



بیست و ششمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک
ایران و دوازدهمین کنفرانس مهندسی و فناوری
فوتونیک ایران،
دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.
۱۶-۱۵ بهمن ۱۳۹۸



بررسی تجربی ناهمسانگردی نوری در بافت‌های سرطانی با استفاده از روش پس‌پراکندگی تقویت شده (EBS)

مرضیه امانی، علی بوالی*، فاطمه احمدی نوری، ملیکا افشار، علی رحمت پناهی، محمد سلطانی نژاد
دانشکده فیزیک و مهندسی انرژی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران
*نویسنده مسئول: alibavali@aut.ac.ir

چکیده - در این پژوهش با استفاده از روش پس‌پراکندگی تقویت شده، طول پراکندگی نور لیزر در بافت‌های سالم و سرطانی اندام‌های رحم، مثانه، روده بزرگ و کبد ارزیابی شده است. تجزیه و تحلیل لکه‌های پس‌پراکندگی ثبت شده توسط دوربین CCD، قدرت و درجه ناهمسانگردی نوری در بافت‌های مختلف سالم و سرطانی را نشان می‌دهد. داده‌های آسیب‌شناسی، همبستگی بین نتایج تجربی با تغییر ریخت بافت‌های پوششی را که به نوع سلول‌های پوششی و همچنین نوع سرطان وابسته اند نشان می‌دهد. بر این اساس بافت کبد و روده بزرگ به ترتیب به بیشترین و کمترین تغییر در میزان پراکندگی و ناهمسانگردی انتشار نور را از خود نشان دادند.

کلیدواژه- پس‌پراکندگی تقویت شده، ناهمسانگردی انتشار نور، بافت سرطانی، بافت پوششی.

Experimental investigation of optical anisotropy in cancerous tissues by enhanced backscattering technique

Marziye Amani, Ali Bavali*, Fatemeh Ahmadinouri, Melika Afshar, Ali Rahmatpanahi,
Mohammad Soltaninezhad

Physics and energy engineering Dept., Amirkabir University of Technology (AUT), Tehran
Corresponding author: alibavali@aut.ac.ir

Abstract- In this research, mean scattering length of the laser light propagating in healthy and cancerous tissues of bladder, colon, and liver organs is measured using enhanced backscattering (EBS) technique. Analysis of the recorded backscattering cones by a high resolution CCD camera reveals the strength and degree of optical anisotropy in various normal and cancerous tissues. Pathology data show that the experimental results are correlated to the morphological changes of the epithelial tissues that strongly depend on the type of the epithelial cells as well as the carcinoma type. Accordingly, liver and colon tissues showed the highest and lowest changes in scattering length and optical anisotropy, respectively.

Keywords: Enhanced backscattering, optical anisotropy, cancerous tissues, epithelial tissues

مقدمه

در روش پس پراکندگی تقویت شده (EBS^1) پرتوهای نور که به دلیل پراکندگی‌های چندگانه در مسیرهای معکوس زمانی درون بافت منتشر می‌شوند پس از خروج از محیط پراکننده (پس پراکندگی) به دلیل تداخل سازنده تقویت می‌شوند که میزان این تقویت در زوایای پراکندگی مختلف، متفاوت است. از آنجایی که این توزیع زاویه‌ای شدت پس پراکندگی (به نام لکه ی پس پراکنده^۲) به قدرت پراکندگی محیط بستگی دارد، از این روش می‌توان برای توصیف تغییرات ساختاری محیط‌هایی چون کریستال‌های مایع و فوتونیک [۱] و بافت‌های بیولوژیکی [۲] در مقیاس سلولی بهره برد. روش EBS برای اولین بار در سال ۱۹۹۰ برای بررسی بافت‌های بیولوژیکی و سرطان‌های پستان و ریه استفاده شد که نشان داد میانگین طول پراکندگی لیزر با طول موج ۶۲۰ نانومتر در بافت سرطانی نسبت به بافت سالم کوتاه‌تر است [۳]. در این مقاله و آثار مشابه، فرض شده که بافت برای انتشار نور محیطی همسانگرد است. با وجود این که در سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌تری در مورد ناهمسانگردی نوری در محیط‌های مختلف انجام شده، اما تا به امروز ناهمسانگردی نوری بافت‌های بیولوژیکی برای تشخیص سرطان به روش EBS بررسی نشده است. از طرفی بیش از ۸۰٪ سرطان‌های انسانی در بافت‌های پوششی رخ می‌دهد که بر این اساس با استفاده از تکنیک EBS به بررسی بافت‌های پوششی سالم و سرطانی اندام‌های رحم، مثانه، روده بزرگ و کبد پرداخته‌ایم.

شرح آزمایش

در شکل ۱ چیدمان آزمایش EBS نشان داده شده است. از لیزر دیودی پیوسته با توان خروجی ۱۰۰ میلی‌وات و طول موج ۶۵۰ نانومتر برای نوردهی به بافت‌ها استفاده شده است. توان مطلوب لیزر توسط مجموعه‌ای از فیلترهای چگالی خنثی (ND^3) حاصل شد. معمولاً در آزمایش EBS به منظور حذف نویز الگوی نقطه‌ای (speckle)، نمونه توسط یک نگهدارنده چرخانده می‌شود تا میانگین فضایی نویزها که نزدیک به صفر است حاصل شود [۴]. اما این شیوه علاوه بر حذف نویز الگوی نقطه‌ای، ناهمسانگردی توزیع شدت ثبت شده را نیز از بین می‌برد. بنابراین، برای اندازه گیری ناهمسانگردی نوری، از یک شیشه مات چرخان ($RGGD^4$) استفاده شد. پرتو لیزر توسط یک عدسی روی شیشه مات متمرکز شده و سپس نور پراکنده شده که همدوسی فضایی آن کاهش یافته است جمع‌آوری می‌شود. یک قطبش‌گر $\lambda/4$ ، نور لیزر با قطبش خطی را به نور با قطبش دایروی تبدیل می‌کند. قطبش دایروی نور، ناهمسانگردی طبیعی لکه‌ی پس پراکنده که در مورد قطبش خطی رخ می‌دهد را ندارد [۵]. علاوه بر این، سهم تک پراکندگی از بین می‌رود و به طور مؤثری نویز پس زمینه کاهش می‌یابد که در نتیجه لکه بهتری حاصل می‌شود [۵]. در ادامه، مد TEM_{00} با استفاده از فیلتر فضایی به دست آمد، که پس از عبور از پرتو گستر، باریکه‌ای با قطر ۸ میلی‌متر حاصل شد. نیمی از پرتو توسط مقسم ۵۰:۵۰ بر روی بافت تابیده شد و نیمی دیگر توسط dumper باریکه حذف شد. نور پراکنده شده از بافت، پس از عبور از یک قطبش‌گر $\lambda/4$ و سپس قطبش‌گر خطی با یک عدسی

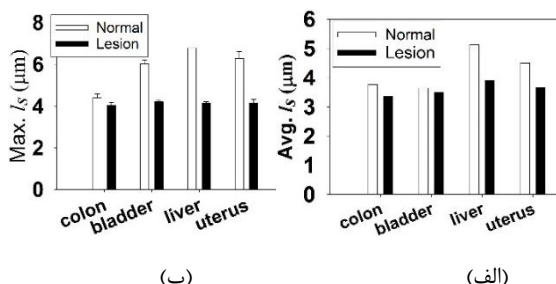
^۳ Neutral density

^۴ Rotating ground glass diffuser

^۱ Enhanced backscattering technique

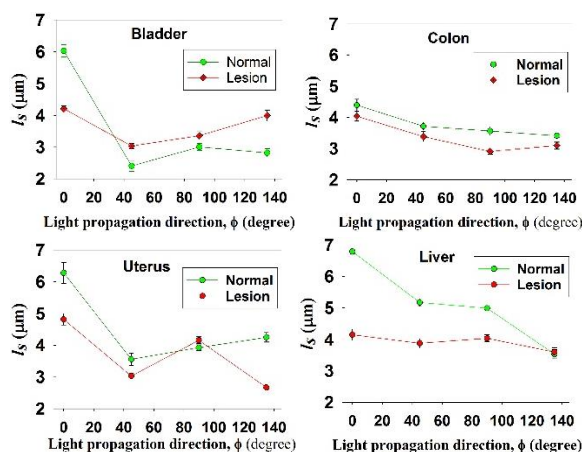
^۲ Backscattered cone

در این رابطه λ طول موج لیزر است. شکل ۲ بیشینه و میانگین طول پراکندگی (به طور متوسط برای جهتهای مختلف) هر چهار نوع بافت را نشان می‌دهد.



شکل ۲. (الف) مقادیر بیشینه و (ب) میانگین طول پراکندگی (به طور متوسط برای جهتهای مختلف).

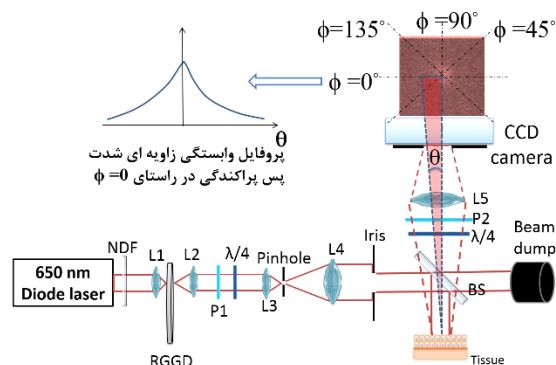
مشاهده می‌شود که مقادیر بیشینه و میانگین طول پراکندگی $l_{s,avg}$ در بافتهای سرطانی کاهش می‌یابد. در حقیقت پیشرفت سرطان همراه با جهش در سلول‌ها است که باعث افزایش مراکز پراکنده و کاهش میانگین طول پراکندگی می‌شود. در شکل ۳، به منظور بررسی ناهمسانگردی نوری، طول پراکندگی l_s بر اساس توزیع زاویه ای شدت در راستاهای مختلف (زوایای ϕ در شکل (۱)) برای بافتهای طبیعی و سرطانی ارائه شده است.



شکل ۳: تغییر زاویه‌ای طول پراکندگی l_s برای بافتهای طبیعی و سرطانی روده بزرگ، مثانه، کبد و رحم.

در شکل ۴ (الف) و (ب) به ترتیب درجه ناهمسانگردی (جهتهای متفاوت با مقادیر مختلف طول پراکندگی) و نیز

محدب جمع‌آوری و توسط یک دوربین CCD با وضوح بالا ($\frac{360}{\text{فریم}}$ ، پیکسل 2160×3840) که دقیقاً در صفحه کانونی عدسی همگرا قرار گرفته است ثبت شد. قدرت تفکیک زاویه‌ای دوربین حدود ۱۰ میکرورادین محاسبه شد که برای مطالعه ناهمسانگردی مناسب است.



شکل ۱: آرایه اندازه گیری EBS. NDF: فیلتر چگالی خنثی، P: قطبشگر خطی، L: لنز، BE: پرتو گسترده، BS: مقسم پرتو.

نمونه بافت ۴ نوع بیمار مختلف (تهیه شده از بخش سرطان مرکز پزشکی امام خمینی (ره) تهران) که دچار تحریک دُشرویش (dysplasia) در اندام‌های روده بزرگ، مثانه، کبد و رحم بودند بررسی شد. برای هر عضو ۸ نمونه حاوی ۴ قطعه نزدیک به هم در هر یک از بافتهای سالم و ضایعات سرطانی انتخاب شد به طوری که هر دو بافت سالم و سرطانی از یک بیمار گرفته شده بود.

نتایج و جمع‌بندی

برای هر لگه ی پس‌پراکنده، پهنای کامل در نصف مقدار بیشینه ($FWHM^\Delta$) در چهار راستای مختلف (در شکل (۱)) با زاویه‌های $\phi = 0^\circ, 45^\circ, 90^\circ, 135^\circ$ مشخص شده اند) تعیین و طول پراکندگی l_s با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد.

$$l_s \approx \frac{0.7 \lambda}{2\pi FWHM_{cone}} \quad (1)$$

$^\Delta$ Full width at half of maximum

بافت‌ها با سرطانی شدن، طول پراکندگی کاهش می‌یابد یعنی بافت پراکنده‌تر می‌شود. از طرفی بافت کبد و بافت روده بزرگ به ترتیب بیشترین و کمترین تغییر در قدرت پراکندگی و نیز ناهمسانگردی فضایی طول پراکندگی را طی سرطانی شدن از خود نشان می‌دهند. البته روند تغییر ناهمسانگردی هماهنگ با تغییر طول پراکندگی نیست بطوریکه در بافت رحم بر خلاف سایر بافتها ناهمسانگردی نوری در نمونه ی سرطانی افزایش می‌یابد. در واقع در هر بافت درجه ناهمسانگردی رفتار مخصوص به خود را دارد و با تعیین این نوع رفتار می‌توان بافت سرطانی از بافت سالم را تشخیص داد. امید است که این یافته‌ها، رویکرد جدیدی را برای عیب‌یابی غیر مخرب و سریع بافت‌های بیولوژیکی به ویژه در مورد سرطان در مراحل اولیه ایجاد کند.

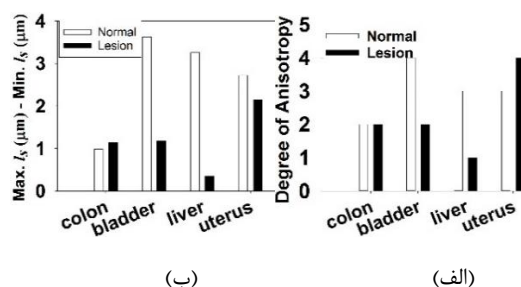
سپاسگزاری

از زحمات استاد گرانقدر جناب آقای دکتر وحید سلیمانی و بخش تحقیقات سرطان مرکز امام خمینی که در انجام این پژوهش همکاری نموده‌اند، صمیمانه تقدیر می‌کنیم.

مرجع‌ها

- [1] J. Huang, N. Eradat, M. E. Raikh, Z. V. Vardeny, A. A. Zakhidov, and R. H. Baughman, "Anomalous coherent backscattering of light from opal photonic crystals," *Phys. Rev. Lett.* 86(21), 4815–4818, 2001.
- [2] I. J. Bigio, and S. G. Bown, "Spectroscopic sensing of cancer and cancer therapy: current status of translational research", *Cancer Biol Ther.*, 3(3) 259–267, 2004.
- [3] K.M. Yoo, G.C. Tang, and R.R. Alfano, "Coherent backscattering of light from biological tissues", *Appl. Opt.* 29(22), 3237-3239, 1990.
- [4] B. P. J. Bret and A. Lagendijk, "Anisotropic enhanced backscattering induced by anisotropic diffusion", *Phys. Rev. E* 89, 052506, 2004.
- [5] R. Sapienza, G. Jacucci, O. D. Onelli, A. De Luca, J. Bertolotti and S. Vignolini, "Coherent backscattering of light by an anisotropic biological network", *Interface Focus.*, 9(1), 20180050, 2019.

قدرت ناهمسانگردی (تفاوت بین حداکثر و حداقل مقادیر طول پراکندگی در جهت‌های مختلف) برای انواع بافت‌ها مقایسه شده است. در شکل ۴ (الف) سه رویداد مختلف مشاهده می‌شود: (i) عدم تغییر ناهمسانگردی نوری در بافت روده بزرگ، (ii) کاهش ناهمسانگردی در بافت‌های کبدی و مثانه (iii) افزایش ناهمسانگردی در بافت رحم.



شکل ۴: (الف) درجه ناهمسانگردی (ب) قدرت ناهمسانگردی برای بافت‌های سالم و سرطانی.

مقایسه شکل ۴ (الف) با شکل ۲ نشان می‌دهد که اگرچه بافت روده بزرگ افزایش ناچیزی در قدرت پراکندگی (کاهش I_s) دارد اما ناهمسانگردی نوری را حفظ می‌کند. در رویداد (ii)، درجه بالاتر ناهمسانگردی در بافت‌های سالم، تصادفی بودن جهت‌گیری فضایی سلول‌ها پس از دشرودیش را تأیید می‌کند به طوری که اثر تجمعی انتشار فوتون سبب می‌شود تا قدرت پراکندگی، وابستگی خود به جهت‌گیری فضایی را از دست بدهد اما در مورد (iii)، آنچه در بافت رحم اتفاق می‌افتد متفاوت با مثانه و کبد است. بر اساس شکل ۴ (ب) بافت مثانه و کبد از ویژگی منحصر به فرد کاهش شدید قدرت ناهمسانگردی برخوردارند در حالی که بافت روده-بزرگ افزایش ناهمسانگردی را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

در این مقاله ناهمسانگردی نوری بافت‌های پوششی برای چهار نوع مختلف سرطان با روش EBS بطور تجربی بررسی شده است. تجزیه و تحلیل لکه‌های پس‌پراکندگی ثبت شده توسط دوربین CCD با وضوح بالا نشان می‌دهد که در همه