

Мюллер-матричное картографирование оптически анизотропных флуорофоров биологических тканей в диагностике рака

Ю.А.Ушенко, М.И.Сидор, Г.Б.Боднар, Г.Д.Коваль

Представлены результаты исследования поляризационных проявлений лазерной автофлуоресценции оптически анизотропных структур биологических тканей. Предложена мюллер-матричная модель описания их комплексной анизотропии (линейное и циркулярное двулучепреломление, линейный и циркулярный дихроизм). Определены взаимосвязи между механизмами оптической анизотропии и поляризационными проявлениями лазерной автофлуоресценции гистологических срезов биопсии ткани прямой кишки в различных спектральных областях. Найдены диапазоны изменения статистических моментов 1-го–4-го порядков, которые описывают распределения азимутально-стабильных элементов матриц Мюллера автофлуоресценции ткани прямой кишки. Определена информативность метода лазерной автофлуоресцентной поляриметрии и впервые реализована дифференциация гистологических срезов биопсии доброкачественных (полип) и злокачественных (аденокарцинома) опухолей стенки прямой кишки.

Ключевые слова: автофлуоресценция, поляризация, двулучепреломление, оптическая анизотропия, матрица Мюллера, статистические моменты, диагностика.

1. Введение

Биологические ткани представляют собой структурно неоднородные оптически анизотропные поглощающие среды. Для описания взаимодействия поляризованного света с такими сложными системами необходимы наиболее общие приближения, основанные на использовании мюллер-матричного формализма. В настоящее время в биологических и медицинских исследованиях используется множество практических методик, базирующихся на измерении и анализе матриц Мюллера исследуемых образцов [1–10].

За последние 10–15 лет в матричной оптике сформировалось самостоятельное направление – лазерная поляриметрия [11]. С ее помощью определены диагностические взаимосвязи между набором статистических моментов 1-го–4-го порядков [11, 12], которые характеризуют распределения элементов матрицы Мюллера, и линейным двулучепреломлением биологических тканей человека. На этой основе реализована диагностика рака дермы кожи, эпителиальной и соединительной ткани органов женской репродуктивной сферы и др. [11–13]. Основным недостатком данного диагностического направления является невысокая точность, обусловленная азимутальной зависимостью большинства элементов матрицы Мюллера.

Параллельно интенсивно развиваются альтернативные спектральные методы, основанные на диагностическом использовании эффектов флуоресценции белковых

молекул и их комплексов. Получены обнадеживающие по чувствительности результаты в области диагностики рака органов человека [14–20]. Однако данная оптическая технология остается недостаточно точной (специфичной) с точки зрения дифференциации доброкачественных и злокачественных состояний биологических тканей. Поскольку публикации, посвященные использованию мюллер-матричного формализма для анализа флуоресценции ансамблей оптически активных белковых молекул и их комплексов, малочисленны [21, 22], перспективным оказывается развитие мюллер-матричной модели на более общий случай – флуоресценцию двулучепреломляющих сетей оптически активных комплексов биологических тканей и на разработку на этой основе метода спектрально-селективной автофлуоресцентной поляриметрии. Настоящая работа направлена на реализацию этих задач для дифференциации доброкачественных (полип) и злокачественных (аденокарцинома) опухолей ткани прямой кишки.

2. Краткая теория

В нашей работе мы ограничились рассмотрением спектрально-селективного ($\lambda = 0.63–0.65$ мкм) случая – люминесценции оптически активных порфиринов биологической ткани в красной области спектра. Возбуждение автофлуоресценции осуществлялось лазерным излучением с длиной волны $\lambda = 0.405$ мкм, совпадающей с максимумом поглощения порфиринов [23].

Формирование лазерной поляризационной флуоресценции биологических тканей основывается на следующих модельных положениях:

- 1) на механизмах оптически анизотропного поглощения (линейный и циркулярный дихроизм) [24];
- 2) на флуоресценции молекул порфирина («линейных» осцилляторов) и образованных ими жидкокристаллических сетей («эллиптических» осцилляторов) [22];

Ю.А.Ушенко, М.И.Сидор. Черновицкий национальный университет, Украина, 58012 Черновцы, ул. Коцюбинского, 2; e-mail: yuriyu@gmail.com

Г.Б.Боднар, Г.Д.Коваль. Буковинский государственный медицинский университет, Украина, 58000 Черновцы, Театральная пл., 3

Поступила в редакцию 14 августа 2013 г., после доработки – 19 ноября 2013 г.

3) на механизмах фазовой анизотропии (линейное и циркулярное двулучепреломление фибриллярных сетей), модулирующих флуоресцентное излучение [24].

Указанный сценарий можно описать с использованием мюллер-матричного формализма.

Поглощение. Фибриллярные сети, образованные оптически активными полипептидными белковыми цепочками, характеризуются линейным дихроизмом. Оптические проявления такого механизма описывает следующая матрица Мюллера [24]:

$$\{\Psi\} = \begin{pmatrix} 1 & \varphi_{12} & \varphi_{13} & 0 \\ \varphi_{21} & \varphi_{22} & \varphi_{23} & 0 \\ \varphi_{31} & \varphi_{32} & \varphi_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \varphi_{44} \end{pmatrix}, \quad (1)$$

где

$$\varphi_{12} = \varphi_{21} = (1 - \Delta\tau)\cos 2\rho,$$

$$\varphi_{13} = \varphi_{31} = (1 - \Delta\tau)\sin 2\rho,$$

$$\varphi_{22} = (1 + \Delta\tau)\cos^2 2\rho + 2\sqrt{\Delta\tau}\sin^2 2\rho,$$

$$\varphi_{23} = \varphi_{32} = (1 - \Delta\tau)\sin 2\rho,$$

$$\varphi_{33} = (1 + \Delta\tau)\sin^2 2\rho + 2\sqrt{\Delta\tau}\cos^2 2\rho,$$

$$\varphi_{44} = 2\sqrt{\Delta\tau};$$

$\Delta\tau = \tau_x/\tau_y$; $\tau_x = \tau\cos\rho$, $\tau_y = \tau\sin\rho$; τ_x , τ_y – коэффициенты поглощения линейно поляризованных ортогональных составляющих амплитуды лазерного излучения; ρ – ориентация оптической оси фибриллы в плоскости гистологического среза биологической ткани.

Наличие спиралеобразной структуры белковых молекул формирует циркулярный дихроизм, оптические проявления которого описывает матричный оператор

$$\{\Phi\} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & \phi_{14} \\ 0 & \phi_{22} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \phi_{33} & 0 \\ \phi_{41} & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, \quad (2)$$

где

$$\phi_{22} = \phi_{33} = \frac{1 - \Delta g^2}{1 + \Delta g^2}, \quad \phi_{14} = \phi_{41} = \pm \frac{2\Delta g}{1 + \Delta g^2};$$

$\Delta g = (g_{\otimes} - g_{\oplus})/(g_{\otimes} + g_{\oplus})$; g_{\otimes} , g_{\oplus} – показатели поглощения лево- (\otimes) и право- (\oplus) циркулярно поляризованных составляющих амплитуды индуцирующего флуоресценцию лазерного излучения.

Флуоресценция. Поляризационные проявления флуоресценции порфиринов характеризует матрица Мюллера для ансамблей таких молекул, приведенная в [22]:

$$\{F\} = \begin{pmatrix} 1 & F_{12} & 0 & 0 \\ F_{21} & F_{22} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & F_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & F_{44} \end{pmatrix}. \quad (3)$$

Здесь

$$F_{12} = F_{21} = -\frac{b\sin^2\vartheta}{a - b\sin^2\vartheta},$$

$$F_{22} = \frac{b(1 + \cos^2\vartheta)}{a - b\sin^2\vartheta},$$

$$F_{33} = \frac{2b\cos\vartheta}{a - b\sin^2\vartheta},$$

$$F_{44} = \frac{2c\cos\vartheta}{a - b\sin^2\vartheta};$$

ϑ – угол рассеяния; a и b – взаимосвязанные константы, определяемые для системы «линейных» осцилляторов в изотропной среде соотношениями

$$a = 0.5(1 + \langle\cos^2\varepsilon\rangle), \quad (4)$$

$$b = 0.25(3\langle\cos^2\varepsilon\rangle - 1), \quad (5)$$

где ε – угол между излучением диполя и азимутом поляризации освещающего пучка. В [25] определены два предельных значения $\langle\cos^2\varepsilon\rangle$: $\langle\cos^2\varepsilon\rangle = 3/5$ для системы коллинеарных диполей и $\langle\cos^2\varepsilon\rangle = 1/3$ для системы случайно ориентированных диполей.

Параметр c связан с оптической активностью молекул [25]. Здесь излучение ансамблей (жидкокристаллических цепей) оптически активных молекул рассматривается как совокупность «эллиптических осцилляторов». В предельном случае указанный параметр c достигает 5/16.

Фазовая модуляция флуоресценции порфиринов. Сформированное механизмами поглощения (соотношения (1), (2)) флуоресцентное излучение линейных и эллиптических осцилляторов (соотношения (3)–(5)) распространяется в объеме оптически анизотропной биологической ткани. В результате происходит фазовая модуляция такого излучения, основными механизмами которой являются оптическая активность аминокислот и образованных ими полипептидных цепей $\{\Omega\}$, а также двулучепреломление протеиновых фибриллярных сетей $\{D\}$ [24]:

$$\{\Omega\} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \omega_{22} & \omega_{23} & 0 \\ 0 & \omega_{32} & \omega_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, \quad (6)$$

$$\{D\} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & d_{22} & d_{23} & d_{24} \\ 0 & d_{32} & d_{33} & d_{34} \\ 0 & d_{42} & d_{43} & d_{44} \end{pmatrix}. \quad (7)$$

Здесь

$$\omega_{22} = \omega_{33} = \cos 2\gamma,$$

$$\omega_{23} = -\omega_{32} = \sin 2\gamma;$$

$$d_{22} = \cos^2 2\rho + \sin^2 2\rho \cos \delta,$$

$$d_{23} = d_{32} \cos 2\rho \sin 2\rho (1 - \cos \delta),$$

$$d_{33} = \sin^2 2\rho + \cos^2 2\rho \cos \delta,$$

$$d_{24} = -d_{42} = \sin 2\rho \sin \delta,$$

$$d_{34} = -d_{43} = \cos 2\rho \sin \delta,$$

$$d_{44} = \cos \delta;$$

γ – угол поворота плоскости поляризации флуоресцентного излучения; δ – фазовый сдвиг между линейно поляризованными ортогональными компонентами амплитуды флуоресцентного излучения.

Учитывая все рассмотренные механизмы оптически анизотропного поглощения лазерного излучения и фазовой модуляции флуоресцентного излучения порфиринов, результирующую матрицу флуоресценции биологической ткани можно записать следующим образом:

$$\{M\} = \{D\}\{\Omega\}\{F\}\{\Psi\}\{\Phi\} = \begin{pmatrix} 1 & M_{12} & M_{13} & M_{14} \\ M_{21} & M_{22} & M_{23} & M_{24} \\ M_{31} & M_{32} & M_{33} & M_{34} \\ M_{41} & M_{42} & M_{43} & M_{44} \end{pmatrix}. \quad (8)$$

Анализ матрицы (8) показывает, что элементы M_{ik} характеризуют суперпозицию механизмов линейного ($\Delta\tau$) и циркулярного (Δg) дихроизма, а также флуоресценцию линейных ($F_{12,21,22,23}$) и эллиптических (F_{44}) осцилляторов с последующей фазовой модуляцией такого излучения оптически активными молекулами (θ) и двулучепреломляющими сетями (δ) таких молекул. При этом информационное содержание матричных элементов различно. Так, совокупность элементов $M_{i=1;k=1,2,3,4}(F_{12})$ характеризует флуоресценцию линейных осцилляторов, возникшую за счет оптически анизотропного поглощения. Элементы $M_{i=2,3;k=1,2,3,4}(F_{21,22,33})$ определяют фазово-модулированную (δ, θ) флуоресценцию линейных осцилляторов. Наконец, элементы $M_{i=4;k=1,2,3,4}(F_{21,22,33}, F_{44})$ несут комплексную информацию о флуоресценции линейных ($F_{21,22,33}$) и эллиптических (F_{44}) осцилляторов в оптически анизотропной среде с линейным и циркулярным двулучепреломлением.

Заметим, что практическое использование выражения (8) затруднено. Причиной этого является азимутальная зависимость большинства матричных элементов – в общем случае 12 элементов из 16 изменяются при вращении образца вокруг оси зондирования. Решить эту проблему позволяют данные исследований [7, 8]. Здесь показано, что азимутально-стабильными, не зависящими от угла Θ поворота образца, оказываются следующие элементы матрицы $\{M\}$: $M_{11}, M_{14}, M_{41}, M_{44}$.

Таким образом, экспериментально измерив с помощью цифровой камеры координатные распределения элементов $q \equiv \{M_{14,41}\}$ в указанном спектральном диапазоне $\lambda = 0.63-0.65$ мкм, можно получить азимутально-стабильную информацию о флуоресценции порфиринов оптически анизотропных структур тканей органов человека.

3. Анализ и обсуждение экспериментальных данных

В качестве объектов исследования использовались две группы оптически тонких (геометрическая толщина $l \approx 20$ мкм, коэффициент ослабления $\tau \leq 0.1$) гистологических срезов биопсии доброкачественной (полип, группа I – 27 образцов) и злокачественной (аденокарцинома, группа II – 26 образцов) опухоли тканей прямой кишки.

Экспериментальные измерения проводились при стандартном положении стоксполяриметра [11–13] с исполь-

зованием спектрально-селективного «отсекающего» светофильтра ($\lambda = 0.63$ мкм), размещенного перед регистрирующей изображением экспериментальных образцов цифровой камерой. Для возбуждения автофлуоресценции мы использовали твердотельный «синий» лазер мощностью $W = 50$ мВт с длиной волны излучения $\lambda = 0.412$ мкм. Поляризационный осветитель состоял из двух четвертьволновых пластинок и поляризатора. Изображения образцов с помощью поляризационного микрообъектива (Nikon CFI Achromat P, фокальное расстояние 30 мм, апертура 0.1, увеличение $4\times$) проецировались в плоскость светочувствительной площадки CCD-камеры (The Imaging Source DMK 41AU02.AS, monochrome 1/2" CCD, Sony ICX205AL (progressive scan); разрешение 1280×960 , размер светочувствительной площадки 7600×6200 мкм, чувствительность 0.05 lx, динамический диапазон 8 бит, SNR – 9 бит, отклонение фоточувствительной характеристики от линейной не более 15%). Поляризационный анализ флуоресцентных изображений образцов проводился с помощью четвертьволновой пластинки и поляризатора-анализатора. На этой основе рассчитывался массив ($m \times n$) величин

$$M_{14} = S_1^{\otimes} - 0.5(S_1^0 + S_1^{90}), \quad (9)$$

$$M_{41} = 0.5(S_0^4 + S_4^{90}).$$

Здесь $S_{i=1,4}^{0,90,\otimes}$ – параметры вектора Стокса в точках цифрового изображения гистологического среза, измеренные для серии линейно ($0^\circ, 90^\circ$) и правоциркулярно (\otimes) поляризованных зондирующих лазерных пучков.

Объективная оценка координатных распределений $q(m \times n)$ проводилась в рамках статистического подхода: вычислялся набор Z_i статистических моментов 1-го–4-го порядков:

$$Z_1 = \frac{1}{P} \sum_{j=1}^P |q_j|, \quad Z_2 = \sqrt{\frac{1}{P} \sum_{j=1}^P (q_j - Z_1)^2}, \quad (10)$$

$$Z_3 = \frac{1}{Z_2^3} \frac{1}{P} \sum_{j=1}^P q_j^3, \quad Z_4 = \frac{1}{Z_2^4} \frac{1}{P} \sum_{j=1}^P q_j^4,$$

где $P = m \times n$ – число пикселей CCD-камеры.

На рис.1 и 2 приведены результаты мюллер-матричного картографирования лазерной автофлуоресценции ансамблей линейных (M_{14} , рис.1) и эллиптических (M_{41} , рис.2) осцилляторов – молекул и жидкокристаллических цепей порфиринов гистологических срезов биопсии доброкачественной и злокачественной опухолей.

Анализ координатных распределений инварианта M_{14} (рис.1,а, б), который характеризует процессы преобразования циркулярно поляризованного флуоресцентного излучения в линейно поляризованное, обнаруживает смещение главного экстремума гистограммы $N(M_{14})$ в область меньших значений ($M_{14} \downarrow$) данного параметра в плоскости гистологического среза ткани аденокарциномы (рис.1,в, г). Обратная картина имеет место для распределений мюллер-матричного инварианта (рис.2,а, б), характеризующего процессы преобразования линейно поляризованного флуоресцентного излучения в циркулярно поляризованное. Для гистологического среза злокачественной опухоли характерно увеличение вероятности экстремальных значений $M_{41} \rightarrow 1$ (рис.2,з).

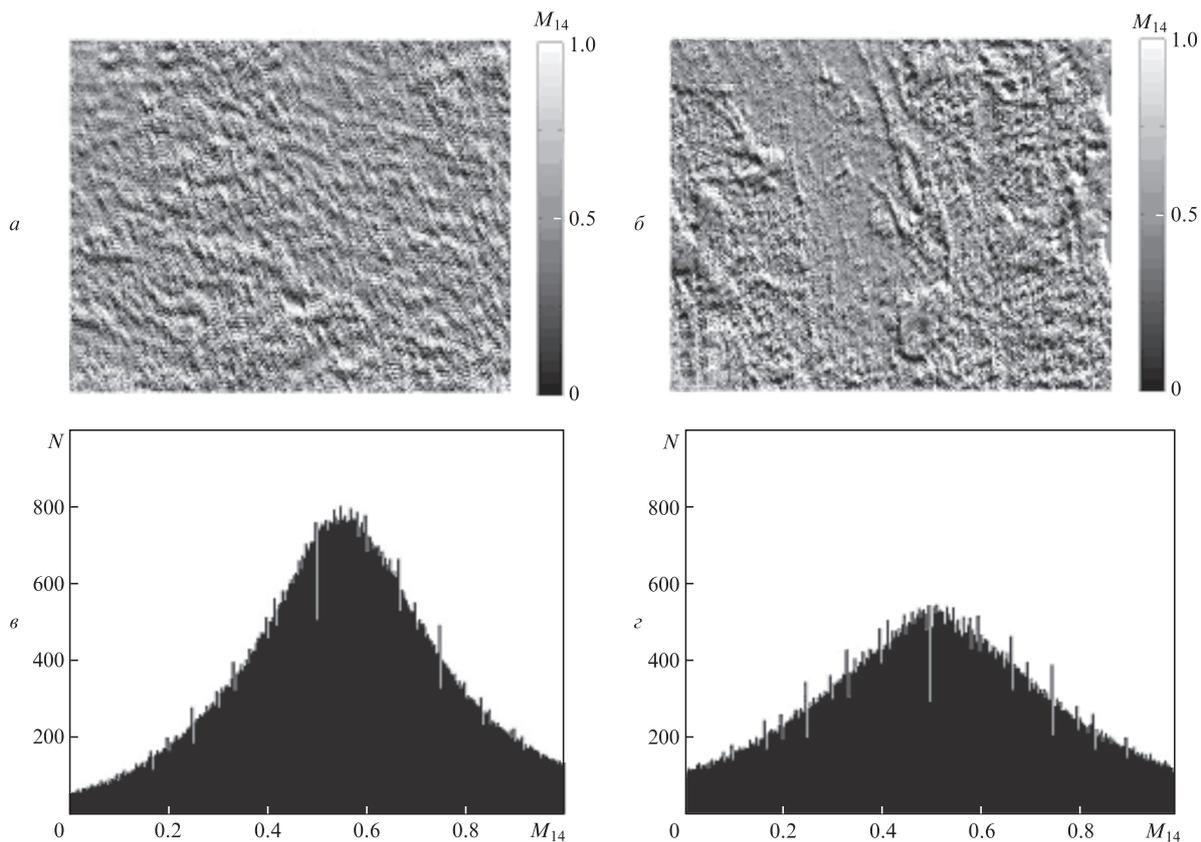


Рис.1. Координатные распределения M_{14} (а, б) и гистограммы $N(M_{14})$ (в, г) гистологических срезов полипа (а, в) и аденокарциномы (б, г) прямой кишки.

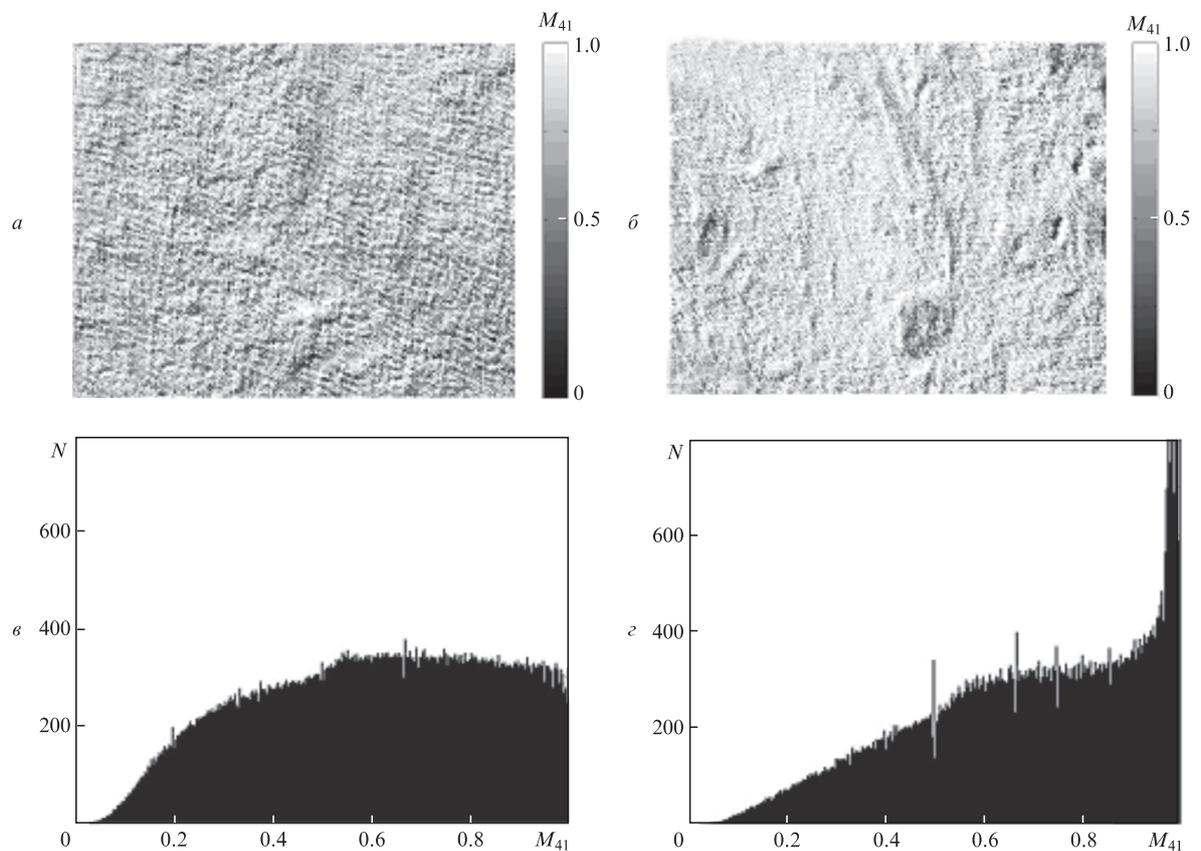


Рис.2. Координатные распределения M_{41} (а, б) и гистограммы $N(M_{41})$ (в, г) гистологических срезов полипа (а, в) и аденокарциномы (б, г) прямой кишки.

Проанализируем полученные результаты с физической точки зрения. В рамках рассмотренной нами модели флуоресценция порфиринов характеризуется набором «линейных» ($F_{12,21,22,33}(a,b)$) и «эллиптических» ($F_{44}(c)$) осцилляторов. Указанные излучатели находятся в оптически анизотропной матрице с линейным (6) и циркулярным (7) двулучепреломлением. Известно [11–14], что ориентационно-фазовая (δ, θ) структура такой матрицы зависит от патологии биологической ткани. Так, для злокачественных состояний характерна более разупорядоченная по направлениям ($\Delta\rho \uparrow$) и двулучепреломлению ($\Delta n \uparrow$) фибриллярная сеть. С другой стороны, в [23, 26–28] показано, что автофлуоресценция в красной области спектра возрастает по мере увеличения и развития опухолевого поражения. Это явление может быть связано с жидкокристаллическими сетями порфиринов, накапливающимися в тканях злокачественных новообразований на различных стадиях их развития. Поэтому злокачественные состояния сопровождаются формированием преобладающей над разупорядоченными «линейными» осцилляторами системы флуоресцентных «эллиптических» излучателей

$$a \downarrow, b \downarrow \rightarrow F_{12,21,22,33}(a,b) \downarrow,$$

$$c \uparrow \rightarrow F_{44}(c) \uparrow.$$

Наоборот, для предракового состояния характерно преобладание более упорядоченной системы «линейных» флуоресцентных излучателей,

$$a \uparrow, b \uparrow \rightarrow F_{12,21,22,33}(a,b) \uparrow,$$

$$c \downarrow \rightarrow F_{44}(c) \downarrow.$$

Вторичная фазовая модуляция флуоресцентного излучения фибриллярными сетями образцов обоих типов проявляется в противоположных изменениях мюллер-матричных инвариантов M_{14} и M_{41} . Поскольку для состояния «рак» характерно возрастание двулучепреломления ($\Delta n \uparrow$) протениновых структур, то $M_{41} \uparrow$. Иными словами, для злокачественных новообразований реализуется следующий аналитический сценарий:

$$a \downarrow, b \downarrow \rightarrow F_{12,21,22,33}(a,b) \downarrow \Rightarrow M_{14} \downarrow,$$

$$c \uparrow \rightarrow F_{44}(c) \uparrow \Rightarrow M_{41} \uparrow.$$

Для ткани в состоянии дисплазии имеет место обратная картина:

$$a \uparrow, b \uparrow \rightarrow F_{12,21,22,33}(a,b) \uparrow \Rightarrow M_{14} \uparrow,$$

$$c \downarrow \rightarrow F_{44}(c) \downarrow \Rightarrow M_{41} \downarrow.$$

Для выявления возможности клинического использования методики лазерной флуоресцентной поляриметрии проводились ее сравнительные испытания с методом прямого мюллер-матричного картографирования. С этой целью в пределах двух статистически достоверных групп (доверительный интервал $p < 0.001$) образцов определялись:

1) усредненные величины и стандартные отклонения статистических моментов $Z_{i=1,2,3,4}(q)$ (табл. 1 и 3);

2) традиционные для доказательной медицины операционные характеристики – чувствительность ($Se = [a/(a + b)] \times 100\%$), специфичность ($Sp = [c/(c + d)] \times 100\%$) и точность ($Ac = (Se + Sp)/2$), где a и b – количество правильных и неправильных диагнозов в пределах группы I; c и d – то же в пределах группы II (табл. 2 и 4).

Анализ приведенных данных обнаруживает наивысшую чувствительность статистических моментов 3-го и 4-го порядков, характеризующих распределения $M_{41}(m \times n)$, к типу патологии ткани прямой кишки. В данном случае различия между их значениями достигают 50%. С физической точки зрения полученные результаты можно связать с большей фазовой модуляцией лазерного излучения двулучепреломляющей сетью гистологического среза аденокарциномы. Однако специфичность Sp и точность Ac метода прямого мюллер-матричного картографирования гистологических срезов полипа и аденокарциномы

Табл.1. Статистические моменты 1-го – 4-го порядков распределений мюллер-матричных инвариантов M_{14} и M_{41} (лазерная поляриметрия).

Z_i	M_{14}		M_{41}	
	Группа I	Группа II	Группа I	Группа II
Z_1	0.11 ± 0.018	0.86 ± 0.11	0.14 ± 0.024	0.11 ± 0.016
Z_2	0.08 ± 0.011	0.26 ± 0.038	0.11 ± 0.019	0.09 ± 0.012
Z_3	0.92 ± 0.11	0.61 ± 0.078	0.53 ± 0.082	0.79 ± 0.13
Z_4	0.39 ± 0.23	1.87 ± 0.22	1.04 ± 0.16	0.55 ± 0.22

Табл.2. Операционные характеристики методов прямого мюллер-матричного картографирования.

Z_i	M_{14}			M_{41}		
	Se (%)	Sp (%)	Ac (%)	Se (%)	Sp (%)	Ac (%)
Z_1	58	52	55	64	52	53
Z_2	56	52	54	62	50	56
Z_3	62	54	58	68	60	64
Z_4	64	54	59	70	60	65

Табл.3. Статистические моменты 1-го–4-го порядков распределений мюллер-матричных инвариантов M_{14} и M_{41} (лазерная автофлуоресцентная поляриметрия).

Z_i	$M_{14}(\lambda_i)$		$M_{41}(\lambda_i)$	
	Группа I	Группа II	Группа I	Группа II
Z_1	0.63 ± 0.088	0.49 ± 0.061	0.68 ± 0.096	0.89 ± 0.12
Z_2	0.14 ± 0.022	0.18 ± 0.023	0.27 ± 0.039	0.16 ± 0.023
Z_3	0.33 ± 0.045	0.21 ± 0.032	0.81 ± 0.12	1.69 ± 0.19
Z_4	0.49 ± 0.057	0.28 ± 0.035	0.67 ± 0.11	1.95 ± 0.26

Табл.4. Операционные характеристики метода мюллер-матричного флуоресцентного картографирования.

Z_i	$M_{14}(\lambda_i)$			$M_{41}(\lambda_i)$		
	Se (%)	Sp (%)	Ac (%)	Se (%)	Sp (%)	Ac (%)
Z_1	66	58	62	68	60	64
Z_2	68	54	61	72	62	67
Z_3	74	66	70	92	78	85
Z_4	82	70	76	94	82	88

оказываются недостаточно высокими – не превышают 60%–65% (табл.2).

Для статистических моментов $Z_{i=1,2,3,4}(q)$, которые характеризуют распределения $M_{14}(\lambda_f)$ и $M_{41}(\lambda_f)$, установлены следующие диапазоны межгрупповых различий:

$$M_{14}(\lambda_f): \Delta Z_1 \leftrightarrow 1.28, \Delta Z_2 \leftrightarrow 1.28, \Delta Z_3 \leftrightarrow 1.57, \Delta Z_4 \leftrightarrow 1.75;'$$

$$M_{41}(\lambda_f): \Delta Z_1 \leftrightarrow 1.3, \Delta Z_2 \leftrightarrow 1.69, \Delta Z_3 \leftrightarrow 2.08, \Delta Z_4 \leftrightarrow 2.91.$$

Видно, что межгрупповые различия между статистическими моментами $Z_{i=1,2,3,4}(M_{41})$ намного больше, чем в случае использования метода прямого поляризационного картографирования. Полученные результаты можно связать с модельным анализом (соотношения (1)–(8)) флуоресценции порфиринов. Согласно рассмотренному подходу, онкологическое состояние характеризуется формированием системы флуоресцентных «эллиптических» излучателей ($F_{44}\uparrow$) и ростом двулучепреломления фибриллярной сети аденокарциномы ($M_{41}\uparrow$). Поэтому имеет место смещение ($M_{41} \rightarrow 1$) главного экстремума гистограммы $N(M_{41})$. В результате этого существенно возрастают среднее ($Z_1\uparrow$), асимметрия ($Z_3\uparrow$) и острота пика ($Z_4\uparrow$) данного распределения, а следовательно, увеличиваются диапазоны межгрупповых различий между наборами статистических моментов. Это является базисом повышения информативности метода мюллер-матричного флуоресцентного картографирования (табл.4).

Таким образом, спектрально-селективное мюллер-матричное картографирование флуоресценции порфиринов оказалось эффективным при дифференциальной диагностике доброкачественных (полип) и злокачественных (аденокарцинома) состояний ткани прямой кишки – M_{14} (Ac = 70%–76%) и M_{41} (Ac = 85%–88%).

4. Заключение

На основе обобщенной мюллер-матричной модели флуоресценции двулучепреломляющих сетей оптически активных комплексов биологических тканей разработан метод спектрально-селективной автофлуоресцентной поляриметрии.

Определены мюллер-матричные азимутально-стабильные инварианты лазерной автофлуоресценции, характеризующие поляризационные проявления флуоресценции порфиринов на фоне линейного двулучепреломления и оптической активности протеинов биологических тканей.

В рамках статистического подхода проведено сравнительное исследование диагностических возможностей методов прямого мюллер-матричного картографирования

и лазерной автофлуоресцентной поляриметрии тканей прямой кишки с доброкачественными (полип) и злокачественными (аденокарцинома) изменениями.

Продемонстрирована клиническая эффективность статистического анализа координатных распределений мюллер-матричных инвариантов лазерной поляризационной автофлуоресценции применительно к задаче дифференциации доброкачественных и злокачественных состояний ткани прямой кишки.

1. Bueno J.M., Jaronski J. *Ophthalm. Physiol. Opt.*, **21**, 384 (2001).
2. Bueno J.M., Vargas-Martin F. *Appl. Opt.*, **41**, 116 (2002).
3. Bueno J.M., Campbell M.C.W. *Ophthalm. Physiol. Opt.*, **23**, 109 (2003).
4. Tower T.T. *Biophys. J.*, **81**, 2954 (2001).
5. Tower T.T., Tranquillo R.T. *Biophys. J.*, **81**, 2964 (2001).
6. Shribak M., Oldenbourg R. *Appl. Opt.*, **42**, 3009 (2003).
7. Smith M.H., Burke P., Lompadro A., Tanner E., Hillman L.W. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **3991**, 210 (2000).
8. Smith M.H. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **4257**, 82 (2001).
9. Wang X., Wang L.V. *J. Biomed. Opt.*, **7**, 279 (2002).
10. Lu S., Chipman R.A. *J. Opt. Soc. Am. A*, **13**, 1106 (1996).
11. Ushenko A.G., Pishak V.P. *Handbook of Coherent-Domain Optical Methods: Biomedical Diagnostics, Environmental and Material Science*. Ed. by V.V.Tuchin (Boston: Kluwer Acad. Publ., 2004, Vol. 1, pp. 93–138).
12. Angelsky O.V., Pishak V.P., Ushenko A.G., Ushenko Yu.A., in *Optical Correlation Techniques and Applications*. Ed. by O.V. Angelsky (Bellingham: SPIE Press, 2007, pp. 213–266).
13. Angelsky O.V., Ushenko A.G., Ushenko Yu.A., Pishak V.P., Peresunko A.P., in *Handbook of Photonics for Biomedical Science*. Ed. by V.V.Tuchin (Boca Raton–London–New York: CRC Press, Taylor&Francis group: 2010, pp. 283–322).
14. Andersson-Engels S., Klinteberg C., Svanberg K., Svanberg S. *Phys. Med. Biol.*, **42**, 815 (1997).
15. Alfano R.R., Das B.B., Cleary J., et al. *Bull. NY Acad. Med.*, **67**, 143 (1991).
16. Anidjar M., Ettori D., Cussenot O., et al. *J. Urol.*, **156**, 1590 (1996).
17. Bohorfoush A.G. *Endoscopy*, **28**, 372 (1996).
18. Chwirot B., Jedrzejczyk W., Chwirot S., et al. *Pol. Merkuriz. Lek.*, **5**, 355 (1996).
19. Bard M., Amelink A., Skurichina M., et al. *Chest*, **129**, 995 (2006).
20. Beamis J., Ernst A., Mathur P., et al. *Lung Cancer*, **41**, 49 (2003).
21. Snindo Y., Oda Y. *Appl. Spectroscopy*, **46**, 1251 (1992).
22. Arteaga O., Nicols S., Kahr B. *Opt. Lett.*, **37**, 2835 (2012).
23. Alfano R.R., Tata D.B., Tomashefsky P., et al. *IEEE J. Quantum Electron.*, **20**, 1502 (1984).
24. Savenkov S.N., Marienko V.V., Oberemok E.A., Sydoruk O.I. *Phys. Rev. E*, **74**, 605 (2006).
25. Zellweger M. *Fluorescence Spectroscopy of Exogenous, Exogenously-induced and Endogenous Fluorophores for the Photodetection and Photodynamic Therapy of Cancer* (Lausanne: Fevrier, 2000).
26. Stroka R., Baumgartner R., Buser A. et al. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **1641**, 99 (1991).
27. D'Hallewin M., Kamuhavbra A., Roskams T., et al. *BJU Int.*, **89**, 760 (2002).
28. D'Hallewin M.A., Bezdetnaya L., Guillemin F. *Eur. Urol.*, **42**, 417 (2002).