

На правах рукописи

Киселева Елена Борисовна

**МЕТОД КРОСС-ПОЛЯРИЗАЦИОННОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ
ТОМОГРАФИИ ДЛЯ ПРИЖИЗНЕННОЙ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ
КОЛЛАГЕНОВЫХ ВОЛОКОН**

03.01.02 – биофизика

Автореферат диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Москва – 2014

Работа выполнена в Научно-исследовательском институте Биомедицинских технологий государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Нижегородской государственной медицинской академии» Минздрава Российской Федерации.

Научный руководитель – доктор медицинских наук, профессор **Гладкова Наталья Дорофеевна**.

Официальные оппоненты:

Башкатов Алексей Николаевич, кандидат физико-математических наук, доцент, кафедра оптики и биофотоники Национального исследовательского Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского.

Игнатьева Наталья Юрьевна, доктор химических наук, доцент, кафедра физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Ведущая организация:

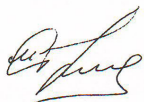
Федеральное государственное унитарное предприятие «Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений» Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии РФ, научно-исследовательское отделение голографии и оптической томографии.

Защита состоится «___» _____ 2014г. в ___ часов ___ мин. на заседании диссертационного совета Д 501.001.96 при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: 119234, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Биологический факультет МГУ, аудитория

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Московского Государственного университета им. М.В. Ломоносова и на сайте <http://www.bio.msu.ru/dissertations/view.php?ID=616>

Автореферат разослан «___» _____ 2014г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук



Страховская М.Г.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Вопросам изучения структурной организации внеклеточного матрикса соединительной ткани и его перестройке при патологических процессах в последние годы уделяется пристальное внимание (Sellarо T.L., 1999; Игнатъева Н.Ю., 2011). Методами высокоразрешающей микроскопии доказано, что пространственная и структурная организация коллагеновых волокон, преобладающего компонента внеклеточного матрикса соединительной ткани, неизбежно повреждается в ходе различных патологических процессов – воспаления, неоплазии, а также при воздействии ряда внешних факторов: ионизирующего излучения при лучевой терапии, интенсивного лазерного излучения при проведении операций и лазерной коррекции (Fratzl P., 2008; Овчинникова О.А., 2008). Данные о характере и степени повреждений коллагеновой сети могут быть использованы в клинике для дифференциальной диагностики заболеваний, выявления ранних неопластических процессов, определения ответа соединительнотканной стромы на проводимое лечение, определения качества трансплантатов на основе коллагена (Шангина О.Р., 2007; Мальцев А.В., 2011).

С этой точки зрения востребованными являются минимально инвазивные, высокоразрешающие и доступные методы визуализации внутренней структуры тканей, в частности, оптическая когерентная томография (ОКТ), в настоящее время признанная мировым сообществом как инновационный метод прижизненной визуализации. Метод ОКТ обеспечивает формирование двух- и трехмерных изображений структуры тканей в режиме реального времени на глубинах до 1-2 мм с микронным разрешением (до единиц мкм). Технология основана на низкокогерентной интерферометрии в ближнем инфракрасном диапазоне длин волн (700-1300 нм). Получаемые изображения определяются распределением поля обратно рассеянной зондирующей волны и характеризуют эффективность рассеяния на оптических неоднородностях биоткани, обусловленных составом и строением ее слоев и отдельных структур (Huang D. et al., 1991; Popp J. et al., 2012).

ОКТ имеет большие преимущества как метод визуализации, позволяющий формировать изображения слизистых оболочек внутренних органов с помощью эндоскопических зондов на глубину до 1-1,5 мм (Гладкова Н.Д. и др., 2007; Brezinski M.E. et al., 2013). Многими исследовательскими группами показана эффективность использования поляризованного света для изучения состояния коллагеновых волокон

фиброзных тканей с высоким содержанием коллагена, что реализовано в технологии поляризационно-чувствительной ОКТ (ПЧ ОКТ). Так, методом ПЧ ОКТ детектируют нарушения нормального состояния (структурной и пространственной организации) коллагеновых волокон сухожилий (Rashidifard C. et al., 2012), связок (Martin S.D. et al., 2003), межпозвоночных дисков (Beaudette K. et al., 2012), суставных хрящей (Adams S.B. et al., 2006), дермы (Pierce M.C. et al., 2004), тканей глаза, костной и зубной тканях (Chen Y. et al., 2005). В ПЧ ОКТ в дополнение к традиционному ОКТ-изображению строится карта фазовой задержки (de Boer J.F. et al., 1997; Nadkarni S.K. et al., 2007), скорость изменения которой с глубиной характеризует ориентацию, степень структурной организации коллагена на волоконном и тканевом уровнях (Liu B. et al., 2006).

Кросс-поляризационная ОКТ (КП ОКТ) – модификация ПЧ ОКТ, формирующая одновременно два изображения путем отдельной регистрации рассеянного излучения в двух каналах, параллельном и перпендикулярном поляризации зондирующего излучения (изображения в исходной и ортогональной поляризациях, соответственно). В отличие от ПЧ ОКТ, где акцент делается на поиске двулучепреломляющих свойств исследуемой ткани, проявляющихся в виде паттернов на картах фазовой задержки, КП ОКТ визуализирует случайную когерентную деполяризацию излучения, как за счёт двулучепреломления, так и за счет рассеяния в исследуемой биоткани (Schmitt J.M. et al., 1998). В данной работе термин «деполяризация» означает изменение состояния исходной поляризации распространяющегося в среде излучения в результате его взаимодействия со средой. Для появления сигнала в ортогональном канале важно, чтобы деполяризованное излучение сохранило когерентность, что обеспечит интерференцию с опорной волной.

Метод КП ОКТ приборно реализован нижегородской научной группой ОКТ, он развивается и получает широкое клиническое применение в эндоскопии (Feldchtein F. et al., 1998; Гладкова Н.Д. и др., 2007). Исследованию состояния коллагеновых волокон слизистых оболочек поляризационными вариантами ОКТ посвящено небольшое число работ (Klein A.M. et al., 2006; Kim K.H. et al., 2010). Систематические исследования патологии слизистых оболочек методом КП ОКТ на протяжении последних 10 лет проводит нижегородская группа ученых (Kuranov R.V. et al., 2002; Gelikonov V.M. et al., 2006). В последних клинических исследованиях показана целесообразность и необходимость внедрения метода КП ОКТ в медицинскую практику в диагностических целях. Установлено, что ОКТ-изображения в ортогональной поляризации позволяют дифференцировать патологические состояния слизистых оболочек со схожей визуальной

(эндоскопической) картиной (Кузнецова И.А., 2013; Стрельцова О.С., 2013). С этой точки зрения весьма актуальна разработка способов оценки КП ОКТ изображений для определения количественных критериев разделения патологических состояний слизистых оболочек по деполяризующим свойствам коллагеновых волокон соединительнотканной стромы органов. Параллельные морфологические исследования состояния коллагеновых волокон в строме слизистых оболочек важны для раскрытия механизмов деполяризации поляризованного зондирующего излучения в биоткани и формирования ОКТ-сигнала в ортогональном изображении.

Цель и задачи исследования

Цель данной работы состояла в определении количественных характеристик когерентной деполяризации света для разработки критериев прижизненного разделения состояния (пространственной и структурной организации) коллагеновых волокон при различных патофизиологических процессах в слизистых оболочках.

Исходя из поставленной цели, были сформулированы следующие основные **задачи**:

1. Провести анализ зависимости характера ОКТ-изображения в ортогональной поляризации от состояния коллагеновых волокон слизистых оболочек при патологических процессах, подтвержденных гистологическими исследованиями.
2. Определить характеристики когерентной деполяризации света ОКТ-изображения, чувствительные к изменению состояния коллагеновых волокон слизистых оболочек разных органов и на их основе разработать способ количественной оценки КП ОКТ изображения.
3. Применить найденные характеристики когерентной деполяризации света ОКТ-изображения в качестве критериев степени дезорганизации/организации коллагеновых волокон при клинически значимых патологических процессах для диагностических целей.

Научная новизна результатов

Впервые проведены параллельные сопоставления КП ОКТ изображений, оценивающие состояние соединительнотканной стромы слизистых оболочек человека в условиях *in vivo* и изображений этих же объектов, полученные различными видами оптической микроскопии в условиях *in vitro*, показавшие, что средняя яркость

коллагеновых волокон на гистологических препаратах слизистых оболочек, оцененная методом поляризационной микроскопии, хорошо коррелирует с ОКТ-сигналом на КП ОКТ изображениях в ортогональной поляризации ($r=0.72$, $p=0.0001$).

Впервые проведена автоматическая количественная оценка состояния коллагеновых волокон стромы слизистых оболочек при патологических процессах с помощью прижизненного метода кросс-поляризационной ОКТ. Для этой цели разработан критерий – интегральный фактор деполяризации (ИФД), представляющий отношение информативных сигналов когерентной деполяризации излучения и обратного когерентного рассеяния от биоткани, показавший высокую чувствительность к изменению состояния коллагеновых волокон.

Впервые продемонстрирована высокая диагностическая точность ИФД для прижизненного разграничения патологических процессов. Показано, что диагностическая точность ИФД выше по сравнению с такими показателями как относительная яркость ОКТ-сигнала (ЯР), относительное среднеквадратичное отклонение яркости ОКТ-сигнала (СКО).

Практическая значимость работы. Результаты работы могут найти широкое практическое применение для решения целого ряда клинических задач с использованием метода КП ОКТ и независимой оценкой изображений, а именно, использование количественной оценки КП ОКТ изображений для оперативной диагностики заболеваний, для наблюдения за состоянием коллагеновых волокон тканей при развитии патологии; мониторинге естественных и индуцированных лечением регенеративных процессов, в оценке степени фиброза, а также для изучения структуры коллагеновых матриц при создании скаффолдов, гелей, имплантатов, изучении их биосовместимости и биodeградируемости; при конструировании биоактивных инженерных каркасов, обладающих поляризационными свойствами. Основные выводы и результаты работы могут быть использованы в учебном процессе при разработке соответствующих спецкурсов.

Научная новизна и практическая значимость исследования подтверждены патентами и заявкой на патент:

1. Способ прогнозирования степени тяжести реакции слизистой оболочки полости рта и глотки в процессе лучевой или химиолучевой терапии злокачественных новообразований oroфарингеальной области. Патент РФ № 2320271. (приоритет от

27.06.2006, опубл. 27.03.2008, бюл. № 9). Масленникова А.В., Балалаева И.В., Гладкова Н.Д., Высельцева Ю.В., Фомина Ю.В., Терентьева А.Б., Баландина (Киселева) Е.Б., Лазарева Е.А., Ермолаева А.М.

2. Способ диагностики побочных эффектов лучевой терапии со стороны мочевого пузыря. Патент РФ № 2393768, (приоритет от 26.11.2008, опубл. 10.07.2010, бюл. № 19). Стрельцова О.С., Тарарова Е.А., Масленникова А.В., Загайнова Е.В., Гладкова Н.Д., Карабут М.М., Киселева Е.Б., Крупин В.Н.
3. Способ диагностики патологии шейки матки. Патент РФ № 2463958, (приоритет от 13.05.2011, опубл. 20.10.2012, бюл. № 29). Кузнецова И.А., Шахова Н.М., Качалина Т.С., Гладкова Н.Д., Киселева Е.Б., Карабут М.М.
4. Способ оценки функционального состояния коллагенсодержащей ткани. Заявка на изобретение № 2013135571, приоритет от 29.07.2013. Киселева Е.Б., Гладкова Н.Д., Сергеева Е.А., Кириллин М.Ю., Губарькова Е.В., Карабут М.М., Балалаева И.В., Стрельцова О.С., Робакидзе Н.С., Масленникова А.В., Кочуева М.В.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Метод КП ОКТ позволяет прижизненно получать информацию о поляризационных характеристиках коллагеновых волокон: как о двулучепреломлении, так и об их способности к когерентной деполяризации поляризованного зондирующего излучения.
2. Структура и пространственная организация коллагеновых волокон в слизистых оболочках оказывают влияние на формирование ортогонального ОКТ-изображения: упорядоченная организация коллагеновых волокон на тканевом уровне (их избыточное накопление и утолщение, преимущественно параллельная ориентация) коррелирует с увеличением яркости ОКТ-сигнала на изображениях в ортогональной поляризации, и наоборот, дезорганизация коллагеновых волокон на тканевом уровне (деградация, преобладание тонких волокон и их хаотичное расположение) коррелирует с уменьшением яркости ОКТ-сигнала на изображениях в ортогональной поляризации.
3. Предложены количественные критерии оценки КП ОКТ изображений слизистых оболочек: относительная яркость ОКТ-сигнала – ЯР; среднеквадратичное отклонение яркости ОКТ-сигнала – СКО; интегральный фактор деполяризации – ИФД, потенциально чувствительные для оценки состояния коллагеновых волокон.

Проведено сравнение их диагностической эффективности для разделения патофизиологических состояний, установившее преимущества ИФД.

4. ИФД объективно характеризует разнонаправленные изменения структуры и пространственной организации коллагеновых волокон относительно их состояния в норме: при деградации коллагеновых волокон, вызванных острым воспалением или неоплазией, установлено снижение ИФД на 38-76%; при избыточном накоплении коллагеновых волокон, обусловленном разной степенью фиброза соединительнотканной стромы слизистых оболочек, установлено повышение ИФД на 11-86%.

Апробация работы. Основные результаты и положения диссертации были представлены и обсуждены на Международных конференциях (8 докладов) и Российских конференциях (5 докладов): VIII научной сессии студентов и молодых ученых «Современное решение актуальных научных проблем в медицине» (г. Н. Новгород, 2009), XII Всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей "Фундаментальная наука и клиническая медицина" (г. Санкт-Петербург, 2009), SPIE Photonics Europe (Бельгия, 2010), 14-ой международной школе-конференции молодых ученых (г. Пущино, 2010), V Троицкой конференции «Медицинская физика и инновации в медицине» (г. Троицк, 2012), IV Съезде биофизиков России (г. Н. Новгород, 2012), Всероссийской научной сессии молодых ученых и студентов с международным участием "Современные решения актуальных научных проблем в медицине" (г. Н. Новгород, 2013), XVII, XX международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (г. Москва, МГУ, 2013), 6th International Graduate Summer School Biophotonics '13 (Ven, Sweden, 2013), International Symposium «Topical Problems of Biophotonics» (2007, 2009, 2011, 2013).

Публикации. По материалам диссертации опубликованы 33 печатные работы, включая 18 статей в ведущих рецензируемых научных журналах, из которых 12 статей – в изданиях, определенных ВАК; 5 глав в книгах; 10 тезисов конференций. Получено 3 патента на изобретения, подана 1 заявка на изобретение (2013).

Личный вклад автора. Автором лично выполнены: постановка и проведение предварительных и клинических исследований, систематизация, анализ полученных

данных и формулирование выводов по работе. Владея инструментальными и микроскопическими методами, Е.Б. Киселева лично проводила обработку и интерпретацию полученных данных. С участием Е.Б. Киселевой определены количественные характеристики когерентной деполяризации света КП ОКТ изображений слизистых оболочек человека и вычислены критерии прижизненного разделения состояния коллагеновых волокон при основных патологических состояниях слизистых оболочек. Планирование исследований, обсуждение и обобщение полученных результатов осуществлялось совместно с руководителем работы д.м.н. проф. Гладковой Н.Д.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 148 страницах, включает 9 таблиц и 43 рисунка. Список литературы содержит 219 источников, из них 175 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Рассмотрена структурная и пространственная организация коллагеновых волокон (КВ) в разных видах соединительных тканей в норме и изменения состояния КВ слизистых оболочек под влиянием ряда патологических процессов: острого воспаления и неоплазии, при фиброзе. Подробно обсуждаются основные явления, наблюдаемые при распространении поляризованного света вглубь соединительной ткани: двулучепреломление и деполяризация света КВ. Описаны основные оптические методы изучения КВ в тканях: поляризационная микроскопия, многофотонная микроскопия на основе генерации второй гармоники (ГВГ), поляризационные модификации оптической когерентной томографии (ОКТ), в том числе кросс-поляризационная ОКТ (КП ОКТ). Проведен анализ основных способов морфометрической оценки КВ методами микроскопии и ключевых подходов к обработке ОКТ-изображений коллагенсодержащих тканей.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами предварительных КП ОКТ исследований служили ткани с заведомо высоким содержанием коллагена: сухожилия сгибателей пальцев стопы человека,

послеоперационные рубцы мочевого пузыря (МП); а также слизистая оболочка десны кроликов до и после коагуляционного лазерного воздействия.

Объектами исследований для выявления зависимости ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации от состояния КВ служили слизистые оболочки щеки и мочевого пузыря человека. После прижизненного эндоскопического КП ОКТ сканирования фрагменты слизистых оболочек забирались для проведения гистологических исследований. Данные о группах КП ОКТ изображений, сформированных после морфологической оценки, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Группы КП ОКТ изображений слизистых оболочек. Критерий формирования групп – состояние КВ при морфологическом исследовании

Состояние КВ	Процесс в слизистой оболочке	№ группы	Количество КП ОКТ изображений	Количество гистологических срезов
норма	Норма	1-щека	20 (здоровые добровольцы)	20
		1-МП*	10 (здоровые добровольцы)	12
деградация	Острое воспаление	2-щека	8 (больные с красным плоским лишаем и афтозным стоматитом)	16
		2-МП	14 (больные с острым первичным циститом или резким обострением хронического цистита)	28
	Тяжелая дисплазия эпителия	5-МП	8 (больные с первичной или рецидивирующей уротелиальной карциномой)	10
	Плоская уротелиальная карцинома с началом инвазивного роста	6-МП	14 (больные с первичной или рецидивирующей уротелиальной карциномой)	16
	Рецидив уротелиальной карциномы на послеоперационном рубце	7-МП	14 (больные с рецидивирующим уротелиальным раком)	16
избыточное накопление	Слабый фиброз при хроническом воспалении	3-щека	10 (больные язвенным колитом при отсутствии клинических признаков стоматита)	20
	Выраженный фиброз при хроническом воспалении	4-щека	16 (больные с верифицированным диагнозом болезни Крона при отсутствии клинических признаков стоматита)	32
		3-МП	18 (больные с хроническим циститом длительностью 5-15 лет в фазе ремиссии)	22
	Послеоперационный рубец	4-МП	18 (больные с послеоперационным рубцом без признаков воспаления и без подозрения на рецидив уротелиальной карциномы на рубце)	22
Итого: щека - 4 группы			54	88
Итого: МП - 7 групп			96	126

* МП – мочевой пузырь

Основные методы исследования. В работе были использованы следующие методы: 1) метод КП ОКТ для прижизненной оценки поляризационных свойств биотканей (сухожилия исследовались *ex vivo*). Использован прибор «ОКТ1300-У» (ИПФ РАН, г. Нижний Новгород) с рабочей длиной волны 1300 нм, мощностью 3 мВт, разрешением по глубине 15-20 мкм, поперечным разрешением 25 мкм; сканирование по глубине до 1,5

мм, скоростью получения изображения 1 кадр в 2 секунды, размером КП ОКТ изображения 1,8х2,6 мм (400х512 пикселей); внешним диаметром волоконно-оптического зонда 2,7 мм; 2) метод светлопольной микроскопии (окраска гематоксилином и эозином (ГЭ) для установления патологического процесса) и 3) метод поляризационной микроскопии (окраска пикросириусом красным (ПСК) для детальной оценки состояния КВ); 4) метод многофотонной микроскопии в режиме ГВГ: изучены фрагменты удаленных тканей и криосрезы. Всего получено и проанализировано 180 КП ОКТ изображений, 354 микроскопических изображений.

Лазерная коагуляция ткани десны, при которой происходила температурная денатурация коллагена, проводилась с использованием лазерной системы компании «Dental Photonics Inc» на основе диодного лазера с длиной волны 980 нм, генерирующего излучение мощностью до 20 Вт. Каждая лазерная зона повреждения («колонка») создавалась при контакте наконечника диаметром 400 мкм с тканью десны при длительности экспозиции 150 мс.

Количественная обработка 150 КП ОКТ изображений проведена с помощью разработанных способов (раздел 3.2).

Количественная обработка цифровых изображений заключалась в оценке средней яркости (аналог плотности) 88 *гистологических препаратов* слизистой оболочки щеки, окрашенных ПСК и сфотографированных в поляризованном свете при одинаковых условиях. Оценка проводилась по методике, описанной Giattina S. D. с соавторами (Giattina S.D. et al. 2006), в программе Photoshop 7.0.1. Измеренные значения средней яркости (канал L цветовой палитры Lab), усредненные по 2-м соседним изображениям с 1 среза размером по 700х520мкм, а также усредненные по группе, нормировались. Средняя толщина КВ измерялась после наложения на изображение сетки из 9 ячеек (анализировались около 50 волокон на каждом изображении).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием встроенного пакета статистического анализа Real Statistics для MS Excel 2003 и GraphPad Prism 6. В работе проводилось определение средних значений (М) измеряемых величин и стандартных отклонений среднего ($\pm s$). Достоверность различий между группами рассчитывалась с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Для выявления корреляции между яркостью КВ на ПСК препаратах и ИФД использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Во всех случаях статистически значимыми считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Зависимость ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации

от состояния коллагеновых волокон

Под состоянием КВ в данной работе понимается их определенная пространственная и структурная организация в ткани, которую можно описать морфологически как совокупность следующих параметров: плотность расположения, ориентация друг относительно друга, толщина. Эти параметры хорошо известны для сухожилия, на 80% состоящего из высокоупорядоченного в пространстве коллагена, а также для фиброзных тканей (например, рубцовой ткани), основу внеклеточного матрикса которых также составляют коллагеновые волокна, объединяющиеся в пучки, но не упорядоченные в пространстве (Омельяненко Н.П., 2009).

Исследование структуры КП ОКТ изображений сухожилия и рубцовой ткани

Полученные КП ОКТ изображения сухожилия имели псевдо-полосатую структуру: чередующиеся яркие и темные полосы, вытянутые вдоль поверхности изображения свидетельствовали о наличии регулярного двулучепреломления (рис. 1а). Подробно механизм двулучепреломления КВ, данные морфологического анализа сухожилия методами световой, поляризационной (рис. 1б) и ГВГ-микроскопии представлены в диссертации (подраздел 3.1.1.). Сделан вывод, что благодаря организации КВ в сухожилии в толстые пучки, их плотному параллельному расположению, а также квазикристаллической укладке молекул коллагена в фибриллы, фибрилл в волокна, а волокон в пучки, сухожилие является идеальным объектом для наблюдения двулучепреломления методом КП ОКТ. При КП ОКТ сканировании рубцовой ткани мочевого пузыря регулярное двулучепреломление удалось наблюдать лишь однажды (на 200 исследований). В большинстве случаев наблюдали высокий ОКТ-сигнал на изображениях в ортогональной и исходной поляризациях, который резко затухал с глубиной (рис. 1б). Такой сигнал в ортогональной поляризации может свидетельствовать о наличие в ткани высокой концентрации организованного коллагена, который способен эффективно деполяризовать и обратно рассеивать зондирующее излучение с сохранением когерентности по отношению к исходному излучению, либо давать высокий сигнал за счет двулучепреломления на крупных агрегатах высокоупорядоченных КВ. При микроскопическом наблюдении состояния КВ послеоперационных рубцов мочевого

пузыря выявлены грубые разнонаправленные коллагеновые пучки (рис. 1д) средней толщиной $21,2 \pm 6,5$ мкм.

На основе полученных морфологических и литературных данных (Омельяненко Н.П., 2009) предложены схемы, представляющие состояние КВ в сухожилии и рубце (рис. 1ж,з).

Изучение ОКТ-сигнала на ортогональных изображениях слизистых оболочек человека в норме

На КП ОКТ изображениях нормальных слизистых оболочек ОКТ-сигнал в ортогональной поляризации яркий, неоднородный, без какой-либо определенной структуры (щека, рис. 1в), либо имеет структуру тонких горизонтальных слоев (мочевой пузырь). Сигнал отражает случайную деполяризацию зондирующего излучения коллагеновыми волокнами и регистрируется с помощью КП ОКТ при условии изменения исходной плоскости поляризации на 90° и сохранении когерентности излучения после обратного рассеяния.

Проведенное морфологическое изучение состояния КВ слизистых оболочек подтвердило известные данные, что КВ в стромах этих органов тонкие, составляют лишь около 30% от общей массы соединительной ткани, поэтому расположены в пространстве рыхло, хаотично (на примере щеки, рис. 1е). Средняя толщина КВ по нашим данным составила $4,5 \pm 0,9$ мкм. Состояние КВ в стромах слизистых оболочек в норме можно представить схематично в виде тонких цилиндров, ориентированных в пространстве относительно друг друга случайным образом, имеющие низкую плотность расположения (рис. 1и). Такое упрощение возможно и согласуется с литературными данными (Омельяненко Н.П., 2009).

Изменение ОКТ-сигнала на ортогональных изображениях слизистой оболочки десны после лазерной коагуляции коллагеновых волокон

Проведены гисто-томографические сопоставления здоровой и модифицированной локальным лазерным излучением слизистой оболочки десны экспериментальных животных (кролики). Морфологически, при изучении гистологических препаратов в поляризованном свете (окраска ПСК) было установлено, что лазерное воздействие приводило к локальной температурной денатурации коллагена, формированию так называемой «колонки»: в месте действия лазера не наблюдалось красного окрашивания коагулированных КВ, поскольку краситель не мог химически взаимодействовать с

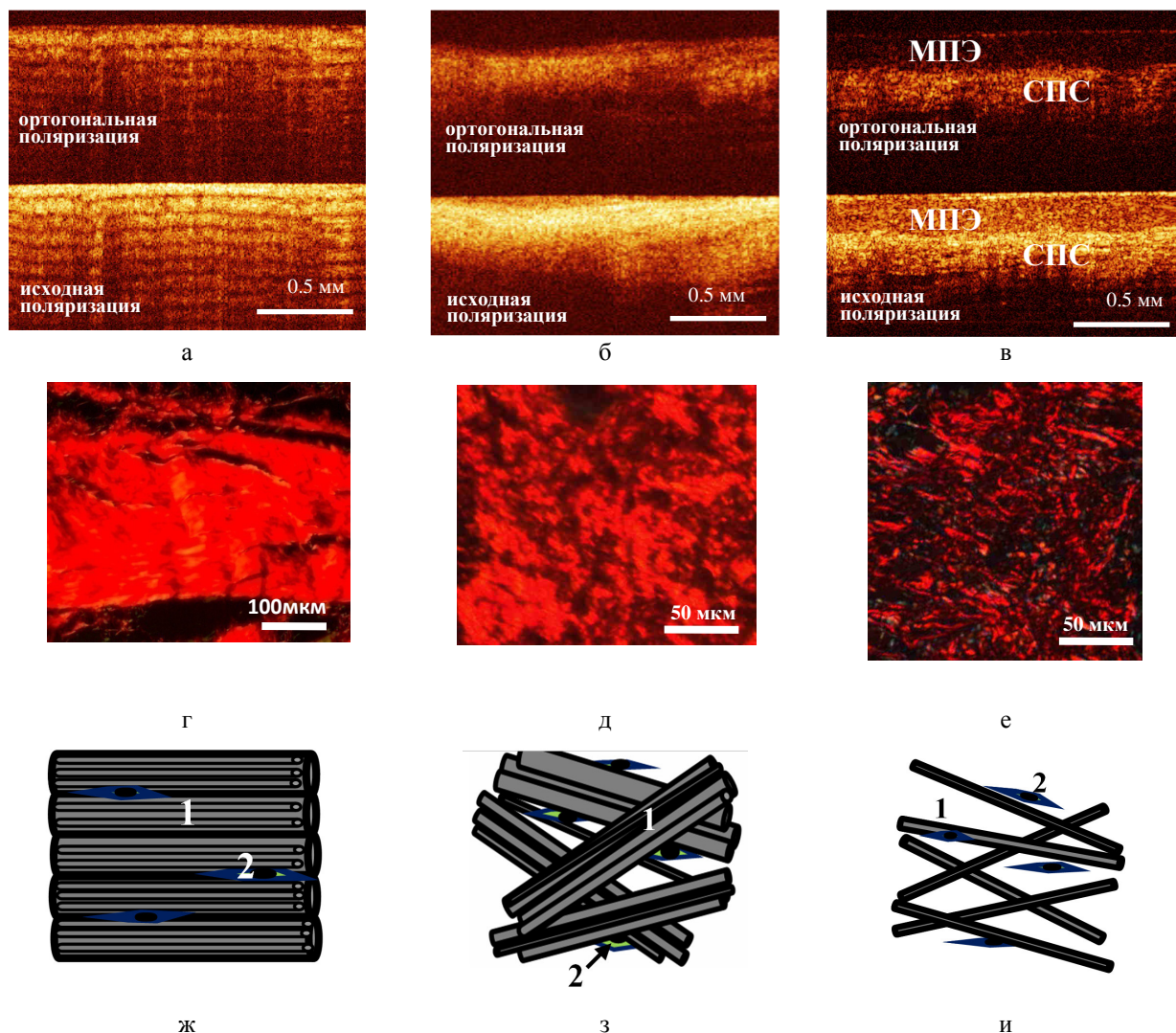


Рис. 1. Состояние KB в разных видах соединительной ткани (СТ). а, г, ж – сухожилие (плотная оформленная СТ): KB толстые, прямые, образуют параллельные, плотно упакованные пучки; б, д, з – рубцовая ткань мочевого пузыря (плотная неоформленная СТ): толстые и тонкие KB, образуют плотно расположенные, но неориентированные пучки; в, е, и – слизистая оболочка щеки (рыхлая неоформленная СТ): KB тонкие и ориентированы в различных направлениях. а-в: КП ОКТ изображения, г-е: гистологические препараты в поляризованном свете, окраска ПСК, ж-и: схемы расположения KB в соответствующих СТ. СПС – собственная пластина слизистой оболочки, МПЭ – многослойный плоский эпителий, 1 – коллагеновое волокно (и) или пучок KB (ж, з), 2 – фибробласт

необходимым количеством основных групп молекул коллагена вследствие нарушенной третичной структуры белка. В соседних участках неповрежденные KB имели ярко красный цвет и были расположены равномерно (рис. 2б). Сравнивая участки неповрежденной и поврежденной стромы КП ОКТ изображения в ортогональной поляризации (рис. 2а) установлено, что сигнал в месте лазерного воздействия снижен на 10,2 дБ (больше чем в 3 раза) (рис. 2в), что доказывало высокую чувствительность КП ОКТ прибора к изменению состояния KB.

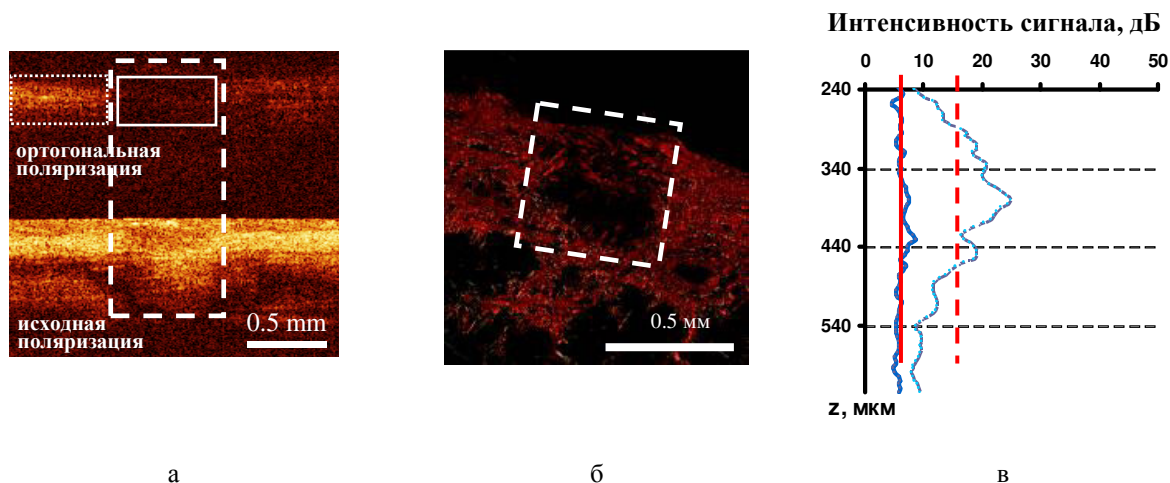


Рис. 2. Микрповреждение от локального лазерного коагуляционного воздействия на слизистую оболочку десны кролика. а - КП ОКТ изображение после лазерного воздействия, б - гистологический препарат в поляризованном свете, окраска ПСК, в – усредненные А-сканы в ортогональной поляризации участка неповрежденной (голубая пунктирная линия, область усреднения выделена белым пунктирным прямоугольником (тонкая линия) на КП ОКТ изображении в ортогональной поляризации) и поврежденной стромы (синяя сплошная линия, область усреднения выделена белым сплошным прямоугольником на КП ОКТ изображении в ортогональной поляризации). Красная пунктирная линия показывает средний уровень ОКТ-сигнала неповрежденной стромы (16,5 дБ), сплошная линия указывает средний уровень ОКТ-сигнала поврежденной стромы (6,3 дБ). Белым прямоугольником (толстая пунктирная линия) обозначено место колонки, слева и справа – неповрежденная ткань

Изучение ОКТ-сигнала на ортогональных изображениях слизистых оболочек щеки и мочевого пузыря при патофизиологических процессах

Выполнены гисто-томографические сопоставления изображений слизистой оболочки щеки и мочевого пузыря. На примере слизистой оболочки щеки изучены *три* измененных состояния КВ: их деградация при остром воспалении и разная степень избыточного накопления КВ (фиброз) как исход различных видов воспаления. На гистологических срезах, окрашенных ПСК, визуально оценивался цвет, в который окрашивались КВ: преобладание темных зон свидетельствовало о деградации КВ; зон с тонкими бледно-зелеными КВ – о синтезе нового коллагена в процессе репарации; наличие толстых красных волокон говорило о состоянии фиброза, причем плотность ярко-красных волокон отражала степень фиброза. Результаты количественной оценки средней яркости КВ, отражающей плотность их расположения, а также средней толщины волокон, представлены в таблице 2.

Результаты показали статистически значимые различия, как яркости окраски, так и толщины волокон между группами острого воспаления и нормы, а также между группами с разной степенью выраженности фиброза.

Визуальная оценка ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации в изучаемых группах патологии щеки обнаруживала те же тенденции: при остром воспалении

наблюдался низкий относительно нормы сигнал; при выраженном фиброзе сигнал выше, чем при его легкой форме.

Таблица 2. Количественная оценка КВ на гистологических препаратах, окрашенных ПСК

Состояние КВ	1 – нормальное состояние	2 – деградация КВ	3 – избыточное накопление КВ (слабый фиброз)	4 – избыточное накопление КВ (выраженный фиброз)
Нормированная яркость ($M \pm s$)	$1,00 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,04^*$	$1,04 \pm 0,20^0$	$1,30 \pm 0,19^*$
Толщина, мкм ($M \pm s$)	$4,50 \pm 0,90$	$2,40 \pm 0,60^*$	$5,80 \pm 1,10^0$	$8,10 \pm 1,30^*$

* — статистически значимое отличие от состояния КВ в норме, $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни)

⁰ — статистически значимое отличие избыточного накопления КВ при слабом и выраженном фиброзе, $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни).

В слизистой оболочке мочевого пузыря путем визуальных гисто-томографических сопоставлений изучены три аналогичных состояния КВ: их деградация в группе острого воспаления и разная степень избыточного накопления КВ (фиброз) как исход воспаления и заживления раны. Также были оценены *три дополнительных состояния разной степени деградации КВ при неопластических процессах*: тяжелой дисплазии эпителия, плоской уротелиальной карциноме с началом инвазивного роста и рецидиве уротелиальной карциномы на послеоперационном рубце. Обнаружена зависимость яркости ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации при этих патологиях от состояния КВ на гистологических препаратах, подробно описанная в диссертации. При прогрессирующем развитии неоплазии: острое воспаление – тяжелая дисплазия эпителия – инвазия уротелиальной карциномы наблюдается снижение яркости ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации и нарастающая дезорганизация КВ в строме.

Характер как повышенного, так и пониженного относительно нормы ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации при всех рассмотренных состояниях КВ неоднозначен, его трудно описать визуально и объективно оценить. Поиск количественных критериев для стандартизации оценки ОКТ-сигнала в ортогональном изображении, составил задачу следующего этапа работы.

3.2. Разработка способов количественной оценки КП ОКТ изображений

При поиске количественных характеристик когерентной деполяризации света по КП ОКТ изображению были учтены принципиально важные особенности метода КП ОКТ, а именно: 1. ОКТ основана на формировании интерференционной картины и всегда содержит значительные (до 100%) пространственные модуляции сигнала, связанные со

структурой спеклов. При этом яркость каждого пиксела на изображении несет информацию об истинном сигнале от объекта и случайно возникших в этой точке спеклах. 2. Каждое КП ОКТ устройство имеет индивидуальные технические особенности, которые влияют на величины квантовых и избыточных шумов фототока, фотоприемника и усилителей, что, в свою очередь, зашумляет ОКТ-изображение.

Принимая во внимание перечисленные особенности метода КП ОКТ, наиболее эффективным способом оценки КП ОКТ изображения был признан ратиометрический подход: нахождение отношения двух значений, вычисленных по ортогональной и исходной поляризациям, что существенно уменьшает зависимость получаемых количественных характеристик от параметров ОКТ аппаратуры, включая оптическую мощность, и уровень шумов. Информативный сигнал определяется как сигнал, превышающий уровень отсечки, который выбран с учетом шумов и составил удвоенное стандартное отклонение фонового сигнала ($2s_{\text{фон}}$).

В данной работе предложены три количественные характеристики для оценки когерентной деполяризации света по КП ОКТ изображению:

1. Относительная яркость (ЯР) – отношение яркости ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации, усредненной по всем информативным пикселям, к такой же величине, рассчитанной для ОКТ-сигнала в исходной поляризации. Рассчитывается по формуле:

$$\delta I = \frac{\langle I_i^\perp \rangle \Big|_{i: I_i^\perp > \langle I_{\text{фон}} \rangle + 2s_{\text{фон}}}}{\langle I_i^\parallel \rangle \Big|_{i: I_i^\parallel > \langle I_{\text{фон}} \rangle + 2s_{\text{фон}}}},$$

где: $I_i^\parallel$ - яркость ОКТ-сигнала в исходной поляризации в i-том пикселе,

$I_i^\perp$ - яркость ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации в i-том пикселе,

$\langle I_{\text{фон}} \rangle$ - средняя величина фонового ОКТ-сигнала,

s - стандартное отклонение.

2. Относительное среднеквадратичное отклонение (СКО) яркости ОКТ-сигнала – отношение СКО для информативных пикселей в ортогональной поляризации, к СКО для тех же пикселей в исходной поляризации. Рассчитывается по формуле:

$$\delta \sigma = \frac{\sigma^\perp \Big|_{i: I_i^\perp > \langle I_{\text{фон}} \rangle + 2s_{\text{фон}}}}{\sigma^\parallel \Big|_{i: I_i^\parallel > \langle I_{\text{фон}} \rangle + 2s_{\text{фон}}}},$$

где: $\sigma^\parallel$ - среднеквадратичное отклонение ОКТ-сигнала в исходной поляризации, для пикселей, где яркость ОКТ-сигнала превышает среднюю величину фонового ОКТ-сигнала $\langle I_{\text{фон}} \rangle$ на его удвоенное стандартное отклонение $2s_{\text{фон}}$,

$\sigma^\perp$ - среднеквадратичное отклонение ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации для пикселей, где яркость ОКТ-сигнала превышает среднюю величину фонового ОКТ-сигнала $\langle I_{\text{фон}} \rangle$ на его удвоенное стандартное отклонение $2s_{\text{фон}}$.

3. Интегральный фактор деполяризации (ИФД) – интегральное отношение усредненных по поперечной координате яркостей ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации (усредненный А-скан), к такой же величине, рассчитанной для ОКТ-сигнала в исходной поляризации. Рассчитывается по формуле:

$$\text{ИФД} = \frac{1}{N} \sum_{i=1 \dots N, I_i^\perp > \langle I_{\text{фон}} \rangle + 2s_{\text{фон}}} \frac{I_i^\perp - \langle I_{\text{фон}} \rangle}{I_i^\parallel},$$

где: $I_i^\parallel$ - яркость ОКТ-сигнала в исходной поляризации в i -том пикселе после усреднения по поперечной координате,

$I_i^\perp$ - яркость ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации в i -том пикселе после усреднения по поперечной координате,

N – число пикселей в усредненном по поперечной координате ОКТ-сигнале в ортогональной поляризации, для которых яркость ОКТ-сигнала превышает среднюю величину фонового ОКТ-сигнала $\langle I_{\text{фон}} \rangle$ на его удвоенное стандартное отклонение $2s_{\text{фон}}$.

Поскольку, как было показано выше, яркость ОКТ-сигнала в ортогональной поляризации зависит от когерентной деполяризации зондирующего излучения коллагеновыми волокнами в исследуемой биоткани, предполагается, что по величине предложенных характеристик можно судить об их состоянии.

Относительная ЯР ОКТ-сигнала и относительное СКО яркости ОКТ-сигнала характеризуют соотношение интегральных характеристик яркостей ОКТ-изображения в ортогональной и исходной поляризациях, причем СКО выбрано в качестве характеристики, менее зависимой от спекл-шума. ИФД имеет преимущества перед вычислением ЯР и СКО, поскольку в процессе его вычисления усреднение ОКТ-сигналов сначала производится по поперечной координате, после чего вычисляется их отношение, что позволяет характеризовать локальную деполяризацию зондирующего излучения.

3.3. Количественные критерии прижизненного разделения состояния коллагеновых волокон при различных патофизиологических процессах в слизистых оболочках методом КП ОКТ

Слизистая оболочка щеки: количественная оценка КП ОКТ изображений разработанными способами

Результаты вычисления ЯР, СКО и ИФД, а также доверительные интервалы значений для 4-х групп КП ОКТ изображений слизистой оболочки щеки представлены в таблице 3 и на рис. 3.

Таблица 3. Результаты вычисления ЯР, СКО и ИФД по КП ОКТ изображениям слизистой оболочки щеки и их доверительные интервалы в группах нормального и измененного состояния КВ

	1 группа (n=20)	2 группа (n=8)	3 группа (n=10)	4 группа (n=16)
ЯР (M±s)	0,72±0,04	0,67±0,01*	0,76±0,05	0,78±0,05*
СКО (M±s)	0,39±0,05	0,26±0,07*	0,51±0,12	0,52±0,09*
ИФД (M±s)	0,13±0,02	0,06±0,02*	0,14±0,03°	0,17±0,04*
ЯР (M±2m, 95% CI)	0,70-0,74	0,66-0,68	0,73-0,80	0,76-0,80
СКО (M±2m, 95% CI)	0,36-0,41	0,21-0,31	0,44-0,58	0,48-0,57
ИФД (M±2m, 95% CI)	0,12-0,14	0,05-0,08	0,12-0,16	0,15-0,20

1 группа – состояние КВ в норме; 2 группа – деградация КВ (острое воспаление);

3 группа - избыточное накопление КВ (слабый фиброз);

4 группа – избыточное накопление КВ (выраженный фиброз).

* — статистически значимое отличие от состояния КВ в норме, $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни);

° — статистически значимое отличие 3 и 4 групп, $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни).

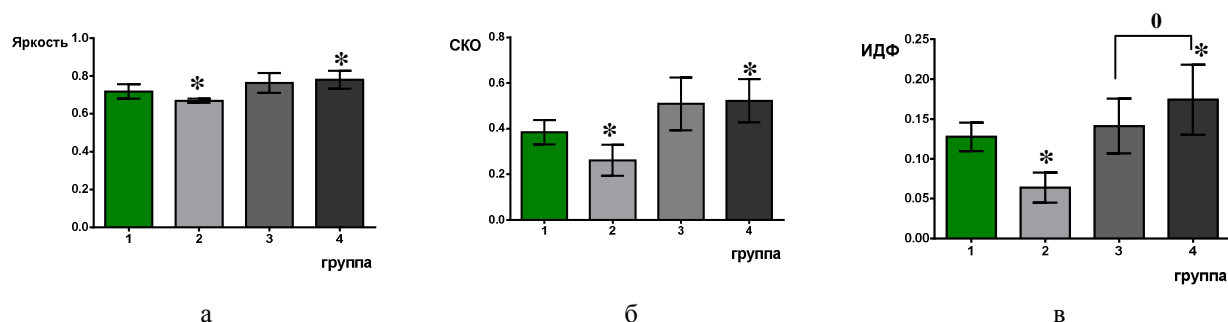


Рис. 3. ЯР (а), СКО (б) и ИФД (в), вычисленные по КП ОКТ изображениям слизистой оболочки щеки в группе состояния КВ в норме (1 группа) и 3-х группах измененного состояния КВ (2-4 группы). Пояснение выше и в тексте

Все количественные характеристики когерентной деполяризации света (ЯР, СКО и ИФД), предложенные для оценки КП ОКТ изображений, обнаружили статистически значимое различие деградации КВ при остром воспалении (группа 2) от их нормального состояния (группа 1) и избыточное накопление КВ при выраженном фиброзе (группа 4), однако только ИФД различал степень избыточного накопления КВ при слабом и выраженном фиброзе (группы 3 и 4, соответственно) (рис. 5в), что согласуется с

результатами морфометрического анализа (см. раздел 3.1.), показавшими различие в толщине и плотности КВ при данных состояниях. Это обеспечило высокий коэффициент корреляции между ИФД и средней яркостью гистологических препаратов, окрашенных ПСК: $r=0,72$ ($p=0,0001$, $n=34$). Полученная корреляция указывает на высокую степень связи между ОКТ-сигналом на изображениях в ортогональной поляризации и структурной организацией КВ на тканевом уровне.

Диагностическая точность ИФД для дифференциальной диагностики выраженности фиброза составила 86% (95%CI: 81-91%), что является клинически значимым результатом. Известно, что обширный фиброз соединительной ткани рассматривается как предраковое состояние (Parveen Sh., 2013), поэтому в клинике важно своевременно диагностировать такое патологическое перерождение ткани и выбирать эффективную тактику лечения.

Слизистая оболочка мочевого пузыря: количественная оценка КП ОКТ изображений (на примере вычисления ИФД)

Результаты вычисления ИФД для семи групп КП ОКТ изображений слизистой оболочки мочевого пузыря представлены в таблице 4 и на рис. 4.

Таблица 4. Результаты вычисления ИФД по КП ОКТ изображениям слизистой оболочки мочевого пузыря и его доверительные интервалы в группах нормального и измененного состояния КВ

	1 группа (n=10)	2 группа (n=14)	3 группа (n=18)	4 группа (n=18)	5 группа (n=8)	6 группа (n=14)	7 группа (n=14)
M±s	0,14±0,02	0,08±0,03*, °	0,19±0,03*	0,27±0,05*	0,05±0,02*, °	0,03±0,01*	0,09±0,05*, °
M±2m, 95% CI	0,13-0,16	0,06-0,09	0,17-0,20	0,25-0,29	0,04-0,07	0,03-0,04	0,06-0,12

1 группа – состояние КВ в норме; 2 группа – деградация КВ (острое воспаление); 3 группа – избыточное накопление КВ (выраженный фиброз); 4 группа – избыточное накопление КВ (рубцовая ткань), 5 группа – деградация КВ (тяжелая дисплазия эпителия); 6 группа – деградация КВ (плоская уротелиальная карцинома с началом инвазивного роста); 7 группа – деградация КВ (рецидив уротелиальной карциномы на послеоперационном рубце).

* — статистически значимое отличие от состояния КВ в норме, $p<0,05$ (критерий Манна-Уитни);

° — статистически значимое отличие 6 и 2, 6 и 5, 7 и 4 групп, $p<0,05$ (критерий Манна-Уитни).

Как и в слизистой оболочке щеки, ИФД, вычисленный по КП ОКТ изображениям слизистой оболочки мочевого пузыря, показал статистически значимое отличие деградации КВ при остром воспалении (группа 2) от их состояния в норме (группа 1), а также достоверно отличал избыточное накопление КВ при выраженном фиброзе (группа 3) от состояния КВ в норме (группа 1) ($p<0,05$) (рис. 4а).

На примере слизистой оболочки мочевого пузыря было показано, что состояние деградации КВ может быть использовано для диагностики плоской уротелиальной карциномы. Вычислив ИФД в трех группах КП ОКТ изображений, соответствующих

патологическим состояниям острого воспаления (группа 2), тяжелой дисплазии эпителия (группа 5) и плоской уротелиальной карциномы с началом инвазивного роста (группа 6), найдено статистически значимое отличие ИФД при карциноме и остром воспалении, а также при карциноме и тяжелой дисплазии эпителия (рис. 4б), что может повысить диагностическую точность выявления данных состояний при КП ОКТ исследовании плоских подозрительных зон мочевого пузыря.

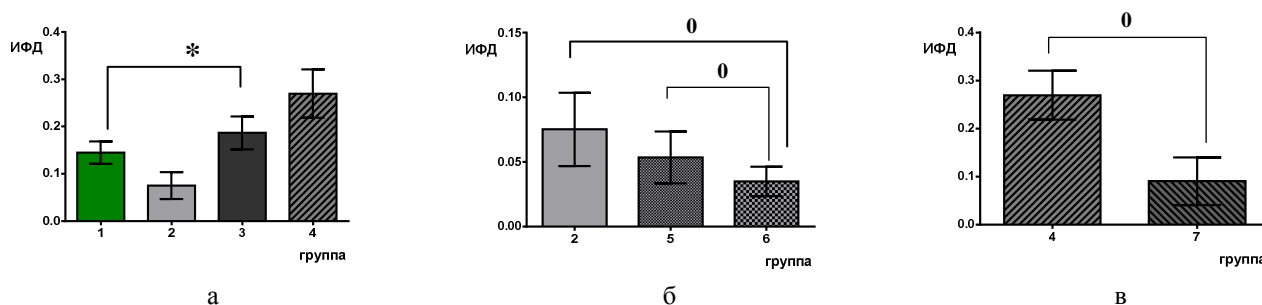


Рис. 4. ИФД, вычисленный по КП ОКТ изображениям слизистой оболочки мочевого пузыря в группе КВ в норме (1 группа) и 6-и группах измененного состояния КВ (2-7 группы). Пояснение выше и в тексте

Важным результатом также является найденное статистически значимое отличие между группами рецидива карциномы на рубце (группа 7) и нормальной послеоперационной рубцовой тканью (группа 4) ($p < 0,0001$) (рис. 4в), что говорит о возможности эффективного неинвазивного обнаружения данной патологии с помощью КП ОКТ. Вычисление ИФД может помочь обнаружить снижение сигнала на визуально трудно отличимых КП ОКТ изображениях, что подтверждается высокой чувствительностью ИФД (93%).

Показано, что диагностическая точность ИФД в целом превосходит другие показатели (ЯР и СКО), что является важным результатом и позволяет рекомендовать использование ИФД для решения ряда клинических задач, связанных с необходимостью слежения за развитием реакции ткани на проводимое лечение. В частности, проводятся исследования по применению метода КП ОКТ как минимально инвазивного инструмента при наблюдении развития лучевой реакции со стороны различных внутренних органов (Gladkova N. et al., 2008; Тарарова Е.А. и др., 2008). Предполагается, что вычисление ИФД при мониторинге развития лучевых повреждений поможет сформулировать более объективные критерии изменения состояния соединительнотканного матрикса в ходе лучевой терапии и до клинических проявлений отследить начало выраженной лучевой реакции, скорректировать лучевую нагрузку и вовремя начать превентивное лечение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Совокупность полученных данных указывает на перспективность изучения структурной и пространственной организации коллагеновых волокон различных органов методом КП ОКТ для решения задач разграничения патологических состояний, применения количественной оценки КП ОКТ изображений (вычисление ИФД) в клинической практике, а также целесообразность дальнейшего поиска способов количественной обработки КП ОКТ изображений в соответствии с новыми исследовательскими и клиническими задачами.

ВЫВОДЫ

1. Методом КП ОКТ установлено, что сигнал на ОКТ изображениях в ортогональной поляризации, характеризующий когерентную деполяризацию зондирующего излучения, отражает изменения структурной и пространственной организации коллагеновых волокон стромы слизистых оболочек относительно нормы: при их деградации наблюдается снижение сигнала на ОКТ изображениях в ортогональной поляризации, при избыточном накоплении коллагеновых волокон, их утолщении – повышение сигнала на ОКТ изображениях в ортогональной поляризации, что доказано гистологическим исследованием.
2. Разработаны три способа количественной оценки КП ОКТ изображений, отражающие состояние коллагеновых волокон слизистых оболочек: относительная яркость ОКТ-сигнала (ЯР), относительное среднеквадратичное отклонение яркости ОКТ-сигнала (СКО) и интегральный фактор деполяризации (ИФД).
3. Показано, что диагностическая точность ИФД выше (по сравнению с ЯР и СКО) при дифференциальной диагностике степени фиброзных изменений слизистой оболочки щеки (выраженный фиброз против слабого) (86% против 65%/65%); обнаружения выраженного фиброза слизистой оболочки мочевого пузыря (против нормы) (79% против 73%/54%). Показана возможность разграничения с помощью ИФД плоской инвазивной уротелиальной карциномы мочевого пузыря от острого воспаления (72% против 50%/72%). Все три изученных показателя с высокой диагностической точностью обнаруживают рецидив карциномы на послеоперационном рубце (97% для ИФД против 94%/94% для ЯР/СКО). Дифференциальная диагностика перечисленных состояний имеет важное клиническое значение.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, включенных в перечень ВАК:

1. Гладкова Н.Д., Загайнова Е.В., Зуккаро Г., Фельдштейн Ф.И., **Баландина Е.Б. (Киселева Е.Б.)**. Оптическая когерентная томография в диагностике дисплазии и аденокарциномы пищевода Барретта // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. 2007. Т. 18. №. 1. С. 42-50.
2. Стрельцова О.С., Крупин В.Н., Загайнова Е.В., Тарарова Е.А., Ключай В.В., **Киселева Е.Б.** Патогенетические аспекты лечения хронического цистита // Саратовский научно-медицинский журнал. 2009. Т. 5. № 3. С. 424- 428.
3. Масленникова А.В., Балалаева И.В., Гладкова Н.Д., Карабут М.М., **Киселева Е.Б.**, Иксанов Р.Р., Ильин Н.И., Сокурено В.П. Прогнозирование степени тяжести мукозита слизистой оболочки полости рта методом оптической когерентной томографии // Вопросы онкологии. 2009. Т. 55. № 5. С. 572-579.
4. Гладкова Н.Д., Фомина Ю.В., Мураев А.А., **Киселева Е.Б.**, Карабут М.М., Робакидзе Н.С. Оптическая когерентная томография в исследовании зубов и периодонтальных тканей. Сообщение I // Институт стоматологии. 2010. № 4. С. 50-51.
5. Стрельцова О.С., Гладкова Н.Д., **Киселева Е.Б.**, Карабут М.М., Тарарова Е.А., Юнусова К.Э., Крупин В.Н., Загайнова Е.В. Неинвазивная диагностика рака мочевого пузыря методом кросс-поляризационной ОКТ: клинические результаты. Сообщение 1 // Онкоурология. 2010. № 3. С. 25-32.
6. Gladkova N., Streltsova O., Zagaynova E., **Kiseleva E.**, Gelikonov V., Gelikonov G., Karabut M., Yunusova K., Evdokimova O. Cross polarization optical coherence tomography for early bladder cancer detection: statistical study // Journal of Biophotonics. 2011. V. 4. N. 7-8. P. 519–532.
7. **Киселева Е.Б.**, Робакидзе Н.С., Гладкова Н.Д., Балалаева И.В., Карабут М.М. Численный анализ изображений кросс-поляризационной оптической когерентной томографии в дифференциальной диагностике заболеваний кишечника по состоянию мягких тканей полости рта // Современные технологии в медицине. 2011. № 4. С. 32-39.
8. Гладкова Н.Д., Цимбалистов А.В., Фомина Ю.В., Мураев А.А., **Киселева Е.Б.**, Карабут М.М., Робакидзе Н.С., Раденска-Лоповок С.Г., Масленникова А.В. Оптическая когерентная томография в исследовании слизистой оболочки полости рта. Сообщение II // Институт стоматологии. 2011. № 1. С. 32-34.
9. Стрельцова О.С., Гладкова Н.Д., **Киселева Е.Б.**, Карабут М.М., Тарарова Е.А., Юнусова К.Э., Крупин В.Н., Загайнова Е.В. Неинвазивная диагностика рака мочевого пузыря методом кросс-поляризационной оптической когерентной томографии (слепое статистическое исследование). Сообщение 2 // Онкоурология. 2011. № 2. С. 29-34.
10. Romanos G.E., Gladkova N.D., Feldchtein F.I., Karabut M.M., **Kiseleva E.B.**, Snopova L.B., Fomina Yu.V. Oral Mucosa Response to Laser Patterned Microcoagulation (LPM) Treatment. An animal Study // Lasers in Medical Science. 2013. V. 28. N. 1. P. 25-31.

11. Gladkova N., **Kiseleva E.**, Robakidze N., Balalaeva I., Karabut M., Gubarkova E., Feldchtein F. Evaluation of oral mucosa collagen condition with cross-polarization optical coherence tomography // Journal of Biophotonics. 2013. V. 6. N. 4. P. 321-329.
12. Gladkova N., **Kiseleva E.**, Streltsova O., Prodanets N., Snopova L., Karabut M., Gubarkova E., Zagaynova E. Combined use of fluorescence cystoscopy and cross-polarization OCT for diagnosis of bladder cancer and correlation with immunohistochemical markers // Journal of Biophotonics. 2013. V. 6. N. 9. P. 687-698.

Статьи в изданиях, не включенных в перечень ВАК:

1. Gladkova N.D., Zagaynova E.V., Zuccaro G., Kareta M.V., Feldchtein F.I., Balalaeva I.V., **Balandina (Kiseleva) E.B.** Optical coherence tomography in the diagnosis of dysplasia and adenocarcinoma in Barret's esophagus. Endoscopic Microscopy II // Edited by G.J. Tearney, T.D. Wang / Proceedings of SPIE. 2007. V. 6432. P. 64320A-9.
2. Gladkova N., Maslennikova A., Balalaeva I., Feldchtein F., **Kiseleva E.**, Karabut M., Iksanov R. Application of optical coherence tomography in the diagnosis of mucositis in patients with head and neck cancer during a course of radio(chemo) therapy // Medical Laser Application. 2008. V. 23. N. 4. P. 186–195.
3. Гладкова Н.Д., Геликонов В.М., **Киселева Е.Б.**, Андропова И.А., Карабут М.М., Ориничева Е.В. Возможности поляризационной оптической когерентной томографии в оценке структуры биотканей. I. Поляризационные свойства биологических тканей и их исследование с помощью поляризационной оптической когерентной томографии // Нижегородский медицинский журнал. 2008. № 4. С. 68-80.
4. Тарарова Е.А., Стрельцова О.С., Масленникова А.В., Гладкова Н.Д., Карабут М.М., **Киселева Е.Б.**, Ориничева Е.В., Крупин В.Н., Загайнова Е.В. Возможности кросс-поляризационной оптической когерентной томографии для оценки состояния слизистой оболочки мочевого пузыря в процессе лучевого лечения: Пилотное исследование // Нижегородский медицинский журнал. 2008. № 4. С. 60-67.
5. Gladkova N.D., Zagaynova E.V., Streltsova O.S., **Kiseleva E.B.**, Karabut M.M., Snopova L.B., Yunusova E.E., Tararova E., Gelikonov V.M. Advantages of cross-polarization endoscopic optical coherence tomography in diagnosis of bladder neoplasia. Photonic Therapeutics and Diagnostics VI // Edited by N. Kollias, B. Choi, H. Zeng, R.S. Malek, B.J.-F. Wong, W. Gregory, G.J. Tearney, L. Marcu, H. Hirschberg, S.J. Madsen, A. Mandelis, A. Mahadevan-Jansen, E.D. Jansen / Proceedings of SPIE. 2010. V. 7548. P. 754813.
6. Gladkova N., Karabut M., **Kiseleva E.**, Robakidze N., Muraev A., Fomina Yu. Cross polarization optical coherence tomography for diagnosis of oral soft tissues. Lasers in Dentistry XVII // Edited by P. Rechmann, D. Fried / Proceedings of SPIE. 2011. V. 7884. P. 78840V1-6.

Главы в книгах:

1. Геликонов Г.В., Геликонов В.М., Куранов Р.В., **Бalandina (Киселева) Е.Б.** Развитие оптической когерентной томографии. 10.1. Поляризационные методы оптической когерентной томографии. Оптическая когерентная микроскопия. В кн.: Руководство по оптической когерентной томографии / Под редакцией Н.Д.

- Гладковой, Н.М. Шаховой, А.М. Сергеева. — М.: Физматлит, Медицинская книга. 2007. С. 264-273.
2. Shakhova N., Kuznetsova I., Yunusova K., **Kiseleva E.** Diagnosis of neoplastic processes in the uterine cervix. Chapter 70. // Handbook of Biophotonics. Volume 2. Photonics for Health Care. First Edition / Edited by J. Popp, V. Tuchin, A. Chiou and S.H. Heinemann. — Wiley-VCH. 2012. P. 1041-1049.
 3. Zagaynova E.V., Gladkova N.D., Shakhova N.M., Streltsova O.S., Kuznetsova I.A., Yanvareva I.A., Snopova L.B., Yunusova E.E., **Kiseleva E.B.**, Gelikonov V.M., Gelikonov G.V., Sergeev A.M. Optical Coherence Tomography Monitoring of Surgery in Oncology. Chapter 24. // Handbook of Biophotonics. Volume 2. Photonics for Health Care. First Edition / Edited by J. Popp, V. Tuchin, A. Chiou and S.H. Heinemann. — Wiley-VCH. 2012. P. 337-376.
 4. Gladkova N.D., Fomina Yu.V., **Kiseleva E.B.**, Karabut M.M., Robakidze N.S., Muraev A.A., Radenska-Lopovok S.G. and Maslennikova A.V. Optical Coherence Tomography in Dentistry. Chapter 69. // Handbook of Biophotonics. Photonics for Health Care. First Edition / Edited by J. Popp, V. Tuchin, A. Chiou and S.H. Heinemann. — Wiley-VCH. 2012. P. 1029-1040.
 5. Стрельцова О.С., **Киселева Е.Б.**, Юнусова Е.Э. Кросс-поляризационная оптическая когерентная томография - метод визуализации структуры ткани мочевого пузыря. В кн.: Болезни мочевого пузыря / Под редакцией Кульчавеня Е.В., Краснова В.А. — Новосибирск: «Наука». 2012. С. 49-67.

Тезисы конференций:

1. **Киселева Е.Б.**, Карабут М.М., Ориничева Е.В. Оценка состояния коллагеновых структур слизистых оболочек на изображениях, полученных методом кросс-поляризационной оптической когерентной томографии (КП ОКТ). Материалы XII Всероссийской медико-биологической научной конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина». 18 апреля 2009. Санкт-Петербург, 2009. С. 171-172.
2. **Kiseleva E.B.**, Karabut M.M., Gladkova N.D., Fomina Yu.V., Kuznetsova I.A., Snopova L.B., Evdokimova O.S. Assessing polarization properties of mucous keratin and collagen by the method of cross-polarization OCT. Proceedings. II International Symposium «Topical problems of biophotonics - 2009». 19-24 July 2009. Nizhny Novgorod, 2009. P. 93-94.
3. Gladkova N.D., **Kiseleva E.B.**, Karabut M.M., Orinicheva E.V., Streltsova O.S., Kuznetsova I.A., Snopova L.B., Yunusova E.E., Muraev A.A., Fomina Y.V., Koslovsky V.V., Zagaynova E.V., Shakhova N.M., Gelikonov V.M. Will the polarization techniques expand the clinical scope of endoscopic OCT? II International Symposium «Topical problems of biophotonics - 2009». Proceedings. Nizhny Novgorod, 2009. P. 49-50.
4. **Киселева Е.Б.**, Карабут М.М., Гладкова Н.Д., Сергеева Е.А., Юнусова Е.Э., Евдокимова О.С. Кросс-поляризационная оптическая когерентная томография (КП ОКТ) как метод прижизненной визуализации коллагена и кератина слизистых оболочек человека. Сборник тезисов. Том 1. 14-ая Международная Пушкинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века». 19-23 апреля 2010. Пушкино, 2010. С. 137.

5. **Kiseleva E.B.**, Gladkova N.D., Streltsova O.S., Robakidze N.S., Balalaeva I.B., Karabut M.M., Gubarkova E.V., Gelikonov V.M., Gelikonov G.V. Numerical analysis of CP-OCT images in clinical study. Proceedings. III International Symposium «Topical problems of biophotonics - 2011». 16-22 July 2011. Nizhny Novgorod, 2011. P. 63-64.
6. **Киселева Е.Б.**, Гладкова Н.Д., Робакидзе Н.С., Стрельцова О.С., Балалаева И.В., Карабут М.М., Губарькова Е.В., Фельдштейн Ф.И. Прижизненная оценка состояния коллагена слизистых оболочек человека методом кросс-поляризационной оптической когерентной томографии. V Троицкая конференция «Медицинская физика и инновации в медицине». 4-8 июня 2012. Т.1, С. 27-29.
7. **Киселева Е.Б.**, Гладкова Н.Д., Робакидзе Н.С., Стрельцова О.С., Балалаева И.В., Карабут М.М., Губарькова Е.В., Фельдштейн Ф.И. Прижизненная оценка состояния коллагена слизистых оболочек человека методом кросс-поляризационной оптической когерентной томографии. Материалы докладов IV Съезда биофизиков России. Симпозиум III «Физика - медицине и экологии». 20-26 августа 2012. Нижний Новгород, 2012. С. 119.
8. **Киселева Е.Б.**, Сергеева Е.А., Гладкова Н.Д., Фельдштейн Ф.И., Геликонов В.М., Геликонов Г.В. Способы количественной обработки КП ОКТ изображений для прижизненного исследования состояния коллагеновых волокон соединительной ткани. Материалы I Всероссийской XII научной сессии молодых ученых и студентов с международным участием "Современные решения актуальных научных проблем в медицине". МедиАль. Март 2013. Т. 1. № 6. С. 127.
9. **Киселева Е.Б.**, Сергеева Е.А., Гладкова Н.Д., Тарарова Е.С., Стрельцова О.С. Прижизненная оценка деполяризующих свойств коллагена методом кросс-поляризационной ОКТ. Тезисы докладов XX Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2013». Секция «Биология». 8-12 апреля 2013. Москва: МАКС Пресс, 2013. С. 31.
10. **Kiseleva E.B.**, Gladkova N.D., Feldchtein F.I., Sergeeva E.A., Kirillin M.Yu., Balalaeva I.V., Streltsova O.S., Robakidze N.S. CP OCT assessment of the depolarizing properties of connective tissue stroma in human mucosa *in vivo*. Proceedings. IV International Symposium «Topical problems of biophotonics - 2013». 21-27 July 2013. Nizhny Novgorod, 2013. P. 69-70.