int_P^{P_{\text{max}}} \frac{v_{diff}(p)}{p} dp,$$
 (3.10)

где вместо $v_{diff}(\varsigma)$ использовано распределению $v_{diff}(P)$ выраженное через давление (напряжение), которое закрывает трещиноподобные поры. Величина P_{max} соответствует такому большому давлению, при котором все поры уже закрыты, так что $E \to E_0$ (формально можно считать $P_{\text{max}} \to \infty$). Для полостей, форма которым аппроксимируется сплюснутыми сфероидами с аспектотношением $\varsigma = h/l \ll 1$, известно следующее выражение для нормального напряжения P, вызывающего полное закрытие трещины [96]:

$$P = \frac{\pi E_0}{4(1 - v^2)} \varsigma , \qquad (3.11)$$

где *E*₀ - модуль Юнга материала матрицы, а *v* - коэффициент Пуассона. Поскольку для биологических тканей коэффициент Пуассона близок к 0.5, уравнение (3.11) сводится к

$$P \approx E_0 \varsigma , \qquad (3.12)$$

что делает возможным простой переход $v_{diff}(\varsigma)$ к $v_{diff}(P)$. Сравнение уравнения. (3.12) с законом Гука $\sigma = Es$ приводит к выводу, что трещина с соотношением сторон $\varsigma = h/l$ закрывается при средней деформации материала матрицы $s \sim \varsigma$.

Дифференцируя нелинейную зависимость (3.10) по напряжению P, получаем искомое распределение $v_{diff}(P)$:

$$\upsilon_{\text{diff}}(P) = -P \frac{\partial}{\partial P} \left[E_0 / E(P) \right], \qquad (3.13)$$

Экспериментальная демонстрация различий распределения пор $v_{\text{diff}}(P)$ в необлученной и облученной области роговицы глаза кролика, реконструированных с использованием формул

(3.10)-(3.13) приведена на рис. 3.12 (воспроизведен из работы [95]). Белыми прямоугольниками отмечены области в силиконе и роговице, которые использовались для получения нелинейных кривых напряжения-деформации путем построения зависимости деформации в силиконе от деформации в роговице. Карта кумулятивных деформаций для некоторого промежуточного сжатия показана на рис.3.12(6), а на рис.3.12(8). показаны кривые напряжения-деформации для нагретых и ненагретых зон, указанных на рис.3.12(a) и 3.12(b). Плавные пунктирные линии на рис.3.12(B) показывают аппроксимирующие кривые, которые использовались на рис.3.12(г) для построения распределения $v_{diff}(P)$, полученного с помощью уравнения (3.13).



Рисунок 3.12 — Примеры кривых напряжения-деформации в облученной и необлученной роговице, полученные с помощью ОКЭ, и демонстрация изменения формы распределения пор $v_{diff}(P)$. Панель (а) - структурный ОКТ скан; панель (б) - пример распределения текущей кумулятивной деформации после облучения, где прямоугольники указывают области, в которых были оценены локальные деформации для восстановления кривых напряжения-деформации. Панель (в) - кривые «напряжение-деформация» для зоны нагрева (1) и ненагретой зоны (2); панель (г) - распределения $v_{diff}(P)$ для нагретой и ненагретой зон.

Видно, что в нагретой зоне распределение по давлению закрытия $v_{diff}(P)$ смещено в сторону более высоких давлений, что эквивалентно смещению $v_{diff}(\varsigma)$ по соотношениям сторон в сторону больших значений в центре нагретой области по сравнению с ненагретыми областями. Согласно уравнениям (3.12) и (3.11), значения давления P на горизонтальной оси на рис. 3.12(г) легко пересчитывается в соответствующие соотношения сторон $\varsigma = P/E_0$, где E_0 - модуль Юнга для матрицы ткани, т.е. асимптотическое значение модуля для максимальных давлений (для которых поры уже закрыты). Для рис. 3.12 $E_0 \sim 1$ МПа, что хорошо согласуется с результатами, полученными в [76] для средних значений 1/ _{Стеап} порядка нескольких десятков в нагретой области.

Здесь можно отметить, что помимо задач связанных с изменением формы роговицы или хрящей умеренный лазерный нагрев коллагеновой ткани до значений 40-60°С, влияющий на образование микроскопических пор, может быть использован, например, для улучшения проницаемости склеры глаза с целью долгосрочной нормализации внутриглазного давления при лечении глаукомы [104,105,106,115].

3.3. Использование ОКТ-визуализации медленных релаксационных деформаций для оценки стабильности хрящевых имплантов, сформированных с использованием лазерного облучения

Как уже было отмечено, помимо перспектив использования в офтальмологии важным биомедицинским применением лазерных процедур изменения формы тканей является изготовление хрящевых имплантатов в челюстно-лицевой хирургии и отоларингологии. Очень важным вопросом безопасного применения этой методики является проверка достаточной стабильности формы, придаваемой имплантам. Например, имплантат кольцевой формы, изготовленный в ходе операции из пластины реберного хряща самого пациента, может медленно восстанавливать свою плоскую форму из-за внутренних напряжений при их недостаточной релаксации в ходе изменения формы импланта при его облучении ИК-лазером. Хотя успешное применение этой новой технологии изготовления имплантатов уже было продемонстрировано на пациентах в последние годы [70], в этих операциях достаточность степени облучения и прогрева хрящевой заготовки и оценка стабильности импланта основывалась на личном опыте оператора, моделирующего имплант. Для широкого использования такой технологии критически важным является создание технологий объективного контроля стабильности имплантов. В этом отношении развитые методы высокочувствительной визуализации деформаций на основе ОКТ можно использовать для оперативного обнаружения таких медленных изменений приданной формы (которые еще не заметны глазу на доступных во время операции интервалах наблюдений порядка единиц минут). Такой объективный и оперативно выполнимый ОКТ-контроль недостаточной релаксации остаточных внутренних напряжений должен позволять при необходимости провести дополнительное облучение имплантата перед его приживлением. Возможный вариант такого контроля формируемого кольцевого импланта для операций на трахее показан на рисунке 3.13 [80].



Рисунок 3.13 — Схематическое изображение экспериментальной конфигурации, используемой для анализа нестабильности формы хрящевого импланта: вариант (а) фиксация по средней линии, позволяющая свободное движение концов для отслеживания релаксации после облучения; вариант (б) конфигурация, используемая для контроля внутренней релаксации в образце с фиксированными концам

Рисунок 3.14 демонстрирует фотографии хрящевых образцов, подобных по геометрии реально применяемым имплантам. На рисунке 3.14(а) показан пример недостаточно стабильного образца, который демонстрирует недопустимо быстрое разгибание из-за недостаточно релаксированных внутренних напряжений. На рисунке 3.14(б) показан образец с существенно меньшей скоростью разгибания и стабильностью достаточной для использования в качестве импланта. Такие достаточно медленные деформации трудно заметить невооруженным взглядом на минутных интервалах, допустимых в ходе интраоперационного приготовления имплантов. В связи с этим высокая чувствительность ОКЭ методов открывает ранее неодоступные возможности для экспресс-обнаружения и количественного оценивания таких медленных деформаций, что позволяет оперативно делать заключения о недостаточности или достаточности релаксации внутренних напряжений, приводящих к нестабильности формы импланта.



Рисунок 3.14 — Фотографии медленного разгибания двух изначально согнутых необлучённой (панель (а)) и правильно облученной (панель(б)) хрящевых пластинок. Длина пластин составляет 3.8 см (а) и 2.2 см (б). Совмещенные дуги, как показано на панелях (а), использовались для оценки текущего радиуса кривизны, а затем для оценки скорости деформации при изгибе.

Изображения показывают, что в течение ~ 20 мин после завершения процедуры придания формы можно было наблюдать частичное медленное разгибание. Для образца, показанного на рис. 3.14(a) разгибание недопустимо большое для имплантации с целью закрытия дефектов трахеи, остаточная кривизна образца, показанного рисунке 3.14(б) уже приемлема для имплантации. В связи с этим представляло большой интерес проверить, способен ли развитый метод ОКТ-визуализации деформаций обнаруживать и количественно оценивать такие медленные деформации релаксационные на интервалах порядка минуты, что приемлемо лля интраоперационного использования.

Для предварительного контроля правильности работы ОКТ-визуализации деформаций были выполнены тестовые эксперименты с фантомными силиконовыми образцами с «обычным» упругим поведением, описываемым классической теорией упругости. Как известно, для согнутой пластины с радиусом изгиба R (соответствующим середине ее толщины), латеральная деформация имеет вид $s_x = \partial u_x / \partial x = z/R$, где координата z, ортогональная плоскости пластины, отсчитывается от нейтральной срединной линии. С учетом того, что коэффициент Пуассона хряща близок к 0.5, ортогональная компонента деформации $s_z = -0.5 \cdot s_x$. Для ориентации зондирующего пучка ортогонально плоскости платны, как на рис. 3.13, визуализируемое с помощью ОКТ распределение деформации по толщине пластины приведено на рисунке 3.15 и демонстрирует ожидаемую почти идеально линейную зависимость от дистанции z до нейтральной линии.



Рисунок 3.15 — Контрольный эксперимент по визуализации деформации при разгибании фантомного силиконового слоя. Панель (а) – структурное ОКТ изображение; панель (б) - карта кумулятивной деформации, соответствующая 15-секундному наблюдению и демонстрирующая деформации противоположного знака выше и ниже нейтральной линии; панель (в) показывает временную эволюцию профиля кумулятивной деформации вдоль пунктирных линий на панелях (а) и (б) с шагом по времени в 1 секунду между последующими кривыми. Профили деформации на панели (в) изначально почти идеально линейны как функция расстояния от нейтральной линии. Для более значительных кумулятивных деформаций постепенное отклонение от линейной зависимости связанно с влиянием адгезии между калибровочных слоем силикона и контактирующим окном ОКТ сверху и опорной поверхностью снизу. Прилипание на границах раздела препятствует свободному движению силикона, что замедляет накопление деформации.

Следующий рис. 3.16 показывает уже результаты ОКЭ-визуализации реальных хрящевых образцов, один из которых демонстрирует поведение образца в случае недостаточного уровня релаксации и недопустимо-высокой деформации разгибания необлученного образца (рис. 3.16 (г-1)) и облучённого образца с достаточно низким уровнем внутренних напряжений и, соответственно, низким уровнем деформаций, что говорит о достаточно высокой стабильности образца (рис. 3.16(г-2)).



Рисунок 3.16 — Эволюция межкадровых деформаций во время разгибания хряща из положения полукруга (как показано на рис. 3.14) с ОКТ мониторингом в течение 1-минутного интервала, начинающегося сразу после извлечения образца. Панели с индексом «1» соответствуют необлучённому образцу, а с индексом «2» - тому же образцу после полного разгибания, зафиксированному на металлическом кольце, затем облучённому нагревательным лазером для снятия внутренних напряжений и повторно просканированному ОКТ. Панели (а) показывают структурные ОКТ изображения; панели (б) - кумулятивная деформация к концу 1-минутного наблюдения; панели (в) показывают изменение во времени (с шагом по времени 4 секунды между последующими кривыми) для профиля совокупной деформации вдоль пунктирных линий, показанных на панелях (а) и (б); панели (г) показывают аналогичную эволюцию профилей кумулятивной деформации как функции глубины и времени.

Визуализация медленных деформаций, как вызванных релаксацией внутренних напряжений, так и другой природы (связанных с высыханием, осмотическими процессами и т.п.) имеет свою специфику по сравнению с визуализацией более быстрых деформаций. Специальное исследование [79] по оптимизации визуализации медленной деформации показало, что, несколько парадоксальным образом, повышение качества обнаружения и визуализации деформаций могут быть получены за счет разрежения полученной последовательности ОКТ-сканов. В качестве дополнительного плюса, важного именно для исследования медленных процессов, обычно требующих достаточно долговременного мониторинга, такое разрежение записей позволяет значительно снизить объемы регистрируемых данных (которые при отсутствии разрежения могут достигать неприемлемого для практики размера порядка десятков ГБ) и одновременно повысить уровень полезного сигнала.

В дополнение к показанным выше примерам визуализации деформаций релаксационного типа в качестве демонстрации других возможностей ОКЭ-визуализации медленных деформаций на рисунке 3.17 показан пример трехмерной карты с пространственным разрешением медленно меняющейся деформации в хрящевом образце, поверхность которого высыхает и сжимается,



тогда как локализованная область (предварительно локально сжатая) демонстрирует расширение.

Рисунок 3.17 — Примеры визуализации при медленной деформации хрящевых образцов. Панель (а) представляет собой пример 3D-карты деформаций хряща (синий цвет - сжатие), вызванных высыханием вблизи поверхности и локальным расширением (красное пятно- расширение) из-за релаксации внутренних напряжений, вызванных предварительным локальным механическим сжатием; панель (б) представляет собой эволюцию во времени профиля глубины осмотических знакопеременных деформаций, развивающихся в хрящевом образце, пропитанном очищающим агентом – глицерином.

Анализируя серию таких трехмерных визуализаций релаксационных деформаций, можно восстановить трехмерные карты, показывающие пространственное распределение времен релаксации [116]. Другие применения мониторинга медленной деформации могут включать исследование различных осмотических процессов (таких как гидратация / дегидратация тканей, представляющих интерес в связи с использованием имплантатов роговицы [116], деформации осмотического происхождения, сопутствующие оптическому просветлению биотканей различными просветляющими агентами и т.д.). На рисунке 3.17 (б) приведен пример такой визуализации профиля осмотических деформаций в объеме хрящевого образца при его оптическом просветлении с использованием раствора глицерина [10]. Метод ОКЭ, таким образом, отрывает недоступные ранее возможности для детального исследования сложной пространственно-временной динамики осмотически индуцированных деформаций в ткани. Более подробно визуализация осмотических деформаций рассмотрена в следующем параграфе.

3.4. Демонстрация возможностей использования ОКТ-картирования деформаций для визуализации осмотических деформаций в хрящевых образцах

Важный класс процессов, сопровождающихся механическими деформациями, связан с различными осмотическими явлениями. В частности, деформации осмотического происхождения развиваются в биологических тканях, подвергнутых применению неизотонических растворов. Среди веществ, проявляющих осмотическую активность, большое внимание в науке уделяется так

называемым просветляющим агентам. Воздействие на биоткани такими агентами широко используется (как in vitro, так и в естественных условиях) для уменьшения оптического рассеяния в ткани и, таким образом, для увеличения глубины проникновения оптических волн, используемых в различных методах оптической диагностики (оптическая микроскопия, ОКТ, генерация гармоник и т.д.) [117]. Вещества, используемые в качестве просветляющих агентов, могут быть либо изотоническими, либо неизотоническими по сравнению с естественными жидкостями, насыщающими ткани. Одни и те же химические агенты (такие как глицерин), в зависимости от концентрации, могут демонстрировать сильно отличающиеся осмотические свойства. Пространственно разрешенная количественная характеристика деформаций, вызванных осмотическим воздействием, является сложной задачей, в контексте которой применение недавно разработанных методов картирования деформаций на основе ОКТ открывает богатые, ранее недоступные возможности.

Нами была изучена динамика осмотически индуцированной деформации с использованием бесконтактной ОКЭ-визуализации деформаций (см. разделы 1.2, 1.3). ОКТ установка работала на центральной длине волны 1300 нм (ширина спектра ~ 90 нм), скорости получения спектральных полос 20 кГц и скорости получения Б-сканов 20 Гц, охватывающих 4 мм в поперечном направлении и 2 мм в глубину (в воздухе). Образцы помещали в уравновешивающую ванну (рис. 3.18), и в начале сканирования на поверхность среза реберного хряща свиньи выливали слой раствора толщиной ~1 мм. Далее снималась серия комплексных ОКТ-сканов ткани, испытывающей осмотические деформации. При постобработке, т.к. деформации достаточно медленные, для повышения уровня сигнала применялось описанное в п.1.3 разрежение кадров, как обсуждалось в [79,80] (межкадровый интервал времени был увеличен до 1 секунды).

В качестве осмотических агентов использовали физиологический раствор NaCl (в качестве изотонического агента для контрольных экспериментов), а также водные растворы глицерина различных концентраций и коммерчески доступный контрастный агент Omnipaque-300 (300 мг/мл йода, 39,2% раствор иогексола по массе) компании GE Healthcare (Корк, Ирландия). Результаты представлены в виде карт кумулятивной деформации *S*, представляющих результаты суммирования межкадровых деформаций в зависимости от времени наблюдения.



Рисунок 3.18 — Экспериментальная установка для мониторинга осмотически индуцированных деформаций.

С помощью ОКЭ были изучены основные осмотические эффекты (рисунок 3.19). На рисунке на начальных этапах проникновения агента в ткань видна тонкая область (~ 60-80 мкм) приповерхностной усадки (слой интенсивного синего цвета на картах кумулятивной деформации) непосредственно под поверхностью образца при использовании раствора глицерина различной концентрации и, соответственно, различной (умеренно гипертонической) осмотической активностью (рис. 3.19(a-2,6-2, в-2)). Такой эффект можно объяснить диффузией макромолекул приповерхностной усадки была определена как 0,05 \pm 0,02 для изотонического (рис. 3.19(a)) и гипотонического (рис. 3.19(б)) физиологического раствора и 0,06 \pm 0,02 для 7% слабого гипертонического раствора глицерина (рис. 3.19(в)).

Были также исследованы осмотические эффекты для слоев ткани, расположенных глубже вышеупомянутого тонкого слоя подповерхностной усадки на рисунке 3.19 (а-2-в–2). На рисунке $3.19(\Gamma-2)$ при концентрации глицерина ~ 30% амплитуда осмотического расширения подповерхностного слоя (показана красным цветом) достигает 0,1-0,15 и полностью маскирует гораздо более слабый эффект усадки подповерхностного слоя, видимый на рисунке 3.19 (а-2–в-2). Отметим, что 0,9% водный раствор NaCl (физиологический раствор), который используется в медицине в качестве изотонического раствора для поддержания гидратации биотканей, выступал в качестве эталонного вещества для визуализации динамики деформации в хряще в почти изотонических условиях (рис. 3.19(а)). Согласно изображению кумулятивной деформации (рисунок 3.19(а-2)) и профилю глубины деформации на рисунке 3.19 (а-3) максимальная накопленная деформация за 300 с пребывания хряща в физиологическом растворе не превышает $3 \cdot 10^{-4}$. При этом распределение деформации на глубинах меньше 300 мкм отрицательно, но для более глубоких слоев знак меняется на положительный, сохраняя малую величину. Все измерения проводились не менее 3-4 раз, и продемонстрировали хорошую повторяемость результатов. Просветляющие действие используемых веществ, особенно высококонцентрированных растворов глицерина, постепенно снижало уровень ОКТ-сигнала, поэтому анализ глубины был ограничен 600-900 мкм ниже поверхности образца. Динамика осмотической деформации в настоящем исследовании соответствует неравновесному режиму, в котором наблюдаемая деформация сопровождается потоками между раствором и тканью и внутри образца.



Рисунок 3.19 — Влияние растворов различной осмолярности на кинетику и амплитуду деформации внутри образцов хряща. Номера строк от 1 до 3 соответствуют следующим изображениям: панели (1) структурные ОКТ-сканы; панели (2) карты кумулятивной деформации, панели (3) соответствующие распределения кумулятивной деформации вдоль пунктирных линий на изображениях в строке (2). Столбцы из (а–г) соответствуют: (а) физиологическому раствору (0,9% NaCl, 300 мОсм), нанесенному на образцы хряща в нативном состоянии, время наблюдения составляло 300 с; (б) физиологический раствор (0,9% NaCl, 300 мОсм), нанесенный на образцы хряща, предварительно пропитанного 50%-ным глицерином, время наблюдения 600 с; (г) 35%-ный сильно гипертонический водный раствор глицерина, время наблюдения наблюдение 600 с. Профили кумулятивной деформации от глубины были построены вдоль пунктирных красных линий с использованием усреднения по области, отмеченной чёрным прямоугольником, для каждого профиля.

Наблюдаемый на рис. 3.19(б-3) эффект слабой осевой усадки подповерхностных слоев в пределах 300-400 мкм, вероятно, вызван дисбалансом общей концентрации полимерных молекул в хряще и растворе: когда образец с определенной концентрацией полимера помещают в раствор без полимера, происходит диффузия полимеров из хряща в раствор, чтобы выровнять их

концентрации [118,119]. Диффузия макромолекул из подповерхностного слоя хряща происходит легче, чем из основной массы, где они удерживаются межмолекулярными связями. Следовательно, только тонкий подповерхностный слой интенсивной усадки в разбавленных растворах наблюдается в непосредственной близости от поверхности, где структура ткани повреждена разрезом (см. узкий синий приповерхностный слой на рисунке 3.19 (а-2, б-2, в-2)). Диффузия молекул глицерина происходит медленнее, чем у воды. Кроме того, известно, что проницаемость тканей для глицерина на три порядка ниже, чем для воды [120]. Таким образом, общая амплитуда отрицательной деформации за 600 с невелика, с экстремальным значением около -1,6 10⁻³ (рис. 3.19(б-2)). Однако такая вызванная гипотонией раствора глицерина усадка в 5 раз интенсивнее, чем эффект усадки, наблюдаемый при замачивании в солевом растворе.

На рисунке 3.19(в,г) показаны примеры влияния раствора глицерина на динамику деформации в хряще при двух существенно разных концентрациях глицерина. Глицерин известен как один из наиболее распространенных просветляющих биоткани агентов для различных применений [117,121]. Механизм его действия хорошо изучен для кожи и других коллагеновых тканей [120,122,123]. При высоких концентрациях глицерин приводит к сильному обезвоживанию, усадке и уплотнению коллагена [123]. Для просветления реберного хряща в [124] использовали глицерин, демонстрирующий заметный эффект усадки ткани, погружённой в него на полтора часа.

В представленном исследовании поле деформации, вызванное глицерином, в реберном хряще изучалось в течение первых 10 минут погружения. С точки зрения неравновесного развития деформации сразу после нанесения очищающих растворов наблюдаются два основных эффекта. Для разбавленных растворов глицерина (см. рис. 3.19 (в1–в3)) ярко проявляется эффект расширения по всей основной части ткани. Напротив, при высоких концентрациях глицерина наблюдается эффект деформации с переменным знаком (рис. 3.19 (г1–г3)). Нанесение 35% (мас./мас.) глицерина приводит к появлению положительной деформации (разбуханию) ткани с величиной ~0,2 на малых глубинах, а для более глубоких слоев происходит усадка с величиной отрицательной деформации ~0,1 (см. рисунок 3.19 (г-2, г-3)). По-видимому, одновременно наблюдаемое сильное сокращение объема приповерхностных слоев вызвано обезвоживанием, а расширение ткани глубже под поверхностью происходит из-за гиперосмотического эффекта высококонцентрированного глицерина.

Рис. 3.20 демонстрирует, что для возрастающей концентрации глицерина от 7 до 35% максимум наблюдаемого на небольших глубинах разбухания ткани увеличивается на два порядка с ~ 0.002 до 0.2. При этом величина усадки ткани на большей глубине (отрицательная максимальная деформация) из-за эффекта обезвоживания также сильно варьируется от -0,006 для 25% глицерина до -0,14 для 35%. Чистый 100% раствор глицерина демонстрирует сильное усиление эффекта обезвоживания: отрицательная кумулятивная деформация для 100% глицерина

составляет -0.36, что в ~ 2.5 раза больше, чем для 35% раствора. Разница в величине положительной деформации увеличивается медленнее, всего в два раза с 0.20 при концентрации 35% до ~0.4 при концентрации глицерина 100%.



Рисунок 3.20 — Кумулятивные деформации в хряще, вызванные различными концентрациями (7, 35, 25 и 100%) глицерина и омнипаком за 600 с накопления деформации.

Глицерин является сильным гиперосмотическим агентом, который в высоких концентрациях может влиять не только на жизнеспособность клеток ткани, но даже на целостность коллагеновой структуры. Однако просветляющая способность низких концентраций глицерина обычно недостаточна [120], поэтому важно исследовать агенты с более высокими концентрациями, но дающие умеренно сильные осмотические эффектами.

В качестве примера на рисунке 3.20 показано влияние ~40% водного раствора иогексола $(M_w = 821 \text{ г/моль})$ (Омнипак) на хрящ. Знакопеременная деформация, показанная на рисунке 3.20(б), качественно аналогична случаю растворов глицерина с концентрациями 35% и 100%. Однако абсолютное значение деформации на рисунке 3.20(в) не превышает 0,15. Эффект обезвоживания в случае Омнипака существенно менее выражен, так что величина минимума деформации после 600 с составляет -0,06 (рисунки 3.20д) и расположена сравнительно близко к поверхности: оба экстремальных значения лежат в пределах ~ 300 мкм под поверхностью. Зона обезвоживания с отрицательным осмотическим напряжением распространяется на глубин у ~500 мкм (рис. 3.21в).



Рисунок 3.21 — Пример визуализации кумулятивных деформаций осмотической природы, вызванных воздействием на образец хрящевой ткани просветляющего агента «Омнипак» в течение 600 секунд: (а) структурное ОКТ изображение, (б) карта кумулятивной деформации, (в) профиль кумулятивной деформации в глубину вдоль пунктирной линии на (б).

В настоящей работе также показано, что деформации наибольшей величины наблюдаются течение первых нескольких минут диффузии глицерина, и правильное понимание этого эффекта важно с точки зрения общей эффективности и биологической безопасности процедур просветления, причём в некоторых случаях даже может быть нарушена целостность ткани. В этом контексте следует различать средние деформации макроскопического объема ткани, подвергшегося оптическому просветлению, и локальные пространственно сильно неоднородные деформации, вызванные высокими градиентами концентрации агентов просветления. Первый процесс включает изменение макроскопических параметров ткани, таких как толщина и длина, или объемные модули [124,125,126,127,128,129]. Например, хрящевая ткань демонстрирует значительную усадку после ~ 1,5 ч применения очищающих растворов глицерина и глюкозы [124]. Знание такого длительного кумулятивного воздействия просветляющих агентов на структуру ткани имеет первостепенное значение для оценки его свойств на заключительной стадии просветления, которая близка к равновесному состоянию с точки зрения диффузии. Однако в первые минуты диффузии просветляющих агентов распределение концентраций воды и агента сильно неоднородно [130,131]. Кроме того, возникают так называемые диффузионные фронты, которые могут сопровождаться интенсивным напряжением и резко изменять механику ткани.

Эти неравновесные эффекты до настоящего времени недостаточно изучены из-за сложности теоретического анализа и отсутствия физических методов, позволяющих их непосредственно наблюдать. Понимание таких процессов важно, поскольку осмотические напряжения могут влиять на метаболическую активность клеток [132], в крайних случаях приводя к гибели клеток [133].

В связи с этим ОКЭ метод прямого и неразрушающего мониторинга переходных механических деформаций, продемонстрированный в настоящей работе, может внести значительный вклад в оценку конкретных корреляций между длительностью и интенсивностью

осмотически индуцированных деформаций и биохимической реакцией ткани. Следует отметить, что ОКЭ метод не ограничивается хрящевыми тканями, и сфера его применения может быть значительно расширена до других тканей и органов, где доступно поверхностное сканирование. Следовательно, мониторинг влияния определенной концентрации просветляющих агентов с временным разрешением на эволюцию деформации в ткани в первые минуты диффузии может предоставить дополнительные важные данные о механизмах просветления и выявить возможные побочные эффекты введения просветляющих агентов.

Стоит также отметить, что фиксируемое ОКТ-системой изменение фазы зависит не только от механических перемещений рассеивателей, но потенциально может зависеть от изменений показателя преломления. В этом контексте важно понимать, в какой степени изменения показателя преломления на первых этапах процесса диффузии могут повлиять на видимую эволюцию деформации на фазочувствительных ОКЭ изображениях. Наиболее резкое изменение коэффициента преломления n может произойти на границе жидкости и высушенного твердого вещества (белка): с перепадом n от 1.330 до 1.59 [134]. Это составляет примерно 20% от значения n. Однако экспериментальные условия настоящего исследования исключают потенциальное полное обезвоживание ткани, поскольку она всегда насыщена жидкостями различного содержания: физиологическим раствором, растворами глицерина и воды или Омнипаком. Кроме того, концентрации глицерина в воде менее 30% не вызывают интенсивной дегидратации коллагеновых волокон [120].

Коэффициент преломления раствора глицерина с постепенным увеличением доли глицерина в воде (от 0 до 99%) изменяется с 1.33 до 1.47 [135]. Таким образом, наиболее резкое изменение n, которое можно ожидать вблизи границы раздела с чистым глицерином составляет \sim 10%. Однако это может быть справедливо только для чрезвычайно высокой концентрации глицерина около 100% (мас./мас.) (рисунок 3.20(г)), тогда как в других случаях несоответствие должно быть значительно ниже. Например, показатель преломления для 35% глицерина соотношение коэффициент преломления составляет 1.38 (менее 4% отличия от воды), тогда так наблюдаемые деформации при проникновении в хрящ глицерина 35% концентриации достигают \sim 40% (т.е. на порядок выше по сравнению с возможными относительными изменениями показателя преломления). Таким образом возможные поправки на изменения коэффициента преломления не должны быть очень значительными. При изменении концентрации глицерина от 10 до 100% значение *n* возрастает на \sim 10%, тогда как наблюдаемая положительная максимальная кумулятивная деформация хряща увеличивается в 160 раз при увеличении концентрации глицерина с 7 до 100% (рис. 3.20).

В контексте дальнейших исследований описанная методика, основанная на ОКЭ, открывает широкие возможности, недоступные ранее использовавшимся экспериментальным методам.

3.5. Заключение

В данной главе был представлен ряд демонстраций эффективного применения развитого метода визуализации распределения деформаций на основе анализа фазочувствительных ОКТ сканов. Так с помощью ОКЭ были впервые визуализированы распределения термомеханических деформаций в таких коллагеновых тканях, как роговица глаза и хрящевые ткани, подвергаемые умеренному нагреву облучением ИК лазера. При этом было возможно детально исследовать пространственно-временные характеристики таких деформаций при импульсно-периодическом облучении. Характерные времена изменчивости таких визуализируемых деформаций составляли десятки миллисекунд, а пространственное разрешение получаемых изображений составляло 40-50 микрон. Полученные результаты позволили подтвердить ожидавшийся эффект сильного влияния термо-упругих напряжений на величину лазерно-индуцированных деформаций. Визуализация впервые позволила непосредственно продемонстрировать, что максимальные деформаций локализуются не в области максимума температуры, а смещаются на склоны ее распределения, где максимальны термо-упругие деформации.

Использование ОКЭ для совместного оценивания необратимых лазерно-индуцированных деформаций и сопутствующих изменений модуля Юнга в коллагеновых тканях (роговице глаза и образцах хряща) открыло ранее недоступные возможности для оценивания микроструктурных изменений, происходящих в тканях при облучении инфракрасным лазерным пучком. Было также продемонстрировано, что способность ОКЭ с высокой чувствительностью обнаруживать медленные деформации может быть использована как объективный метод оценки стабильности формы лазерно-формируемых хрящевых имплантов, у которых из-за недостаточной релаксации имеются остаточные напряжения, медленно меняющие приданную импланту форму на интервалах порядка десятков минут. ОКЭ продемонстрировала способность обнаруживать и количественно оценивать такие медленные деформации на приемлемых для интраоперационного использования интервалах порядка минуты. На основе проведенных экспериментов были сформулированы критерии достаточной стабильности таких имплантов на основе ОКЭоценивания скорости медленных релаксационных изменений их формы.

Были продемонстрированы возможности использования ОКЭ для исследования деформаций осмотического происхождения в биотканях. Такие исследования представляют большой интерес в связи с использованием оптических просветляющих агентов, которые могут быть осмотически активными и вызывать значительные деформации биотканей. ОКЭ позволила исследовать не только усредненные по объему образцов осмотические деформации (используя прямые измерения их размеров), но и визуализировать сложную пространственно-временную динамику знакопеременных осмотических деформаций, что было недоступно ранее известным методам. Глава 4. Компрессионная ОКЭ как основа метода квазистатической эластоспектроскопии и его применение для дифференцирования подтипов опухолевых тканей, контроля чистоты границы резекции и *in vivo* мониторинга морфологических изменений в модельных опухолях

4.1 Определение «спектров жесткости» и характерных диапазонов упругого модуля для различных морфологических компонент рака для выполнимой *in vivo* морфологической сегментации ОКЭ-сканов

На данный момент "золотым стандартом" для оценки морфологических изменений является гистология. Однако этот метод является инвазивным, весьма трудоемким и времязатратным, требующим многоэтапное приготовление гистологических препаратов (включая окрашивание), так и последующую интерпретацию гистологических изображений. Гистологическая оценка изображения и сегментация выполняется гистопатологом, что делает результаты зависимыми от человеческого фактора. Инвазивный/деструктивный характер гистологических исследований, в принципе, делает невозможным проведение неинвазивного мониторинга изменений тканей in vivo. Кроме того, взятие биопсии может не полностью отражать морфологический состав опухоли из-за ее неоднородности.

В связи с этим значительное внимание в последние годы уделяется разработке альтернативных быстрых и неинвазивных способов получения информации о биологических тканях, сравнимой по информативности с гистологическим исследованием. В этом контексте были предложены различные оптические методы, в частности, на основе изменений свойств автофлуоресценции для обнаружения опухолевых клеток [136,137] или генерации высших гармоник, которые могут быть использованы для обнаружения присутствия коллагена и эластина [138]. Перспективным направлением является оптическая когерентная томография. Например, поляризационно-чувствительные ОКТ-изображения могут быть использованы для обнаружения могут быть использованы для обнаружения коллагеновых компонентов или для дифференциации опухолевых/неопухолевых областей во время нейрохирургии [139]. Для аналогичных целей можно использовать многопараметрический анализ особенностей спекловой структуры ОКТ-скана (например, статистические свойства спеклов, особенности поляризации и затухания сигнала и т.д.) [140]).

Появление в последние годы эластографических методов с высоким разрешением (прежде всего ОКЭ) продемонстрировало, что опухоли сами по себе довольно неоднородны и многокомпонентны с точки зрения их упругих свойств [19,45,141, 142]. Это наблюдение, хорошо

согласуется с гистологическими выводами о том, что структура опухоли включает различные морфологические компоненты. Пропорции этих компонент сильно зависят от молекулярнобиологического типа опухоли, стадии развития опухоли, применяемых методов лечения и т.д.

ОКЭ позволяет разрешать неоднородности жесткости на субмиллиметровых масштабах, как для естественных опухолей человека (например, рака молочной железы) [19,45], так и для модельных опухолей [142]. Для демонстрации возможностей метода ОКЭ ниже представлены экспериментальных исследований противоопухолевую результаты ответа опухоли на химиотерапию *in vivo*. Выбор химиотерапии основан на том факте, что этот вид противоопухолевой терапии остается одним из наиболее широко используемых методов лечения онкологии [143]. Контроль эффективности химиотерапии важен для прогноза заболевания, выбора тактики лечения (выбора препаратов) и возможной рекомендации хирургического вмешательства [144,145]. Оценка эффективности химиотерапии обычно основана на определении размеров опухоли, измеренных с помощью МРТ или компьютерной томографии. Однако эти критерии не отражают другие гистологические/функциональные изменения, которые могут произойти во время эволюции опухоли.

Описываемые в данном разделе процедуры на основе ОКЭ можно назвать "эластоспектроскопией" [19] по аналогии с "масс-спектроскопией" [47]. Суть эласто-спектроскопии заключается в построении "спектров жёсткости" – гистограмм, показывающих процентное соотношение пикселей с различной жесткостью в пределах выбранной области интереса (ROI), с последующим установлением характерных диапазонов параметров упругости для различных морфологических компонент опухолевых тканей. Ключевую роль при этом играют представленные в Главах 1 и 2 процедуры получения пространственно-разрешенных зависимостей «напряжение-деформация» и возможность оценивания модуля Юнга при «стандартизованной» выбираемой величине напряжения. Основные этапы такого ОКЭисследования модельной опухоли, прививаемой на ухо мыши, показаны на рис. 4.1.

Исследование проводилось в несколько этапов. Химиотерапия была начата на 2 день роста опухоли (0 день исследования). ОКЭ обследования проводились на 5, 7 и 9-й дни исследования. Резекцию опухоли для гистологической оценки проводили в те же моменты времени у групп из трех животных, чтобы сопоставить с ОКЭ результатами, полученными *in vivo*.



Рисунок 4.1 — Демонстрация этапов выполнения ОКЭ и гистологического исследования модельной опухоли, привитой на ухо мыши. Панель (а) — фотография сканирования ОКТ-зондом уха мыши при небольшом поджатии, панель (б) – демонстрация гистологического среза с указанием на фотографии (чёрный пунктир), где он был сделан, панель (в) — структурное ОКТ изображение, панель (г) – пример разности фаз из полученной записи между соседними кадрами, панель (д) – пример межкадровой деформации, полученной векторным методом, панель (е) – пример кумулятивной деформации накопленной к концу записи из нескольких десятков кадров, панель (ж) – жёсткость, построенная при стандартизированном уровне напряжения 4 кПа, панель (з) – пример нелинейной зависимость жёсткости от деформации, панель (и) – спектр жёсткости построенный по прямоугольной области интереса, отмеченной белым прямоугольником в биоткани на эластограмме (ж).

Полученные спектры жёсткости зон опухоли можно использовать для выделения характерных диапазонов жесткости для основных морфологических компонент биоткани, путём детального сопоставления гистологии с ОКЭ эластограммами, ранее полученными *in vivo* в тех же местах. Для обсуждаемых модельных опухолей можно выделить четыре основных морфологических компонента, а именно, (I) скопления жизнеспособных опухолевых клеток, (II) дистрофические опухолевые клетки, (III) отек и (IV) некроз. Процентное содержание этих компонент имеет ключевое значение с точки зрения оценки состояния опухоли и ее реакции на применяемую химиотерапию. Разрушение опухолевых клеток с помощью химиотерапии приводит в основном к отёку и некрозу [146]. Опухоли также могут содержать скопления дистрофических клеток, которые позже погибнут.

В обсуждаемом разделе исследований [147] была изучена способность ОКЭ визуализировать и количественно оценивать морфологические изменения в опухолях при воздействии двух противоопухолевых химиотерапевтических агентов с существенно различными механизмами противоопухолевого действия - антиангиогенного бевацизумаба [148] и цисплатина с прямым цитотоксическим действием [149].

Ключевым моментом для выяснения различий компонент опухолевой ткани по упругим свойствам было изучение подобластей, соответствующих наиболее чистым областям вышеупомянутых четырех основных морфологических компонент ткани на гистологических изображениях и соответствующих им зон на ОКЭ эластограммах. В целом было проведено 80 целевых сравнений по 20 на каждый из 4-х типов морфологических компонент (см. рис. 4.2).

В результате сравнений был получен усреднённый "спектр жесткости" и определены характерные диапазоны жёсткости для каждой из морфологических компонент опухоли (рисунок 4.2(в)). Как видно из рисунка 4.2 характерные спектры жёсткости четырёх морфологических компонент имеют вид довольно хорошо выраженных пиков с небольшими перекрытиями, порядка 10% от площади. Результат определения характерных значений модуля упругости имеет большое сходство с оптическими спектрами, что объясняет, почему такую процедуру нами было предложено называть «эласто-спектроскопией».

Для дальнейшей сегментации компонент ткани в качестве границ характерных диапазонов жесткости были взяты точки пересечения аппроксимирующих колоколообразных функций. Было определено, что некроз опухолевой ткани характеризуется наименьшими значениями жесткости от 101 кПа до 230 кПа (среднее значение жесткости 161 ± 18 кПа); отек опухолевой ткани имеет значения жесткости от 231 кПа до 410 кПа (среднее значение жесткости 335 ± 41 кПа); необратимая дистрофия опухолевых клеток имеет диапазон жесткости от 411 кПа до 620 кПа (средняя жесткость 524 ± 59 кПа). Жизнеспособная опухолевая ткань имеет наиболее жесткую структуру и характеризуется самыми высокими значениями жесткости, более 621 кПа, со средним значением жесткости 948 ± 164 кПа (рис. $4.2(\Gamma)$). Напряжение, при котором были получены значения модуля Юнга, составляло 4кПа.



Рисунок 4.2 — Определение характерных диапазонов жесткости для морфологических составляющих опухолевой ткани с последующим использованием при сегментации. Панель (а) – увеличенные гистологические изображения для четырех основных морфологических составляющих, выделенных на гистологических изображениях опытным гистопатологом. Панель (б) – сопоставление ОКЭ-карт жесткости, полученных *in vivo* на 7-й день после начала химиотерапии, и соответствующих гистологических изображений, на которых черные кривые показывают границы зон опухоли, идентифицированных гистопатологом, независимо от результатов ОКЭ (слепой тест). Панель (в) – усреднённый "спектр жесткости" морфологических компонент, в котором колоколообразные функции соответствуют средним распределениям пикселей по жесткости для основных морфологических составляющих. Панель (г) – цветовая шкала, показывающая границы диапазонов жесткости и их цветовую палитру, используемую для последующей сегментации ОКЭ изображений, панель (д) – сегментированные ОКЭ изображения, полученные из карт жесткости (б) с использованием цветовой палитры и характерных диапазонов жесткости, показанных на панели (г). Масштабный отрезок для всех изображений – 100 мкм.

Выделенные диапазоны жёсткости для каждой компоненты опухоли позволяют автоматически выполнять морфологическую ОКЭ сегментацию, которую гораздо легче анализировать (рис. 4.2(д)). Даже при большом увеличении, позволяющем видеть отдельные клетки на гистологическом срезе, гистопатолог не всегда может обнаружить дистрофические клетки (обозначенные буквой "D" на рис. 4.2) среди жизнеспособных опухолевых клеток (обозначенных как "V") из-за их мозаичного распределения. Поэтому на гистологических изображениях отмечается общая зона V + D. На сегментированных ОКЭ изображениях границы этих зон хорошо видны.

В качестве примера чувствительности ОКЭ методики можно продемонстрировать срезы и

сканы контрольной группы, где среди больших полей жизнеспособных опухолевых клеток гистопатолог первоначально не заметил небольшие скопления дистрофических клеток. Однако на сегментированном ОКЭ изображении отчетливо видны зоны дистрофических клеток. После более тщательного изучения гистологического среза этой зоны опухоли были идентифицированы, как показано на увеличенных фрагментах гистологического среза на рис. 4.3(б) и 4.3(в).



Рисунок 4.3 — Демонстрация чувствительности эласто-спектроскопии на основе детального сопоставления гистологии и сегментированного ОКЭ изображения опухоли контрольной группы на 7-й день роста опухоли. Панель (а) – сегментированное гистологическое изображение с пометками (V – жизнеспособные раковые клетки, D+E –дистрофичные клетки с отёком, идентифицированных в программном обеспечении QuPath (v0.1.2). Панели (б-в) – увеличенная гистология участков опухоли, демонстрирующая высокую чувствительность ОКЭ метода в обнаружении небольших скоплений дистрофичных клеток, которые трудно выявить во время обычного гистологического исследования. Панель (г) – сегментированное ОКЭ изображение, полученное по ОКЭ эластограмме (д).

Минимальный размер обнаруженной области на рис. 4.3(в) составлял всего 10 пикселей. В этом контексте можно отметить, что по сравнению с исходным разрешением на структурных (~10-15 распределение деформации ОКТ-изображениях мкм) на ОКЭ изображениях пространственно сглажено по окну, в пределах которого оцениваются межкадровые фазовые градиенты (и, следовательно, деформации). Таким образом, ожидаемое разрешение на ОКЭ изображениях составляет около 1/2 от размера окна, соответствующего ~ 40-50 мкм для ОКТскана, используемого в этом исследовании. Однако при получении карт деформации/жесткости центр окна обработки сдвигается с шагом в один пиксель (т.е. ближе к масштабу разрешения на начальных структурных изображениях). По этой причине неоднородности жесткости, даже размер окна обработки, могут быть визуализированы несколько меньшие, чем на сегментированных ОКЭ изображениях, если такая небольшая область демонстрирует достаточно высокую контрастность жесткости по сравнению с окружающей тканью.

Результаты выполненного сравнения сегментированных ОКЭ изображений и гистологии подтверждают, что ОКЭ является очень высокочувствительным методом и позволяет визуализировать такие тонкие изменения в морфологии ткани, которые трудно выделить на гистологии. Обнаруженные на ОКЭ изображениях локальные изменения биомеханических
свойств опухоли были хорошо видны даже раньше, чем такие изменения явно проявлялись на гистологических изображениях.

Можно еще раз подчеркнуть, если анализ гистологических изображений, выполняемый вручную, начинается с микроскопического рассмотрения отдельных клеток (на микронном и более высоком разрешении), последующая сегментация этих гистологических изображений выделяет уже макроскопические подобласти с детализацией десятки микрон (а часто и ниже). Следовательно, результаты традиционной сегментации гистологических изображений по детализации сопоставимы с результатами автоматизированной морфологической сегментации на основе ОКЭ.

Для дальнейшего сопоставления ОКЭ и гистологии важно подчеркнуть, что различия между формами сегментированного ОКЭ изображения и сегментированной гистологии имеют место из-за нескольких неустранимых факторов: (1) in vivo ОКЭ исследование проводится с приложением компрессии, деформирующей ткань, (2) подготовка гистологических образцов с химической обработки несколькими этапами (фиксации формалином, дегидратации, парафинирования и окрашивания) дополнительно приводит к искажению их формы, (3) "одинаковые" положения при ОКЭ сканирований и гистологических срезов (отмечаемые гистологическими чернилами) не могут идеально совпадать. При этом даже соседние гистологические срезы, взятые на расстоянии всего нескольких десятков микрометров, могут отличаться друг от друга, особенно в областях мелкомасштабных структур.

По указанным причинам для количественного сопоставления результатов ОКЭсегментации и традиционной сегментации гистологических изображений было предложено сравнивать не детали формы сегментированных зон, а относительные площади выявленных морфологических компонент опухоли, выраженные в процентах от всей площади изображения.

Такого рода количественное сопоставление результатов сегментации на основе традиционной гистологии и ОКЭ было проведено для контрольной группы мышей, а также групп, пролеченных бевацизумабом и цисплатином. На рис. 4.4 показаны сравниваемые гистологические изображения и ОКЭ сканы, которые еще до выполнения сегментации качественно уже демонстрируют неплохое согласование.



Рисунок 4.4 — Характерные примеры гистологических (а,в,д) и ОКЭ (б,г,е) изображений, демонстрирующих динамику роста опухоли в контрольной группе(1) и группах, подверженных химиотерапии Бевацизумабом(2) и Цисплатином(3), на 5,7 и 9 дни лечения. Шкала масштаба для всех изображений = 100 мкм.

Далее, на рис. 4.5 показано сравнение относительных площадей сегментированных зон опухоли, полученных с помощью ОКЭ и из гистологии. Столбчатые графы рис. 4.5(а) хорошо демонстрируют, что для всех четырех основных компонент опухолевой ткани наблюдается высокая степень совпадения относительных площадей, полученных двумя способами. Была также высокая корреляция между площадью каждой зоны опухоли, выделенной выявлена гистопатологом обычным способом на гистологическом срезе, и результатами сегментации ОКЭизображений. Для всех четырех обсуждаемых зон опухоли (жизнеспособная опухолевая ткань, дистрофические опухолевые клетки, отек и некроз опухолевой ткани) коэффициент корреляции Пирсона между областями, занимаемыми ими на гистологических изображениях, И сегментированным изображением ОКЭ очень высок, r=0.94-0.98 (см. рис. 4.5(б)).



Рисунок 4.5 — Количественное сравнение результатов гистологической сегментации и сегментации на основе ОКЭ-спектроскопии. Панель (а) – процентное сравнение площадей каждой морфологической компоненты гистологического исследования (полосатые столбцы) и ОКЭ сегментации (монотонные столбцы). Панель (б) – зависимость между сегментированной ОКЭ площадью в процентах и площадью сегментированной по гистологии в процентах для каждой компоненты опухоли. Видна сильная корреляция (коэффициент корреляции Пирсона для жизнеспособной опухолевой ткани r = 0.98, для необратимой дистрофии опухоли r = 0.94, для отека опухолевой ткани r = 0.97, для некроза опухолевой ткани r = 0.97).

Таким образом, результаты морфологической сегментации ОКЭ сканов по различиям упругого модуля морфологических компонент опухолевой ткани в высокой степени согласуются с результатами гистологического исследования.

Найденные описанным выше прицельным сопоставлением характерные диапазоны для ОКЭ сегментации были успешно использованы и в другом исследовании, в котором сравнивались реакция опухолей на химиотерапию (анти-ангиогенным препаратом бевацизумаб) И фотодинамическую терапию (ФДТ) с использованием в качестве фотосенсибилизатора хлориного ряда (Е6 – Фотодитазин), который вызывает повреждение сосудов в опухоли, как следствие, некроз опухолевых клеток в результате ишемии. При сходном характере анти-ангиогенного действия временные масштабы для этих двух типов терапии очень сильно различались. В этом исследовании в качестве объекта морфологической сегментации использовался другой тип опухоли – модель карциномы толстой кишки СТ26 [150].

Результаты ОКЭ сегментации и гистологической сегментации и в этом случае показали

высокую корреляцию относительных площадей для всех четырех основных компонент ткани опухолей. Так для относительной площади некроза коэффициент корреляции был r = 0.97 (p < 0,001) для животных, ответивших на лечение, и r = 0.84 для не ответивших. Для областей жизнеспособных опухолевых клеток был получен r = 0.98 для ответивших на лечение животных и для не ответивших r = 0.92. Таким образом, *in vivo* ОКЭ сегментация позволила точно выявлять в режиме практически реального времени появление зон некроза и оценивать их площади в случае позитивного ответа на лечение в первые 24 часа после ФДТ (см. рис. 4.6)



Рисунок 4.6 — In vivo ОКЭ мониторинг ответа опухоли на ФДТ. Панель (а) – спектры жёсткости, демонстрирующие изменение жесткости в процентах в ходе лечения (общая площадь под кривыми составляет 100%). Панель (б) – сегментированные ОКЭ изображения демонстрируют четыре основных компоненты ткани опухолей (жизнеспособные опухолевые клетки, дистрофические опухолевые клетки, отек и некроз опухолевых клеток); панель (в) процент пикселей, принадлежащих к диапазонам жесткости характерным для каждой из четырех морфологических компонент. Видно, что у ответивших не лечение животных наиболее жесткие жизнеспособные зоны опухоли (синий цвет) на панелях (б) и (в) сильно уменьшились на 6-й день после ФДТ, область некроза (красный цвет) стала доминировать на сегментированных ОКЭ изображениях. Звездочкой * обозначена статистически значимая разница в процентах от площади некроза между ответившими и неответившими на лечение животными.

Распределение пикселей ОКЭ изображения по жесткости показывают, что для контрольной опухоли (рис. 4.6(а), черная линия) характерна слабо изменяющаяся и довольно высокая жесткость (в основном >800 кПа) в течение всего периода наблюдения. В ФДТ-группе для ответивших на лечение опухолей наблюдалось явное смещение максимума спектра жёсткости в сторону умягчения в ~1.5 раза от начальной величины практически сразу после ФДТ (0 часов), хотя в последующие часы наблюдалась релаксация спектра жёсткости ближе к первоначальной форме (6 часов после ФДТ), при этом не было явной разницы между ответившими и не ответившими на лечение опухолями. Однако на 1, 2 и 6-й дни после ФДТ уже были отмечены хорошо выраженные различия в спектре жесткости опухолей, ответивших на ФДТ (рис. 4.6(а)). Графики жесткости в процентах показывают, что стабильный сдвиг жесткости к более низким значениям начинается с 24 часов для ответивших на лечение респондентов, в отличие от не ответивших опухолей. На 6-й день после ФДТ респонденты имеют гораздо большее содержание некроза и отёка с низкой жесткостью <400 кПа по сравнению с не ответившими опухолями.

Сегментированные ОКЭ изображения (рис. 4.6(б)) и построенные на их основе столбцовые диаграммы (рис. 4.6(в)) наглядно демонстрируют изменения в гистологической структуре опухолей, подвергнутых ФДТ (центральная и правая колонки на рис. 4.6(б)). Такого рода *in vivo* мониторинг морфологических изменений опухолей, благодаря развитой ОКЭ технологии и методу сегментирования на ее основе, стал доступен впервые. Более того, поскольку эластографическое обследование выполнялось *in vivo*, его оказалось возможным скомбинировать с выполнением ОКТ-ангиографии, что позволило отслеживать не только морфологические, но и функциональные изменения в опухолях [150].

4.2 Автоматизированная морфологическая сегментация на основе ОКТ-

эластографии и ее использование для контроля чистой границы резекции опухоли на пост-операционных образцах тканей молочной железы

Рак молочной железы является наиболее часто диагностируемым раком и второй по значимости причиной смерти от рака среди женщин [151]. В отличие от модельных опухолей рак молочной железы сильно гетерогенен, обладает большим клиническим, морфологическим и поведенческим разнообразием в пределах одной опухоли и между опухолями [152,153]. Среди подтипов рака молочной железы в настоящее время принято выделять Люминальный А, Люминальный Б, HER2-положительный (не люминальный) и базальноподобный (триждынегативный) подтипы [154]. Большая часть пациентов подвергается хирургическому удалению злокачественных поражений методом орга-сберегающих операций (лампэктомии).

Интраоперационная оценка края резекции на наличие раковых клеток может снизить долю рецидивов [155,156]. Существующие методы неразрушающей интраоперационной визуализации для определения отрицательных границ резекции считаются недостаточными. Такие методы как ультразвук, рентгеновская компьютерная томография, позитронно-эмиссионная томография и магнитно-резонансная томография, позволяют определить размер опухоли или лимфатического узла, общую морфологическую информацию [157], но недостаточное разрешение не позволяет обнаружить поражение размером менее нескольких миллиметров и проконтролировать чистоту границы резекции.

Для решения этой задачи в последние годы большое внимание привлекают возможности ОКЭ технологии, обеспечивающие более высокое разрешение (приближающееся к гистологическому) и способные в режиме (почти)реального времени проводить оценку микроскопического состояния краев лампэктомии. Возможности ОКТ с высоким разрешением для визуализации рака молочной железы в режиме реального времени были продемонстрированы на образцах человека ex vivo [158,159] и при интраоперационной оценке краёв опухоли [11,160,161].

Предварительные исследования образцов рака молочной железы показали, что зависимость напряжения от деформации для таких тканей может демонстрировать выраженную нелинейность [56], так что при явно очень умеренном напряжении (всего в пределах нескольких процентов) модуль Юнга может изменяться в несколько раз. Поэтому, чтобы обеспечить возможность значимого сравнения между образцами от разных пациентов, полученными в разные дни с использованием разных калибровочных слоев, модуль Юнга оценивался для одного и того же предварительно выбранного напряжения (в данном исследовании 4кПа), определяемого по деформации калибровочного слоя, как описано в Главе 1 и работах [81,102]. Воспроизводимость таких измерений, включая использование калибровочных слоев с различной жесткостью, была проверена в специальной серии экспериментов [162]. В описываемых в данном разделе исследованиях (в основном, представленных в [19]), было проанализировано ~100 ОКЭ изображений, полученных для различных типов опухолей (от еще доброкачественных фиброзов до наиболее агрессивных опухолей, таких как трижды-негативный рак молочной железы).

По полученным ОКЭ изображениям в рамках предварительного анализа строились гистограммы жёсткости ("спектры жесткости") областей, занимавших значительную часть ОКЭ скана (т.е. области, включающие 4-6 тысяч пикселей на ОКЭ-изображении), чтобы исключить сильную зависимость получаемого спектра жесткости от размера области анализа [19]. Гистограммы сравнивались в нормированном виде, так что высоты ячеек соответствовали проценту пикселей, попадающих в определенный диапазон жесткости.

Как уже отмечалось, в отличие от рассмотренных в предыдущем разделе модельных опухолей, реальные опухоли молочной железы очень гетерогенны по составу, в том числе и с точки зрения упругих свойств. На рис. 4.7 приведены примеры структурных ОКТ изображений и

эластографических изображений, полученных методом компрессионной ОКЭ с использованием стандартизации упругого напряжения (см. Главу 2). На рис. 4.7 столбцы соответствуют ткани в норме, доброкачественной фиброаденоме и двум относительно низкоагрессивным типам рака.



Рисунок 4.7 — Слева направо представлены сравнительные результаты поляризационной структурной ОКТ, гистологии, ОКЭ и спектров жёсткости для: неопухолевой (нормальной) ткани молочной железы, доброкачественной фиброаденомы (зеленая рамка), неинвазивного рака (синяя рамка) и инвазивной протоковой карциномы молочной железы (оранжевая рамка). Черные пунктирные прямоугольники на ОКЭ изображениях указывают области ROI ткани, по которым были рассчитаны гистограммы нормализованного спектра жесткости.

Следующий рис. 4.8 демонстрирует четыре репрезентативных примера высокозлокачественных типов рака с различной морфологической структурой и молекулярным составом.



Рисунок 4.8 — Слева направо представлены сравнительные результаты поляризационной структурной ОКТ, гистологии, ОКЭ и спектров жёсткости для основных молекулярных подтипов инвазивных опухолей: левый столбец соответствует люминальной опухоли низкой степени инвазивности (оранжевая рамка), а 2й-4й столбцы соответствуют инвазивным опухолям высокой степени злокачественности (сгруппированы в большой красной рамке).

Как видно из приведенных примеров, эти типы тканей, существенно различающиеся по злокачественности, не отличаются существенно на структурных ОКТ изображениях, но демонстрируют очень различные гистограммы (спектры) жесткости. Предварительный анализ показал перспективность использования пропорций между различными диапазонами жесткости для экспресс-оценивания морфо-молекулярного типа опухоли (в этом направлении исследования продолжаются). Однако уже ясно, что эластографическая визуализация на основе ОКТ выглядит очень многообещающей для дифференциации различных подтипов рака с гораздо более высокой контрастностью, чем обычные и даже чувствительные к поляризации структурные ОКТизображения. при этом стоит отметить, что на визуальные отличия ОКЭ и гистологии на рисунках 4.7 и 4.8 повлияли процедуры фиксации и обезвоживания, требуемые для гистологических исследований. Аналогично исследованиям модельных опухолей, описанных в п. 4.1. выше, было проведено детальное сравнительное изучение ОКЭ карт жесткости и соответствующих гистологических изображений, на которых опытным гистопатологом была проведена классификация по подтипам ткани. Это позволило найти соответствие между основными компонентами ткани молочной железы и соответствующими им диапазонами модуля Юнга.

На рисунке 4.9 показаны "спектры жесткости" для пяти характерных компонентов ткани молочной железы (жировая ткань, фиброзная и гиалинизированная опухоль строма, лимфоцитарный инфильтрат и агломераты опухолевых клеток), включая как нормальные, так и патологические состояния. Для получения каждого характерного спектра жесткости, были усреднены ОКЭ данные для 8-10 гистологически подтвержденных образцов каждого компонента ткани. Рисунок 4.9 демонстрирует, что при стандартизованном давлении в 4 кПа эти компоненты ткани демонстрируют довольно хорошо разделяющиеся максимумы колоколо-образного типа, подобно рис. 4.2(в) для модельных опухолей. Аналогичным образом по точкам пересечения аппроксимирующих распределений были выделены характерные диапазоны модуля Юнга для каждой компоненты.



Рисунок 4.9 — Спектры жёсткости основных компонент ткани молочной железы, полученные в результате детального сравнения гистологических и ОКЭ изображений.

Используя цветокодированную шкалу для этих морфологических компонент ткани, можно, как и в п. 4.1, автоматически выполнять морфологическое сегментирование исходных распределений жёсткости на ОКЭ изображениях. Пример реализации такой ОКЭ-сегментации образца рака молочной железы приведен на рис. 4.10, где также показаны структурные ОКТизображения (в ко- и кросс- поляризациях),а также соответствующее гистологическое изображение и исходная (несегментированная) карта жесткости. Хорошо видимая на рис. 4.10(в) граница между нормальной тканью (левая часть изображений) и инвазивной опухолью (нелюминальный подтип), подтверждается гистологией. Подчеркнем, что на обычных структурных ОКТ-изображениях нет четких изменений вблизи границы опухоли.



Рисунок 4.10 — Использование эласто-спектроскопии для визуализация переходной зоны между нормальной тканью молочной железы и областью опухоли. Панель (а) – структурное кроссполяризационное ОКТ изображение; панель (б) – гистологический срез Н&Е; панель (в) – ОКЭ карта жесткости примерно той же области на гистологии (напомним, что после исследования ОКЭ форма образца была заметно искажена во время подготовки гистологических срезов); панель (г) – морфологическая ОКЭ сегментация изображения на области, соответствующие различным компонентам ткани, для которых спектры жесткости показаны на рис. 4.9.

Здесь уместно еще раз подчеркнуть, что приведённые выше спектры жесткости и эластограммы были получены при стандартизованном по полю кадра напряжении 4кПа. Для других напряжений спектры жёсткости эластограммы и характерные диапазоны жёсткости морфологических компонент изменятся из-за нелинейности ткани молочной железы, как уже было продемонстрировано в п.2.3 и иллюстрируется еще одним примером на рис.4.11. Как видно, контрастность визуализации перехода между нормальной и опухолевой тканью существенно зависит от прикладываемого напряжения из-за нелинейности биологической ткани. Контраст максимален при промежуточных значениях напряжений около 4 кПа, при которых зоны более жесткой опухолевой ткани и более мягкой нормальной ткани особенно хорошо видны и хорошо соответствуют соответствующим зонам, видимым на гистологическом изображении. Панель рис. 4.11(б) наглядно демонстрирует, что в результате увеличения приложенного напряжения нелинейность ткани приводит к общему сдвигу спектра жесткости, полученному по всей визуализируемой области, в сторону бо́льших значений.



Рисунок 4.11 — Демонстрация изменения спектров жёсткости и эластограмм с ростом напряжения. Гистологическое изображение (а) и соответствующее структурное ОКТ изображение (в) показывают переход между нормой и опухолью. Панель (б) показывает эволюцию распределения жесткости по всему полю кадра в области биоткани для нескольких различных уровней напряжения. Панели (г)-(з) показывают эволюцию ОКЭ карт жесткости для одного и того же образца ткани при стандартизированных давлениях 2,4, 6, 8, 10 кПа.

Таким образом, продемонстрированные в данном параграфе результаты для образцов тканей рака молочной железы подтверждают, что эласто-спектроскопию биоткани на основе ОКЭ можно рассматривать как разновидность оптической биопсии, применимой непосредственно к свежим образцам и выполнимой в течение нескольких минут, в том числе интраоперационно.

4.3 Сравнение компрессионной оптической когерентной эластографии и компрессионной УЗИ-эластографии

Использование эластографической визуализации на основе ультразвукового исследования (УЗИ) широко используется для характеристики очаговых поражений молочной железы. Преимущество эластографической визуализации основано на том факте, что большинство мягких тканей имеют слабо варьирующуюся ультразвуковую эхогенность, но могут иметь значительно отличающиеся модуль сдвига / модуль Юнга, которые могут быть использованы для высококонтрастной визуализации патологий на фоне нормальных тканей. Это было наглядно продемонстрировано в предыдущих параграфах этой главы, используя компрессионную ОКЭ.

Во многих моделях УЗИ сканеров с функцией эластографии также используется компрессионный принцип, но до настоящего времени не проводилось сравнительных исследований компрессионного ОКЭ (С-ОСЕ) и компрессионной УЗИ-эластографии. Такое сравнение не столь тривиально, поскольку эти два метода получают эластографическую информацию в существенно разных формах. В используемой в данной работе компрессионной ОКЭ, благодаря применению эталонных силиконовых слоев, можно количественно определить как модуль Юнга [55,56], так и напряжение, для которого этот модуль оценивается [102]. Эта особенность позволяет устранить неконтролируемые (часто значительные) вариации модуля упругости ткани, вызванные ее внутренней нелинейностью [7,102]. Другая особенность ОКЭ - значительно более высокое разрешение [163] по сравнению с ультразвуковой эластографией, что особенно важно для изучения очень гетерогенных опухолей молочной железы [19].

Кроме того, в отличие от ОКЭ, позволяющей количественно оценивать модуль упругости, стандартная компрессионная ультразвуковая эластография визуализирует только распределение деформации и по этой причине ее часто называют эластографией деформаций [164,165,166]. Эти деформации возникают из-за неконтролируемого и пространственно-неоднородного напряжения, создаваемого в ткани нажатием со стороны ультразвукового зонда. Следовательно, из-за нелинейности (также пространственно неоднородной) ткани визуализируемые деформации лишь косвенно соответствуют распределению модуля Юнга.

Аналогично недавнему сравнительному исследованию [167] волновой УЗИ и волновой ОКЭ эластографии, где была проверена согласованность их результатов, в данном параграфе описывается сравнение компрессионной УЗИ-эластографии и компрессионной ОКЭ. Проведенное сравнение позволило выявить физические факторы, которые могут повлиять на результаты интерпретации результатов эластографических исследований, полученных для реальных неоднородных и упруго нелинейных тканей рака молочной железы.

Прежде чем проводить сравнение этих двух компрессионных методов эластографии для неоднородных и упруго нелинейных реальных тканей, очень важно сначала их сравнить, используя линейно упругие и однородные силиконовые фантомы. Во Главе 2 было продемонстрировано, что при компрессии сэндвичной структуры из двух силиконов с разными модулями Юнга инкрементальное упругое напряжение должно вызывать дополнительные деформации независимо от текущего напряжения, так что

$$\Delta \sigma = E^{(1)} \Delta s^{(1)} = E^{(2)} \Delta s^{(2)} \tag{4.1}$$

Следовательно, для линейных материалов с независимыми от давления модулями Юнга

отношение модулей должно быть равно обратному отношению приращений деформации:

$$E^{(1)} / E^{(2)} = \Delta s^{(2)} / \Delta s^{(1)}$$
(4.2)

Кроме того, для пары линейных материалов с различными независимыми от давления модулями Юнга отношение модулей должно совпадать с отношением не только инкрементальных, но и кумулятивных деформаций:

$$E^{(1)} / E^{(2)} = \sum_{i} \Delta s_{i}^{(2)} / \sum_{i} \Delta s_{i}^{(1)} \equiv S^{(2)} / S^{(1)}$$
(4.3)

Таким образом, на первом шаге сравнения УЗИ-эластографии и ОКЭ было проведено сравнение деформаций силиконовой сэндвич-структуры с контрастом модуля Юнга ~ 4 раз. Схема эксперимента показана на рис. 4.12(а), а репрезентативные структурные и эластографические изображения, полученные с помощью используемого медицинского УЗИ сканера RS-80A (Samsung Medison), показаны на рис. 4.12(б) и (в). Согласно ультразвуковым измерениям отношение деформаций в силиконах составляло $r_s = 0.23 \pm 0.05$. Плоскослоистая структура образца была хорошо видна.

Оцененное по результатам УЗИ эластографии отношение деформаций для слоев силикона продемонстрировало хорошее согласие с результатами ОКЭ. Для ОКЭ исследования (схема которого показана на рис. 4.12(г)), толщина слоёв тех же силиконов была намного меньше, около 800 мкм, как видно из структурного изображения на рис. 4.12(д). При этом карта деформаций (рис. 4.12(е)) продемонстрировала аналогичное отношение $r_s = 0.24 \pm 0.05$. В левой части панели 4.12(е) показана карта межкадровых деформаций, в то время как в правой части показана карта кумулятивной деформации, которая выглядит более гладкой и менее шумной, как хорошо видно из сравнения левой и правой половин рис. 4.12(е) (и хорошо согласуется с обсуждением кумулятивных деформаций в п. 1.4). На следующей панели 4.12(ж) полученные с помощью ОКЭ кумулятивные деформации двух слоев отложены друг относительно друга и демонстрируют высокую линейность силиконов на первых процентах деформации.



Рисунок 4.12 — Сравнение результатов ОКЭ и УЗИ-эластографии при исследовании силиконовой сэндвич структуры, состоящей из линейно-эластичных гомогенных силиконов с различными модулями Юнга. Панели (а-в) показывают схему УЗИ-обследования, структурное УЗИ изображение и эластографическую карту деформаций, полученную с помощью УЗИ. Панели (г-е) представляют собой аналогичные изображения для ОКЭ, где на эластографической карте (е) левая половина содержит межкадровую деформацию, а правая половина соответствует кумулятивной деформации. Панель (ж) показывает зависимость кумулятивных деформаций двух силиконовых слоев друг относительно друга. Панель (з) - зависимость деформаций в каждом слое, нанесенные на график, от силы сжатия, измеренной пьезодатчиком силы (слой А более мягкий с $E \approx 100$ кПа, слой В более жесткий, имеет $E \approx 420$ кПа). Панель (и) - карта жесткости, показывающая распределение модуля Юнга, которое для линейных силиконов можно найти с помощью уравнения (4.2) или (4.3).

Зависимость кумулятивных деформаций этих слоёв с высокой точностью остается линейной вплоть до довольно большой деформации ~25% в более мягком слое. Наклон этой линейной зависимости для ОКЭ (~ 0.24) хорошо согласуется с оценкой на основе УЗИэластографии.

Кроме того, приложенная к силиконам сила, измерялась пьезодатчиком силы, что позволило независимо проверить линейную пропорциональность связи «напряжениедеформация» для каждого слоя силикона (для оценки напряжения сила делилась на площадь ОКТзонда). Соответствующие зависимости показаны на рис. 4.12(3). Наклоны этих линейных зависимостей соответствуют модулям Юнга для этих силиконовых слоев. Таким образом, для однородных и высоко линейных силиконов результаты УЗИ-эластографии и ОКЭ показали хорошее согласие. Однако для реальных нелинейных тканей ситуация оказалась более сложной.

использованной в данном исследовании компрессионной ОКЭ B реализуется стандартизация упругого напряжения по полю всего кадра (см. п. 2.3 выше), тогда как стандартные медицинские УЗИ устройства с эластографической модальностью не имеют таких возможностей. Поэтому в таких УЗИ измерениях отношение деформаций для пространственно разнесенных областей может соответствовать заметно различающемуся напряжению в этих областях (здесь влияют многие факторы - наклонная ориентация поверхности зонда, внутренняя механическая неоднородность ткани, неидеально плоская поверхность биоткани и т.п.). Нелинейность реальных тканей может привести к еще большей неопределенности визуализируемого отношения деформаций.

Эти утверждения проиллюстрированы на рис. 4.13. Рисунки 4.13(а), (в) и (г) представляют схему УЗИ исследования, структурное и эластографическое УЗИ изображения, соответственно. Опухоль соответствует зоне низкой эхогенности на структурном изображении и синей области пониженной деформации на эластографическом изображении (зона А). Зона В (оранжевый кружок) выбрана достаточно далеко от опухоли в качестве зоны без патологии. Отношение деформаций для зон В и А составляет $r_s = 3.43$. Такое отношение считается типичным для злокачественных опухолей.

После хирургического удаления образцы из центральной зоны опухоли и нормальной ткани на периферии, были исследованы методом ОКЭ. Структурные ОКТ-изображения для этих образцов показаны на рис. 4.13(д) и (е), а соответствующие эластограммы - на рис. 4.13(ж) и (з) (эталонный силиконовый слой не показан на этих изображениях).



Рисунок 4.13 — Сравнение результатов УЗИ-эластографии и ОКЭ при обследовании рака молочной железы. УЗИ-эластография было проведена *in vivo* до операции, а затем после удаления опухоли образцы из ее центра и нормальной ткани на периферии были обследованы методом ОКЭ. Панели (а, б) - схемы УЗИ и ОКЭ исследований; панели (в,г) - структурные и эластографические изображения УЗИ. Панели (д, е) - структурные ОКТ для областей, помеченных А и В, на сканах УЗИ. Панели (ж,з) - карты жесткости, полученные методом ОКЭ для областей А и В соответственно; (ж1, з1) - соответствующие гистологические изображения опухоли и ткани в норме; панель (и) – график зависимостей «напряжение-деформация», полученных ОКЭ для опухоли и нормы пунктирные линии - эксперимент, а сплошные линии - аппроксимации); панель (к) - соответствующие зависимости модулей Юнга, полученные из аппроксимирующих кривых на панели (и); панель (л) – плоскость упругих напряжений в тканях опухоли и нормы, на которой показана кривая, полученная из ОКЭ-данных, вдоль которой коэффициент отношения модулей Юнга (а, значит, инкрементальных деформаций) может быть равен 3.43, т.е. значению, найденному при УЗИ исследовании, в котором не было контроля локального напряжения.

Как видно, полученные методом ОКЭ зависимости «напряжение – деформация» для опухоли и нормы на рис. 4.13(и) демонстрируют выраженную нелинейность, особенно нелинейна опухолевая ткань, для которой модуль увеличивается более чем в 4 раза с увеличением напряжения (что хорошо заметно на рис. 4.13(к)). Кроме того на рис. 4.13(к) ясно видно, что при любом одинаковом напряжении отношение модулей Юнга для опухоли и жировой ткани значительно больше, чем отношение деформаций 3.43, полученное при УЗИ измерении. Это очевидное несоответствие между стандартизованной на давление ОКЭ и УЗИ измерениями, повидимому, объясняется комбинированным эффектом неоднородности напряжений при сканировании и нелинейности ткани. Соотношение 3.43 может наблюдаться, но только для значительно отличающегося напряжения, в областях ткани в норме и опухоли, как схематично показано на рис. 4.13(к) для двух различных комбинаций напряжений. На рисунке 4.13(л)

приведена кривая, соответствующая всем возможным комбинациям напряжений, исследованных ОКЭ, для которых отношение модулей Юнга равно 3.43.

В п.2.3 подчеркивалось, что неоднородность напряжений может возникать даже на масштабах нескольких миллиметров, типичных для ОКЭ сканов, и эта неоднородность потенциально может быть еще сильнее при больших размерах скана. На рис. 4.14 показана поверхность, соответствующая возможному отношению модулей Юнга ткани в норме и опухоли для всех возможных комбинаций напряжений из полученного экспериментально диапазона их значений. Как видно из рис.4.14, это отношение может меняться от 2.1 до 47.4 раз.



Рисунок 4.14 — Поверхность, показывающая возможные соотношения модулей Юнга в зависимости от различных комбинаций напряжений (давлений) для опухоли и нормальной ткани по ОКЭ данным для образца на рис. 4.13. Пунктирной линией показаны отношения модулей Юнга рака и нормы при одинаковых напряжениях для рака и нормы, сплошной линией показаны давления на биоткань, для которых отношение модулей Юнга соответствует значению 3.43, полученному при УЗИ исследовании, представленном на рис. 4.13.

Следовательно, несмотря на хорошо совпадающие коэффициенты деформации в случае плоскослоистых однородных и линейно-эластичных силиконов при УЗИ и ОКЭ обследовании, для реальных тканей, характеризуемых пространственной механической неоднородностью и нелинейностью, может быть очень заметная разница в результатах УЗИ и ОКЭ. Это может повлиять на точность диагностических заключений, полученных с помощью этих двух эластографических методов.

Характерный пример подобного ошибочного заключения по результатам УЗИэластографии приведен на рис. 4.15. Злокачественная дольковая карцинома (как было выяснено по данным биопсийной пробы) была диагностирована УЗИ-эластографией (см. рис. 4.15(а) и (б)) как доброкачественное новообразование, поскольку наблюдаемый контраст деформаций между зонами опухоли и нормы по данным УЗИ был не очень высоким (около 2.2, что типично скорее для фиброзов). На структурном изображении (рис. 4.15(а)) опухоль выглядит как зона низкой эхогенности (обозначена как А). Хотя этот диагноз был подтвержден несколькими независимыми УЗИ-исследованиями, результаты биопсии показали наличие злокачественного новообразования, требующего хирургического вмешательства. Сразу после удаления образцы ткани были исследованы методом ОКЭ (рис. 4.15(в)). Данные ОКЭ показали, что ткань опухоли имеет весьма высокие значения модуля Юнга (более 600 кПа), существенно более высокие, чем для фиброаденом и типичные для злокачественных опухолей, что и было подтверждено гистологией.



Рисунок 4.15 — Пример ошибочного заключения по результатам УЗИ-эластографии при исследовании инфильтрирующей дольковой карциномы (III степени). Панель (а) – структурное УЗИ показывает гипоэхогенное поражение (зеленый круг). Панель (б) – УЗИ-эластограмма с оценкой 2 для поражения с мозаичным рисунком зеленого, красного и синего (интерпретировано как доброкачественное образование), с отношением деформаций 2.2. Панель (в) – соответствующее ОКЭ изображение зоны В, показывающее жесткое поражение (более 600 кПа) и незначительные включения с низкими значениями жесткости (≈200 кПа и ниже). Панель (г) - гистологическое изображение хирургически вырезанного образца, окрашенного Н&Е, в котором агломераты опухолевых клеток разделены фиброзной стромой и гиалинозом отдельных коллагеновых волокон в центральной части опухоли. Пунктирная линия на панели (б) показывает поперечный разрез, на котором были проведены ОКЭ исследования, а затем были подготовлены гистологические срезы. Аббревиатуры: FS— фиброзная строма, TC — скопление опухолевых клеток.

Причина довольно низкого коэффициента деформации, полученного УЗИ, очевидно, связана с отсутствием локального контроля напряжений. В этом случае, также между раковыми

агломератами были довольно мягкие участки фиброза (хорошо заметные на гистологии и ОКЭизображении), повышенная деформируемость которых увеличила локальные деформации и снизила контраст по уровню деформаций с удаленной зоной нормальной ткани.

Конечно, представленные выше ошибочные результаты УЗИ встречаются не столь часто. В нескольких десятках других проведенных сравнений заключения ОКЭ и УЗИ-эластографии совпадали и подтверждались гистологией. Тем не менее, даже на таком относительно небольшом объеме выборки нами были обнаружены как ложноположительные, так и ложноотрицательные заключения УЗИ-эластографии, что объясняется, прежде всего, отсутствием контроля уровня локальных напряжений при УЗИ обследованиях.

Приведенное выше рассмотрение различных поражений молочной железы подтвердило, что высокое пространственное разрешение ОКЭ в сочетании с высоким контрастом между нормой и патологичными зонами обеспечивает не только очень четкую визуализацию края опухоли (см. также п. 4.2 выше), сравнимую по точности с сегментацией опухоли при гистологических исследованиях. Кроме того, ОКЭ представляется очень перспективной как метод своего рода оптической биопсии, выполнимой в течение нескольких минут на свежеудаленных образцах без их специальной подготовки для дифференциации доброкачественных и злокачественных поражений молочной железы, обладая гораздо более высокой контрастностью и селективностью, чем УЗИ - эластография.

На рис. 4.16(а) показаны полученные для нескольких десятков образцов сводные данные для отношения деформаций, определенные с помощью УЗИ-эластографии перед операцией, а на рис. 4.16(б) представлены значения жесткости, полученные ОКЭ для образцов удаленных тканей, соответствующих положению новообразований на УЗИ сканах. Для каждого облака данных длинная горизонтальная линия показывает соответствующее среднее значение. Тонкие вертикальные полосы вокруг среднего значения показывают стандартное отклонение.



Рисунок 4.16 — Обобщенные результаты сравнения УЗИ-эластографии и ОКЭ. Панель (а) показывает отношения деформаций, оцененные компрессионной УЗИ-эластографией, панель (б) демонстрирует модуль Юнга, найденный при ОКЭ исследованиях образцов ткани, полученных при удалении доброкачественных и злокачественных новообразований молочной железы. Для фиброаденомы к ограниченному количеству полученных экспериментальных данных (n = 5 заполненных кружков) было добавлено n = 6 других точек из литературы [168,169] (пустые кружки). Найденные отношения деформаций по данным УЗИ-эластографии для фиброаденомы продемонстрировали сильное перекрытие с данными для злокачественных опухолей. Сокращения: IDC — инфильтрирующая протоковая карцинома, n - количество изображений.

УЗИ-данные на рис. 4.16(а), показывают, что все новообразования (как доброкачественные, так и злокачественные) демонстрируют отношение деформаций, явно превышающие единицу (т.е. являются более жесткими по сравнению с нормой). Другой явно видной на рис. 4.16(а) особенностью является то, что для опухолей с возрастающей степенью злокачественности среднее отношение деформаций демонстрирует выраженное снижение (отметим, что аналогичное снижение коэффициента деформации для опухолей высокой степени злокачественности было независимо представлено, например, в [169]). Как видно из рис. 4.16(а), для особенно агрессивных опухолей ILC (3-я степень злокачественности) отношение деформации уменьшается до значений, характерных для доброкачественных фиброаденом. Это может привести к неправильному диагнозу, как в приведенном выше примере на рис. 4.15.

Для данных ОКЭ, показанных на рис. 4.16(б), существенное отличие от рис. 4.16(а) для УЗИ данных состоит в том, что модуль Юнга для фиброаденом (для тех же областей ткани, что и на УЗИ изображениях) демонстрирует значительно меньший разброс. При этом принципиальное отличие между рис. 4.16(а) и 4.16(б) заключается в том, что по данным ОКЭ, значения модуля Юнга для фиброаденом лежат значительно ниже, чем для всех 3 групп злокачественных опухолей (все они в несколько раз жестче, чем фиброаденома, так что перекрытие значений для фиброаденом и злокачественных опухолей полностью отсутствует). Аналогичный результат был продемонстрирован для других образцов рака молочной железы в предыдущем п. 4.1 при исследовании различных молекулярных подтипов рака молочной железы.

Другим явным отличием рис. 4.16(б) является то, что для опухолей I-II степени значения жесткости, определенные по ОКЭ, явно меньше, чем для III степени, хотя для отношения деформаций по данным УЗИ-эластографии на рис. 4.16(а) имеет место обратная ситуация. Эти различия между результатами УЗИ и ОКЭ обусловлены различными условиями измерения для двух методов. В развитом методе компрессионной ОКЭ упругие свойства ткани сравниваются с данными для эталонного слоя силикона. Напротив, в компрессионной УЗИ-эластографии деформации в предполагаемой опухоли сравниваются с деформациями в окружающей ткани, которая считается эталонной «нормой», хотя ее свойства могут заметно варьироваться. Даже если окружающая опухоль зона не содержит жестких агломератов раковых клеток, эта ткань на периферии опухоли может иметь значительно измененные свойства. В частности, в ряде работ отмечалось наличие стромы с жесткостью, заметно более высокой, чем для жировой ткани, присутствие которой характерно в норме. Эта повышенная жесткость «нормальной» ткани в окрестности злокачественных опухолей была подтверждена УЗИ-эластографией сдвиговой волны, и, безусловно, это ужесточение должно снижать отношение деформаций, получаемое компрессионной УЗИ для злокачественных опухолей [170, 171,172]. Другой причиной, которая может снизить отношение деформаций для нормы и злокачественных опухолей в УЗИэластографии, является более низкое разрешение, чем у ОКЭ, а также гораздо больший размер поля кадра (обычно 10 × 10 мм), по которому оценивается деформация для опухолей. При этом область для определения деформаций опухоли может легко охватывать некоторую часть более мягкой области вокруг опухоли. Напротив, для ОКЭ измерений разрешение выше, а размеры окна усреднения значительно меньше, так что ОКЭ позволяет оценивать жесткость именно опухолевых узлов, исключая усреднение с данными для более мягких включений и окружающей тканью.

Наконец, можно подчеркнуть, что оценки модуля Юнга в ОКЭ выполняются для стандартизированного напряжения (2 ± 1 кПа в данном исследовании), тогда как в УЗИэластографии нет контроля напряжений. Это также является очень важным фактором, поскольку, как уже отмечалось, опухоли имеют очень нелинейные зависимости «напряжение-деформация» (примеры таких нелинейных кривых можно найти в [7,56,102] и следующем параграфе). Поэтому даже при довольно умеренном напряжении ~ нескольких кПа текущий модуль Юнга может увеличиться в несколько раз по сравнению с его начальным значением.

В то же время нелинейность нормальной жировой ткани и даже фиброза значительно ниже, так что при том же давлении их жесткость увеличивается не так сильно, как у злокачественного рака. Из-за этой разницы ОКЭ измерения, выполняемые умеренном напряжении порядка нескольких кПа, обеспечивают значительно более высокую контрастность по жесткости при визуализации злокачественных опухолей.

4.4. Использование нелинейности связи «напряжение-деформация» для высокоселективного дифференцирования подтипов опухолевой ткани

Для повышения точности дифференциации подтипов рака, когда их характерные диапазоны традиционно оцениваемого модуля Юнга перекрываются (как на рис. 4.16(б) для наиболее агрессивных типов опухолей), можно воспользоваться комбинированной оценкой жесткости и упругой нелинейности. Результаты, описанные ниже, были получены для свежеизвлечённых образцов ткани молочной железы и продемонстрировали повышение надежности визуализации границ опухоли при совместном использовании, как значений линейной жесткости, так и нелинейно-упругих параметров.

Рассмотрим, как количественно оценить нелинейность ткани, чтобы рассматривать ее как полезную информативную характеристику, а не как усложняющий фактор при оценке модуля Юнга. В теории упругости нелинейные зависимости напряжения от деформации часто представляются в виде степенных разложений. В биомеханике также часто используются различные более сложные законы, в частности, содержащие экспоненциальные функции (например, закон Вердона Веста и другие [82]). Однако для разных типов тканей могут потребоваться разные формы определяющего закона и соответствующие аппроксимирующие функции. Чтобы обеспечить достаточно универсальную интерпретацию различных форм нелинейного поведения в нашем подходе, мы приняли локальную степенную аппроксимацию кривых напряжения-деформации вокруг некоторого выбранного значения давления. Таким образом, сохранив только нелинейную поправку низшего порядка, эта зависимость может быть записана как:

$$\sigma = \sigma_0 + E(\sigma_0) \cdot (s + \beta s^2 + ...), \tag{4.4}$$

где σ - напряжение (давление), *s* - деформация; σ_0 - выбранное начальное напряжение, в окрестности которого и проведено разложение нелинейной зависимости в ряд, $E(\sigma_0)$ - текущее (тангенсальное) значение модуля Юнга, соответствующее выбранному начальному напряжению, β является безразмерным нелинейным параметром, характеризующим квадратичную нелинейность деформации.

При этом текущее значение модуля Юнга $E(\sigma_0)$ по определению соответствует наклону зависимости напряжения от деформации:

$$E(\sigma_0) = d\sigma / ds |_{\sigma = \sigma_0}, \qquad (4.5)$$

Другими словами, в любой точке модуль Юнга равен наклону зависимости напряжения от деформации. Как видно из уравнения(4.4), в окрестности точки σ_0 текущий модуль Юнга может быть представлен в виде:

$$E(\sigma) = E(\sigma_0) \cdot (1 + 2\beta s) . \tag{4.6}$$

Далее, для параметра квадратичной нелинейности β вблизи напряжения σ_0 из уравнений (4.4), (4.5) и (4.6) следует, что:

$$\beta|_{\sigma=\sigma_0} = \frac{1}{2} \frac{dE}{E(\sigma_0)ds} = \frac{1}{2} \frac{dE}{d\sigma}|_{\sigma=\sigma_0}, \qquad (4.7)$$

Можно отметить, что такое разложение может быть выполнено вокруг произвольно выбранного начального напряжения, в частности нулевое значение также может быть выбрано в качестве начальной точки.

Этапы, необходимые для получения пространственных распределений модуля Юнга (жесткости) и параметра нелинейности в описанном варианте ОКЭ, могут быть представлены, как показано на рис. 4.17.



Рисунок 4.17 — Схема основных этапов обработки сигнала для оценки жесткости и параметра нелинейности β в разработанном методе ОКЭ.

Во многих случаях описанной в разделах 4.1 и 4.2 дифференциации морфологических компонент на ОКЭ изображениях на основе только модуля Юнга уже вполне достаточно. Однако в некоторых случаях гистологические исследования указывают на наличие морфологически различных зон, тогда как сравнение с картами жесткости на основе ОКЭ показывает, что характерные диапазоны жесткости для таких компонент могут значительно перекрываться.

В таких ситуациях, однако, можно ожидать, что даже если диапазоны модулей Юнга таких компонент перекрываются, эти модули могут по-разному зависеть от напряжения, так что нелинейные параметры для этих компонент ткани будут различны и могут быть дополнительно использованы для дифференциации. Здесь можно отметить общую аналогию с нелинейноакустической диагностикой структурных повреждений в конструкционных материалах, где уровень сигнала от трещин и технологических полостей может быть сравним, но трещины являются высоко-нелинейными включениями и могут быть обнаружены, выделением компонент рассеянного сигнала, генерируемые на нелинейности трещин [173].

В рамках проведенных исследований было проведено ОКЭ картирование ex vivo образцов рака молочной железы, для которых с использованием калибровочных силиконовых слоев (см. п.2.3) можно было получать пространственно-разрешенные зависимости «напряжениедеформация» как показано на рис. 4.18.



Рисунок 4.18 — Примеры различных нелинейных зависимостей «напряжение-деформация» для семи различных типов доброкачественных и злокачественных тканей молочной железы, для которых репрезентативные зоны отмечены прямоугольниками разного цвета на гистологических и операционных изображениях. Колонка (а1-а6) - ОКЭ изображения для стандартизированного давления 4 кПа. Типичные кривые нагружения для этих семи зон ткани, отмеченных цветными прямоугольниками на панелях (a1)-(аб), показаны теми же цветами на панели (г). Панель (д) - соответствующие производные, т.е. зависимости «жесткость-деформация», панель (е) – кривые жесткости в зависимости от напряжения. Как видно, злокачественные ткани (красные, розовые, оранжевые и зеленые линии), как правило, более нелинейны, чем доброкачественные ткани (синие и светло-голубые линии). Обозначения: синие линии – жировая ткань со слоями соединительной ткани; светло-синие линии – фиброзная строма; красные линии – агломераты опухолевых клеток IDC; оранжевые линии – область IDC, состоящая из отдельных крупных скоплений или кластеров опухолевых клеток, распределенных в фиброзной строме; зеленые линии - область IDC, которая характеризуется отдельными рассеянными опухолевыми клетками и плотной волокнистой стромой с гиалинозом коллагеновых волокон; розовые линии – агломераты опухолевых клеток ILC, для которых характерен солидный рост; черные линии – крупные очаги гиалиноза. (Сокращения: IDC – инвазивная протоковая карцинома; ILC – инвазивная дольковая карцинома)

На рисунке 4.18 показаны результаты для семи типов тканей молочной железы, демонстрирующие значительно отличающиеся типы соответствующих зависимостей напряжения

от деформации. Как видно из зависимостей модуля Юнга от деформации ткани и упругого напряжения, приведенных на панелях (д) и (е) на рис. 4.18, значения текущего модуля могут совпадать для различных типов тканей. Однако при этом зависимости значений модуля от приложенного напряжения при этом различны (т.е. различны значения параметра нелинейности для этих тканей). Параметр нелинейности является безразмерной величиной, задаваемой выражением (4.7). Получаемые развитым ОКЭ методом нелинейные кривые «напряжение-деформация» позволяют одновременно оценить и модуль Юнга E_0 , и параметр нелинейности β .

Ниже на рис. 4.19 представлены результаты такого анализа ОКЭ данных для ~60 образцов тканей молочной железы, соответствующих семи различным типам, выявленным на гистологических изображениях. Результаты на рис. 4.19 представлены в 2D-форме на плоскости (E_0,β) , где горизонтальная ось соответствует параметру нелинейности β , а вертикальная - модулю Юнга E_0 . Обе величины оценивались при низких давлениях (около 0.5 ± 0.5 кПа), которые контролировались с использованием эталонного слоя силикона. Соответствие цвета типам тканей указано в условных обозначениях. Из рис. 4.19 видно, что на 2D-плоскости все эти семь групп могут быть довольно хорошо разделены (пунктирные линии показывают соответствующие границы характерных диапазонов параметров E_0 и β). Напротив, для E_0 и β , взятых отдельно, наблюдается значительное перекрытие этих параметров для нескольких типов тканей.



Рисунок 4.19 — Двумерная плоскость (E_0,β) модуля Юнга и параметра нелинейности для тех же семи гистологически различных типов тканей, что и на рис. 4.18, полученная с использованием 60 образцов, взятых у 50 пациентов. (Сокращения: IDC – инвазивная протоковая карцинома; ILC – инвазивная дольковая карцинома)

Отметим, что злокачественные ткани (зеленые, оранжевые, красные и пурпурные точки), как правило, демонстрируют более сильную нелинейность, чем доброкачественные ткани (синие и

светло-голубые точки), самая сильная нелинейность типична для гиалиноза. Хотя модуль Юнга жировой ткани явно самый низкий, для других типов тканей зависимость модуля Юнга от степени злокачественности не так очевидна, и может иметь место сильное перекрытие диапазонов жесткости. Для демонстрации выше упомянутой тенденции увеличения нелинейности для опухолей с ростом злокачественности и немонотонного поведения модуля Юнга на рисунке 4.20 отдельно представлены значения E_0 и β для тех же типов тканей, что и на рис. 4.18 и 4.19. Пустые белые кружки в каждом из облаков данных показывают средние значения, а вертикальные полосы соответствуют общему разбросу данных в каждом облаке. Ясно, что когда рассматривается только модуль Юнга или только параметр нелинейности, может наблюдаться значительное перекрытие их значений для рассматриваемых подтипов тканей, при этом на двумерной плоскости (E_0 и β), показанной на рис. 4.19 эти подтипы тканей уже могут быть уверенно разделены.



Рисунок 4.20 — Нелинейный параметр β (а) и модуль Юнга E_0 (б) для различных типов тканей молочной железы. На вставке в (а) более подробно показаны данные для первых четырех типов тканей. (Сокращения: IDC – инвазивная протоковая карцинома; ILC – инвазивная дольковая карцинома)

Таким образом, дополнительная информация, предоставляемая параметрами нелинейности, открывает путь для существенно более точной оценки морфологического состава опухолевых тканей молочной железы. Становится возможным не только надежно разделять жировую опухолевые ткани, но и автоматически дифференцировать такие важные подтипы тканей, как злокачественные участки типов IDC и ILC, зоны гиалиноза, фиброзную строму и даже выделять зоны фиброзной стромы с отдельными раковыми клетками. Это делается без какой-либо

специальной подготовки выделенных образцов ткани молочной железы.

Используя для каждого подтипа ткани характерные диапазоны модуля Юнга и параметра нелинейности, границы которых показаны пунктирными линиями на рисунке 4.19, легко реализовать автоматическое морфологическое сегментирование ОКЭ изображений. Пример такого автоматически сегментированного изображения на рисунке 4.21, где показаны гистологическое изображение (рисунок 4.21(а)), структурное ОКТ-изображение (рисунок 4.21(б)), карты модуля Юнга на основе ОКЭ, полученные при двух различных давлениях 0.5±0.5 кПа и 4.0±0.5 кПа (рисунки 4.21(в) и 4.21(г)), и, наконец, карта морфологической сегментации с использованием одновременно различий подтипов тканей по жесткости и нелинейности (рис. 4.21(д)). Отметим, что на полученном сегментированном изображений четко видна граница между нормальной (периопухолевой) тканью (левая часть изображений) и инвазивной опухолью (не люминальный подтип).

Из рис. 4.21 видно, что на обычных структурных ОКТ-изображениях нет четких различий между опухолевыми и неопухолевыми зонами. На ОКЭ карте жесткости, построенной при самых низких давлений 0.5±0.5 кПа (рис. 4.21(в)), центральная зона опухоли становится видимой как более жесткая область, но все еще нет четко видимого перехода между опухолью и периопухолевой зоной.

Карта жесткости на рисунке 4.21(г) получена при более высоком предварительном сжатии (4.0 ±0.5 кПа), она сильно отличается от панели (в) и четко демонстрирует влияние нелинейности на жёсткость тканей. На рисунке 4.21(г) можно увидеть гораздо более высокий контраст между опухолью в центральной части и окружающей жировой тканью и стромой, поскольку нелинейность последней намного ниже и вызывает лишь незначительное увеличение модуля Юнга с ростом упругого напряжения.

В отличие от рисунков 4.21(в) и 4.21(г), на которых показано лишь распределение модуля Юнга, а количественная оценка нелинейности еще не использовалась, на следующем рисунке 4.21(д) показаны результаты морфологической сегментации ОКЭ изображения уже с совместным использованием различий по величинам и модуля Юнга и параметра нелинейности. Результат такой сегментация демонстрирует гораздо более четкое соответствие гистологическому срезу.

Относительно сопоставления с гистологией можно еще раз подчеркнуть, что ОКЭ обеспечивает субмиллиметровое разрешение, показывающее такие мелкие детали, форма которых сильно меняется после подготовки гистологических срезов. Кроме того, при компрессии в ходе ОКЭ обследования несколько менялась и форма образца, впоследствии используемого в гистологическом исследовании. Поэтому буквальное совпадение столь мелких деталей между гистологическим и сегментированным ОКЭ-сканом в принципе не может быть достигнуто. Тем не менее, сходство гистологического изображения на рис. 4.21(а) с ОКЭ изображениями очень четкое, и топология сегментированных зон демонстрирует хорошее совпадение.



Рисунок 4.21 — Картирование переходной зоны между перитуморальной (нормальной) тканью молочной железы и областью опухоли с использованием структурных ОКТ изображений и ОКЭ изображений с морфологической сегментацией. Сегментация основана на комбинированном использовании модуля Юнга (E) и параметра нелинейности (β) , для которых характерные диапазоны показаны на плоскости (E, β) на рисунке 4.19. Панель (а) - гистологическое изображение, окрашенное Н&E; панель (б) - структурное ОКТ изображение, полученное путем сшивания нескольких отсканированных участков; (в) ОКЭ карта жесткости, полученная при минимальном давлении $0,5\pm0,5$ кПа; панель (Γ) - карта жесткости, полученная при давлении 4,0±0,5 кПа, демонстрирующая сильное изменение жесткости опухоли, вызванное более высоким давлением на биоткань; панель (д) - автоматическая морфологическая сегментация ОКЭ изображения на зоны различных компонентов ткани. Соответствующие области на гистологическом изображении (а) отмечены прямоугольниками того же цвета, что и сегментированные зоны на панели (д). Сокращения: IDC – инвазивная протоковая карцинома; ILC – инвазивная дольковая карцинома.

Более того, если на свежем образце по результатам ОКЭ обследования (которое возможно выполнять интраоперационно) сразу обнаруживаются раковые клетки на поверхности образца, то, независимо от подобия с последующей гистологией, хирургу уже может принимать решение о необходимости дополнительного удаления ткани для обеспечения чистоты границы резекции. По этой причине сам факт того, что дополнительное использование параметра нелинейности позволяет при ОКЭ-исследовании обнаруживать области стромы, содержащей очень небольшие количества раковых клеток, является очень важным продвижением в решении задачи интраоперационного контроля чистой границы резекции опухолей.

4.5 Заключение

Приведенные в главе результаты показывают, что развитые метод «эласто-спектроскопии» на основе ОКЭ может быть использован в качестве нового метода экспресс-биопсии. Описанные различия морфологических компонент опухолевых тканей по их «спектру жесткости» в данном исследовании были обнаружены впервые. Эти различия открыли возможность автоматизировано выполнять морфологическое сегментирование ОКЭ изображения, обеспечивая степень детализации сравнимую с традиционной сегментацией гистологических препаратов, выполняемой гистопатологом вручную. Более того, в отличие от время- и трудо-затратной гистологии, ОКЭ- сегментация выполняется в течение нескольких минут на свежих образцах тканей без их специальной подготовки, а также может быть выполнима даже *in vivo*, как показано в разделах 4.1 для модельных опухолей. Такие результаты также были получены впервые.

Также впервые было выполнено сравнение широко используемой компрессионной УЗИэластографии и разработанной компрессионной ОКЭ с обеспечением локального контроля упругого напряжения. Сравнение показало, что ОКЭ обеспечивает более высокую диагностическую эффективность, чем УЗИ-эластография при дифференцировании патологий молочной железы. Использование сразу двух параметров (модуля Юнга и параметра нелинейности) для морфологической ОКЭ сегментации изображений является дальнейшим развитием описанного в разделах 4.1 и 4.2 подхода к автоматизированной морфологической сегментации, использовавшей только различия по диапазонам модуля Юнга для различных подтипов тканей. Дополнительное использование параметра нелинейности открыло возможность еще более надежной и селективной сегментации сразу 5-7 компонент опухолевых тканей.

Таким образом, развитые ОКЭ методы в будущем могут стать незаменимым интраоперационным инструментом для экспресс-дифференциации доброкачественных и злокачественных поражений, оценки степени злокачественности и определения чистоты границы резекции опухоли с точностью, сравнимой с точностью сегментирования трудоемким гистологическим исследованием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в диссертации основные результаты могут быть сформулированы следующим образом:

1. Разработан робастный и вычислительно эффективный метод нахождения градиентов вариаций фазы между сравниваемыми ОКТ сканами. Метод использует векторное представление комплексных сигналов и матричную обработку сканов и позволяет получить пространственное распределение локальных аксиальных деформаций без поисковых операций скользящим окном и без необходимости предварительного снятия неопределенности фазовых вариаций, возникающей при сверхволновых смещениях рассеивателей.

2. На основе оценивания инкрементальных межкадровых деформаций разработан и экспериментально апробирован метод ОКТ-визуализации больших деформаций (до десятков процентов) с учетом текущего смещения рассеивающих частиц для исследования деформационных процессов различной природы - термических, производимых механически, связанных релаксацией внутренних напряжений, вызываемых осмотическими эффектами и т.д.

3. Разработан метод ОКТ-эластографии, использующий высоко линейные биоподобные силиконовые слои в качестве оптических датчиков локального напряжения позволяющий получать нелинейные зависимости «напряжение-деформация» и выполнять количественные оценки текущего модуля Юнга.

4. Для обеспечения воспроизводимости и обоснованности сопоставления данных различных экспериментов, выполняемых в реальных условиях существенной и заранее неконтролируемой неоднородности напряжений по полю ОКТ-сканов в их исходно регистрируемой последовательности, предложен и реализован метод, позволяющий получать синтезированное пространственное распределение модуля Юнга нелинейной биоткани для выбираемой стандартизированной величины упругого напряжения.

5. На основе установленных различий упругих свойств морфологических компонент биотканей предложен метод квазистатической ОКТ-эластоспектроскопии, не требующий специальной подготовки выделенных образцов тканей и позволяющий визуализировать границу опухоли для контроля чистоты края резекции и дифференцировать подтипы опухолей рака молочной железы в течение нескольких минут.

6. С использованием развитых принципов эластоспектроскопии разработан и продемонстрирован в экспериментах на животных метод автоматизированной морфологической сегментации ОКЭ-изображений, показавший высокое совпадение с результатами традиционной гистологической сегментации, но, в отличие от трудо- и времязатратной инвазивной гистологии, позволяющий вести мониторинг морфологических изменений в биотканях даже in vivo.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[1] Leitgeb R., Placzek F., Rank E., Krainz L., Haindl R., Li Q., Liu M., Andreana M., Unterhuber A., Schmoll T. & Drexler W., Enhanced medical diagnosis for dOCTors: a perspective of optical coherence tomography // J. Biomed. Opt. 2021. Vol. 26, № 10. https://doi.org/10.1117/1.jbo.26.10.100601
[2] Landau L.D., Lifshits E.M., Pitaevskii L.P., Teoriia uprugosti. Moskva: FIZMATLIT, 2001.

[3] *Fung Y. C.*, Elasticity of soft tissues in simple elongation //American Journal of Physiology-Legacy Content. $-1967. - T. 213. - N_{\odot}. 6. - C. 1532-1544.$

[4] Sapuntsov L.E., Mitrofanova S.I., Savchenko T.V., The use of elastography to assess the rheologic properties of the soft tissues of the human limb with normal and disturbed peripheral lymphatic circulation // Bull Exp Biol Med. 1979. Vol. 88, Nº 6. P. 1501–1503. https://doi.org/10.1007/bf00830374 [5] *Belaya E.V.*, General characterization of the rheological properties of human soft tissues based on measurements made by the local cyclic loading method and a simple phenomenological model of these properties // Mech Compos Mater. 1980. Vol. 15, Nº 4. P. 479–482. https://doi.org/10.1007/BF00605885 [6] *Mitrofanova S. I., Belaya E. V., Sapuntsov L. E. & Khodorov B. I.*, Possibility of using "elastography" to investigate the rheological properties of human soft tissues in normal and certain pathological states // Mech Compos Mater. 1980. Vol. 15, Nº 4. P. 482–484. https://doi.org/10.1007/BF00605886

[7] *Krouskop T. A., Wheeler T. M., Kallel F., Garra B. S. & Hall T.,* Elastic moduli of breast and prostate tissues under compression //Ultrasonic imaging. – 1998. – T. 20. – №. 4. – C. 260-274. https://doi.org/10.1177/016173469802000403

[8] *Fung Y.*, Elasticity of soft tissues in simple elongation // American Journal of Physiology-Legacy Content. 1967. Vol. 213, № 6. P. 1532–1544.https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1967.213.6.1532

[9] *Leucht W.J., Rabe D.R., Humbert K.-D.,* Diagnostic value of different interpretative criteria in realtime sonography of the breast // Ultrasound in Medicine & Biology. 1988. Vol. 14. P. 59–73. https://doi.org/10.1016/0301-5629(88)90048-8

[10] Zaitsev V. Y., Matveyev A. L., Matveev L. A., Sovetsky A. A., Hepburn M. S., Mowla A. & Kennedy B. F., Strain and elasticity imaging in compression optical coherence elastography: The two-decade perspective and recent advances // J. Biophotonics. 2021. Vol. 14, No 2. https://doi.org/10.1002/jbio.202000257

[11] Parker K.J., Doyley M.M., Rubens D.J., Imaging the elastic properties of tissue: the 20 year perspective // Phys. Med. Biol. 2011. Vol. 56, № 1. P. R1–R29. https://doi.org/10.1088/0031-9155/56/1/R01

[12] *Birnholz J.C., Farrell E.E.*, Fetal lung development: compressibility as a measure of maturity. // Radiology. 1985. Vol. 157, № 2. P. 495–498. https://doi.org/10.1148/radiology.157.2.3901109

[13] *Eisensher A., Schweg-Toffler E., Pelletier G., & Jacquemard G.,* La palpation échographique rythméeechosismographie //J. Radiol. – 1983. – T. 64. – C. 255-61.

[14] *Krouskop T.A., Dougherty D.R., Vinson F.S.,* A pulsed Doppler ultrasonic system for making noninvasive measurements of the mechanical properties of soft tissue // J Rehabil Res Dev. 1987 Spring Vol. 24 №2. P. 1-8. PMID: 3295197.

[15] *Ophir J.*, Elastography: A quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues // Ultrasonic Imaging. 1991. Vol. 13, № 2. P. 111–134. https://doi.org/10.1016/0161-7346(91)90079-W

[16] *Dickinson R.J., Hill C.R.*, Measurement of soft tissue motion using correlation between A-scans // Ultrasound in Medicine & Biology. 1982. Vol. 8, № 3. P. 263–271. https://doi.org/10.1016/0301-5629(82)90032-1

[17] *Varghese T., Ophir J.*, A theoretical framework for performance characterization of elastography: the strain filter // IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr. 1997. Vol. 44, № 1. P. 164–172. https://doi.org/10.1109/58.585212

[18] Vorontsov A. Y., Kuznetsov S. S., Gladkova N. D., Matveyev A. L., Sirotkina M. A., Gubarkova E. V., Sovetsky A. A., Matveev L. A., Zaitsev V. Y., Moiseev A. A. & Vorontsov D. A., Multimodal OCT characterization of human breast cancer morphological types: preliminary study // Biophotonics: Photonic Solutions for Better Health Care VI / ed. Popp J., Tuchin V.V., Pavone F.S. Strasbourg, France: SPIE, 2018. P. 119. https://doi.org/10.1117/12.2306450

[19] Gubarkova E. V., Sovetsky A. A., Zaitsev V. Yu., Matveyev A. L., Vorontsov D. A., Sirotkina M. A., Matveev L. A., Plekhanov A. A., Pavlova N. P., Kuznetsov S. S., Vorontsov A. Yu., Zagaynova E. V. & Gladkova N. D., OCT-elastography-based optical biopsy for breast cancer delineation and express assessment of morphological/molecular subtypes // Biomed. Opt. Express. 2019. Vol. 10, № 5. P. 2244. https://doi.org/10.1364/BOE.10.002244

[20] Zaitsev V. Y., Gubarkova E. V., Sovetsky A. A., Matveyev A. L., Vorontsov D. A., Matveev L. A., *Plekhanov A. A., Kuznetsov S. S., Vorontsov A. Y. & Gladkova N. D.,* Compressional optical coherence elastography for performing histology-like assessment of breast cancers // Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media III / ed. Boppart S.A., Wojtkowski M., Oh W.-Y. Munich, Germany: SPIE, 2019. P. 34.https://doi.org/10.1117/12.2526797

[21] Gubarkova E. V., Kiseleva E. B., Sirotkina M. A., Vorontsov D. A., Achkasova K. A., Kuznetsov S. S., Yashin K. S., Matveyev A. L., Sovetsky A. A., Matveev L. A., Plekhanov A. A., Vorontsov A. Y., Zaitsev V. Y. & Gladkova N. D., Diagnostic Accuracy of Cross-Polarization OCT and OCT-Elastography for Differentiation of Breast Cancer Subtypes: Comparative Study // Diagnostics. 2020. Vol. 10, № 12. P. 994. https://doi.org/10.3390/diagnostics10120994

[22] Zaitsev V. Y., Matveyev A. L., Matveev L., Sovetsky A., Plekhanov A., Gubarkova E., Sirotkina M., Zagaynova E. V. & Gladkova N., OCE-based quasistatic elasto-spectroscopy of living and freshly excised tumor tissue for histology-like morphological segmentation and express assessment of tumor subtypes // Optical Elastography and Tissue Biomechanics VIII / ed. Larin K.V., Scarcelli G. Online Only, United States: SPIE, 2021. P. 27.https://doi.org/10.1117/12.2587183

[23] Gubarkova E. V., Sovetsky A., Zaitsev V. Y., Vorontsov D., Matveev L. A., Matveyev A., Moiseev A. A., Kuznetsov S., Sirotkina M. A., Vorontsov A., Gelikonov G. V., Zagaynova E. V. & Gladkova N. D., Multimodal optical coherence tomography for quantitative diagnosis of breast cancer subtypes // Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XXIV / ed. Izatt J.A., Fujimoto J.G. San Francisco, United States: SPIE, 2020. P. 86. https://doi.org/10.1117/12.2545695

[24] Gubarkova E. V., Sovetsky A., Zaitsev V. Y., Matveev L. A., Matveyev A. L., Vorontsov D. A., Plekhanov A. A., Kuznetsov S. S., Sirotkina M. A., Vorontsov A. Y. & Gladkova N. D., Assessment of human breast cancer margins by compressional optical coherence elastography // Saratov Fall Meeting 2019: Optical and Nano-Technologies for Biology and Medicine / ed. Tuchin V.V., Genina E.A. Saratov, Russian Federation: SPIE, 2020. P. 2. https://doi.org/10.1117/12.2559460

[25] Gubarkova E. V., Plekhanov A. A., Sirotkina M. A., Vorontsov D. A., Sovetsky A. A., Matveyev A. L., Kuznetsov S. S., Matveev L. A., Zagaynova E. V., Gelikonov G. V., Vorontsov A. Y., Zaitsev V. Y. & Gladkova N. D., 1131P Intraoperative assessment of negative resection margins in breast-conserving surgery using optical coherence elastography // Annals of Oncology. 2021. Vol. 32. P. S923–S924. https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.08.773

[26] Sarvazyan A. P., Rudenko O. V., Swanson S. D., Fowlkes J. B. & Emelianov S. Y., Shear wave elasticity imaging: a new ultrasonic technology of medical diagnostics // Ultrasound in Medicine & Biology. 1998. Vol. 24, № 9. P. 1419–1435. https://doi.org/10.1016/S0301-5629(98)00110-0

[27] *Bercoff J., Tanter M., Fink M.,* Supersonic shear imaging: a new technique for soft tissue elasticity mapping // IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr. 2004. Vol. 51, № 4. P. 396–409. https://doi.org/10.1109/TUFFC.2004.1295425

[28] Cassinotto C., Boursier J., De Lédinghen V., Lebigot J., Lapuyade B., Cales P., Hiriart J.-B., Michalak S., Bail B. L., Cartier V., Mouries A., Oberti F., Fouchard-Hubert I., Vergniol J. & Aubé C., Liver stiffness in nonalcoholic fatty liver disease: A comparison of supersonic shear imaging, FibroScan, and ARFI with liver biopsy: Cassinotto et al. // Hepatology. 2016. Vol. 63, № 6. P. 1817–1827. https://doi.org/10.1002/hep.28394

[29] Huang D., Swanson E. A., Lin C. P., Schuman J. S., Stinson W. G., Chang W., Hee M. R., Flotte T., Gregory K., Puliafito C. A. & Fujimoto J. G., Optical Coherence Tomography // Science. 1991. Vol. 254, № 5035. P. 1178–1181. https://doi.org/10.1126/science.1957169

[30] *Schmitt J.M.*, OCT elastography: imaging microscopic deformation and strain of tissue // Opt. Express. 1998. Vol. 3, № 6. P. 199. https://doi.org/10.1364/OE.3.000199

[31] *Rogowska J.* Optical coherence tomographic elastography technique for measuring deformation and strain of atherosclerotic tissues // Heart. 2004. Vol. 90, № 5. P. 556–562. https://doi.org/10.1136/hrt.2003.016956

[32] *Rogowska J., Patel N., Plummer S. & Brezinski M. E.,* Quantitative optical coherence tomographic elastography: method for assessing arterial mechanical properties // BJR. 2006. Vol. 79, № 945. P. 707–711. https://doi.org/10.1259/bjr/22522280

[33] Nahas A., Bauer M., Roux S. & Boccara A. C., 3D static elastography at the micrometer scale using Full Field OCT // Biomed. Opt. Express. 2013. Vol. 4. № 10. P. 2138. https://doi.org/10.1364/boe.4.002138

[34] *Sun C., Standish B., Vuong B., Wen X.-Y. & Yang V.,* Digital image correlation–based optical coherence elastography // J. Biomed. Opt. 2013. Vol. 18, № 12. P. 121515. https://doi.org/10.1117/1.jbo.18.12.121515

[35] *Pan B., Qian K., Xie H. & Asundi A.,* Two-dimensional digital image correlation for in-plane displacement and strain measurement: a review // Meas. Sci. Technol. 2009. Vol. 20, № 6. P. 062001. http://dx.doi.org/10.1088/0957-0233/20/6/062001

[36] Zaitsev V. Yu., Gelikonov V. M., Matveev L. A., Gelikonov G. V., Matveyev A. L., Shilyagin P. A. & Vitkin I. A., Recent Trends in Multimodal Optical Coherence Tomography. I. Polarization-Sensitive OCT and Conventional Approaches to OCT Elastography // Radiophys Quantum El. 2014. Vol. 57, № 1. P. 52–66. https://doi.org/10.1007/s11141-014-9493-x

[37] Zaitsev V. Y., Matveyev A. L., Matveev L. A., Gelikonov G. V., Gelikonov V. M. & Vitkin A., Deformation-induced speckle-pattern evolution and feasibility of correlational speckle tracking in optical Biomed. elastography 2015. Vol. 20, 7. P. 075006. coherence || J. Opt. № https://doi.org/10.1117/1.jbo.20.7.075006

[38] Nahas A., Bauer M., Roux S. & Boccara A. C., 3D static elastography at the micrometer scale using 4. Full Field OCT // Biomed. Opt. Express. 2013. Vol. № 10. P. 2138. https://doi.org/10.1364/boe.4.002138

[39] Wang S., Larin K. V., Li J., Vantipalli S., Manapuram R. K., Aglyamov S., Emelianov S. & Twa M. D., A focused air-pulse system for optical-coherence-tomography-based measurements of tissue elasticity // Laser Phys. Lett. 2013. Vol. 10, № 7. P. 075605. https://doi.org/10.1088/1612-2011/10/7/075605

[40] *Wang S., Larin K.V.,* Noncontact depth-resolved micro-scale optical coherence elastography of the cornea // Biomed. Opt. Express. 2014. Vol. 5, № 11. P. 3807. https://doi.org/10.1364/BOE.5.003807

[41] Han Z., Aglyamov S. R., Li J., Singh M., Wang S., Vantipalli S., Wu C., Liu C., Twa M. D. & Larin K. V., Quantitative assessment of corneal viscoelasticity using optical coherence elastography and a

modified Rayleigh–Lamb equation // J. Biomed. Opt. 2015. Vol. 20, № 2. P. 020501. https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.2.020501

[42] Kirby M. A., Pelivanov I., Song S., Ambrozinski Ł., Yoon S. J., Gao L., Li D., Shen T. T., Wang R. K. & O'Donnell M., Optical coherence elastography in ophthalmology // J. Biomed. Opt. 2017. Vol. 22, № 12. P. 1. https://doi.org/10.1117/1.JBO.22.12.121720

[43] Li J., Wang S., Singh M., Aglyamov S., Emelianov S., Twa M. D. & Larin K. V., Air-pulse OCE for assessment of age-related changes in mouse cornea in vivo // Laser Phys. Lett. 2014. Vol. 11, № 6. P. 065601. https://doi.org/10.1088/1612-2011/11/6/065601

[44] Ambroziński Ł., Song S., Yoon S. J., Pelivanov I., Li D., Gao L., Shen T. T., Wang R. K. & O'Donnell M., Acoustic micro-tapping for non-contact 4D imaging of tissue elasticity // Sci Rep. 2016. Vol. 6, № 1.
P. 38967. https://doi.org/10.1038/srep38967

[45] Kennedy B. F., McLaughlin R. A., Kennedy K. M., Chin L., Wijesinghe P., Curatolo A., Tien A., Ronald M., Latham B., Saunders C. M. & Sampson D. Investigation of Optical Coherence Microelastography as a Method to Visualize Cancers in Human Breast Tissue // Cancer Res. 2015. Vol. 75, № 16. P. 3236–3245. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3694

[46] *Kennedy B. F., Koh S. H., McLaughlin R. A., Kennedy K. M., Munro P. R. T. & Sampson D. D.,* Strain estimation in phase-sensitive optical coherence elastography // Biomed. Opt. Express. 2012. Vol. 3, № 8. P. 1865. https://doi.org/10.1364/boe.3.001865

[47] *Ikedo T., Minami M., Kataoka H., Hayashi K., Nagata M., Fujikawa R., Yamazaki F., Setou M., Yokode M. & Miyamoto S.*, Imaging mass spectroscopy delineates the thinned and thickened walls of intracranial aneurysms // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2018. Vol. 495, № 1. P. 332–338. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.10.133

[48] *Bing P., Hui-min X., Bo-qin X. & Fu-long D.*, Performance of sub-pixel registration algorithms in digital image correlation // Meas. Sci. Technol. 2006. Vol. 17, № 6. P. 1615–1621. https://doi.org/10.1088/0957-0233/17/6/045

[49] *Fu J., Haghighi-Abayneh M., Pierron F. & Ruiz P. D.,* Depth-Resolved Full-Field Measurement of Corneal Deformation by Optical Coherence Tomography and Digital Volume Correlation // Exp Mech. 2016. Vol. 56, № 7. P. 1203–1217. https://doi.org/10.1007/s11340-016-0165-y

[50] *Kurokawa K., Makita S., Hong Y.-J. & Yasuno Y.*, In-plane and out-of-plane tissue microdisplacement measurement by correlation coefficients of optical coherence tomography // Opt. Lett. 2015. Vol. 40, № 9. P. 2153. https://doi.org/10.1364/OL.40.002153

[51] Meng F., Zhang X., Wang J., Li C., Chen J. & Sun C., 3D Strain and Elasticity Measurement of Layered Biomaterials by Optical Coherence Elastography based on Digital Volume Correlation and Virtual Fields Method Applied Sciences. 2019. Vol. 9. № 7. P. 1349. // https://doi.org/10.3390/app9071349

[52] *Li E., Makita S., Azuma S., Miyazawa A. & Yasuno Y.*, Compression optical coherence elastography with two-dimensional displacement measurement and local deformation visualization // Opt. Lett. 2019. Vol. 44, № 4. P. 787. https://doi.org/10.1364/OL.44.000787

[53] De Stefano V.S. et al. Live human assessment of depth-dependent corneal displacements with sweptsource optical coherence elastography // PLoS ONE / ed. Boote C. 2018. Vol. 13, № 12. P. e0209480. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209480

[54] *De Stefano V. S., Ford M. R., Seven I. & Dupps W. J.*, Depth-Dependent Corneal Biomechanical Properties in Normal and Keratoconic Subjects by Optical Coherence Elastography // Trans. Vis. Sci. Tech. 2020. Vol. 9, № 7. P. 4. https://doi.org/10.1167/tvst.9.7.4

[55] *Kennedy K. M., Chin L., McLaughlin R. A., Latham B., Saunders C. M., Sampson D. D. & Kennedy B. F.,* Quantitative micro-elastography: imaging of tissue elasticity using compression optical coherence elastography // Sci Rep. 2015. Vol. 5, № 1. P. 15538. https://doi.org/10.1038/srep15538

[56] Zaitsev V. Y., Matveyev A. L., Matveev L. A., Gubarkova E. V., Sovetsky A. A., Sirotkina M. A., Gelikonov G. V., Zagaynova E. V., Gladkova N. D. & Vitkin A., Practical obstacles and their mitigation strategies in compressional optical coherence elastography of biological tissues // J. Innov. Opt. Health Sci. 2017. Vol. 10, № 06. P. 1742006. https://doi.org/10.1142/S1793545817420068

[57] *Kirkpatrick S.J., Wang R.K., Duncan D.D.,* OCT-based elastography for large and small deformations // Opt. Express. 2006. Vol. 14, № 24. P. 11585. https://doi.org/10.1364/oe.14.011585

[58] Müller H. H., Ptaszynski L., Schlott K., Debbeler C., Bever M., Koinzer S., Birngruber R., Brinkmann R. & Hüttmann G., Imaging thermal expansion and retinal tissue changes during photocoagulation by high speed OCT // Biomed. Opt. Express. 2012. Vol. 3, № 5. P. 1025. https://doi.org/10.1364/boe.3.001025

[59] *Malheiro F.G.* Towards clinical optical elastography: high-speed 3D imaging using volumetric phase detection. 2014.

[60] Zaitsev V. Y., Matveyev A. L., Matveev L. A., Gelikonov G. V., Sovetsky A. A. & Vitkin A., Optimized phase gradient measurements and phase-amplitude interplay in optical coherence elastography // J. Biomed. Opt. 2016. Vol. 21, № 11. P. 116005. https://doi.org/10.1117/1.jbo.21.11.116005

[61] *Matveyev A. L., Matveev L. A., Sovetsky A. A., Gelikonov G. V., Moiseev A. A. & Zaitsev V. Y.,* Vector method for strain estimation in phase-sensitive optical coherence elastography // Laser Phys. Lett. 2018. Vol. 15, № 6. P. 065603. https://doi.org/10.1088/1612-202X/aab5e9

[62] Zaitsev V. Y., Matveev L. A., Matveyev A. L., Gelikonov G. V. & Gelikonov V. M., A model for simulating speckle-pattern evolution based on close to reality procedures used in spectral-domain OCT // Laser Phys. Lett. 2014. Vol. 11, № 10. P. 105601. https://doi.org/10.1088/1612-2011/11/10/105601

[63] Zykov A., Matveyev A., Matveev L., Sovetsky A. & Zaitsev V., Flexible Computationally Efficient Platform for Simulating Scan Formation in Optical Coherence Tomography with Accounting for Arbitrary Motions of Scatterers J-BPE. 2021. Vol. 7, № 1. P. 010304. // https://doi.org/10.18287/JBPE21.07.010304

[64] *Matveyev A. L., Matveev L. A., Moiseev A. A., Sovetsky A. A., Gelikonov G. V. & Zaitsev V. Y.,* Semi-analytical full-wave model for simulations of scans in optical coherence tomography with accounting for beam focusing and the motion of scatterers // Laser Phys. Lett. 2019. Vol. 16, № 8. P. 085601. https://doi.org/10.1088/1612-202X/ab2243

[65] Matveyev A. L., Matveev L. A., Moiseev A. A., Sovetsky A. A., Gelikonov G. V. & Zaitsev V. Y., Computationally efficient model of OCT scan formation by focused beams and its usage to demonstrate a novel principle of OCT-angiography // Laser Phys. Lett. 2020. Vol. 17, № 11. P. 115604. https://doi.org/10.1088/1612-202X/abac16

[66] *Kling S., Khodadadi H., Goksel O.,* Optical Coherence Elastography-Based Corneal Strain Imaging During Low-Amplitude Intraocular Pressure Modulation // Front. Bioeng. Biotechnol. 2020. Vol. 7. P. 453. https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00453

[67] *Singh M., Nair A., Aglyamov S. R. & Larin K. V.,* Compressional Optical Coherence Elastography of the Cornea // Photonics. 2021. Vol. 8, № 4. P. 111. https://doi.org/10.3390/photonics8040111

[68] Sobol E. N., Milner T. E., Shekhter A. B., Baum O. I., Guller A. E., Ignatieva N. Y., Omelchenko A. I.
& Zakharkina O. L., Laser reshaping and regeneration of cartilage // Laser Phys. Lett. 2007. Vol. 4, № 7.
P. 488–502. https://doi.org/10.1002/lapl.200710019

[69] Baum O. I., Soshnikova Y. M., Sobol E. N., Korneychuk A. Ya., Obrezkova M. V., Svistushkin V. M., Timofeeva O. K. & Lunin V. V., Laser reshaping of costal cartilage for transplantation: LASER RESHAPING OF COSTAL CARTILAGE // Lasers Surg. Med. 2011. Vol. 43, № 6. P. 511–515. https://doi.org/10.1002/lsm.21077 [70] *Baum O. I., Alexandrovskaya Y. M., Svistushkin V. M., Starostina S. V. & Sobol E. N.,* New clinical application of laser correction of cartilage shape for implantation in otolaryngology // Laser Phys. Lett. 2019. Vol. 16, № 3. P. 035603. https://doi.org/10.1088/1612-202X/aafd21

[71] Liu C.-H., Singh M., Li J., Han Z., Wu C., Wang S., Idugboe R., Raghunathan R., Sobol E. N., Tuchin V. V., Twa M. & Larin K. V., Quantitative Assessment of Hyaline Cartilage Elasticity During Optical Clearing Using Optical Coherence Elastography // Sovrem Tehnol Med. 2015. Vol. 7, № 1. P. 44–51. http://doi.org/10.17691/stm2015.7.1.06

[72] Alexandrovskaya Y. M., Evtushenko E. G., Obrezkova M. M., Tuchin V. V. & Sobol E. N., Control of optical transparency and infrared laser heating of costal cartilage via injection of iohexol // J. Biophotonics. 2018. Vol. 11, № 12. P. e201800195. https://doi.org/10.1002/jbio.201800195

[73] *Tuchina D. K., Bashkatov A. N., Genina E. A. & Tuchin V. V.*, The Effect of Immersion Agents on the Weight and Geometric Parameters of Myocardial Tissue in Vitro // BIOPHYSICS. 2018. Vol. 63, № 5. P. 791–797. https://doi.org/10.1134/S0006350918050238

[74] Zaitsev V. Y., Matveyev A. L., Matveev L. A., Gelikonov G. V., Omelchenko A. I., Shabanov D. V., Baum O. I., Svistushkin V. M. & Sobol E. N., Optical coherence tomography for visualizing transient strains and measuring large deformations in laser-induced tissue reshaping // Laser Phys. Lett. 2016. Vol. 13, № 11. P. 115603. https://doi.org/10.1088/1612-2011/13/11/115603

[75] Zaitsev V. Y., Matveyev A. L., Matveev L. A., Gelikonov G. V., Omelchenko A. I., Baum O. I., Avetisov S. E., Bolshunov A. V., Siplivy V. I., Shabanov D. V., Vitkin A. & Sobol E. N., Optical coherence elastography for strain dynamics measurements in laser correction of cornea shape // J. Biophotonics. 2017. Vol. 10, № 11. P. 1450–1463. https://doi.org/10.1002/jbio.201600291

[76] Zaitsev V. Y., Matveyev A. L., Matveev L. A., Gelikonov G. V., Baum O. I., Omelchenko A. I., Shabanov D. V., Sovetsky A. A., Yuzhakov A. V., Fedorov A. A., Siplivy V. I., Bolshunov A. V. & Sobol E. N., Revealing structural modifications in thermomechanical reshaping of collagenous tissues using optical coherence elastography // J. Biophotonics. 2019. Vol. 12, № 3. https://doi.org/10.1002/jbio.201800250

[77] Zaitsev V. Y., Matveyev A. L., Matveev L. A., Gelikonov G. V., Gubarkova E. V., Gladkova N. D. & Vitkin A., Hybrid method of strain estimation in optical coherence elastography using combined subwavelength phase measurements and supra-pixel displacement tracking // J. Biophoton. 2016. Vol. 9, № 5. P. 499–509. https://doi.org/10.1002/jbio.201500203

[78] Baum O. I., Zaitsev V. Y., Yuzhakov A. V., Sviridov A. P., Novikova M. L., Matveyev A. L., Matveev L. A., Sovetsky A. A. & Sobol E. N., Interplay of temperature, thermal-stresses and strains in laser-assisted modification of collagenous tissues: Speckle-contrast and OCT-based studies // J. Biophotonics. 2020. Vol. 13, № 1. https://doi.org/10.1002/jbio.201900199

[79] Zaitsev V. Y., Matveev L. A., Matveyev A. L., Sovetsky A. A., Shabanov D. V., Ksenofontov S. Y., Gelikonov G. V., Baum O. I., Omelchenko A. I., Yuzhakov A. V. & Sobol E. N., Optimization of phase-resolved optical coherence elastography for highly-sensitive monitoring of slow-rate strains // Laser Phys. Lett. 2019. Vol. 16, No 6. P. 065601. https://doi.org/10.1088/1612-202x/ab183c

[80] Alexandrovskaya Y. M., Baum O. I., Sovetsky A. A., Matveyev A. L., Matveev L. A., Sobol E. N. & Zaitsev V. Y., Observation of internal stress relaxation in laser-reshaped cartilaginous implants using OCT-based strain mapping // Laser Phys. Lett. 2020. Vol. 17, № 8. P. 085603. https://doi.org/10.1088/1612-202X/ab9446

[81] Sovetsky A. A., Matveyev A. L., Matveev L. A., Shabanov D. V. & Zaitsev V. Y., Manually-operated compressional optical coherence elastography with effective aperiodic averaging: demonstrations for corneal and cartilaginous tissues // Laser Phys. Lett. 2018. Vol. 15, № 8. P. 085602. https://doi.org/10.1088/1612-202X/aac879
[82] *Qiu Y., Zaki F. R., Chandra N., Chester S. A. & Liu X.*, Nonlinear characterization of elasticity using quantitative optical coherence elastography // Biomed. Opt. Express. 2016. Vol. 7, № 11. P. 4702. https://doi.org/10.1364/boe.7.004702

[83] Allen W. M., Chin L., Wijesinghe P., Kirk R. W., Latham B., Sampson D. D., Saunders C. M. & Kennedy B. F., Wide-field optical coherence micro-elastography for intraoperative assessment of human breast cancer margins // Biomed. Opt. Express. 2016. Vol. 7, № 10. P. 4139. https://doi.org/10.1364/BOE.7.004139

[84] Sovetsky A. A., Matveyev A. L., Matveev L. A. & Zaitsev V. Y., Mapping large strains and suprapixel displacements in phase-sensitive OCT / A.A. Sovetsky, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, and V.Y. Zaitsev // Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media IV / ed. Wojtkowski M., Yasuno Y., Vakoc B.J. Online Only, Germany: SPIE, 2021. P. 39.https://doi.org/10.1117/12.2616118
[85] *Wang S., Larin K.V.*, Optical coherence elastography for tissue characterization: a review // J. Biophoton. 2015. Vol. 8, № 4. P. 279–302. https://doi.org/10.1002/jbio.201400108

[86] *Larin K.V., Sampson D.D.,* Optical coherence elastography – OCT at work in tissue biomechanics [Invited] // Biomed. Opt. Express. 2017. Vol. 8, № 2. P. 1172. https://doi.org/10.1364/boe.8.001172

[87] *Kennedy B.F., Wijesinghe P., Sampson D.D.*, The emergence of optical elastography in biomedicine // Nature Photon. 2017. Vol. 11, № 4. P. 215–221. https://doi.org/10.1038/nphoton.2017.6

[88] Saada A. S., Irvine T. F., Hartnett J. P. & Hughes W. F., Elasticity Pergamon Unified Engineering Series. 2016. ISBN: 9781483139425

[89] *Kheirkhah N., Sadeghi-Naini A., Samani A.* Analytical Estimation of Out-of-plane Strain in Ultrasound Elastography to Improve Axial and Lateral Displacement Fields * // 2020 42nd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine & Biology Society (EMBC). Montreal, QC, Canada: IEEE, 2020. P. 2055–2058. https://doi.org/10.1109/EMBC44109.2020.9176086

[90] *Hunt R.E.* Geotechnical investigation methods: a field guide for geotechnical engineers. Boca Raton, FL: CRC/Taylor & Francis, 2007. 342 p. ISBN 1-4200-4274-2

[91] Gubarkova E. V., Sovetsky A. A., Zaitsev V. Yu., Matveev L. A., Matveyev A. L., Vorontsov D. A., *Timofeeva L. B., Kiseleva E. B., Vorontsov A. Yu., Kuznetsova I. A. & Gladkova N. D.*, Comparison of elastic properties of tissue samples in various pathological states using optical coherence elastography // Saratov Fall Meeting 2018: Optical and Nano-Technologies for Biology and Medicine / ed. Tuchin V.V., Genina E.A. Saratov, Russian Federation: SPIE, 2019. P. 14. https://doi.org/10.1117/12.2521529

[92] Sovetsky A. A., Matveev L. A., Gubarkova E. V., Matveyev A. L., Sirotkina M. A., Gladkova N. D. & Zaitsev V. Y., OCT-based characterization of the nonlinear properties of biological tissues in various states // Biophotonics: Photonic Solutions for Better Health Care VI / ed. Popp J., Tuchin V.V., Pavone F.S. Strasbourg, France: SPIE, 2018. P. 114. https://doi.org/10.1117/12.2306246

[93] Zaitsev V.Yu. et al. Manifestations of nonlinear elasticity of biological tissues in compressional optical coherence elastography / ed. Amelink A., Vitkin I.A. Munich, Germany, 2017. P. 1041304. https://doi.org/10.1117/12.2284663

[94] Zaitsev V. Yu., Matveyev A. L., Matveev L. A., Gubarkova E. V., Sovetsky A. A., Sirotkina M. A., Gelikonov G. V., Zagaynova E. V., Gladkova N. D. & Vitkin A., Quantitative compressional OCE: obviating pitfalls in using pre-calibrated compliant layers and some other practical obstacles // Seventh International Conference on Lasers in Medicine / ed. Todea C., Podoleanu A., Duma V.-F. Timisoara, Romania: SPIE, 2018. P. 8. https://doi.org/10.1117/12.2280209

[95] *Matveev L. A., Sovetsky A. A., Matveyev A. L., Baum O., Omelchenko A., Yuzhakov A., Sobol E. & Zaitsev V. Y.,* Optical coherence elastography for characterization of natural interstitial gaps and laser-irradiation-produced porosity in corneal and cartilaginous samples / L.A. Matveev, A.A. Sovetsky, A.L. Matveyev, O. Baum, A. Omelchenko, A. Yuzhakov, E. Sobol, and V.Y. Zaitsev // Biomedical

Spectroscopy, Microscopy, and Imaging / ed. Popp J., Gergely C. Online Only, France: SPIE, 2020. P. 15. https://doi.org/10.1117/12.2554402

[96] *Morlier P.*, Description de l'état de fissuration d'une roche à partir d'essais non-destructifs simples // Rock Mechanics. 1971. Vol. 3, № 3. P. 125–138. https://doi.org/10.1007/bf01238439

[97] Zhu J., Qi L., Miao Y., Ma T., Dai C., Qu Y., He Y., Gao Y., Zhou Q. & Chen Z., 3D mapping of elastic modulus using shear wave optical micro-elastography // Sci Rep. 2016. Vol. 6, № 1. P. 35499. https://doi.org/10.1038/srep35499

[98] Wu C., Han Z., Wang S., Li J., Singh M., Liu C. -h., Aglyamov S., Emelianov S., Manns F. & Larin K. V., Assessing Age-Related Changes in the Biomechanical Properties of Rabbit Lens Using a Coaligned Ultrasound and Optical Coherence Elastography System // Investigative Ophthalmology & Visual Science. 2015. Vol. 56, № 2. P. 1292–1300. https://doi.org/10.1167/iovs.14-15654

[99] *Greenleaf J.F., Fatemi M., Insana M.,* Selected Methods for Imaging Elastic Properties of Biological Tissues // Annu. Rev. Biomed. Eng. 2003. Vol. 5, № 1. P. 57–78. https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.5.040202.121623

[100] *Larin K.V., Sampson D.D.*, Optical coherence elastography – OCT at work in tissue biomechanics [Invited] // Biomed. Opt. Express. 2017. Vol. 8, № 2. P. 1172. https://doi.org/10.1364/BOE.8.001172

[101] Viktorov I.А., Звуковые поверхностные волны в твердых телах. Nauka, 1981. 296 р.

[102] Sovetsky A. A., Matveyev A. L., Matveev L. A., Gubarkova E. V., Plekhanov A. A., Sirotkina M. A., Gladkova N. D. & Zaitsev V. Y., Full-optical method of local stress standardization to exclude nonlinearity-related ambiguity of elasticity estimation in compressional optical coherence elastography // Laser Phys. Lett. 2020. Vol. 17, № 6. P. 065601. https://doi.org/10.1088/1612-202X/ab8794

[103] *Bolshunov A., Sobol E., Avetisov S., Baum O., Siplivy V., Omelchenko A. & Fedorov A.,* A new method of the eye refraction correction under non-ablative laser radiation // Acta Ophthalmologica. 2011. Vol. 89, № s248. P. 0–0. https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.2011.2172.x

[104] *Baum O., Wachsmann-Hogiu S., Milner T. & Sobol E.,* Laser-assisted formation of micropores and nanobubbles in sclera promote stable normalization of intraocular pressure // Laser Phys. Lett. 2017. Vol. 14, № 6. P. 065601. https://doi.org/10.1088/1612-202X/aa6b1a

[105] Baum O. I., Yuzhakov A. V., Bolshunov A. V., Siplivyi V. I., Khomchik O. V., Zheltov G. I. & Sobol E. N., New laser technologies in ophthalmology for normalisation of intraocular pressure and correction of refraction // Quantum Electron. 2017. Vol. 47, № 9. P. 860–866. https://doi.org/10.1070/QEL16368

[106] Sobol E., Baum O., Shekhter A., Wachsmann-Hogiu S., Shnirelman A., Alexandrovskaya Y., Sadovskyy I. & Vinokur V., Laser-induced micropore formation and modification of cartilage structure in osteoarthritis healing // J. Biomed. Opt. 2017. Vol. 22, № 9. P. 091515. https://doi.org/10.1117/1.JBO.22.9.091515

[107] *Sobol E.N.* Phase transformations and ablation in laser-treated solids. New York: Wiley, 1995. 332 p. ISBN: 9780471598992

[108] O'Connell R.J., Budiansky B., Seismic velocities in dry and saturated cracked solids // J. Geophys. Res. 1974. Vol. 79, № 35. P. 5412–5426. https://doi.org/10.1029/JB079i035p05412

[109] *Jaeger J.C., Cook N.G.W., Zimmerman R.W.*, Fundamentals of rock mechanics. 4th ed. Malden, MA: Blackwell Pub, 2007. 475 p. ISBN-13: 978-0-632-05759-7

[110] Zaitsev V. Yu., A model of anomalous elastic nonlinearity of microinhomogeneous media // Acoustics Letters. 1996. Vol. 19, № 9. P. 171-174. – EDN MQGNCZ. ISSN: 0140-1599

[111] *Belyaeva I. Y., Zaitsev V. Y.*, Nonlinear elastic properties of microinhomogeneous hierarchically structured media //Acoustical Physics. 1997. T. 43, №. 5. P. 510-515.

[112] *Zaitsev V., Sas P.*, Elastic Moduli and Dissipative Properties of Microinhomogeneous Solids with Isotropically Oriented Defects // Acta Acustica united with Acustica. 2000. Vol. 86, № 2. P. 216–228.

[113] *Zaitsev V. Y., Radostin A. V., Pasternak E. & Dyskin A.,* Extracting shear and normal compliances of crack-like defects from pressure dependences of elastic-wave velocities // International Journal of Rock Mechanics and Mining Sciences. 2017. Vol. 97. P. 122–133. https://doi.org/10.1016/j.ijrmms.2017.04.009

[114] *Mavko G.M., Nur A.* The effect of nonelliptical cracks on the compressibility of rocks // J. Geophys. Res. 1978. Vol. 83, № B9. P. 4459. https://doi.org/10.1029/JB083iB09p04459

[115] Baum O. I., Sobol E. N., Bolshunov A. V., Fedorov A. A., Khomchik O. V., Omelchenko A. I. & Shcherbakov E. M., Microstructural changes in sclera under thermo-mechanical effect of 1.56 µm laser radiation increasing transscleral humor outflow: MICROSTRUCTURAL CHANGES IN SCLERA // Lasers Surg. Med. 2014. Vol. 46, № 1. P. 46–53. https://doi.org/10.1002/lsm.22202

[116] Shilyagin P. A., Matveev L. A., Kiseleva E. B., Moiseev A. A., Zaitsev V. Y., Sovietsky A. A., Shabanov D. V., Gelikonov V. M., Yashin K. S., Achkasova K. A., Gladkova N. D. & Gelikonov G. V., Stabilization of the Scanning Pattern for Three-Dimensional Phase-Sensitive OCT Modalities: Angiography, Relaxography, and Monitoring of Slow Processes // Sovrem Tehnol Med. 2019. Vol. 11, N 2. P. 25. https://doi.org/10.17691/stm2019.11.2.04

[117] *Genina E. A., Bashkatov A. N., Sinichkin Y. P., Yanina I. Yu. & Tuchin V. V.,* Optical clearing of biological tissues: prospects of application in medical diagnostics and phototherapy // JBPE. 2015. Vol. 1, № 1. P. 22–58. https://doi.org/10.18287/jbpe-2015-1-1-22

[118] *Maroudas A.*, Biophysical chemistry of cartilaginous tissues with special reference to solute and fluid transport1 // BIR. 1975. Vol. 12, № 3–4. P. 233–248. https://doi.org/10.3233/BIR-1975-123-416

[119] *Maroudas A.*, Balance between swelling pressure and collagen tension in normal and degenerate cartilage // Nature. 1976. Vol. 260, № 5554. P. 808–809. https://doi.org/10.1038/260808a0

[120] *Wen X., Mao Z., Han Z., Tuchin V. V. & Zhu D.,* In vivo skin optical clearing by glycerol solutions: mechanism // J. Biophoton. 2009. Vol. 3, № 1–2. P. 44–52. https://doi.org/10.1002/jbio.200910080

[121] *Zhu X., Huang L., Zheng Y., Song Y., Xu Q., Wang J., Si K., Duan S. & Gong W.,* Ultrafast optical clearing method for three-dimensional imaging with cellular resolution // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2019. Vol. 116, № 23. P. 11480–11489. https://doi.org/10.1073/pnas.1819583116

[122] *Lai J.-H., Liao E.-Y., Liao Y.-H. & Sun C.-K.*, Investigating the optical clearing effects of 50% glycerol in ex vivo human skin by harmonic generation microscopy // Sci Rep. 2021. Vol. 11, № 1. P. 329. https://doi.org/10.1038/s41598-020-77889-z

[123] *Mao Z., Zhu D., Hu Y., Wen X. & Han Z.*, Influence of alcohols on the optical clearing effect of skin in vitro // J. Biomed. Opt. 2008. Vol. 13, № 2. P. 021104. https://doi.org/10.1117/1.2892684

[124] Alexandrovskaya Y., Sadovnikov K., Sharov A., Sherstneva A., Evtushenko E., Omelchenko A., Obrezkova M., Tuchin V., Lunin V. & Sobol E., Controlling the near-infrared transparency of costal cartilage by impregnation with clearing agents and magnetite nanoparticles // J. Biophotonics. 2018. Vol. 11, № 2. P. e201700105. https://doi.org/10.1002/jbio.201700105

[125] *Meador W. D., Zhou J., Malinowski M., Jazwiec T., Calve S., Timek T. A. & Rausch M. K.,* The effects of a simple optical clearing protocol on the mechanics of collagenous soft tissue // Journal of Biomechanics. 2021. Vol. 122. P. 110413. https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2021.110413

[126] *Schwenninger D., Priebe H.-J., Schneider M., Runck H. & Guttmann J.*, Optical clearing: impact of optical and dielectric properties of clearing solutions on pulmonary tissue mechanics // Journal of Applied Physiology. 2017. Vol. 123, № 1. P. 27–37. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00234.2016

[127] *Neu C. P., Novak T., Gilliland K. F., Marshall P. & Calve S.,* Optical clearing in collagen- and proteoglycan-rich osteochondral tissues // Osteoarthritis and Cartilage. 2015. Vol. 23, № 3. P. 405–413. https://doi.org/10.1016/j.joca.2014.11.021 [128] *Tanaka Y., Kubota A., Yamato M., Okano T. & Nishida K.,* Irreversible optical clearing of sclera by dehydration and cross-linking // Biomaterials. 2011. Vol. 32, № 4. P. 1080–1090. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.10.002

[129] *Turunen M. J., Töyräs J., Lammi M. J., Jurvelin J. S. & Korhonen R. K.,* Hyperosmolaric contrast agents in cartilage tomography may expose cartilage to overload-induced cell death // Journal of Biomechanics. 2012. Vol. 45, № 3. P. 497–503. https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2011.11.049

[130] Honkanen J. T. J., Turunen M. J., Tiitu V., Jurvelin J. S. & Töyräs J., Transport of Iodine Is Different in Cartilage and Meniscus // Ann Biomed Eng. 2016. Vol. 44, № 7. P. 2114–2122. https://doi.org/10.1007/s10439-015-1513-2

[131] Kulmala K. A. M., Korhonen R. K., Julkunen P., Jurvelin J. S., Quinn T. M., Kröger H. & Töyräs J., Diffusion coefficients of articular cartilage for different CT and MRI contrast agents // Medical Engineering & Physics. 2010. Vol. 32, № 8. P. 878–882. https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2010.06.002

[132] *Guilak F., Erickson G.R., Ting-Beall H.P.,* The Effects of Osmotic Stress on the Viscoelastic and Physical Properties of Articular Chondrocytes // Biophysical Journal. 2002. Vol. 82, № 2. P. 720–727. https://doi.org/10.1016/S0006-3495(02)75434-9

[133] Roffay C., Molinard G., Kim K., Urbanska M., Andrade V., Barbarasa V., Nowak P., Mercier V., García-Calvo J., Matile S., Loewith R., Echard A., Guck J., Lenz M. & Roux A., Passive coupling of membrane tension and cell volume during active response of cells to osmosis // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2021. Vol. 118, № 47. P. e2103228118. https://doi.org/10.1073/pnas.2103228118

[134] Bashkatov A. N., Berezin K. V., Dvoretskiy K. N., Chernavina M. L., Genina E. A., Genin V. D. & Kochubey V. I., Measurement of tissue optical properties in the context of tissue optical clearing // J. Biomed. Opt. 2018. Vol. 23, № 09. P. 1. https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.9.091416

[135] *Hoyt L.F.*, New Table of the Refractive Index of Pure Glycerol at 20°C // Ind. Eng. Chem. 1934. Vol. 26, № 3. P. 329–332. https://doi.org/10.1021/ie50291a023

[136] *Wan M., Ma H., Zhao Y., Xie L. & Chen Z.*, Clinical Benefits of Preoperative Conventional Fluorescence Diagnosis in Surgical Treatment of Extramammary Paget Disease // Dermatol Surg. 2018. Vol. 44, № 3. P. 375–382. https://doi.org/10.1097/DSS.00000000001329

[137] *Cho S.S., Salinas R., Lee J.Y.K.*, Indocyanine-Green for Fluorescence-Guided Surgery of Brain Tumors: Evidence, Techniques, and Practical Experience // Front. Surg. 2019. Vol. 6. P. 11. https://doi.org/10.3389/fsurg.2019.00011

[138] Natal R. A., Vassallo J., Paiva G. R., Pelegati V. B., Barbosa G. O., Mendonça G. R., Bondarik C., Derchain S. F., Carvalho H. F., Lima C. S., Cesar C. L. & Sarian L. O., Collagen analysis by secondharmonic generation microscopy predicts outcome of luminal breast cancer // Tumour Biol. 2018. Vol. 40, № 4. P. 101042831877095. https://doi.org/10.1177/1010428318770953

[139] Yashin K. S., Kiseleva E. B., Moiseev A. A., Kuznetsov S. S., Timofeeva L. B., Pavlova N. P., Gelikonov G. V., Medyanik I. A., Kravets L. Ya., Zagaynova E. V. & Gladkova N. D., Quantitative nontumorous and tumorous human brain tissue assessment using microstructural co- and cross-polarized optical coherence tomography // Sci Rep. 2019. Vol. 9, № 1. P. 2024. https://doi.org/10.1038/s41598-019-38493-y

[140] Moiseev A., Snopova L., Kuznetsov S., Buyanova N., Elagin V., Sirotkina M., Kiseleva E., Matveev L., Zaitsev V., Feldchtein F., Zagaynova E., Gelikonov V., Gladkova N., Vitkin A. & Gelikonov G., Pixel classification method in optical coherence tomography for tumor segmentation and its complementary usage with OCT microangiography // J. Biophotonics. 2018. Vol. 11, № 4. P. e201700072. https://doi.org/10.1002/jbio.201700072

[141] Allen W. M., Foo K. Y., Zilkens R., Kennedy K. M., Fang Q., Chin L., Dessauvagie B. F., Latham B., Saunders C. M. & Kennedy B. F., Clinical feasibility of optical coherence micro-elastography for

imaging tumor margins in breast-conserving surgery // Biomed. Opt. Express. 2018. Vol. 9, № 12. P. 6331. https://doi.org/10.1364/BOE.9.006331

[142] Plekhanov A. A., Gubarkova E. V., Sovietsky A. A., Zaitsev V. Y., Matveev L. A., Matveyev A. L., *Timofeeva L. B., Kuznetsov S. S., Zagaynova E. V., Gladkova N. D. & Sirotkina M. A.*, Optical Coherence Elastography for Non-Invasive Monitoring of Tumor Elasticity under Chemotherapy: Pilot Study // Sovrem Tehnol Med. 2018. Vol. 10, № 3. P. 43. https://doi.org/10.17691/stm2018.10.3.5

[143] *Hönig A., Rieger L., Sutterlin M., Dietl J. & Solomayer E.-F.*, Preoperative Chemotherapy and Endocrine Therapy in Patients with Breast Cancer // Clinical Breast Cancer. 2004. Vol. 5, № 3. P. 198–207. https://doi.org/10.3816/CBC.2004.n.023

[144] *Schulz-Wendtland R.,* Neoadjuvant chemotherapy – monitoring: clinical examination, ultrasound, mammography, MRI, elastography: Only one, only few or all? // European Journal of Radiology. 2012. Vol. 81. P. S147–S148. https://doi.org/10.1016/s0720-048x(12)70061-x

[145] *Shin H. J., Kim H. H., Ahn J. H., Kim S.-B., Jung K. H., Gong G., Son B. H. & Ahn S. H.,* Comparison of mammography, sonography, MRI and clinical examination in patients with locally advanced or inflammatory breast cancer who underwent neoadjuvant chemotherapy // BJR. 2011. Vol. 84, № 1003. P. 612–620. https://doi.org/10.1259/bjr/74430952

[146] Van Cruchten S., Van den Broeck W., Morphological and Biochemical Aspects of Apoptosis, Oncosis and Necrosis // Anatom Histol Embryol. 2002. Vol. 31, № 4. P. 214–223. https://doi.org/10.1046/j.1439-0264.2002.00398.x

[147] Plekhanov A. A., Sirotkina M. A., Sovetsky A. A., Gubarkova E. V., Kuznetsov S. S., Matveyev A. L., Matveev L. A., Zagaynova E. V., Gladkova N. D. & Zaitsev V. Y., Histological validation of in vivo assessment of cancer tissue inhomogeneity and automated morphological segmentation enabled by Coherence Elastography Rep. 2020. Vol. 10. № 1. P. Optical // Sci 11781. https://doi.org/10.1038/s41598-020-68631-w

[148] *Chen H.X., Gore-Langton R.E., Cheson B.D.,* Clinical trials referral resource: Current clinical trials of the anti-VEGF monoclonal antibody bevacizumab // Oncology (Williston Park). 2001. Vol. 15, № 8. P. 1017, 1020, 1023–1026.

[149] Effects and side-effects of cisplatin // Lancet. 1982. Vol. 1, № 8273. P. 682.

[150] Sirotkina M. A., Gubarkova E. V., Plekhanov A. A., Sovetsky A. A., Elagin V. V., Matveyev A. L., Matveev L. A., Kuznetsov S. S., Zagaynova E. V., Gladkova N. D. & Zaitsev V. Y., In vivo assessment of functional and morphological alterations in tumors under treatment using OCT-angiography combined 11. N⁰ with OCT-elastography // Biomed. Opt. Express. 2020. Vol. 3. P. 1365. https://doi.org/10.1364/BOE.386419

[151] Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R. L., Torre L. A. & Jemal A., Global cancer statistics
2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2018. Vol. 68, № 6. P. 394–424. https://doi.org/10.3322/caac.21492
[152] Aleskandarany M. A., Vandenberghe M. E., Marchiò C., Ellis I. O., Sapino A. & Rakha E. A., Tumour Heterogeneity of Breast Cancer: From Morphology to Personalised Medicine // Pathobiology. 2018. Vol. 85, № 1–2. P. 23–34. https://doi.org/10.1159/000477851

[153] *Iwao K.*, Molecular classification of primary breast tumors possessing distinct prognostic properties // Human Molecular Genetics. 2002. Vol. 11, № 2. P. 199–206. https://doi.org/10.1093/hmg/11.2.199

[154] *Allison K.H.,* Molecular Pathology of Breast Cancer: What a Pathologist Needs to Know // Am J Clin Pathol. 2012. Vol. 138, № 6. P. 770–780. https://doi.org/10.1309/AJCPIV9IQ1MRQMOO

[155] Moran M. S., Schnitt S. J., Giuliano A. E., Harris J. R., Khan S. A., Horton J., Klimberg S., Chavez-MacGregor M., Freedman G., Houssami N., Johnson P. L. & Morrow M., Society of Surgical Oncology– American Society for Radiation Oncology Consensus Guideline on Margins for Breast-Conserving Surgery With Whole-Breast Irradiation in Stages I and II Invasive Breast Cancer // International Journal of Radiation Oncology*Biology*Physics. 2014. Vol. 88, № 3. P. 553–564. https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2013.11.012

[156] *Luini A., Rososchansky J., Gatti G., Zurrida S., Caldarella P., Viale G., Rosali dos Santos G. & Frasson A.,* The surgical margin status after breast-conserving surgery: discussion of an open issue // Breast Cancer Res Treat. 2009. Vol. 113, № 2. P. 397–402. https://doi.org/10.1007/s10549-008-9929-0

[157] Catalano O. A., Horn G. L., Signore A., Iannace C., Lepore M., Vangel M., Luongo A., Catalano M., Lehman C., Salvatore M., Soricelli A., Catana C., Mahmood U. & Rosen B. R., PET/MR in invasive ductal breast cancer: correlation between imaging markers and histological phenotype // Br J Cancer. 2017. Vol. 116, № 7. P. 893–902. https://doi.org/10.1038/bjc.2017.26

[158] Nguyen F. T., Zysk A. M., Chaney E. J., Kotynek J. G., Oliphant U. J., Bellafiore F. J., Rowland K. M., Johnson P. A. & Boppart S. A., Intraoperative Evaluation of Breast Tumor Margins with Optical Coherence Tomography // Cancer Research. 2009. Vol. 69, № 22. P. 8790–8796. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-4340

[159] *Yao X., Gan Y., Chang E., Hibshoosh H., Feldman S. & Hendon C.,* Visualization and tissue classification of human breast cancer images using ultrahigh-resolution OCT: VISUALIZATION AND TISSUE CLASSIFICATION OF HUMAN BREAST // Lasers Surg. Med. 2017. Vol. 49, № 3. P. 258–269. https://doi.org/10.1002/lsm.22654

[160] South F. A., Chaney E. J., Marjanovic M., Adie S. G. & Boppart S. A., Differentiation of ex vivo human breast tissue using polarization-sensitive optical coherence tomography // Biomed. Opt. Express. 2014. Vol. 5, № 10. P. 3417. https://doi.org/10.1364/BOE.5.003417

[161] *Patel R., Khan A., Quinlan R. & Yaroslavsky A. N.,* Polarization-Sensitive Multimodal Imaging for Detecting Breast Cancer // Cancer Res. 2014. Vol. 74, № 17. P. 4685–4693. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-2411

[162] *Plekhanov A., Sirotkina M., Sovetsky A., Gubarkova E., Kiseleva E., Zaitsev V. Yu., Matveev L., Matveyev A., Kuznetsov S., Zagaynova E. & Gladkova N. D.,* Optical coherence elastography as a new method for estimation of chemotherapy efficacy on triple-negative breast cancer in the experiment // Saratov Fall Meeting 2018: Optical and Nano-Technologies for Biology and Medicine / ed. Tuchin V.V., Genina E.A. Saratov, Russian Federation: SPIE, 2019. P. 15. https://doi.org/10.1117/12.2521571

[163] *Hepburn M. S., Wijesinghe P., Chin L. & Kennedy B. F.,* Analysis of spatial resolution in phasesensitive compression optical coherence elastography // Biomed. Opt. Express. 2019. Vol. 10, № 3. P. 1496. https://doi.org/10.1364/BOE.10.001496

[164] Burnside E. S., Hall T. J., Sommer A. M., Hesley G. K., Sisney G. A., Svensson W. E., Fine J. P., Jiang J. & Hangiandreou N. J., Differentiating Benign from Malignant Solid Breast Masses with US Strain Imaging // Radiology. 2007. Vol. 245, № 2. P. 401–410. https://doi.org/10.1148/radiol.2452061805

[165] Shiina T., Nightingale K. R., Palmeri M. L., Hall T. J., Bamber J. C., Barr R. G., Castera L., Choi B. I., Chou Y.-H., Cosgrove D., Dietrich C. F., Ding H., Amy D., Farrokh A., Ferraioli G. et al., WFUMB Guidelines and Recommendations for Clinical Use of Ultrasound Elastography: Part 1: Basic Principles and Terminology // Ultrasound in Medicine & Biology. 2015. Vol. 41, № 5. P. 1126–1147. https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2015.03.009

[166] Sigrist R. M. S., Liau J., Kaffas A. E., Chammas M. C. & Willmann J. K., Ultrasound Elastography: Review of Techniques and Clinical Applications // Theranostics. 2017. Vol. 7, № 5. P. 1303–1329. https://doi.org/10.7150/thno.18650

[167] Rippy J. R., Singh M., Aglyamov S. R. & Larin K. V., Ultrasound Shear Wave Elastography and Transient Optical Coherence Elastography: Side-by-Side Comparison of Repeatability and Accuracy // IEEE Open J. Eng. Med. Biol. 2021. Vol. 2. P. 179–186. https://doi.org/10.1109/OJEMB.2021.3075569

[168] Seo M., Ahn H. S., Park S. H., Lee J. B., Choi B. I., Sohn Y.-M. & Shin S. Y., Comparison and Combination of Strain and Shear Wave Elastography of Breast Masses for Differentiation of Benign and Malignant Lesions by Quantitative Assessment: Preliminary Study: Strain and Shear Wave Elastography of Breast Masses // J Ultrasound Med. 2018. Vol. 37, № 1. P. 99–109. https://doi.org/10.1002/jum.14309 [169] Chang J. M., Won J.-K., Lee K.-B., Park I. A., Yi A. & Moon W. K., Comparison of Shear-Wave and Strain Ultrasound Elastography in the Differentiation of Benign and Malignant Breast Lesions // American Journal Roentgenology. Vol. 201, 2. P. W347–W356. of 2013. № https://doi.org/10.2214/AJR.12.10416

[170] Evans A., Whelehan P., Thomson K., McLean D., Brauer K., Purdie C., Jordan L., Baker L. & Thompson A., Quantitative shear wave ultrasound elastography: initial experience in solid breast masses // Breast Cancer Res. 2010. Vol. 12, № 6. P. R104. https://doi.org/10.1186/bcr2787

[171] *Ricci P., Maggini E., Mancuso E., Lodise P., Cantisani V. & Catalano C.,* Clinical application of breast elastography: State of the art // European Journal of Radiology. 2014. Vol. 83, № 3. P. 429–437. https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2013.05.007

[172] *Ramião N. G., Martins P. S., Rynkevic R., Fernandes A. A., Barroso M. & Santos D. C.,* Biomechanical properties of breast tissue, a state-of-the-art review // Biomech Model Mechanobiol. 2016. Vol. 15, № 5. P. 1307–1323. https://doi.org/10.1007/s10237-016-0763-8

[173] Zaitsev V. Y., Nonlinear acoustics in studies of structural features of materials // MRS Bulletin, 2019, Vol.44(5), 350–360. https://doi.org/10.1557/mrs.2019.109

СПИСОК РАБОТ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах:

[1A] E.V. Gubarkova, A.A. Sovetsky, L.A. Matveev, A.L. Matveyev, D.A. Vorontsov, A.A. Plekhanov, S.S. Kuznetsov, S.V. Gamayunov, A.Y. Vorontsov, M.A. Sirotkina, N.D. Gladkova, and V.Y. Zaitsev, Nonlinear Elasticity Assessment with Optical Coherence Elastography for High-Selectivity Differentiation of Breast Cancer Tissues // Materials. 2022. Vol. 15, № 9. P. 3308. https://doi.org/10.3390/ma15093308

[2A] E.V. Gubarkova, A.A. Sovetsky, D.A. Vorontsov, P.A. Buday, M.A. Sirotkina, A.A. Plekhanov, S.S. Kuznetsov, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, S.V. Gamayunov, A.Y. Vorontsov, V.Y. Zaitsev, and N.D. Gladkova, Compression optical coherence elastography versus strain ultrasound elastography for breast cancer detection and differentiation: pilot study / // Biomed. Opt. Express. 2022. Vol. 13, № 5. P. 2859. https://doi.org/10.1364/BOE.451059

[3A] *Y. Alexandrovskaya, O. Baum, A. Sovetsky, A. Matveyev, L. Matveev, E. Sobol, and V. Zaitsev,* Optical Coherence Elastography as a Tool for Studying Deformations in Biomaterials: Spatially-Resolved Osmotic Strain Dynamics in Cartilaginous Samples // Materials. 2022. Vol. 15, № 3. P. 904. https://doi.org/10.3390/ma15030904

[4A] *V.Y. Zaitsev, S.Y. Ksenofontov, A.A. Sovetsky, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, A.A. Zykov, and G.V. Gelikonov,* Real-Time Strain and Elasticity Imaging in Phase-Sensitive Optical Coherence Elastography Using a Computationally Efficient Realization of the Vector Method // Photonics. 2021. Vol. 8, № 12. P. 527.<u>https://doi.org/10.3390/photonics8120527</u>

[5A] A.A. Plekhanov, M.A. Sirotkina, A.A. Sovetsky, E.V. Gubarkova, S.S. Kuznetsov, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, E.V. Zagaynova, N.D. Gladkova, and V.Y. Zaitsev, Histological validation of in vivo

assessment of cancer tissue inhomogeneity and automated morphological segmentation enabled by Optical Coherence Elastography // Sci Rep. 2020. Vol. 10, № 1. P. 11781. https://doi.org/10.1038/s41598-020-68631-w

[6A] Y.M. Alexandrovskaya, O.I. Baum, A.A. Sovetsky, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, E.N. Sobol, and V.Y. Zaitsev, Observation of internal stress relaxation in laser-reshaped cartilaginous implants using OCT-based strain mapping // Laser Phys. Lett. 2020. Vol. 17, № 8. P. 085603. https://doi.org/10.1088/1612-202X/ab9446

[7A] *A.A. Sovetsky*, *A.L. Matveyev*, *L.A. Matveev*, *E.V. Gubarkova*, *A.A. Plekhanov*, *M.A. Sirotkina*, *N.D. Gladkova*, *and V.Y. Zaitsev*, Full-optical method of local stress standardization to exclude nonlinearity-related ambiguity of elasticity estimation in compressional optical coherence elastography // Laser Phys. Lett. 2020. Vol. 17, № 6. P. 065601.<u>https://doi.org/10.1088/1612-202X/ab8794</u>

[8A] *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, In vivo assessment of functional and morphological alterations in tumors under treatment using OCT-angiography combined with OCT-elastography // Biomed. Opt. Express. 2020. Vol. 11, No 3. P. 1365. https://doi.org/10.1364/BOE.386419*

[9A] O.I. Baum, V.Y. Zaitsev, A.V. Yuzhakov, A.P. Sviridov, M.L. Novikova, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, A.A. Sovetsky, and E.N. Sobol, Interplay of temperature, thermal-stresses and strains in laser-assisted modification of collagenous tissues: Speckle-contrast and OCT-based studies // J. Biophotonics. 2020. Vol. 13, № 1. https://doi.org/10.1002/jbio.201900199

[10A] *V.Y. Zaitsev, L.A. Matveev, A.L. Matveyev, A.A. Sovetsky, D.V. Shabanov, S.Y. Ksenofontov, G.V. Gelikonov, O.I. Baum, A.I. Omelchenko, A.V. Yuzhakov, and E.N. Sobol,* Optimization of phase-resolved optical coherence elastography for highly-sensitive monitoring of slow-rate strains // Laser Phys. Lett. 2019. Vol. 16, № 6. P. 065601.<u>https://doi.org/10.1088/1612-202X/ab183c</u>

[11A] E.V. Gubarkova, A.A. Sovetsky, V.Yu. Zaitsev, A.L. Matveyev, D.A. Vorontsov, M.A. Sirotkina, L.A. Matveev, A.A. Plekhanov, N.P. Pavlova, S.S. Kuznetsov, A.Yu. Vorontsov, E.V. Zagaynova, and N.D. Gladkova, OCT-elastography-based optical biopsy for breast cancer delineation and express assessment of morphological/molecular subtypes // Biomed. Opt. Express. 2019. Vol. 10, $N_{\rm P}$ 5. P. 2244.<u>https://doi.org/10.1364/BOE.10.002244</u>

[12A] V.Y. Zaitsev, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, G.V. Gelikonov, O.I. Baum, A.I. Omelchenko, D.V. Shabanov, A.A. Sovetsky, A.V. Yuzhakov, A.A. Fedorov, V.I. Siplivy, A.V. Bolshunov, and E.N. Sobol, Revealing structural modifications in thermomechanical reshaping of collagenous tissues using optical coherence elastography // J. Biophotonics. 2019. Vol. 12, № 3. https://doi.org/10.1002/jbio.201800250

[13A] A.A. Plekhanov, E.V. Gubarkova, A.A. Sovietsky, V.Y. Zaitsev, L.A. Matveev, A.L. Matveyev, L.B. Timofeeva, S.S. Kuznetsov, E.V. Zagaynova, N.D. Gladkova, and M.A. Sirotkina, Optical Coherence Elastography for Non-Invasive Monitoring of Tumor Elasticity under Chemotherapy: Pilot Study // Sovrem Tehnol Med. 2018. Vol. 10, № 3. P. 43. <u>https://doi.org/10.17691/stm2018.10.3.5</u>

[14A] A.L. Matveyev, L.A. Matveev, A.A. Sovetsky, G.V. Gelikonov, A.A. Moiseev, and V.Y. Zaitsev,
 Vector method for strain estimation in phase-sensitive optical coherence elastography // Laser Phys. Lett.
 2018. Vol. 15, № 6. P. 065603. <u>https://doi.org/10.1088/1612-202X/aab5e9</u>

[15A] *A.A. Sovetsky*, *A.L. Matveyev*, *L.A. Matveev*, *D.V. Shabanov*, *and V.Y. Zaitsev*, Manuallyoperated compressional optical coherence elastography with effective aperiodic averaging: demonstrations for corneal and cartilaginous tissues // Laser Phys. Lett. 2018. Vol. 15, № 8. P. 085602.<u>https://doi.org/10.1088/1612-202X/aac879</u>

[16A] *V.Y. Zaitsev, A.L. Matveyev, L.A. Matveev, E.V. Gubarkova, A.A. Sovetsky, M.A. Sirotkina, G.V. Gelikonov, E.V. Zagaynova, N.D. Gladkova, and A. Vitkin,* Practical obstacles and their mitigation strategies in compressional optical coherence elastography of biological tissues // J. Innov. Opt. Health Sci. 2017. Vol. 10, № 06. P. 1742006. <u>https://doi.org/10.1142/S1793545817420068</u>

Патенты и свидетельства о госрегистрации программ:

[17А] Патент №2020114397/14(024020) «Способ прижизненной оценки микроструктуры опухолевой ткани в эксперименте» / Плеханов Антон Андреевич, Сироткина Марина Александровна, Губарькова Екатерина Владимировна, Зайцев Владимир Юрьевич, Советский Александр Александрович, Кузнецов Сергей Станиславович, Матвеев Лев Александрович, Матвеев Александр Львович, Загайнова Елена Вадимовна, Гладкова Наталья Дорофеевна – опубл. 22.04.2020

[18А] Советский А.А. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ №2021616416 Elastoscan // Федеральная служба по интеллектуальной собственности (Роспатент), Реестр программ для ЭВМ, опубл. 21.04.2021

[19А] Советский А.А. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 2021680098 Nonlinelastoscan // Федеральная служба по интеллектуальной собственности (Роспатент), Реестр программ для ЭВМ, опубл. 07.12.2021

По теме диссертации также опубликованы более 20 докладов в трудах конференций (такие как SPIE Conference Proceedings, IExplore), индексируемых в международных базах WOS и Scopus.