بیستمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران
و ششمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران
۸ تا ۱۰ بهمن ماه۱۳۹۲ - دانشگاه صنعتی شیراز

به‌کارگیری طیف سنجی LIBS/LIF به‌همراه پاسخ آکوستیکی متناظر به‌منظور تشخیص بافت سرطانی از بافت سالم

پرویز پروین[۱]، فاطمه هداوند میرزایی[۱]، محمد کراجی[۱]، علی بوالی[۱] و حسین مهرآوران[۲]

[۱]دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی انرژی و فیزیک

[۲]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده فیزیک

پست الکترونیک: parvin@aut.ac.ir

چکیده – با استفاده همزمان از سه روش *LIF*، *LIBS* و پاسخ آکوستیکی متناظر می‌توان به روشی عملی جهت تشخیص بافت سرطانی از بافت سالم دست یافت. اختلاف بارزی که در طیف‌های حاصله از این سه روش در بافت سالم و سرطانی وجود دارد، ملاک تشخیص این دو بافت از یکدیگر خواهد بود. در طیف‌های به دست آمده از بافت سرطانی، جابه‌جایی سرخ طول موج قله‌ی طیف فلوئورسانس در روش *LIF* و افزایش شدت خطوط مشخصه‌ی عناصر کلسیم و سدیم در روش *LIBS* مشاهده شد. همچنین افزایش امپدانس آکوستیکی در بافت سرطانی درستی نتایج فوق را تائید نمود.

کلید واژه- طیف سنجی فلوئورسانس القایی لیزری، طیف سنجی فروشکست القایی لیزری، پاسخ آکوستیکی، تشخیص لنفوم با لیزر، تشخیص سرطان.

Laser Induced Fluorescence and Breakdown Spectroscopy and Acoustic Response, to Discriminate Malignant and Normal Tissues

Parviz Parvin[1], Fateme Hadavand Mirzaee[1], Mohammad Keraji[1], Ali Bavali[1] and Hossein Mehravaran[2]

[1]Department of Energy Engineering and Physics, Amirkabir University of Technology

[2]Department of Physics, Karaj Branch, Islamic Azad University

Corresponding Author E-mail Address: parvin@aut.ac.ir

Abstract- Simultaneous LIF and LIBS spectroscopic techniques with acoustic response can be applied to have early and rapid identification of malignant tissues. This capability is due to distinct differences between collected spectra of normal and malignant tissues. For malignant tissue, red shift due to fluorescence peak wavelength in LIF spectroscopy and increase in characteristic emission intensity of Ca and Na and In LIBS technique, has been shown. Moreover an increase has been observed in acoustic impedance of malignant tissue which was in accordance with the former results.

Keywords: Laser induced fluorescence spectroscopy, Laser induced breakdown spectroscopy, acoustic response, Lymphoma diagnosis by laser, Cancer diagnosis.

[Downloaded from opsi.ir on 2024-04-25]

۱- مقدمه

مردم بسیاری در سراسر دنیا از بیماری سرطان رنج می‌برند. تشخیص سریع و به‌موقع این بیماری در روند درمان تأثیر بسیار مطلوبی دارد. روش‌ها و سیستم‌های نوین اپتیکی می‌توانند جایگزین روش‌های تشخیص معمول مثل انواع نمونه‌برداری (بیوپسی) که نیاز به عمل جراحی دارد، شوند.

بیماری سرطان در نتیجه‌ی تقسیم پی‌درپی سلول‌هایی ایجاد می‌شود که مرگ ندارند. رشد، تقسیم و مرگ سلول‌های سالم در بدن زمان‌بندی دقیق خود را دارد. وقتی سرطان اتفاق می‌افتد، این برنامه‌ی دقیق سلولی به هم می‌ریزد.

لنفوم نوعی سرطان سیستم لنفاوی است که دو نوع عمده دارد: لنفوم هوچکین و غیرهوچکین. لنفوم‌های بدخیم نسبتاً یک نوع شایع از بدخیمی‌ها در خاورمیانه هستند و از میان همه‌ی انواع سرطان در ایران، لنفوم شیوع بیشتری دارد. به‌خاطر پیشرفت‌های اخیر در مدیریت درمان این نوع سرطان، تشخیص این بیماری در مراحل اولیه درگیری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

۲- ابزار آزمایشگاهی و روش انجام آزمایش

انواع روش‌های طیف‌سنجی اپتیکی، پتانسیل بالقوه‌ای برای تشخیص بافت‌های بدخیم در مراحل ابتدایی از خود نشان می‌دهند. این پژوهش کاربرد همزمان روش‌های فلوئورسانس القایی لیزری، فروشکست القایی لیزری و پاسخ آکوستیکی برای تشخیص بدخیمی‌های بافت لنف بر پایه تفاوت‌های طیفی را، مورد بررسی قرار می‌دهد. ابتدا به معرفی ابزار و روش‌های مورد استفاده در این تحقیق می‌پردازیم.

۲-۱- روش فلوئورسانس القایی لیزری(LIF)

LIF روش شناخته شده‌ای برای بررسی بافت‌های بیولوژیکی است[۳-۱]. در بررسی این قسمت از هماهنگ دوم لیزر پیوسته Nd:YAG با توان ۱۵۰ mW به‌عنوان منبع برانگیختگی و از طیف سنج AvaSpec با آرایه CCD ۲۰۴۸ پیکسلی و تفکیک پذیری ۰/۴nm برای ثبت طیف‌ها استفاده شده است. فیبر نوری با قطر ۲۰۰ میکرون برای انتقال طیف‌های به دست آمده به دستگاه طیف سنج به کاربرده شده است. شکل۱ شمایی از سیستم آزمایشگاهی این قسمت را نشان می‌دهد.

شکل ۱: طرحواره‌ای از سیستم آزمایشگاهی انجام طیف‌سنجی به روش فلوئورسانس القایی لیزری بر روی بافت سالم و سرطانی.

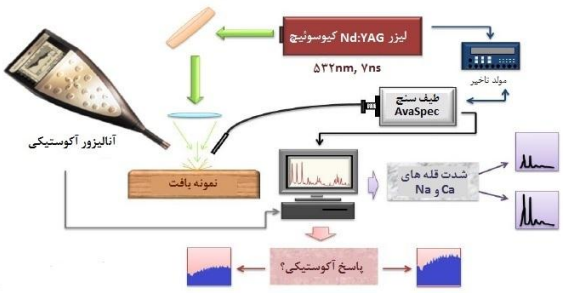
قطعات بافت انسانی سالم و سرطانی لنف گردن به ضخامت حدوداً ۱/۵ میلی‌متر به مدت ۱۵ دقیقه در محلول رودامین 6G نگهداری شد. سپس بافت‌های آماده شده، بین دو لام و در معرض تابش لیزر قرار داده شد. طیف‌های به‌دست آمده ثبت گردید.

۲-۲- روش فروشکست القایی لیزری(LIBS)

LIBS روشی بسیار کارآمد برای شناسایی گونه‌های عناصر موجود در یک نمونه بر اساس نشر پلاسمای اتمی منحصر برای هر عنصر است. این روش در بررسی‌های پزشکی قابلیت‌های بسیاری را از خود نشان داده است[۴]. در این قسمت، از تابش هماهنگ دوم لیزر پالسی Nd:YAG با پهنای پالس ۷ns و انرژی ۱۰۰mj برای هر پالس به عنوان منبع برانگیختگی و طیف‌سنج AvaSpec با آرایه CCD ۲۰۴۸ پیکسلی و تفکیک پذیری ۰/۴nm برای ثبت طیف‌ها استفاده شد. دستگاه تریگر AvaTrigger برای ایجاد تأخیر زمانی جهت حذف تابش پیوسته پلاسما به کار گرفته شد. فیبر نوری با قطر ۲۰۰ میکرون برای انتقال طیف‌های به دست آمده به دستگاه طیف سنج به کاربرده شده است. شکل۲ شمایی از سیستم آزمایشگاهی این قسمت را نشان می‌دهد.

قطعات بافت به ضخامت حدوداً ۱/۵ میلی‌متر برش داده و در مقابل تابش لیزر قرار گرفته شد و طیف‌های به‌دست آمده ثبت گردید.

[Downloaded from opsi.ir on 2024-04-25]



شکل ۲: طرحواره‌ای از سیستم آزمایشگاهی انجام همزمان طیف‌سنجی به روش فروشکست القایی لیزری و پاسخ آکوستیکی بر روی بافت سالم و سرطانی.

۲-۳- طیف‌سنجی آکوستیکی

از طیف‌سنجی آکوستیکی به‌عنوان یک روش مکمل برای اطلاعات به‌دست آمده در قسمت LIF و LIBS استفاده شد. دستگاه آنالیزور Bruel and Kjaer مدل A2260 با پوشش محدوده‌ی فرکانسی ۲۰Hz تا ۲۰kHz و با تفکیک ۴۵Hz برای طیف‌سنجی آکوستیکی استفاده شد. این قسمت از آزمایش همراه با آزمایش LIBS بوده و سیستم آزمایشگاهی مورد استفاده در شکل۲ نشان داده شده است.

۳- بحث و نتایج آزمایش

در این بخش نتایج و بررسی آن برای هر قسمت از آزمایش به طور جداگانه بیان می‌شود.

۳-۱- نتیجه‌ی طیف‌سنجی فلوئورسانس القایی لیزری (LIF)

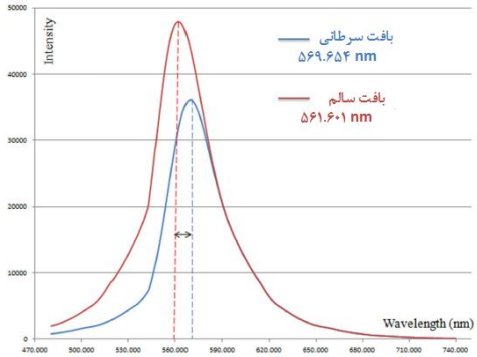
طیف به‌دست آمده برای آزمایش LIF در شکل۳ نشان داده شده است. خط لیزری توسط فیلتر تداخلی حذف شده است.

همان‌طور که مشاهده می‌شود برای قله فلوئورسانس بافت سرطانی جابه‌جایی سرخ (۸-۱۰nm)، نسبت به بافت سالم اتفاق افتاده است.

بافت توموری به دلیل غشای از بین رفته و قابلیت نفوذپذیری بیشتر، تمایل بیشتری برای نگه داشتن ماده رنگینه در خود دارد. اثبات شده است، افزایش غلظت رنگینه باعث جابه‌جایی سرخ برای قله فلوئورسانس می‌شود.

همچنین جابه‌جایی سرخ دیده شده برای بافت سرطانی می‌تواند به این علت باشد که در بافت سرطانی، نانوذرات پراکننده‌ی بیشتری یافت می‌شود[۶-۵].

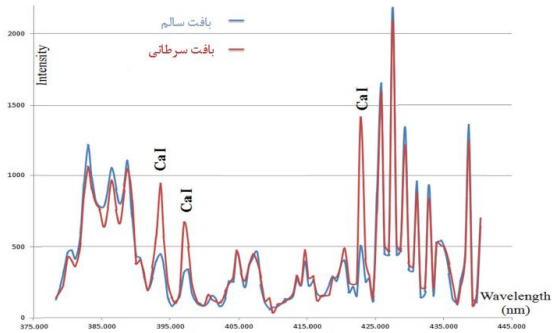
نوع پیوند شیمیایی برقرار شده بین بافت و مولکول‌های رنگینه نیز می‌تواند توجیه دیگری برای جابه‌جایی سرخ مشاهده شده، باشد.



شکل ۳: طیف LIF بافت لنف، که جابه‌جایی طیفی حدود ۸nm را برای بافت سرطانی نسبت به بافت سالم نشان می‌دهد.

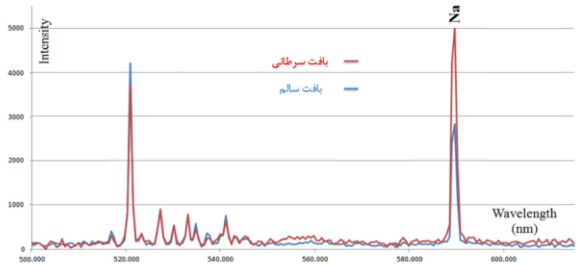
۳-۲- نتایج طیف‌سنجی فروشکست القایی لیزری (LIBS)

با انجام آزمایش LIBS تفاوت در شدت خطوط نشری عنصر کلسیم در طول‌موج‌های ۳۹۳/۴۰۵nm، ۳۹۶/۹۸۸nm و ۴۲۲/۸۷۲nm و عنصر سدیم در طول‌موج ۵۸۹/۵۹nm مشاهده شد. نتایج در شکل‌های ۴ و ۵ آمده است.



شکل ۴: طیف LIBS برای بافت لنف که افزایش محسوس در شدت خطوط نشری کلسیم را در طول‌موج‌های ۳۹۳/۴۰۵nm، ۳۹۶/۹۸۸nm و ۴۲۲/۸۷۲nm نشان می‌دهد.

[Downloaded from opsi.ir on 2024-04-25]

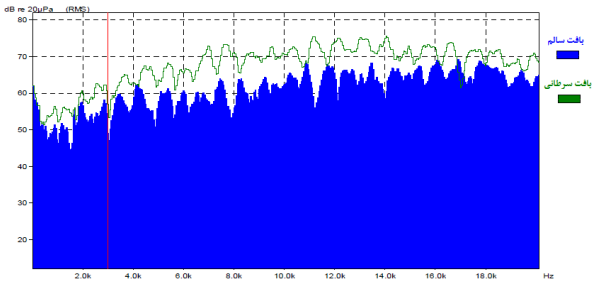


شکل ۵: طیف LIBS برای بافت لنف که افزایش محسوس در شدت خط نشری سدیم را در ۵۸۹/۵۹nm نشان می‌دهد.

افزایش شدت خطوط مشخصه‌ی کلسیم و سدیم به‌خاطر افزایش غلظت این عناصر در بافت سرطانی نسبت به بافت سالم می‌باشد. پیشینه‌ی تحقیقات پزشکی سرطان افزایش عنصر کلسیم و سدیم در بافت سرطانی را تأیید کرده است[۷-۸].

۳-۳- پاسخ آکوستیکی

پاسخ آکوستیکی دو بافت به تپ لیزری آزمایش LIBS در شکل ۶ نمایش داده شده است.



شکل ۶: پاسخ آکوستیکی بافت لنف که افزایش امپدانس آکوستیکی بافت سرطانی نسبت به بافت سالم را نشان می‌دهد.

همان‌طور که مشاهده می‌شودامپدانس آکوستیکی بافت سرطانی نسبت به بافت سالم افزایش یافته است. دلیل این افزایش می‌تواند چگال‌تر بودن بافت سرطانی باشد که باعث به‌وجود آمدن پلاسمای چگال‌تر در محل برخورد لیزر با بافت و درنتیجه تخلیه الکتریکی شدیدتر و متعاقب آن ایجاد امپدانس آکوستیکی بالاتر، می‌شود.

دلیل دیگر را می‌توان جمعیت عنصری بیشتر و جذب بالاتر اشعه لیزر و در نتیجه آن پاسخ قوی‌تر بافت سرطانی نسبت به بافت سالم دانست. همچنین داربست بافت در اثر سرطانی شدن برهم می‌ریزد، تفاوت در پاسخ آکوستیکی می‌تواند نتیجه‌ی این تغییر ساختار و افزایش تخلخل و میکروکاواک‌های موجود در بافت نیز باشد.[۹]

۴- نتیجه‌گیری

در این بررسی به تفاوت‌های بین دو بافت سالم و سرطانی به سه روش طیف‌سنجی اشاره گردید. در قسمت اول جابه‌جایی بارزی از مرتبه ۱۰nm در طول‌موج قله‌ی طیف فلوئورسانس بافت سرطانی نسبت به بافت سالم مشاهده شد. در قسمت LIBS افزایش در شدت خطوط نشری عناصر کلسیم و سدیم که نشان‌گر افزایش غلظت این عناصر در بافت سرطانی نسبت به بافت سالم است، مشاهده گردید. در بخش آکوستیکی آزمایش هم افزایش محسوس در امپدانس آکوستیکی بافت سرطانی نسبت به بافت سالم دیده شد.

ترکیب این سه روش طیف سنجی به دلیل دقت، حساسیت و سرعت آنالیز طیفی بالا، پتانسیل بالقوه‌ای برای تبدیل به یک روش تشخیصی دقیق را دارد.

مراجع

[1] Jeremy D.Meier et.al, *Time Resolved Laser-Induced Fluorescence Spectroscopy as a Diagnostic Instrument in Head and Neck Carcinoma*, Otolaryngology- Head and Neck Surgery (2010) 142,838-844.

[2] Malini Olivo et.al, *Advances in Fluorescence Diagnosis to Track Footprints of Cancer Progression Invivo*, Laser Photonics Rev., 1-17 (2013)/ Doi 10.1002/lpor.201200059.

[3] Asima Pradhan et.al, *Stesdy State and Time-Resolved Fluorescence Properties of Metastatic and Non-Metastatic Malignant Cells from Different Species*, Journal Of Photochemistry and Photobiology B: Biology, Volume 31, Issue 3, December 1995, Pages 101-112.

[4] Vivek Kumar Singh et.al, *Prospects for Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for Biomedical Applications: A Review*, Lasers Med Sci (2011) 26:673-687.

[5] M. Mohammadian et.al, *Effect of Tio_2 Nanoparticles on the Spectral Characteristics of Rhodamine 6G*, Proceedings of the 4th International Conference on Nanostructures (ICNS4) 12-14 March 2012, Kish Island,I.R.Iran.

[۶] حسین کافیان و همکاران، ***بررسی تأثیر ضریب شکست نانوذره بر شدت و جابه‌جایی بینابی گسیل فلوئورسانس از کولوئید محلول رنگدانه و نانوذره***، نوزدهمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران ۳ تا ۵ بهمن ۱۳۹۱.

[7] Akshaya Kumar et.al, *Characterization of malignant Tissue Cells by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*, Applied Optics, Vol.43, No 28-1 October 2004.

[8] A. El-Hussein et.al, *Exploiting LIBS as a Spectrochemical Analytical Technique in Diagnosis of Some Types of Human Malignancies*, Talanta 82(2010) 495-501.

[9] Harvey Lodish et.al, *Molecular Cell Biology*, 5th Edition, 2008. Pages 219 and 938.

[Downloaded from opsi.ir on 2024-04-25]