



بیست و پنجمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران و یازدهمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
۱۱-۹ بهمن ۱۳۹۷



طراحی و راه‌اندازی یک سیستم تصویر برداری طیفی بر پایه‌ی فلورسانس القایی لیزری جهت بررسی و تشخیص بافت سرطانی پستان

زهرا امید^۱، زهرا خدابخشی^۲، محمدامین بصام^۳، مرتضی موحد^۴، بتول سجادی^۱

۱- گروه فیزیک، دانشکده فیزیک شیمی، دانشگاه الزهرا

۲- گروه فیزیک، دانشگاه شاهرود

۳- دانشکده الکترونیک، دانشگاه صنعتی مالک اشتر

۴- دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

چکیده - در این پژوهش به منظور دستیابی به تصاویر طیفی مربوط به نمونه‌های سالم و سرطانی بافت پستان، یک سیستم تصویربرداری طیفی فلورسانس القایی لیزری (LIFSI) مبتنی بر جاروب نقطه‌ای سطح نمونه طراحی و راه‌اندازی شده است. روش تصویربرداری طیفی ترکیبی از علم طیف‌سنجی و تصویربرداری است. اطلاعات طیفی مربوط به مجموعه نقاط سطحی نمونه‌ی آغشته به محلول رنگینه در دو راستای X و Y جمع‌آوری شده و پس از پردازش، تصویر نقاط تشکیل دهنده‌ی سطح بر حسب شدت ترسیم می‌شود. هر پیکسل از تصویر خاکستری-مقیاس به دست آمده حاوی طیف یک نقطه‌ی معین روی نمونه است که توسط یک CCD خطی جمع‌آوری شده است.

کلید واژه- تصویر برداری طیفی، فلورسانس القایی لیزری، طیف سنجی، CCD خطی

Design and Operation of a Laser Induce Fluorescence-Based Spectral Imaging System to Investigate and Diagnose of Cancerous Breast Tissue

Zahra Omid¹, Zahra Khodabakhsi², Mohammad Amin Bassam³, Morteza Movahed⁴, Batool Sajad¹

1- Physics Department, Alzahra University

2- Physics Department, Shahrood University

3- Electronics Department, Malek Ashtar University

4- Baqiyat Allah University of medical sciences

Abstract- In this study, a Laser induced Fluorescence spectral imaging (LIF-SI) point-scanning based system is designed to achieve spectral images of cancerous and healthy breast tissues. The spectral imaging combines spectroscopy and imaging science. The Spectrum at each point of sample collected in the X and Y directions to process and get a picture. Any pixel at the gray-scale image contains spectrum of a definite point on the sample that is collected by a linear CCD array.

Keywords: Spectral Imaging, Laser Induced Fluorescence, Spectroscopy, CCD Array



بیست و پنجمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران و یازدهمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
۹-۱۱ بهمن ۱۳۹۷



روشی نوین در علوم پزشکی به‌ویژه تشخیص غیر تهاجمی بیماری‌ها و کنترل کیفیت مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته است. از این رو، تصویربرداری طیفی امکان بررسی کامل‌تر برهم کنش‌های نور با بافت شناسی را فراهم می‌کند [۴].

در روش تصویربرداری طیفی فلورسانس در صورتی که نمونه‌ی خود دارای فلوروفورهای ذاتی باشد، می‌توان با تکیه بر فلورسانس ذاتی نمونه تصویربرداری را انجام داد. این عمل به سیستم‌های تصویربرداری با توان تفکیک بالا نیاز دارد. در غیر این صورت، از یک ماده رنگینه‌ی معین به عنوان فلوروفور بیرونی جهت دستیابی به وضوح طیفی بالا استفاده می‌شود.

در این پژوهش، برای اولین بار (در داخل کشور) یک سیستم تصویربرداری طیفی فلورسانس القایی لیزری (LIFSI) مبتنی بر جاروب نقطه‌ای سطح نمونه طراحی، راه‌اندازی و بهینه‌سازی شده است. سپس این سیستم برای تصویربرداری طیفی بر پایه‌ی جاروب نقطه‌ای سطح نمونه‌های سالم و سرطانی بافت پستان به کار گرفته شده است. مقاطع بافتی با ضخامت یک تا دو میلی‌متر از قسمت‌های نمونه‌برداری شده توسط آسیب شناس، تهیه و در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. نتایج به دست آمده توسط آسیب‌شناس تایید شده است.

۲- چیدمان آزمایشگاهی و روش کار

چیدمان آزمایشگاهی برپا شده در شکل (۱) نشان داده شده است. نمونه‌ی بافت سالم و سرطانی آغشته به محلول سدیم فلور سین ۱ میلی‌مولار بین دو لام قرار گرفته و روی سکوی متحرک یک میکروسکوپ دو چشمی ثابت می‌شود. لازم است فاصله‌ی شیئی و

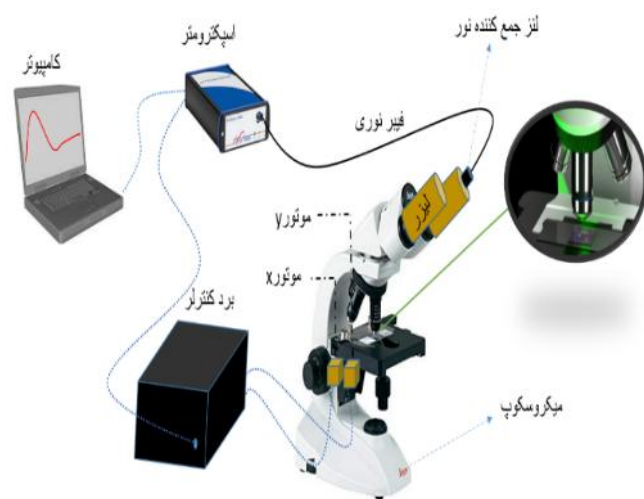
۱- مقدمه

روش‌های تصویربرداری و طیف‌سنجی منجر به ایجاد گستره‌ای از کاربردها در بسیاری از علوم به ویژه علوم زیستی و پاتولوژی شده است. محتوای طیفی یک نمونه اطلاعات مهمی به دست می‌دهد که توسط چشم انسان یا با استفاده از دوربین‌های معمولی قابل آشکار سازی نیست. به‌طور معمول طیف یک ماده، شرایط محیطی، فاز و هندسه‌ی آن را بیان می‌کند [۱]. ترکیبی از فناوری تصویربرداری و طیف‌سنجی منجر به ایجاد شیوه‌ی نوینی شده است که تحت عنوان تصویربرداری طیفی شناخته می‌شود. این روش برتری‌هایی دارد که تصویربرداری یا طیف‌سنجی به تنهایی قادر به کسب آن نیستند. تصویربرداری طیفی به طور نوعی به دو روش تصویربرداری میدان گسترده (تصویر لحظه‌ای) و تصویربرداری مبتنی بر جاروب نمونه تقسیم بندی می‌شود [۲]. یکی از توانمندی‌های این روش تهیه‌ی تصاویری بزرگ از نمونه‌های میکروسکوپی است، حتی اگر نمونه قابل مشاهده در یک میدان دید نباشد. در این رویکرد در حالی که نمونه به طور پیوسته جاروب می‌شود، اطلاعات طیفی بطور همزمان به همراه مختصات فیزیکی هر نقطه از نمونه ثبت می‌شود [۳]. تصویر طیفی یک نمونه می‌تواند مربوط به بازتاب، پراکندگی، گسیل و عبور باشد. زیرا ویژگی‌های جذب، فلورسانس و پراکندگی بافت با ایجاد بیمارهایی مانند سرطان تغییر می‌کنند. نوری که به بافت زیستی وارد می‌شود تحت تأثیر فرآیندهای پراکندگی ناشی از ناهمگنی ساختار بافت و نیز فرآیند جذب توسط برخی محتویات بافت قرار می‌گیرد. روش تصویربرداری امروزه به عنوان

داده شده است. نمونه‌ی مورد نظر به مدت ۳۰ دقیقه درون محلول ۱ میلی مولار ماده رنگینه قرار داده شده و سپس با آب مقطر شستشو شده است. پس از این مراحل، نمونه بین دو لام قرار گرفته و برای آزمایش تصویربرداری طیفی روی سکوی میکروسکوپ ثابت می‌گردد. با توجه به گام تنظیم شده برای موتورهای X و Y ناحیه‌ای از نمونه به اندازه $1\text{mm} \times 1/4\text{mm}$ توسط لیزر جاروب می‌شود. این ناحیه در شکل ۲-الف مشخص شده است. در نهایت طیف-های جمع آوری شده از ناحیه‌ی مورد نظر پردازش شده و تصویر طیفی آن ترسیم می‌شود.

برای بررسی میزان تطبیق تصاویر بدست آمده با نتایج آسیب‌شناسی، پس از پایان آزمایش و ثبت اطلاعات، نمونه‌ها به بخش آسیب‌شناسی ارسال شده و با تهیه لام و بررسی تصویر میکروسکوپی آن نواحی بدخیم، خوش خیم و چربی مشخص شده با تصاویر طیفی، توسط پزشک آسیب-شناس مورد تایید قرار گرفته است. در شکل ۲-ب تصویر میکروسکوپی لام رنگی تهیه شده از نمونه نمایش داده شده است. در این تصویر به ترتیب سه بخش بدخیم، خوش خیم و چربی قابل تشخیص است. تصویر حاصل از پردازش طیف‌های جمع آوری شده از سطح نمونه در شکل ۲-ج نمایش داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، میزان شدت در بخش‌های مختلف نمونه متفاوت است. بیشترین شدت مربوط به ناحیه‌ی خوش خیم و کم‌ترین شدت متعلق به بخش چربی تعیین شده است. میزان شدت در ناحیه‌ی بدخیم بین شدت‌های بخش‌های خوش خیم و چربی قرار گرفته است. در شکل (۳) نمونه دیگری شامل یک بخش بدخیم (سمت چپ) و یک بخش خوش خیم (سمت راست) نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود این نمونه نیز نتایج قبلی را تکرار کرده و شدت بیشتری را در ناحیه‌ی خوش خیم نشان می‌دهد.

نمونه در حالتی که بهترین وضوح و شدت طیفی حاصل شود، تنظیم شود. لیزر دیودی 405nm بر روی یکی از چشمی‌های میکروسکوپ قرار گرفته و پرتو آن از طریق عدسی شیئی $10\times$ بر سطح نمونه متمرکز می‌شود. تابش فلورسانس نمونه از همان مسیر تابش فرودی، توسط تار نوری به قطر داخلی $1\mu\text{m}$ که روی چشمی دوم میکروسکوپ قرار دارد و با عبور از یک فیلتر عبوری میان‌گذر، به طیف‌سنج آرایه‌ای مدل Avantes 3648 منتقل می‌شود. عملکرد طیف‌سنج و حرکت میکرومتری سکوی میکروسکوپ توسط یک برد کنترل بطور سنکرون کنترل می‌شود. سکوی میکروسکوپ توسط دو موتور متصل به آن در دو راستای X و Y با دقت $\sim 3\mu\text{m}$ حرکت می‌کند. در نهایت طیف‌های جمع آوری شده از نقاط مختلف سطح نمونه پردازش شده و تصویر آن ترسیم می‌شود.



شکل ۱- چیدمان آزمایشگاهی تصویربرداری طیفی

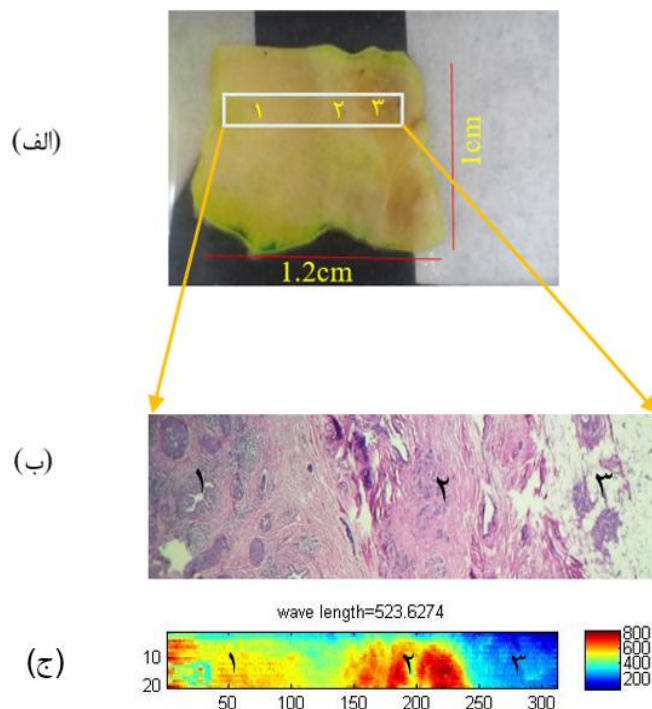
۲- بحث و نتایج

یک نمونه بافت پستان در اندازه‌ی $1\text{cm} \times 1/2\text{cm}$ شامل سه ناحیه‌ی بدخیم، خوش خیم و چربی در شکل ۲-الف نشان

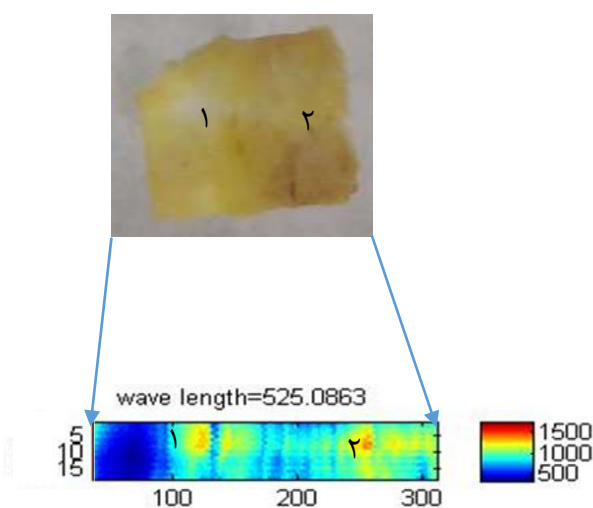
بافت باشد. از آنجایی که از آب به عنوان حلال استفاده شده است و آب در چربی نفوذ نمی‌کند، انتظار می‌رود نفوذ ماده رنگینه در بخش چربی بسیار اندک باشد. بنابراین شدت فلورسانس گسیلی از بخش چربی ضعیف است. یکی از ویژگی‌های بافت‌های سرطانی (بدخیم) تراکم سلولی بالای آن‌ها است بگونه‌ای که فضای بین سلولی کمتری نسبت به بافت‌های سالم و خوش‌خیم دارند. از این رو انتظار می‌رود که نفوذ ماده‌ی رنگینه در بافت خوش‌خیم که فضای بین سلولی بیشتری نسبت به بافت بدخیم دارد بیشتر باشد و به تبع آن شدت فلورسانس بیشتری در این ناحیه حاصل شود. البته این نتیجه برای تمامی بافت‌های سرطانی قابل تعمیم نیست. زیرا محتوی و ساختار بافت‌های مختلف با یکدیگر تفاوت‌های اساسی دارند و لذا برای بافت‌هایی همچون کبد، غده آدرنال، لوزالمعده و غدد بزاقی که در حالت طبیعی تراکم سلولی بالایی دارند، لازم است بطور جداگانه و با روش‌های متفاوتی مورد بررسی و تحقیق قرار گیرند.

منابع

1. Lindner, M., Shotan, Z. & Garini, Y. (2016), Rapid microscopy measurement of very large spectral images, *Optics express*, 24(9), 9511-9527.
2. Wang, Yu Winston, et al., (2017), Multiplexed optical imaging of tumor-directed nanoparticles: a review of imaging systems and approaches, *Nanotheranotics*, 1, 369.
3. Garini, Y., Young, I. T., & McNamara, G. (2006), Spectral imaging: principles and applications. *Cytometry Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 69(8), 735-747.
4. Lu, Guolan, and Baowei Fei., (2014), Medical hyperspectral imaging: a review, *Journal of biomedical optics*, 19, 1 010901.



شکل ۲- (الف) نمایش سه ناحیه ی بدخیم (۱)، خوش‌خیم (۲) و چربی (۳) یک نمونه بافت ، (ب) تصویر میکروسکوپی و (ج) تصویر طیفی



شکل ۳- نمونه بدخیم (۱) و خوش‌خیم (۲) همراه با تصویر طیفی مربوطه

بنظر می‌رسد علت این تفاوت در شدت گسیل فلورسانس می‌تواند ناشی از میزان نفوذ ماده‌ی رنگینه در نواحی مختلف