

Адаптация метода LASCA для диагностики злокачественных опухолей у лабораторных животных

С.С.Ульянов, В.Н.Ласкавый, А.Б.Голова, Т.И.Полянина,
О.В.Ульянова, В.А.Федорова, А.С.Ульянов

Осуществлена адаптация метода LASCA для диагностики злокачественных новообразований у лабораторных животных. Проведено исследование опухолей у мышей инбредной линии Balb/c после инокуляции клеток сингенной миеломной линии Sp.2/0–Ag.8. Обоснована целесообразность использования метода tLASCA при исследовании опухолей, показаны его преимущества перед методом sLASCA. Установлено, что наиболее информативной характеристикой, указывающей на наличие опухоли, является фрактальная размерность LASCA-изображений.

Ключевые слова: метод LASCA, злокачественные новообразования, фрактальная размерность.

1. Введение

В настоящее время для диагностики злокачественных новообразований используются, как правило, методы рентгенографии и флуоресцентной диагностики, ультразвуковое исследование, биопсия тканей. В исследованиях *in vivo* особую актуальность приобретает задача объективных измерений размера опухолей и мониторинга роста или регрессии опухоли у лабораторных животных в процессе лечения рака. В настоящей работе для диагностики опухоли использовался метод анализа контраста спеклов LASCA (Laser Speckle Contrast Analysis) [1, 2]. Ранее этот метод применялся для исследования церебрального кровотока в норме и при различных патологиях [3–5], для тестирования нового поколения вакцинных препаратов против особо опасных инфекций [6] и при изучении гидродинамических микропотоков крови в уединенных сосудах брыжейки белых крыс [7].

Следует особо упомянуть об использовании методов спекл-диагностики при изучении микроциркуляции сильно рассеивающих тканей, к которым относятся раковые опухоли. Ранее уже были предприняты попытки применения подобных методов для исследования злокачествен-

ных новообразований [8–13], однако практическое использование метода LASCA в диагностике рака сопряжено на практике с большими сложностями.

Поскольку мониторинг роста/регрессии опухолей должен проводиться в динамике, т. е. в процессе лечения, метод диагностики должен быть полностью неинвазивным. При этом, во-первых, исключается какое-либо повреждение опухоли или окружающих ее тканей. Если опухоль локализована внутри организма (не на поверхности кожи), то она покрыта тканями кожи, содержащими кровеносные сосуды, движение крови в которых порождает дополнительную динамику спеклов, маскирующую полезный сигнал от тканей опухоли. Влияние кожного кровотока следует устранить. Например, при исследовании церебрального кровотока с головы белых крыс удаляется фрагмент кожного покрова, а после окончания эксперимента, который длится около 40 минут, животное умерщвляется. При исследовании опухолей применение столь травматичной техники удаления кожных лоскутов невозможно в принципе, поскольку измерения производятся многократно, в течение трех-четырех недель.

Во-вторых, недопустимо использование каких-либо контрастирующих веществ, т. к. в сочетании с тестируемыми новыми противоопухолевыми препаратами [14] они могут оказывать неконтролируемое влияние на процесс роста/регрессии новообразования.

В-третьих, нежелательно использование наркотизирующих препаратов. Недавно были опубликованы первые работы [15], посвященные применению методов LASCA для исследования церебрального кровотока у лабораторных животных, свободно перемещающихся в клетке. Для решения этой задачи миниатюрное измерительное устройство жестко фиксировалось на голове животного. Однако такой подход совершенно неприемлем в случае исследований опухолей, сформировавшихся в мягких тканях. Обычно для устранения двигательной активности лабораторного животного и его фиксации на измерительной установке применяется наркотизация, как правило нембуталом. Многократное использование наркотизирующих средств в течение нескольких недель может существенным образом повлиять на процесс формирования опухоли, однако сочетанное действие наркотиков с

С.С.Ульянов, А.С.Ульянов. Национальный исследовательский Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; e-mail: ulianov@sgu.ru

В.Н.Ласкавый, А.Б.Голова, Т.И.Полянина. Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт Россельхозакадемии, Россия, 410028 Саратов, ул. 53-й Стрелковой дивизии, 6

О.В.Ульянова. Национальный исследовательский Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт Россельхозакадемии, Россия, 410028 Саратов, ул. 53-й Стрелковой дивизии, 6; Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И.Вавилова, Россия, 410012 Саратов, Театральная пл., 1; e-mail: ulianovaov@mail.ru

В.А.Федорова. Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт Россельхозакадемии, Россия, 410028 Саратов, ул. 53-й Стрелковой дивизии, 6; Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И.Вавилова, Россия, 410012 Саратов, Театральная пл., 1; e-mail: feodorovav@mail.ru

Поступила в редакцию 11 апреля 2012 г.

тестируемыми новыми противоопухолевыми биокомпозитами на данный момент совершенно не изучено.

Уместно напомнить, что изначально метод LASCA был разработан для исследования микроциркуляции крови именно в оболочках головного мозга белых крыс. Излучение лазера при зондировании головного мозга рассеивается в костях черепа, расположенных над тканями головного мозга. Рассеивающие характеристики верхних слоев кожи сильно отличаются от рассеивающих характеристик других биотканей, в частности от свойств костных тканей. Таким образом, LASCA требует как адаптации к задачам диагностики злокачественных опухолей, так и детальной апробации в лабораторных условиях.

Решению этой проблемы и посвящена настоящая статья.

2. Материалы и методы

2.1. Лабораторные животные

В экспериментах были использованы двенадцатинедельные мыши инбредной линии Balb/c весом 20 г, сингенные (т.е. генетически однородные) по отношению к миеломным клеткам Sp.2/0–Ag.8. Для контроля использовали интактных мышей этой же линии. Животные получены из лицензированного питомника филиала «Андреевка» ГУ НЦБМТ РАМН (Московская обл., Солнечногорский район, п. Андреевка). Для исследований статистических характеристик кожи методом когерентной микроскопии использовали аутбредных белых мышей.

2.2. Культура клеток (линия плазмцитомы)

Индукцию образования опухоли проводили путем инокуляции инбредным мышам клеток мышинной плазмцитомы линии Sp.2/0–Ag.8. Для формирования солидной, т.е. локализованной, опухоли внутримышечно вводилось 0.5 мл клеточной суспензии, содержащей 6×10^5 клеток указанной сингенной миеломной линии. Предварительно животным внутрибрюшинно вводили минеральное масло Pristane для эффективного приживания опухлевых клеток [16].

2.3. Подготовка образцов кожи аутбредных мышей для когерентной микроскопии

При проведении исследований предполагалось, что рассеивающие характеристики кожи аутбредных мышей ничем не отличаются от аналогичных характеристик у мышей инбредных линий. Слои кожи аутбредных мышей были срезаны горизонтально с помощью замораживающего микротомы МЗ-2 (Россия). Каждый срезанный образец кожи помещался между двумя покровными стеклами, края полученной «сэндвич-структуры» были герметично закрыты парафином. Между экспериментами приготовленные образцы хранили в морозильной камере при температуре -18°C . Следует отметить, что образцы могут быть чрезвычайно неоднородны, что отражает сложную структуру кожи; иногда они могут содержать фрагмент капиллярной сети. Были приготовлены следующие образцы, взятые с различной глубины: толщиной 50 мкм (срезы на глубине 70, 220, 570 и 1420 мкм), 100 мкм (на глубине 620 и 1470 мкм), 150 мкм (на глубине 720 и 1570 мкм), 200 мкм

(на глубине 320 и 870 мкм), 300 мкм (на глубине 1070 и 1920 мкм), 400 мкм (на глубине 400 и 800 мкм).

2.4. Установка для исследования рассеивающих характеристик кожи

Как было показано ранее [3], при использовании метода LASCA соотношение между средним размером спеклов и размером пикселей используемой камеры, близкое к единице, является оптимальным. Следует отметить, что при визуализации микрососудов головного мозга лабораторных животных динамика спеклов наблюдается только в небольших областях регистрируемой спекл-структуры. Эти области локализованы в пространстве и в точности соответствуют положению наблюдаемых уединенных микрососудов. Остальная часть регистрируемой спекл-структуры содержит только статические спеклы. Таким образом, средний размер спеклов может быть определен непосредственно по результатам статистической обработки отдельных реализаций статического спекл-поля.

Однако при исследовании опухолей ситуация совершенно отличается от описанной выше. Поскольку опухоль содержит чрезвычайно большое количество микрососудов, то в регистрируемой спекл-структуре содержатся только динамические спеклы, которые не локализованы в плоскости изображения. При применении методов LASCA время регистрации отдельного фрейма намного превышает время корреляции флуктуаций интенсивности спекл-поля, поэтому регистрируемые спеклы усреднены по времени. При этом поперечный размер усредненных спеклов не совпадает с размером статических спеклов. Таким образом, с точки зрения адаптации методов LASCA к задачам диагностики и мониторинга роста опухолей особую актуальность приобретает задача измерения среднего размера спеклов.

Наблюдение *in vitro* биоспеклов, образующихся при рассеянии когерентного света в срезах кожи, проводилось с помощью микроскопа Биолам (ЛОМО, Россия), в котором вместо некогерентного источника белого света использовался He–Ne-лазер ГН-5П (мощность 5 мВт, длина волны $\lambda = 633$ нм). Выходной гауссов пучок диаметром 1 мм преобразовывался в коллимированный пучок с изменяемым в диапазоне 1–7 мм диаметром. Коллимирование осуществлялось с помощью системы, состоящей из двух частей. Первая часть коллимирующей системы была образована двумя линзами. Передняя фокальная плоскость второй линзы с фокусным расстоянием 10 мм и числовой апертурой 0,55 (AL1210-A, S-LAN64 Aspheric Lens, Thorlab, США) совмещалась с задней фокальной плоскостью первой линзы с фокусным расстоянием 1.14 мм и числовой апертурой 0.44 (C200TM-B, Thorlab, США). Эта часть коллимирующей системы использовалась для формирования расширенного пучка диаметром 7 мм. Вторая часть коллимирующей системы также состояла из двух линз с фокусным расстоянием 1.14 мм и числовой апертурой 0.44 (C200TM-B, Thorlab, США), между которыми в плоскости фокусировки пучка был установлен пространственный фильтр – диафрагма с малым отверстием диаметром 5 мкм (P5S, Thorlab, США). Все линзы и пространственный фильтр были смонтированы в двух стандартных оптических втулках (SM05L10, 0.5" Lens Tube, Thorlab, США), между ними была установлена ирисовая диафрагма (D5S, Thorlab, США). Ирисовая диафрагма использовалась для согласования диаметра коллимиро-

ванного пучка с размером того фрагмента образца, который визуально отличался наибольшей статистической однородностью. Для регулирования интенсивности освещения перед коллимирующей системой устанавливался вращающийся аттенуатор (NDC-100C-4M, Mounted Continuously Variable ND Filter, Thorlab, США), представляющий собой нейтральный фильтр с оптической плотностью, регулируемой в диапазоне 0–4. Коллимированный пучок направлялся на исследуемый образец кожи с помощью зеркала (ME05-M01, Gold, Thorlab, США).

Спеклы наблюдались непосредственно на поверхности исследуемого образца кожи. Для наблюдения использовался масляно-иммерсионный 90-кратный микрообъектив с числовой апертурой 1.25 (IOMO, Standa, Литва). В плоскости полевой диафрагмы была установлена монохромная цифровая CMOS-камера WinCamD (DataRay, США) с разрешением 1024×1024 пикселей, с помощью которой проводилась регистрация спекл-структур в плоскости изображения объекта. Для уменьшения уровня шумов при регистрации спекл-полей использовался режим усреднения по 100 реализациям. Характерная спекл-структура, формирующаяся при освещении коллимированным лазерным пучком среза кожи толщиной 200 мкм, показана на рис.1,а.

Для последующей обработки из двумерной реализации спекл-поля выбиралась одномерная реализация – одна

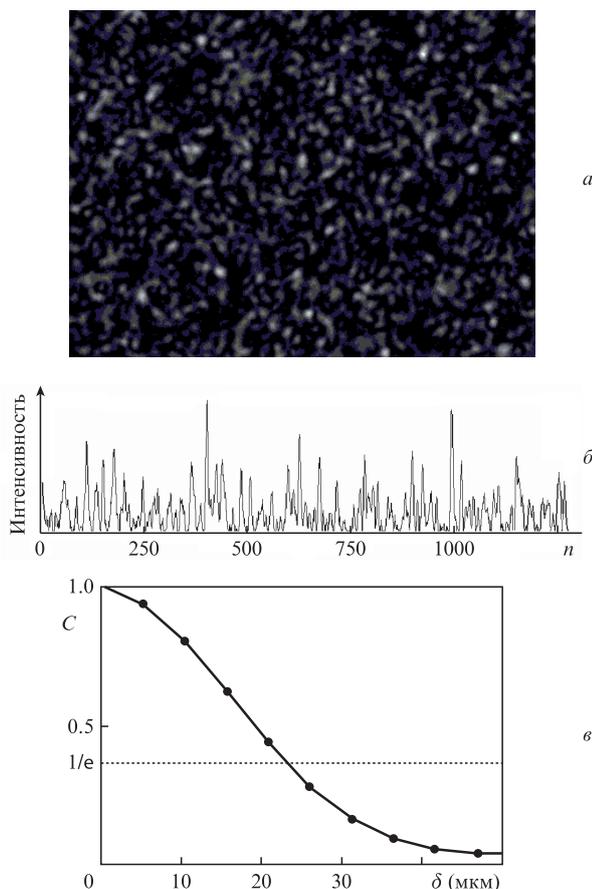


Рис.1. Биоспеклы, формирующиеся при освещении коллимированным лазерным пучком среза кожи: фрагмент двумерной спекл-структуры (а) и одномерная ее реализация (n – номер пикселя) (б), а также нормированная поперечная корреляционная функция флуктуаций интенсивности рассеянного поля (в).

центральная горизонтальная линия (рис.1,б). Для подавления статистической неоднородности использовалось дополнительное сглаживание методом скользящей медианы. Впоследствии этот тренд удалялся, после чего вычислялась пространственная корреляционная функция спекл-поля. Корреляционная функция в области малых значений интерполировалась сплайнами, что обеспечивало ее вычисление с субпиксельным пространственным разрешением.

2.5. Установка для исследования микроциркуляции крови методом LASCA

Для формирования LASCA-изображения использовалась линза с фокусным расстоянием 30 мм и диаметром 12.7 мм (AC254-030, Thorlab, США). Ткани освещались под углом 40° от нормали с помощью коллимирующей системы, описанной в п.2.4. Принцип обработки спекл-полей при использовании динамического метода LASCA состоит в следующем. В каждой точке динамической спекл-структуры контраст динамических спеклов вычислялся по формуле

$$V = \frac{\sqrt{\langle (I - \langle I \rangle)^2 \rangle}}{\langle I \rangle} = \frac{\sigma_I}{\langle I \rangle}, \quad (1)$$

где I – мгновенная интенсивность динамических биоспеклов; σ_I – стандартное отклонение флуктуаций интенсивности; угловые скобки означают усреднение по времени. При построении изображения визуализируемых тканей использовалось усреднение по 500 зарегистрированным фреймам динамического спекл-поля, зарегистрированного с помощью монохромной CMOS-камеры Phoenix 1280 USB DC (MuTech, США). Поле зрения составляло 11×11 мм, увеличение оптической системы равнялось 0.46, пространственное разрешение в плоскости объекта составляло 11.3 мкм.

3. Исследование процессов формирования спеклов внутри слоя кожи аутибранных мышей

Если срез кожи достаточно тонкий, то измерение среднего размера спеклов может быть произведено непосредственно с использованием поперечной корреляционной функции флуктуаций интенсивности рассеянного поля. Размер спеклов равен удвоенному значению длины корреляции. Характерный пример корреляционной функции представлен на рис.1,в. Если толщина образца кожи превышает 100 мкм, то размер спеклов в плоскости наблюдения становится меньше размера пикселя камеры. Прямые измерения средних размеров спеклов в этом случае становятся невозможными. Эта величина может быть оценена косвенно по контрасту спеклов. Как известно, контраст полностью развитых спеклов равен единице. Если рассеянный свет полностью деполаризован, то контраст спеклов снижается до 0.7 [17]. Как следует из центральной предельной теоремы [18], если спеклы интегрированы апертурой фотоприемника (в данном случае отдельным пикселем CMOS-камеры), то контраст спеклов снижается еще в N раз, где N – среднее число спеклов, попадающих на фотоприемник (в данном случае на единичный пиксель CMOS-камеры). Таким образом, зная контраст спеклов и размер пикселей камеры, можно оценить средний размер спеклов. Значения контраста спеклов (рассеянных

Табл.1. Контраст спеклов в зависимости от толщины среза ткани и его глубины у интактных мышей.

Глубина (мкм)	Толщина (мкм)				
	100	150	200	300	400
150	0.22	0.21	0.27	0.27	0.21
~200	0.28	0.29	0.34	0.29	0.24
300–400	0.23	0.22	0.21	0.21	0.34
500–1000	0.14	0.16	0.23	0.3	0.22
1300–1500	0.22	0.19	0.24	0.2	0.27

от кожи и граничащих с ней жировой клетчатки и мышечной ткани) как функция толщины слоя и глубины его залегания представлены в табл.1.

Как видно из таблицы, контраст спеклов, измеренных CMOS-камерой, относительно низок и лежит в диапазоне 0.14–0.34. Измерения контраста позволяют сделать следующее заключение: спеклы, формирующиеся в тканях кожи мышей, имеют весьма малые размеры, которые в верхних слоях эпидермиса находятся в диапазоне (1.53–3)λ. При толщине образца кожи (и прилегающей к ней тканей) 200–300 мкм, размеры спеклов стремятся к λ.

Подобное заключение чрезвычайно важно с точки зрения адаптации метода LASCA к проблемам диагностики новообразований. Как уже упоминалось, существуют две основные модификации метода LASCA. Первая модификация (sLASCA) основана на анализе единичной реализации статических спеклов [19, 20]. При этом вся реализация спекл-поля разбивается на небольшие области, как правило 5 × 5 или 7 × 7 пикселей. Для каждой из выделенных областей вычисляется локальное значение контраста статических спеклов, после чего строится LASCA-изображение. Второй подход (tLASCA) основан на использовании формулы (1). Детальное сравнение обоих подходов к обработке спеклов дано в работе [4].

Как показывают проведенные исследования, в случае диагностики опухоли ее зондирование проводится пространственно-некогерентным светом. Контраст статических спеклов в этом случае будет стремиться к нулю. Применение предварительной статистической обработки спекл-полей, основанной на интерполяции B-сплайнами, либо специфических методов принудительного увеличения контраста спеклов (эти метод называются соответственно tLASCA [21] и eLASCA [22, 23]) позволяет несколько улучшить качество LASCA-изображений. Однако, принимая во внимание, что контраст динамических спеклов (в отличие от контраста статических спеклов) не изменяется в результате интегрирования спеклов апертурой пикселя камеры, при диагностике опухолей целесообразно использовать вторую модификацию метода LASCA, а именно tLASCA, основанную на обработке динамических спеклов.

4. Адаптация метода LASCA для биомоделей, сингенных к злокачественным опухолям

4.1. Компенсация движения животного

Как уже упоминалось, при проведении экспериментов лабораторные животные не были наркотизированы. Их жестко фиксировали на установке с помощью хлопчатобумажных нитей диаметром 1 мм. Однако подобный способ фиксации не позволяет полностью устранить движе-

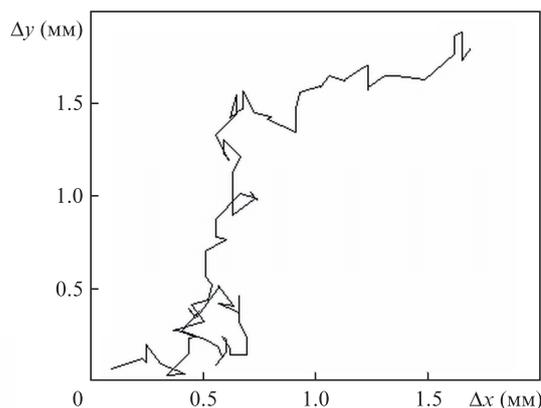


Рис.2. Траектория движения животного (Δx, Δy – смещение исследуемого объекта вдоль координатных осей).

ния животных, вызванные мышечной активностью и дыханием.

С целью повышения чувствительности метода алгоритм обработки динамических изображений был существенно модифицирован. На первом этапе обработки выделялся двумерный тренд у двух последовательно зарегистрированных изображений спекл-полей. Затем вычислялась двумерная кросс-корреляционная функция между реализациями двух трендов. В этом состоит отличие от алгоритма [6, 7], в котором корреляция вычислялась между высокочастотными компонентами спекл-структур, очищенных от тренда. Положение максимума кросс-корреляционной функции позволяет с высокой точностью определить взаимное смещение изображений. На следующем этапе проводилась корректировка смещений изображений спекл-полей, вызванных дыханием и двигательной активностью лабораторного животного.

Траектория движения животного в процессе измерений носит чрезвычайно сложный хаотический характер. Пример такой траектории показан на рис.2. Видно, что смещение животного может быть достаточно велико и достигать 2 мм, что составляет 1/7 поля зрения.

4.2. Устранение влияния кожного кровотока

Движение крови в коже вызывает наиболее интенсивную динамику спеклов и является основным источником погрешностей измерений. Для подавления динамики биоспеклов, обусловленной рассеянием в микроциркуляторной сети, использовалось дополнительное круглое стеклянное окно толщиной 2.1 мм и диаметром 14 мм, изготовленное из фрагмента голографической пластины ПГ-3, с которой предварительно был удален фотоэмульсионный слой. При создании избыточного давления стеклянным окном на поверхность кожи интенсивность микроциркуляции крови и кровенаполнение сосудов заметно уменьшаются. Визуально это выражается в изменении цвета (побелении) кожных покровов.

Как известно, применение веществ, вызывающих оптическое просветление, может заметно изменять рассеивающие характеристики биотканей [24]. При проведении экспериментальных исследований на поверхность кожи интактных мышей наносились такие вещества, как вазелин и полиэтиленгликоль-400. Однако, как показывают результаты экспериментов, описанных ниже, применение этих веществ совершенно не изменяет структуры LASCA-изображений, хотя безусловно должно уменьшать кратность

рассеяния в неподвижных структурах кожи. Идентичность LASCA-изображений, полученных до и после оптического просветления (см. разд.5), косвенным образом свидетельствует о том, что интенсивность кожного кровотока существенно снижается вследствие компрессии кожи.

4.3. Анализ контраста и фрактальной размерности LASCA-изображений

Фрактальные структуры [25] часто встречаются в природе и изучаются в самых разных отраслях науки. Фракталы, встречающиеся в оптике [26], наблюдаются при формировании спекл-структур, которые образуются при рассеянии света в случайно-неоднородных средах или при дифракции на шероховатых поверхностях. Дифракционные картины, образующиеся при рассеянии когерентного света в объектах биологического происхождения, называют, как правило, биоспеклами [27]. По аналогии с этим оптические фракталы, образованные при дифракции излучения в биотканях, стали называть биофрактальными изображениями [28] либо просто биофракталами [29]. В последние годы анализ фрактальных структур нашел применение при решении различных задач в биологии и медицине. Спектр приложений чрезвычайно широк: от ранней диагностики онкологических заболеваний до выявления у пациентов склонности к шизофрении [30–35].

В настоящей работе для повышения информативности разрабатываемого метода диагностики новообразований помимо измерения среднего пространственного контраста наблюдаемых LASCA-изображений была предпринята попытка определения их фрактальных размерностей (при исследовании интактных тканей и тканей с опухолью). Фрактальные размерности полученных спекл-структур вычислялись с использованием метода покрытия. Более детально этот алгоритм применительно к анализу биоспеклов описан в работах [36, 37].

5. Применение метода LASCA для визуализации солидных опухолей

Первые признаки опухоли (небольшая припухлость размером примерно 5×5 мм в месте введения миеломных клеток) появлялись у биомоделей на 7-е сутки после введения. Визуализацию опухоли методом LASCA проводили на 12-й день после инокуляции клеток сингенной миеломной линии Sp.2/0–Ag.8 (размер опухоли 20×20 мм).

Пространственное распределение контраста спеклов в плоскости изображения отражает структуру и пространственное расположение глубокозалегающих тканей злокачественных новообразований. Изображения усредненных спеклов и пространственное распределение среднеквадратичного отклонения временных флуктуаций интенсивности биоспеклов являются менее информативными и отражают, в первую очередь, не расположение микрососудов в капиллярной сети опухоли, а поверхностные неровности кожи исследуемого животного (эти изображения в статье не приводятся, поскольку они совершенно неинформативны).

На рис.3,а и б показаны фрагменты LASCA-изображения тканей интактного животного до и после оптического просветления. Безусловно, эти изображения могут быть смещены относительно друг друга, поскольку животное извлекалось из измерительной установки для на-

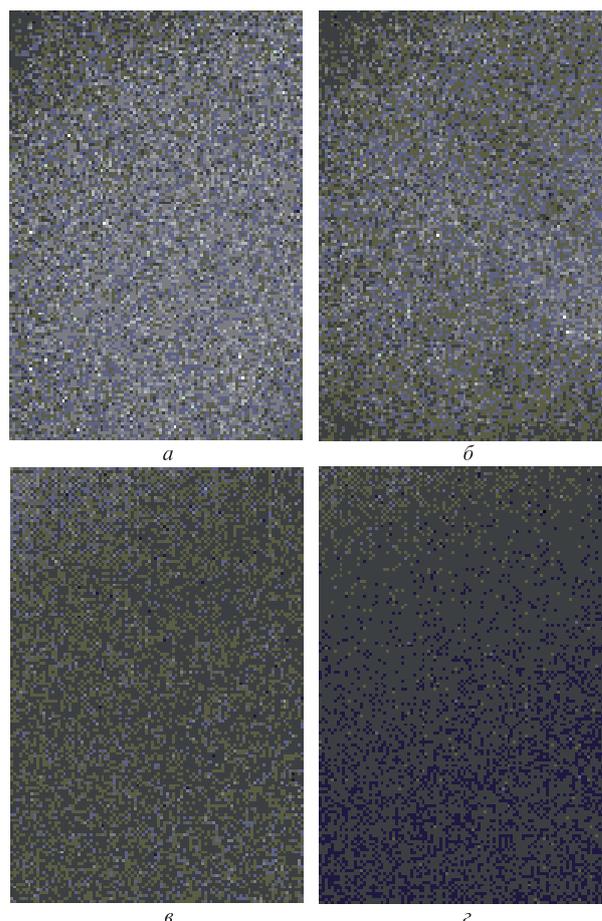


Рис.3. Фрагменты LASCA-изображения тканей лабораторного интактного животного до (а) и после (б) оптического просветления, а также два изображения тканей животного с миеломой (без оптического просветления) (в и г).

несения просветляющих веществ. Однако, как уже отмечалось выше, изображения весьма схожи по статистическим характеристикам, имеют близкие значения контрастов и фрактальных размерностей.

На рис.3,в и г в качестве примера представлены два LASCA-изображения тканей животного со сформировавшейся опухолью. Значительные отличия LASCA-изображений тканей интактного животного от изображений опухолевых тканей видны совершенно отчетливо.

Всего было проанализировано тридцать два LASCA-изображения, полученных в контроле (интактная ткань) и при патологии (опухоль). Проведенный анализ позволяет сделать следующие выводы.

– Проверка непараметрической гипотезы о законе распределения показывает, что такие показатели, как контраст и фрактальная размерность подчиняются нормальному закону распределения (в норме и при патологии) при уровне значимости $\alpha = 0.05$.

– Задача сравнения средних величин двух нормально распределенных статистических совокупностей при неизвестных и неравных (по выборочным оценкам) дисперсиях известна как проблема Беренса–Фишера. Решение этой проблемы применительно к сравнению средних значений фрактальной размерности LASCA-изображений (в норме и при патологии) и контраста LASCA-изображений (в норме и при патологии) проводилось на основе проверки гипотезы с использованием критерия Кохрана–

Кокса, а также критериев Сатервайта и Уэлча [38]. (Гипотеза о равенстве средних значений фрактальной размерности LASCA-изображений, зарегистрированных в норме и при исследовании злокачественной опухоли, отклоняется.) Иными словами, проверка гипотезы указывает на наличие значимых и достоверных различий в значениях фрактальной размерности LASCA-изображений тканей интактных и с миеломой. При этом гипотеза о равенстве средних значений контраста LASCA-изображений, зарегистрированных в норме и в условиях патологии, принимается при уровне значимости $\alpha = 0.05$. Это означает, что контраст LASCA-изображения интактной ткани практически не отличается от контраста LASCA-изображения ткани с миеломой. Таким образом, контраст является малоинформативным параметром, и его использование в диагностике опухолей нецелесообразно.

– Была проведена статистическая оценка [39] доверительного интервала среднего значения фрактальной размерности. Установлено, что с 95%-ной вероятностью среднее значение фрактальной размерности LASCA-изображений, полученных от кожи интактных животных, лежит в очень узком интервале – [0.097; 0.098], тогда как в случае злокачественных новообразований этот интервал составляет [0.169; 0.173]. Следовательно, достоверно установлено, что фрактальная размерность LASCA-изображений, зарегистрированных от миеломной опухоли, увеличивается на 75% по сравнению с контролем при возможной ошибке измерений не превышающей $\pm 1.3\%$.

Таким образом, предложенный метод диагностики в дальнейшем может быть использован для объективного контроля при оптимизации схем профилактики и отработки индивидуальных режимов введения тестируемых противоопухолевых препаратов [14] при лечении онкологических заболеваний.

- Briers J.D., Webster S. *J. Biomed. Opt.*, **1** (2), 174 (1996).
- Briers D. *J. Physiol. Meas.*, **22**, R35 (2001).
- Dunn A.K., Bolay H., Moskowitz M.A., Boas D.A. *J. Cerebral Blood Flow Metabolism*, **21**, 195 (2001).
- Li P., Ni S., Zhang L., Zeng S., Luo Q. *Opt. Lett.*, **31**, 1824 (2006).
- Sini M.S., Linsely J.A. *Proc. on Signal Processing, Communication, Computing and Networking Technol.* (Piscataway, New Jersey, USA, 2011, ICSCCN-2011, p. 207).
- Ульянова О.В., Ульянов С.С., Пенчен Ли, Чиньминь Луо. *Квантовая электроника*, **41** (4), 340 (2011).
- Ulyanov S., Ganilova Y., Zhu D., Qiu J., Li P., Ulianova O., Luo Q. *Europhys. Lett.*, **82** (1), 18005-p1 (2008).
- Draijer M., Hondebrink E., Ton van Leeuwen, Steenbergen W. *Lasers Med Sci.*, **21** (4), 208 (2006).
- Miao P., Li N., Thakor N.V., Tong S. *Opt. Express*, **18** (1), 218 (2010).
- Zhu D., Lu W., Weng Y., Cui H., Luo Q. *Appl. Opt.*, **46** (10), 1911 (2007).
- Kruijt B., de Bruijn H. S., van der Ploeg-van den Heuvel A., Sterenborg H.J., Robinson D.J. *Lasers Med Sci.*, **21** (4), 208 (2006).
- Yu P., Peng L., Mustata M. *Opt. Lett.*, **29**, 68 (2004).
- Kalchenko V., Madar-Balakirski N., Kuznetsov Y., Meglinski I., Harmelin A. *Proc. SPIE—OSA Biomed. Opt.*, **8090**, 809007 (2011).
- Tishkin S.M., Laskavyj V.N. Cytostatic Composition. European Patent EP20090814148; US Patent US 2009/0203800 A1.
- Miao P., Lu H., Liu Q., Li Y., Tong S. *J. Biomed. Opt.*, **16** (8), 086011 (2011).
- Feodorova V.A., Gromova O.V., Devdariani Z.L., Dzhaparidze M.N., Teryoshkina N.Y. *J. Med. Microbiol.*, **6**, 499 (2001).
- Гудмен Дж. *Статистическая оптика* (М.: Мир, 1985).
- Бендат Дж., Пирсол А. *Прикладной анализ случайных данных* (М.: Мир, 1989).
- Luo Q., Qiu J., Li P., in *Advanced Optical Flow Cytometry: Methods and Disease Diagnoses* (Berlin: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, 2011, p. 605).
- Le T.M., Paul J.S., Ong S.H., in *Computational Biology: Issues and Applications in Oncology (Applied Bioinformatics and Biostatistics in Cancer Research)* (New York—Dordrecht—Heidelberg—London: Springer, 2009, p. 243).
- Miao P., Rege A., Li N., Thakor N., Tong S. *IEEE Trans Biomed Eng.*, **57** (5), 1152 (2010).
- Yu J., Miao P., Li M., Qiu Y., Zhu Y., Tong S. *Proc. of the Intern. Conf. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society* (Washington, 2008, p. 3743).
- Miao P., Li M., Fontenelle H., Bezerianos A., Qiu Y., Zhu Y., Tong S. *IEEE Transac. Biomed. Eng.*, **56** (4), 1127 (2009).
- Genina E.A., Bashkatov A.N., Tuchin V.V. *Expert Rev. Med. Devices*, **7** (6), 825 (2010).
- Mandelbrot B. *The Fractal Geometry of Nature* (San Francisco: W.H. Freeman and Co, 1982).
- Uozumi J., Ibrahim M., Asakura T. *Opt. Commun.*, **156**, 350 (1998).
- Aizu Y., Asakura T., in *Optics and Lasers in Biomedicine and Culture, Optics Within Life Sciences (OWLS V)* (Berlin: Springer, 2000, p. 297).
- Angelsky O.V., Ushenko A.G., Burkovets D.N., Pishak O.V., Ushenko Yu.A., Pishak V.P. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **4829**, 188 (2003).
- Ushenko Yu A., Kuritscin A.N. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **4242**, 233 (2001).
- Einstein A.J., Wu H.S., Gil J. *Phys. Rev. Lett.*, **80**, 397 (1998).
- Bauer W. *Heavy Ion Phys.*, **14**, 39 (2001).
- Hunter M., Backman V., Popescu G., Kalashnikov M., Boone C. W., Wax A., Venkatesh G., Badizadegan K., Stoner G.D., Feld M.S. *Phys. Rev. Lett.*, **97**, 138102 (2006).
- Sboner A., Bauer P., Zumiani G., Eccher C., Blanzieri E., Forti S., Cristofolini M. *Skin Research and Technology*, **10** (3), 184 (2004).
- Kelloff G.J., Sullivan D.C., Baker H., Wax A. *Cancer Biomarkers*, **3** (1), 1 (2007).
- Brown W.J., Pyhtila J.W., Terry N.G., Chalut K.J., D'Amico T.A., Sporn T.A., Obando J.V., Wax A. *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, **14**, 88 (2008).
- Ульянов А.С., Ляпина А.М., Ульянова О.В., Федорова В.А., Ульянов С.С. *Квантовая электроника*, **41** (4), 349 (2011).
- Ульянов А.С. *Квантовая электроника*, **38** (6), 557 (2008).
- Кобзарь А.И. *Прикладная математическая статистика* (М.: Физматлит, 2006).
- Chapt Le. *Introductory Biostatistics* (New Jersey: John Wiley & Sons Inc. Hoboken, 2003).