



## به کارگیری طیف سنجی LIBS/LIF به همراه پاسخ آکوستیکی متناظر به منظور تشخیص بافت سرطانی از بافت سالم

پرویز پروین<sup>۱</sup>, فاطمه هداوند میرزایی<sup>۱</sup>, محمد کراجی<sup>۱</sup>, علی بوالی<sup>۱</sup> و حسین مهرآوران<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی انرژی و فیزیک

<sup>۲</sup>دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده فیزیک

پست الکترونیک: parvin@aut.ac.ir

چکیده – با استفاده همزمان از سه روش *LIF* و پاسخ آکوستیکی متناظر می‌توان به روشهای 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 پاسخ سرطانی، جایه‌جایی سرخ طول موج قله‌ی طیف فلورسانس در روش *LIF* و افزایش شدت خطوط مشخصه‌ی عناصر کلسیم و سدیم در روش *LBS* مشاهده شد. همچنین افزایش امپدانس آکوستیکی در بافت سرطانی درستی نتایج فوق را تائید نمود.

کلید واژه- طیف سنجی فلورسانس 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<sup>1</sup>, Fateme Hadavand Mirzaee<sup>1</sup>, Mohammad Keraji<sup>1</sup>, Ali Bavalii<sup>1</sup> and Hossein Mehravarani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Energy Engineering and Physics, Amirkabir University of Technology

<sup>2</sup>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.

طیفها استفاده شده است. فیبر نوری با قطر ۲۰۰ میکرون برای انتقال طیف‌های به دست آمده به دستگاه طیف سنج به کاربرده شده است. شکل ۱ شما بی از سیستم آزمایشگاهی این قسمت را نشان می‌دهد.



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

قطعات بافت انسانی سالم و سرطانی لنف گردان به ضخامت حدوداً ۱/۵ میلی‌متر به مدت ۱۵ دقیقه در محلول رودامین ۶G نگهداری شد. سپس بافت‌های آماده شده، بین دو لام و در معرض تابش لیزر قرار داده شد. طیف‌های به دست آمده ثبت گردید.

## ۲-۲ روش فروشکست القایی لیزری (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 پهنه‌ای پالس ۷ns و انرژی ۱۰۰mJ برای هر پالس به عنوان CCD منبع برانگیختگی و طیفسنج AvaSpec با آرایه 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. شکل ۲ شما بی 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 به دست آمده ثبت گردید.

## ۱-۱ مقدمه

مردم بسیاری در سراسر دنیا از بیماری سرطان رنج می‌برند. تشخیص سریع و به موقع 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 بی‌درپی سلول‌های 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 سلوکی به هم می‌ریزد.

لنفوم نوعی سرطان سیستم لنفاوی است که دو نوع عمدۀ 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. به خاطر پیشرفت‌های اخیر در مدیریت درمان این نوع سرطان، تشخیص این بیماری در مراحل اولیه درگیری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

## ۲-۱ 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 فلورسانس 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.

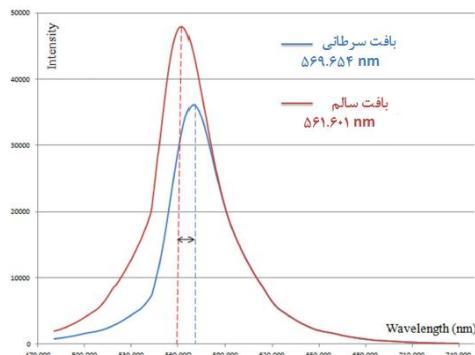
## ۲-۲ روش فلورسانس القایی لیزری (LIF)

LIF روش شناخته شده‌ای برای بررسی بافت‌های بیولوژیکی است [۱-۳]. در بررسی این قسمت از هماهنگ دوم لیزر پیوسته Nd:YAG با توان ۱۵۰ mW به عنوان ۲۰۴۸ منبع برانگیختگی و از طیف سنج AvaSpec با آرایه پیکسلی و تفکیک پذیری ۰/۴nm برای ثبت

رنگینه باعث جابه‌جایی سرخ برای قله فلئورسانس می‌شود.

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

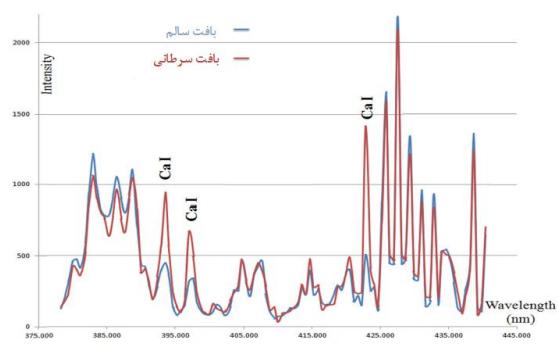
نوع پیوند شیمیایی برقرار شده بین بافت و مولکول‌های رنگینه نیز می‌تواند توجیه دیگری برای جابه‌جایی سرخ مشاهده شده، باشد.



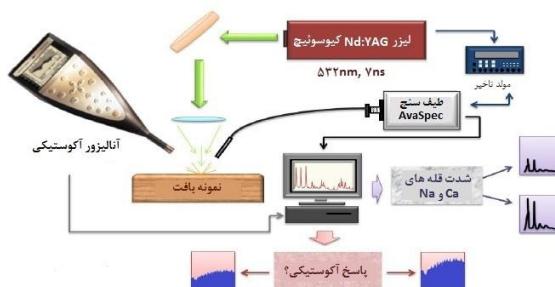
شکل ۳: طیف LIF بافت لنف، که جابه‌جایی طیفی حدود ۸nm را برای بافت سرطانی نسبت به بافت سالم نشان می‌دهد.

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

با انجام آزمایش LIBS تفاوت در شدت خطوط نشری عنصر کلسیم در طول موج‌های  $393/405\text{nm}$ ،  $396/988\text{nm}$  و  $422/872\text{nm}$  و عنصر سدیم در طول موج  $589/59\text{nm}$  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 طول موج‌های  $393/405\text{nm}$ ،  $396/988\text{nm}$  و  $422/872\text{nm}$  نشان می‌دهد.



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

## ۳-۲- طیفسنجی آکوستیکی

از طیفسنجی آکوستیکی به عنوان یک روش مکمل برای اطلاعات به دست آمده در قسمت LIF و LIBS استفاده شد. دستگاه آنالیزور Brüel and Kjaer مدل A2260 با پوشش محدوده‌ی فرکانسی Hz ۲۰ 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 شکل ۲ 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 فلئورسانس القایی لیزری (LIF)

طیف به دست آمده برای آزمایش LIF در شکل ۳ نشان داده شده است. خط لیزری توسط فیلتر تداخلی حذف شده است.

همان‌طور که مشاهده می‌شود برای قله فلئورسانس بافت سرطانی جابه‌جایی سرخ ( $8-10\text{ nm}$ )، نسبت به بافت سالم اتفاق افتاده است.

باft 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

می‌تواند نتیجه‌ی این تغییر ساختار و افزایش تخلخل و میکروکاواک‌های موجود در بافت نیز باشد.<sup>[۹]</sup>

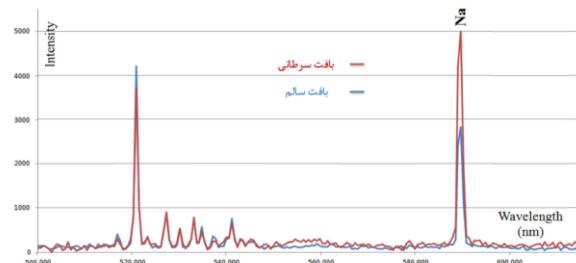
#### ۴- نتیجه‌گیری

در این بررسی به تفاوت‌های بین دو بافت سالم و سرطانی به سه روش طیفسنجی اشاره گردید. در قسمت اول جابه‌جایی از ۵۸۹ nm در طول موج قله‌ی طیف فلوئورسانس بافت سرطانی نسبت به بافت سالم مشاهده شد. در قسمت LIBS افزایش در شدت خطوط نشري 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, *Steady 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<sub>2</sub> 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.
- [6] حسین کافیان و همکاران، بررسی تأثیر ضربه شکست نانوذره بر شدت و جابه‌جایی بنیان گسیل فلوئورسانس از کولوئید محلول ریگدانه 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*, 5<sup>th</sup> Edition, 2008. Pages 219 and 938.

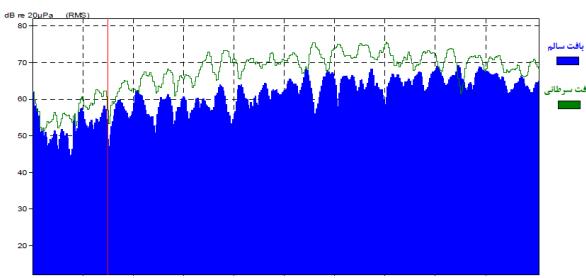


شکل ۵: طیف LIBS برای بافت لف که افزایش محسوس در شدت خط نشري سدیم را در ۵۸۹/۵۹nm نشان می‌دهد.

افزایش شدت خطوط مشخصه‌ی کلسیم و سدیم به خاطر 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.<sup>[۷-۸]</sup>

#### ۳-۳- پاسخ آکوستیکی

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



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

همان‌طور که مشاهده می‌شود امپدانس آکوستیکی بافت سرطانی نسبت به بافت سالم افزایش یافته است. دلیل این افزایش می‌تواند چگال‌تر بودن بافت سرطانی باشد که باعث بروجود 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