

Мюллер-матричное картографирование биологических тканей при дифференциальной диагностике механизмов оптической анизотропии протеиновых сетей

В.А.Ушенко, М.И.Сидор, Ю.Ф.Марчук, Н.В.Пашковская, Д.Р.Андрейчук

Предложена модель мюллер-матричного описания оптической анизотропии протеиновых сетей биологических тканей с учетом линейного двулучепреломления и дихроизма. На ее основе найдены алгоритмы реконструкции координатных распределений фазовых сдвигов и коэффициента линейного дихроизма. В рамках статистического анализа таких распределений найдены объективные критерии дифференциации доброкачественных и злокачественных состояний ткани репродуктивной сферы женщины. С позиций доказательной медицины определены операционные характеристики (чувствительность, специфичность и точность) метода мюллер-матричной реконструкции параметров оптической анизотропии и продемонстрирована его эффективность при дифференциации доброкачественных и злокачественных опухолей.

Ключевые слова: матрица Мюллера, линейное двулучепреломление, линейный дихроизм, поляризация, 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 применении мюллер-матричного формализма, на котором основано множество практических методик, используемых в биологических и медицинских исследованиях [1–12]. Одним из самостоятельных направлений матричной оптики является лазерная поляриметрия гистологических срезов биологических тканей [13]. Она позволяет определять взаимосвязи между набором статистических моментов 1-го–4-го порядков [14–19], характеризующих распределения элементов матрицы Мюллера, и параметрами линейного двулучепреломления фибриллярных протеиновых сетей биологических тканей человека. Это дало возможность диагностировать онкологические изменения дермы кожи, эпителиальной и соединительной тканей органов женской репродуктивной сферы и др. [20–22]. Вместе с тем не решенной остается задача дифференциации состояний «предрак–рак». Однако оптическая анизотропия биологических тканей связана не только с линейным двулучепреломлением, но и с другими эффектами. Поэтому для дальнейшего развития функциональных возможностей мюллер-матричного картографирования актуальным оказывается создание методик, учитывающих влияние и других механизмов (например, линейного дихроизма протеиновых сетей).

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

Ю.Ф.Марчук, Н.В.Пашковская, Д.Р.Андрейчук. Буковинский государственный медицинский университет, Украина, 58000 Черновцы, Театральная пл., 3

Поступила в редакцию 28 октября 2013 г., после доработки – 14 февраля 2014 г.

Настоящая работа направлена на создание метода мюллер-матричной реконструкции параметров, характеризующих линейное двулучепреломление и дихроизм биологических тканей, с целью дифференциации доброкачественных и злокачественных опухолей стенки матки.

2. Краткое описание теории метода

В основу мюллер-матричного описания механизмов оптической анизотропии биологических тканей положены следующие модельные представления:

1. Фибриллярные протеиновые (коллагеновые, эластиновые, миозиновые) сети обладают линейным двулучепреломлением и линейным дихроизмом [10].

2. Оптические проявления таких механизмов исчерпывающе полно описываются матричными операторами линейного двулучепреломления

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

$$d_{ik} = \begin{cases} d_{22} = \cos^2 2\rho + \sin^2 2\rho \cos \delta, \\ d_{23} = d_{32} = \cos 2\rho \sin 2\rho (1 - \cos \delta), \\ d_{33} = \sin^2 2\rho + \cos^2 2\rho \cos \delta, \\ d_{24} = -d_{42} = \sin 2\rho \sin \delta, \\ d_{34} = -d_{43} = \cos 2\rho \sin \delta, \\ d_{44} = \cos \delta \end{cases}$$

(ρ – направление укладки фибриллы, δ – фазовый сдвиг между линейно-поляризованными ортогональными составляющими амплитуды светового пучка) и линейного дихроизма

$$\{\Psi\} = \begin{pmatrix} 1 & \varphi_{12} & \varphi_{13} & 0 \\ \varphi_{21} & \varphi_{22} & \varphi_{23} & 0 \\ \varphi_{31} & \varphi_{32} & \varphi_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \varphi_{44} \end{pmatrix}, \quad (2)$$

$$\varphi_{ik} = \begin{cases} \varphi_{12} = \varphi_{21} = (1 - \Delta\tau) \cos 2\rho, \\ \varphi_{13} = \varphi_{31} = (1 - \Delta\tau) \sin 2\rho, \\ \varphi_{22} = (1 + \Delta\tau) \cos^2 2\rho + 2\sqrt{\Delta\tau} \sin^2 2\rho, \\ \varphi_{23} = \varphi_{32} = (1 - \Delta\tau) \sin 2\rho, \\ \varphi_{33} = (1 + \Delta\tau) \sin^2 2\rho + 2\sqrt{\Delta\tau} \cos^2 2\rho, \\ \varphi_{44} = 2\sqrt{\Delta\tau} \end{cases} \quad (2)$$

($\Delta\tau = \tau_x/\tau_y$; $\tau_x = \tau \cos \rho$, $\tau_y = \tau \sin \rho$ – коэффициенты поглощения линейно-поляризованных ортогональных составляющих амплитуды светового пучка).

Результирующую матрицу Мюллера оптически анизотропной сети можно записать в следующем виде:

$$\{M\} = \{D\} \{\Psi\}$$

$$= \begin{pmatrix} 1 & \varphi_{12} & \varphi_{13} & 0 \\ (d_{22}\varphi_{21} + d_{32}\varphi_{31}) & (d_{22}\varphi_{22} + d_{32}\varphi_{32}) & (d_{22}\varphi_{23} + d_{32}\varphi_{33}) & d_{24}\varphi_{44} \\ (d_{32}\varphi_{21} + d_{43}\varphi_{31}) & (d_{32}\varphi_{22} + d_{43}\varphi_{32}) & (d_{32}\varphi_{23} + d_{43}\varphi_{33}) & d_{34}\varphi_{44} \\ (d_{42}\varphi_{21} + d_{43}\varphi_{31}) & (d_{42}\varphi_{22} + d_{43}\varphi_{32}) & (d_{42}\varphi_{23} + d_{43}\varphi_{33}) & d_{44}\varphi_{44} \end{pmatrix}$$

$$= \begin{pmatrix} 1 & M_{12} & M_{13} & 0 \\ M_{21} & M_{22} & M_{23} & M_{24} \\ M_{31} & M_{32} & M_{33} & M_{34} \\ M_{41} & M_{42} & M_{43} & M_{44} \end{pmatrix}. \quad (3)$$

Сопоставление матриц (1)–(3) позволяет получить инварианты «поляризационной реконструкции» параметров линейного двулучепреломления δ и дихроизма $\Delta\tau$ биологических тканей:

$$\delta = \arccos \left[\frac{M_{44}}{2\sqrt{1 - (M_{12}^2 + M_{13}^2)}} \right], \quad (4)$$

$$\Delta\tau = 1 - (M_{12}^2 + M_{13}^2). \quad (5)$$

Таким образом, измерив координатные распределения матричных элементов с размерностью $m \times n$ (количество пикселей цифровой камеры стокс-поляриметра [13])

$$M_{ik} \equiv \begin{cases} M_{44}, \\ M_{12}, \\ M_{13} \end{cases}$$

можно определить карты параметров δ и $\Delta\tau$ (имеющие ту же размерность) оптической анизотропии протеиновых сетей биологических тканей.

3. Объекты, методика исследования и алгоритмы обработки

В качестве объектов исследования использовались оптически тонкие (геометрическая толщина $d \approx 30$ мкм, коэффициент ослабления $\tau < 0.1$) гистологические срезы биопсии доброкачественной (фиброма – группа 1) и злокачественной (аденокарцинома – группа 2) опухолей стенки матки.

Гистологические срезы изготавливались по стандартной методике на замораживающем микротоме. Для каждого из таких слоев характерно наличие оптически анизотропных протеиновых сетей. Двулучепреломление и дихроизм стенки матки, образованной соединительной и

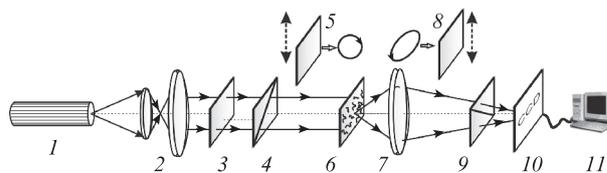


Рис.1. Оптическая схема поляриметра (пояснения см. в тексте): 1 – He–Ne-лазер; 2 – коллиматор (пространственно-частотный фильтр); 3 – стационарная четвертьволновая пластинка; 4 – поляризатор; 5, 8 – механически подвижные четвертьволновые пластинки; 6 – объект исследования; 7 – микрообъектив; 9 – анализатор; 10 – CCD-камера; 11 – персональный компьютер.

мышечной тканями, связаны с коллагеновыми и миозиновыми волокнами [14–19].

Измерения координатных распределений M_{ik} осуществлялось с помощью стандартного стокс-поляриметра (рис.1) [13].

Освещение образца 6 проводилось коллимированным ($\varnothing = 2 \times 10^3$ мкм) пучком излучения He–Ne-лазера малой мощности ($W = 5$ мВт, $\lambda = 0.6328$ мкм). Поляризационный осветитель состоял из четвертьволновых пластинок 3, 5 и поляризатора 4. Исследуемый гистологический срез 6 последовательно зондировался лазерным пучком с линейной (азимутальные углы $0^\circ, 90^\circ, +45^\circ$) и правополяризациями. Полученные изображения с помощью поляризационного микрообъектива 7 (Nikon CFI Achromat P, фокальное расстояние 30 мм, числовая апертура 0.1, увеличение 4^\times) проецировались в плоскость светочувствительной площадки ($m \times n = 800 \times 600$ пикселей) CCD-камеры 10 (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 лк, динамический диапазон 8 бит, отношение сигнал/шум 9 бит, отклонение фоточувствительной характеристики от линейной не более 15%). Анализ изображений гистологических срезов 6 осуществлялся с помощью поляризатора 9 и четвертьволновой пластинки 8. Для каждого типа поляризации зондирующего пучка измерялись параметры вектора Стокса $S_i^{0,45,90,\otimes}$ во всех точках цифрового изображения:

$$S_1^{0,45,90,\otimes} = I_{\otimes}^{0,45,90,\otimes} + I_{\oplus}^{0,45,90,\otimes}, \quad (6)$$

$$S_4^{0,45,90,\otimes} = I_{\otimes}^{0,45,90,\otimes} - I_{\oplus}^{0,45,90,\otimes}.$$

Здесь $I_{\otimes}^{0,45,90,\otimes}, I_{\oplus}^{0,45,90,\otimes}$ – интенсивности право- и левополяризованных составляющих отфильтрованного лазерного излучения.

Далее рассчитывались «информационно-актуальные» элементы M_{ik} матрицы Мюллера гистологического среза с использованием соотношений

$$M_{12} = 0.5(S_1^0 - S_1^{90}),$$

$$M_{13} = S_1^{45} - 0.5(S_1^0 - S_1^{90}), \quad (7)$$

$$M_{44} = S_4^{\otimes} - 0.5(S_4^0 + S_1^{90}).$$

На основании (7) с помощью соотношений (4) и (5) определялись карты линейного двулучепреломления δ и линейного дихроизма $\Delta\tau$ гистологического среза опухоли стенки матки.

Для объективной оценки распределений

$$q \equiv \begin{cases} M_{ik}, \\ \delta, \\ \Delta\tau \end{cases}$$

вычислялся набор статистических моментов 1-го–4-го порядков

$$Z_1 = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N |q_j|, \quad Z_2 = \left(\frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (q_j - Z_1)^2 \right)^{1/2},$$

$$Z_3 = \frac{1}{Z_2^3} \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N q_j^3, \quad Z_4 = \frac{1}{Z_2^4} \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N q_j^4, \tag{8}$$

где $N = mn$ – количество пикселей CCD-камеры.

Данные параметры характеризуют среднее (Z_1), дисперсию (Z_2), асимметрию (Z_3) и эксцесс (Z_4) распределений $q(m, n)$.

4. Анализ и обсуждение экспериментальных данных

На рис.2 представлены серии мюллер-матричных изображений M_{ik} гистологических срезов биопсии опухолей двух типов.

Анализ полученных данных обнаруживает общую закономерность матриц Мюллера образцов обоих типов – отличие от нуля элементов $M_{12,13,44}$. Этот факт подтверждает влияние всех рассмотренных в модельном анализе (соотношения (1)–(3)) механизмов оптической анизотропии сети миозиновых и коллагеновых фибрилл. В даль-

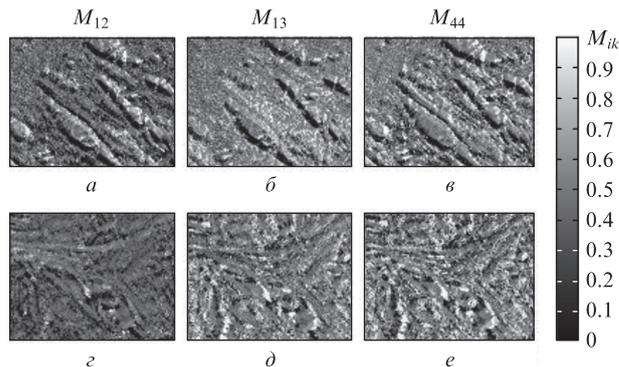


Рис.2. Координатные распределения ($m \times n$) матричных элементов M_{12} (а, з), M_{13} (б, д) и M_{44} (в, е) гистологических срезов доброкачественной (а–в) и злокачественной (з–е) опухолей стенки матки.

нейшем мы провели сравнительный статистический (соотношения (8)) анализ карт линейного двулучепреломления $\delta(m, n)$ (рис.3) и линейного дихроизма $\Delta\tau(m, n)$ (рис.4) гистологических срезов фибромиомы и аденокарциномы.

Сравнительный анализ полученных данных обнаружил следующее.

Диапазоны изменения координатных распределений (рис.3, а, з) фазовых сдвигов $\delta(m, n)$, найденных для образцов обоих типов, соизмеримы (рис.3, б, д). Это можно связать с близостью значений показателей двулучепреломления и поперечных размеров фибрилл фибромиомы и аденокарциномы. Положения экстремумов и полуширина гистограммы $N(\delta)$ также достаточно близки (рис.3, в, е). Вместе с тем распределения $N(\delta)$ образца аденокарциномы более асимметричны. Количественно это иллюстриру-

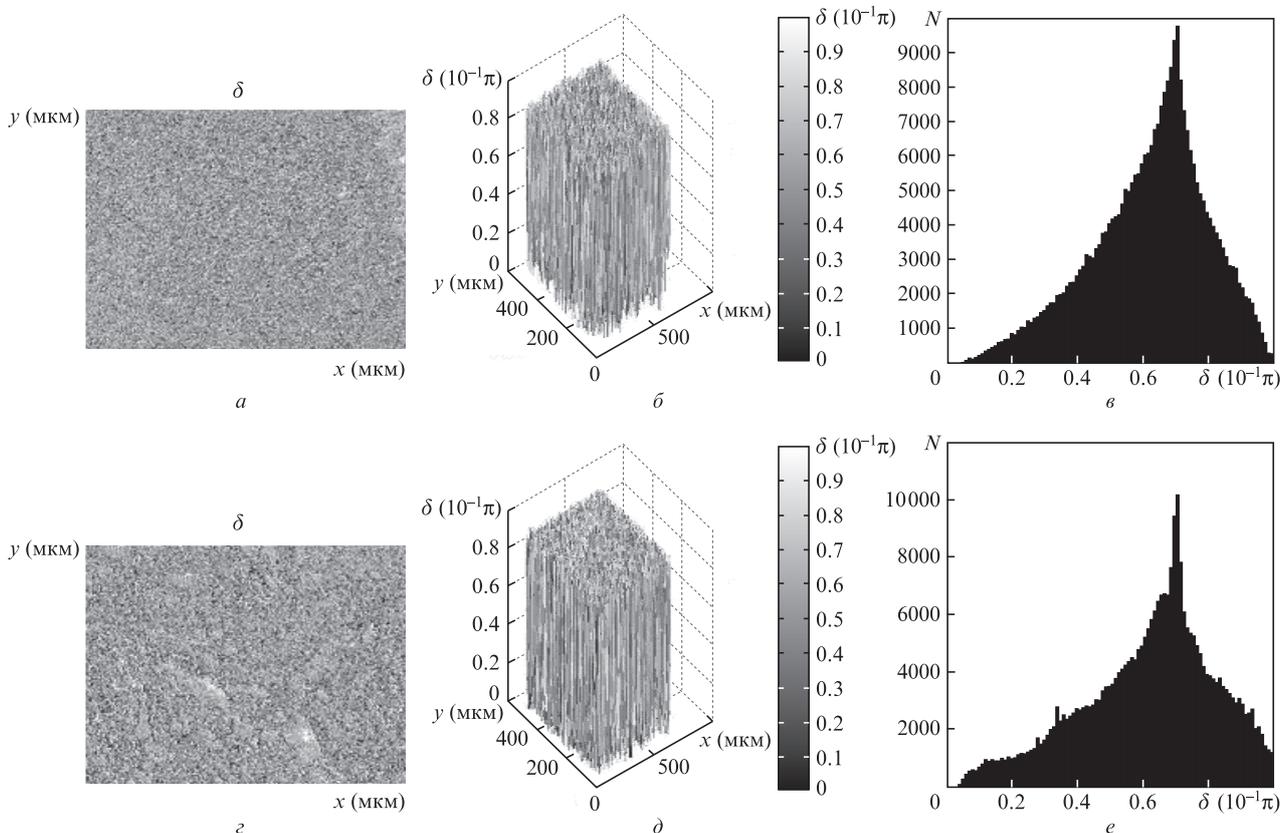


Рис.3. Координатные 2D (а, б), 3D (з, д) и вероятностные (в, е) распределения фазовых сдвигов δ , вносимых гистологическими срезами доброкачественной (а–в) и злокачественной (з–е) опухолей стенки матки.

ют статистические моменты, найденные для гистологических срезов доброкачественной ($Z_1(\delta) = 0.43 \pm 0.08, Z_2(\delta) = 0.16 \pm 0.03, Z_3(\delta) = 0.25 \pm 0.05, Z_4(\delta) = 0.16 \pm 0.06$) и злокачественной ($Z_1(\delta) = 0.41 \pm 0.07, Z_2(\delta) = 0.13 \pm 0.02, Z_3(\delta) = 0.38 \pm 0.06, Z_4(\delta) = 0.29 \pm 0.05$) опухолей. Полученный результат физически можно связать с деструкцией фибриллярной сети злокачественной опухоли и с соответствующим уменьшением двулучепреломления δ . В результате асимметрия Z_3 возрастает в 1.5 раза, а острота пика Z_4 соответствующей гистограммы $N(\delta)$ – в 1.8 раза.

Таким образом, обнаружено, что чувствительность (статистические моменты высших порядков $Z_{3,4}$) метода мюллер-матричной фазовой реконструкции (соотношение (4)) позволяет дифференцировать доброкачественные и злокачественные опухоли стенки матки.

При анализе линейного дихроизма гистологического среза биопсии злокачественной опухоли обнаружено, что он уменьшается. Такая тенденция выявляется в сдвиге главного экстремума асимметричной гистограммы с острым пиком в сторону больших значений $\Delta\tau$ (рис.4,в,е). Данный эффект можно также связать с морфологическим процессом деструкции фибриллярных сетей в пораженной ткани стенки матки. Такая трансформация упорядоченной сети (фибромиома) в случайно ориентированную (аденокарцинома) по направлениям ρ (соотношения (1), (2)) приводит к сближению значений τ_x, τ_y , или $\Delta\tau \rightarrow 1$.

Статистический анализ координатных распределений (рис.4,а,з), $\Delta\tau(m, n)$ выявил более существенные различия между величинами $Z_{1,2,3,4}$. Получены следующие данные для гистологических срезов доброкачественной ($Z_1(\Delta\tau) = 0.69 \pm 0.03, Z_2(\Delta\tau) = 0.38 \pm 0.04, Z_3(\Delta\tau) = 2.04 \pm 0.18, Z_4(\Delta\tau) = 0.59 \pm 0.13$) и злокачественной ($Z_1(\Delta\tau) = 0.76 \pm 0.08,$

$Z_2(\Delta\tau) = 0.21 \pm 0.04, Z_3(\Delta\tau) = 0.54 \pm 0.07, Z_4(\Delta\tau) = 1.79 \pm 0.29$) опухолей. Видно, что для образца аденокарциномы изменение вероятностного распределения $N(\Delta\tau)$ (рис.4,е) сопровождается уменьшением статистических моментов 2-го (Z_2) и 3-го (Z_3) порядков в 1.8 и 3.8 раза соответственно. Статистический момент 4-го порядка (Z_4) возрастает в 3 раза. Данный факт указывает на более высокую чувствительность метода мюллер-матричной реконструкции параметра оптического дихроизма $\Delta\tau$ (соотношение (5)) к типу патологии стенки матки.

Для возможного клинического использования этого метода в пределах двух статистически достоверных групп (доверительный интервал $p < 0.001$) образцов фибромиомы (группа 1, 32 образца) и аденокарциномы (группа 2, 31 образец) был проведен статистический анализ координатных распределений параметров δ и $\Delta\tau$ (табл.1). Кроме того, для каждой группы определялись традиционные для доказательной медицины операционные характеристики – чувствительность ($Se = [a/(a + b)] \times 100\%$), специфичность ($Sp = [c/(c + d)] \times 100\%$) и точность ($Ac = (Se + Sp)/2$),

Табл.1. Статистические моменты 1-го–4-го порядков, характеризующие распределения параметров оптической анизотропии гистологических срезов фибромиомы и аденокарциномы.

Z_i	Фибромиома (32 образца)		Аденокарцинома (31 образец)	
	δ	$\Delta\tau$	δ	$\Delta\tau$
Z_1	0.42 ± 0.07	0.68 ± 0.02	0.39 ± 0.06	0.74 ± 0.09
Z_2	0.15 ± 0.02	0.36 ± 0.03	0.13 ± 0.02	0.23 ± 0.04
Z_3	0.23 ± 0.04	1.97 ± 0.11	0.36 ± 0.05	0.51 ± 0.06
Z_4	0.19 ± 0.03	0.62 ± 0.14	0.27 ± 0.04	1.74 ± 0.27

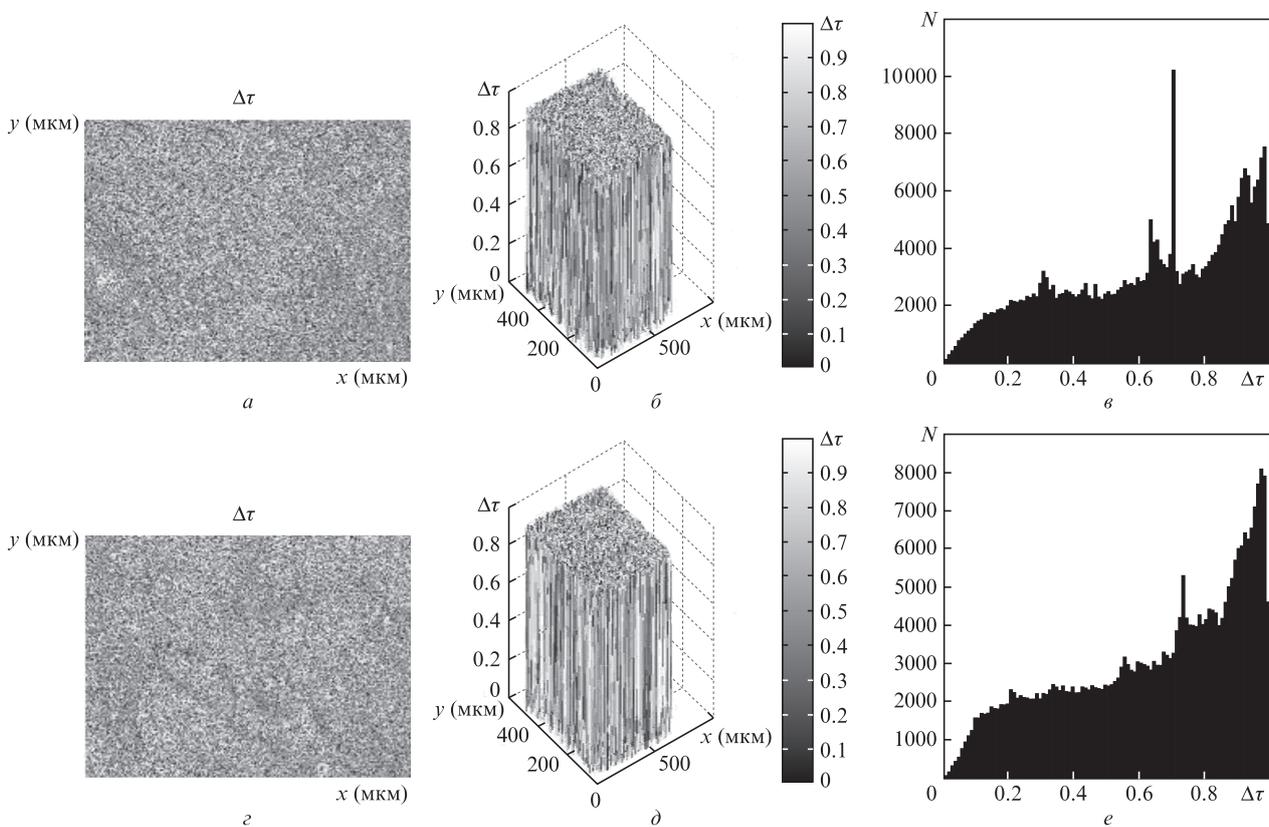


Рис.4. Координатные 2D (а,б), 3D (з,д) и вероятностные (в,е) распределения коэффициента линейного дихроизма $\Delta\tau$ гистологических срезов доброкачественной (а–в) и злокачественной (з–е) опухолей стенки матки.

Табл.2. Операционные характеристики метода мюллер-матричной реконструкции параметров оптической анизотропии.

Z_i	δ			$\Delta\tau$		
	Se (%)	Sp (%)	Ac (%)	Se (%)	Sp (%)	Ac (%)
Z_2	94	68	81	84	74	79
Z_3	90	76	83	82	74	78
Z_4	92	74	83	84	72	78

где a и b – количество правильных и неправильных диагнозов в группе 1; c и d – то же в группе 2 (табл.2).

Для метода мюллер-матричной реконструкции параметров линейного двулучепреломления δ и дихроизма $\Delta\tau$ установлены следующие количественные критерии (различия между усредненными величинами статистических моментов) дифференциации доброкачественных и злокачественных опухолей: $\Delta Z_3(\delta) \leftrightarrow 1.56$ и $\Delta Z_4(\delta) \leftrightarrow 1.42$; $\Delta Z_2(\Delta\tau) \leftrightarrow 1.56$, $\Delta Z_3(\Delta\tau) \leftrightarrow 3.86$ и $\Delta Z_4(\Delta\tau) \leftrightarrow 2.8$.

Таким образом, эффективными в задаче дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных изменений ткани матки оказались методы мюллер-матричной реконструкции как линейного двулучепреломления ($Ac = 81\% - 83\%$), так и линейного дихроизма ($Ac = 78\% - 79\%$).

Полученные результаты позволяют утверждать, что уровень точности азимутально-стабильного мюллер-матричного картографирования достаточно высок. Согласно критериям доказательной медицины [23–25], величина $Ac \sim 80\%$ соответствует хорошему качеству диагностического теста. Заметим, что наиболее точными (золотой стандарт) в дифференциации доброкачественных и злокачественных опухолей до сих пор остаются гистологические методы. Главные недостатки традиционных методик – большие затраты времени и субъективность заключительной оценки. Наш метод является объективным и достаточно быстросействующим: время полного диагностического цикла не превышает 15 мин. Помимо этого, в отличие от данных, полученных с использованием азимутально-зависимых методик, результаты поляризационного картографирования [13–22] являются достоверными, воспроизводимыми и вполне точными.

5. Заключение

1. На основе модели обобщенной оптической анизотропии, которой обладают протеиновые сети биологи-

ческих тканей, разработан метод мюллер-матричной реконструкции параметров линейного двулучепреломления и линейного дихроизма.

2. Найдены взаимосвязи между набором статистических моментов 1-го–4-го порядков, характеризующих распределения фазовых сдвигов и коэффициента линейного дихроизма тканей стенки матки, и особенностями патологий этих тканей.

3. Продемонстрирована диагностическая эффективность метода мюллер-матричной реконструкции при дифференциации доброкачественных и злокачественных опухолей стенки матки.

- Smith M.H., Burke P., Lompadro A., Tanner E., Hillman L.W. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **3991**, 210 (2000).
- Smith M.H. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **4257**, 82 (2001).
- Ushenko Yu.A. *Ukr. J. Phys. Opt.*, **6**, 63 (2005).
- Tower T.T. *Biophys. J.*, **81**, 2954 (2001).
- Bueno J.M., Jaronski J. *Ophthalm. Physiol. Opt.*, **21**, 384 (2001).
- Bueno J.M., Vargas-Martin F. *Appl. Opt.*, **41**, 116 (2002).
- Bueno J.M., Campbell M.C.W. *Ophthalm. Physiol. Opt.*, **23**, 109 (2003).
- Tower T.T., Tranquillo R.T. *Biophys. J.*, **81**, 2964 (2001).
- Shribak M., Oldenbourg R. *Appl. Opt.*, **42**, 3009 (2003).
- Petrov V.V., Kryuchyn A.A., Savenkov S.N., Gorbov I.V., Klimov A.S., Oberemok Ye.A. *Data Rec. Storage Proc.*, **12**, 3 (2010).
- Ушенко Ю.А., Сидор М.И., Боднар Г.Б., Коваль Г.Д. *Квантовая электроника*, **44**, 785 (2014).
- Lu S., Chipman R.A. *J. Opt. Soc. Am. A*, **13**, 1106 (1996).
- 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, 2010, p. 283).
- Ушенко Ю.А., Томка Ю.Я., Дуболазов А.В. *Оптика и спектроскопия*, **110**, 814 (2011).
- Angelsky O.V., Ushenko A.G., Burkovets D.N., Ushenko Yu.A. *Opt. Appl.*, **32**, 591 (2002).
- Ushenko Y.A. *J. Biomed. Opt.*, **16**, 066006 (2011).
- Ushenko Y.A., Misevich I.Z., Telenga O.Y., Tomka Y.Y., Karachevtsev A.O. *Opt. Memory Neural Networks (Inform. Opt.)*, **20**, 59 (2011).
- Ushenko Y.O., Tomka Y.Y., Misevitch I.Z., Istraty V.V., Telenga O.I. *Opt. Eng.*, **50**, 039001 (2011).
- Angelsky O.V., Ushenko A.G., Burkovets D.N., Ushenko Yu.A., Jozwicki R., Patorski K. *Opt. Appl.*, **32** (4), 603 (2002).
- Ушенко Ю.А., Томка Ю.Я., Дуболазов А.В., Теленьга О.Ю. *Квантовая электроника*, **41**, 273 (2011).
- Ushenko Y.A. *Optoelectron. Rev.*, **19**, 425 (2011).
- Ushenko Y.A. *Optoelectron. Rev.*, **19**, 333 (2011).
- Cassidy L.D. *J. Surg. Res.*, **128**, 199 (2005).
- Davis C.S. *Statistical Methods of the Analysis of Repeated Measurements* (New York: Springer-Verlag, 2002).
- Petrie A., Sabin B. *Medical Statistics at a Glance* (Oxford: Blackwell Publ., 2005).