



تشخیص دقیق تومورهای مغزی اولیه و متاستاتیک به کمک تصویربرداری فلورسانس لیزری با هدایت فلوروفور برونزای سدیم فلورسین

فاطمه غوغایی^۱، مریم ایلچی قزائی^۲، مهسا قزلباش^۳، بتول سجاد^{۱*}

۱. گروه فیزیک اتمی مولکولی، دانشکده فیزیک، دانشگاه الزهراء، صندوق پستی: ۱۹۹۳۸۹۱۱۷۶، تهران، ایران
۲. پژوهشکده فوتونیک و فناوری کوانتومی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۸۳۶-۱۴۳۹۵، تهران، ایران
۳. پژوهشکده علوم و فناوری اپتیک و لیزر، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، صندوق پستی: ۱۵۸۷۵۱۷۷۴، تهران، ایران

*Email: bsajad@alzahra.ac.ir

مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۱۱/۱۳ تاریخ بازنگری مقاله: ۱۴۰۴/۰۲/۲۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۴/۰۳/۱۹

چکیده

در این پژوهش، تشخیص و تمایز دقیق بافت‌های سالم و سرطانی مغز به روش تصویربرداری فلورسانس لیزری با هدایت فلوروفور برونزای سدیم فلورسین مورد بررسی قرار گرفته است و نتایج به‌دست آمده با تصاویر خودفلورسانس بافت‌ها مقایسه شده‌اند. نمونه‌ها که به تشخیص متخصص آسیب‌شناسی از انواع منژیوما، متاستاتیک کارسینوما، گلیومای درجه پایین و گلیومای درجه بالا تشخیص داده شده بودند، از ۴ بیمار تهیه شدند و به منظور اعتبارسنجی نتایج، از روش تصویربرداری نوری با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین استفاده شده است. نتایج نشان می‌دهند که شدت تابش فلورسانس ناشی از بافت‌های سرطانی به دلیل نفوذپذیری بیشتر رنگ در حفره‌ها و منافذ بافت، شدیدتر از بافت‌های سالم است. بهره‌گیری از این روش تصویربرداری، علاوه بر بالا بردن دقت و صحت نتایج، امکان تجسم دیداری و تشخیص بلادرنگ در زمان واقعی و برداشت کامل تومور را برای جراح فراهم آورده و بیمار را از انجام بیوپسی‌های تهاجمی بی‌نیاز می‌سازد. بنابراین، یافته‌ها نشان می‌دهند که سدیم فلورسین می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر فلورسانس قابل اعتماد در تصویربرداری حین عمل برای بهبود تشخیص و تعیین مرزهای تومورهای مغزی مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: بیوپسی نوری، تصویربرداری لیزری فلورسانس، نشانگر زیستی، فلوروفور برونزا، تومور مغزی

Accurate diagnosis of primary and metastatic brain tumors using laser fluorescence imaging guided by the sodium fluorescein exogenous fluorophore

F. Ghoghaei¹, M. Ilchi Ghazaani², M. Ghezelbash³, B. Sajad^{1*}

1. Department of Atomic and Molecular Physics, Faculty of Physics, Alzahra University, P.O.Box: 1993891176, Tehran, Iran
2. Photonics and Quantum Technologies Research Institute, Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, P.O.Box: 836-14395, Tehran, Iran
3. Optic and Laser Science & Technology Research Center, Malek Ashtar University of Technology, P.O.Box: 158751774, Tehran, Iran

Research Article

Received: 01.02.2025,

Revised: 17.05.2025,

Accepted: 09.06.2025

Abstract

In this study, we investigated the accurate diagnosis and differentiation of healthy and cancerous brain tissues using laser fluorescence imaging guided by the sodium fluorescein exogenous fluorophore. The results were compared with tissues' auto-fluorescence images. Samples, diagnosed as meningioma, metastatic carcinoma, low-grade glioma, and high-grade glioma types by pathologists, were obtained from four patients. An optical imaging technique with hematoxylin-eosin staining was used to validate the results. The findings revealed that the intensity of fluorescence radiation from cancerous tissues is more intense than that from healthy tissues due to the greater permeability of the dye in the cavities and pores of the tissue. This imaging method not only increases the accuracy and precision of the results but also allows the surgeon to visualize and diagnose the tumor in real-time and completely resect it, eliminating the need for invasive biopsies. Therefore, the results indicate that sodium fluorescein can be used as a reliable fluorescence marker in intraoperative imaging to improve the diagnosis and delineation of brain tumors.

Keywords: Optical biopsy, Laser fluorescence imaging, Biomarker, Exogenous fluorophore, Brain tumor



۱. مقدمه

تومورهای مغزی، به دلیل تشابه ظاهری بافت سالم و سرطانی، چالش‌های تشخیصی و درمانی قابل توجهی را به همراه دارند. به‌طور کلی، نقش تصویربرداری‌های پیش از عمل در سنجش بدخیمی‌های بافت، برنامه‌ریزی روش درمان و نظارت‌های پس از درمان بسیار مهم است. همچنین، تشخیص دقیق و زودهنگام انواع سرطان و نیز برداشت کامل تومور بدون آسیب به بافت‌های سالم مجاور را ممکن می‌سازند [۱-۳].

روش‌های فعلی در تشخیص تومورهای مغزی عبارتند از:

- روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی: آزمون‌های زیستی و مارکرهای تومور، آزمون‌های ژنتیکی؛
- روش‌های رادیولوژی: رادیوگرافی (X-ray) و مقطع‌نگاری کامپیوتری (CT)؛
- روش‌های تصویربرداری: تصویربرداری تشدید مغناطیسی (MRI)، مقطع‌نگاری گسیل پوزیترون (PET) و مقطع‌نگاری رایانه‌ای تک‌فوتونی (SPECT)؛
- روش‌های میکروسکوپی: میکروسکوپ نوری^۵ و میکروسکوپ الکترونی^۶.

ترکیب این روش‌ها می‌تواند به پزشکان در تشخیص دقیق و ارائه روش‌های درمانی مؤثر کمک کند.

در سال‌های اخیر، فناوری‌های تشخیصی مبتنی بر لیزر با نام "بیوپسی نوری" به‌عنوان ابزارهای ارزشمندی برای تجسم تومور مطرح شده‌اند که به کمک میکروسکوپ‌های مدرن و دوربین‌های پرسرعت، داده‌های دقیق با وضوح بالا از اندازه و محل تومورها برای هدایت جراحی را ارائه می‌کنند [۴-۱۱]. در این روش‌ها، محدودیت‌های تصویربرداری‌های مرسوم و بیوپسی‌های تهاجمی رفع شده و راه برای روش‌های جراحی مؤثرتر و دقیق‌تر از طریق امکان تشخیص بلادرنگ و بهبود هدایت حین عمل جراحی هموار می‌شود [۱۲، ۱۳].

علی‌رغم محدودیت‌های ذاتی تصویربرداری‌های مبتنی بر نور، مانند عمق نفوذ کم در بافت‌های بیولوژی و ساختارهای آناتومیک خاص و نیز حساسیت کم در تشخیص حاشیه‌های تومور، فناوری‌های لیزری نویدبخش بهبود کارایی جراحی، دقت و سرعت برداشتن تومور هستند. در این فناوری‌ها می‌توان از

تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده از جذب، بازتاب، عبور و پراکندگی نور در اهداف تشخیصی کمک گرفت.

در تصویربرداری لیزری فلورسانس، از رنگ‌ها برای هدف قرار دادن مولکول‌های خاص سرطانی در درمان‌های شخصی‌سازی شده استفاده می‌شود. نشانگرهای زیستی فلورسانس در داخل و اطراف بافت تومور تجمع می‌یابند و پس از پرتودهی توسط نور لیزر در طول موج خاص، از کنتراست در جذب و دفع مواد فلورسانس در بافت‌های سالم و تومور به کمک میکروسکوپ‌های مخصوص در اهداف تشخیصی بهره می‌گیرند [۱۴، ۱۵].

مزایای روش تصویربرداری فلورسانس نسبت به تصویربرداری نوری عبارتند از [۱۶]:

- تشخیص دقیق‌تر مرزهای تومور؛
- افزایش کنتراست و تمایز بافت‌ها؛
- امکان تصویربرداری در عمق بافت؛
- امکان استفاده از رنگ‌های هدفمند؛
- کاهش خطای انسانی و افزایش دقت جراحی؛
- کاربردهای گسترده‌تر در جراحی‌های پیچیده.

در مجموع، تصویربرداری فلورسانس نسبت به تصویربرداری نوری دقت، حساسیت و قابلیت‌های تشخیصی بالاتری دارد که به‌ویژه در جراحی تومورهای مغزی و سایر سرطان‌ها، منجر به بهبود نتایج درمانی و کاهش آسیب به بافت‌های سالم می‌شود.

همچنین، به منظور بهبود دقت روش تصویربرداری فلورسانس در تشخیص و تمایز بافت سالم و سرطانی، می‌توان این تکنیک را با سایر روش‌ها و فناوری‌های موجود مانند ایمونوهیستوشیمی فلورسنت (IHC^۷) [۱۷]، تصویربرداری طول‌عمر فلورسانس (FLIM^۸) [۱۸] و نیز تصویربرداری‌های مکمل مانند MRI یا CT [۱۹] ترکیب کرد.

امروزه، تصویربرداری‌های لیزری فلورسانس نقش مهمی در تشخیص و ارزیابی انواع تومورهای خوش‌خیم و بدخیم مغزی مانند گلیوما (آستروسیتوما و گلیوبلاستوما)، مننژیوما (تومورهایی که از مننژها، غشای محافظ مغز، سرچشمه می‌گیرند) و آدنوکارسینوما ایفا می‌کند [۲۰، ۲۱].

فلوروفورهای تشخیصی و درمانی مورد تأیید سازمان غذا و دارو (FDA^۹) که بیشتر در تومورهای مغزی مورد استفاده قرار می‌گیرند، سدیم فلورسین (SF^{۱۰})، آمینولولینیک

7. Immunohistochemistry

8. Fluorescence Lifetime Imaging

9. Food and Drug Administration

10. Sodium Fluorescein

Journal of Nuclear Science, Engineering and Technology

Vol. 46 (3), Serial Number 113, 2025, P 21-30

1. Computed Tomography

2. Magnetic Resonance Imaging

3. Positron Emission Tomography

4. Single-Photon Computed Tomography

5. Optical Microscope

6. Electron Microscopy



۲. مواد و روش‌ها

۱.۲ نمونه‌های بافتی

سیستم‌های آسیب‌شناسی، درجه میکروسکوپی اختلال و انحراف در میزان رشد ظاهری سلول را با هدف پیش‌بینی تحولات در سطح بافت بررسی می‌کنند. نمونه‌های بافت سرطانی مغز استفاده شده در این پژوهش (شکل ۱) نیز به منظور تعیین نوع و درجه بدخیمی، پیش‌تر توسط آسیب‌شناس مورد بررسی قرار گرفته بودند. به منظور جلوگیری از تخریب زودهنگام بافت توسط آنزیم‌های درون‌سلولی و یا باکتری‌ها و برای حفظ ترکیب ساختمانی و مولکولی، نمونه‌ها بلافاصله بعد از بیرون آوردن از بدن، به قطعات کوچک‌تری برش خورده و در محیط فرمالین (۱۰٪) نگه‌داری شده بودند.

در شکل ۲، طرح‌واره مراحل آماده‌سازی نمونه، رنگ‌آمیزی سلول‌های سرطانی مغز به کمک نشانگرهای زیستی تومور و ثبت تصاویر میکروسکوپی نشان داده شده است.

۲.۲ تصویربرداری نوری

میکروسکوپ نوری، ابزاری است که با استفاده از نور مرئی و مجموعه‌ای از لنزها، تصاویر بزرگ‌شده‌ای از نمونه‌های بسیار کوچک را که با چشم غیرمسلح قابل مشاهده نیستند، ایجاد می‌کند. به این ترتیب که، ابتدا نور گسیل شده از چشمه نور مرئی توسط کندانسور روی نمونه هدف متمرکز می‌شود. نور عبوری از نمونه پس از گذر از عدسی شیئی و عدسی چشمی، تصویر بزرگ‌شده نمونه را برای مشاهده کاربر فراهم می‌کند.

تصویربرداری با میکروسکوپ نوری، ابزار بسیار ارزشمندی در تشخیص و تمایز بافت سالم از بافت توموری است. این روش، به کمک مشاهده ویژگی‌های مورفولوژیکی سلول‌ها، تغییرات ساختاری در بافت‌ها و ویژگی‌های خاص تومورها، آسیب‌شناس را قادر می‌سازد تا انواع تومورها را شناسایی کرده و درجه بدخیمی آن‌ها را ارزیابی کند. استفاده از رنگ‌آمیزی‌های خاص (مانند HE) و ترکیب آن با مشاهده دقیق میکروسکوپی سبب می‌شود که تشخیص تومورها دقیق‌تر و سریع‌تر انجام شود.

برای تصویربرداری نوری نمونه‌های بافتی، از میکروسکوپ نوری اصلاح شده برند Jenamed با لنز ۴۰X و نیز میکروسکوپ بیولوژی-نوری معکوس مدل XDS-1B استفاده شده است که دارای قدرت تفکیک و وضوح تصویر ۱۰ MP و نیز سنسور سیموس (U³CMOS) است. برای وضوح و دقت بالاتر تصاویر از دو میکروسکوپ مستقیم و معکوس براساس نیاز ثبت تصاویر به طور هم‌زمان استفاده شده است.

اسید-۵ (۵-ALA^۱) و ایندوسیانین سبز (ICG^۲) هستند. طول‌موج جذب SF در ناحیه آبی (۴۰۵ nm) با عمق نفوذ کم است و بیشتر کاربرد تشخیصی دارد و طول‌موج جذب ICG در ناحیه مادون قرمز نزدیک (۸۱۰ nm) با عمق نفوذ به مراتب بیشتر است و در کاربردهای درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۲]. همچنین، ۵-ALA با پنج قله جذب از طول‌موج‌های آبی تا قرمز، هم در تشخیص و هم درمان کاربرد دارد. در این میان، SF به دلیل ویژگی‌هایی همچون زیست سازگاری بالا، فلورسانس قوی و قابل مشاهده در ناحیه مرئی، ارزان و در دسترس بودن و عوارض جانبی کم و قابل کنترل در کارآزمایی‌های بالینی تشخیصی جایگاه ویژه‌ای دارد [۲۳، ۲۴].

نوع فلوروفور انتخابی، به نوع بافت سرطانی و محل آن در بدن بستگی دارد و میزان فلورسانس تابشی از سلول‌های سرطانی، تابعی از دز نور تابیده شده به بافت است.

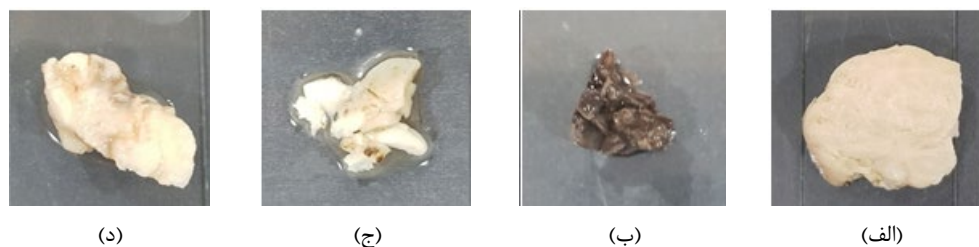
در مطالعه‌ای که توسط استامر^۳ و همکاران در سال ۲۰۱۷ انجام شد، از فلوروفور SF در تصویربرداری زنده و شناسایی تومور مغزی گلیوما استفاده شده است [۲۵]. همچنین، کریستین^۴ و همکاران مرور جامعی از پژوهش‌های مختلف در زمینه استفاده از فلوروفور SF در تشخیص تومورهای مغزی ارائه کرده‌اند و کاربرد فلوروفور SF در جراحی‌های مغزی، به‌ویژه در شناسایی نواحی توموری و آسیب‌های مغزی را بررسی کرده‌اند [۲۶].

تشخیص دقیق بافت سالم و سرطانی به‌ویژه در مراحل اولیه سرطان برای برنامه‌ریزی درمان، پیش‌بینی نتایج و پیشگیری از عود مجدد بسیار حیاتی است. هدف اصلی این پژوهش، تمایز نواحی تومورال بافت‌های مغز از بافت‌های سالم به کمک روش تصویربرداری لیزری فلورسانس به همراه فلوروفور SF است. همچنین، اعتبارسنجی نتایج با داده‌های آسیب‌شناسی و تصویربرداری نوری با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (HE^۵) به صورت هم‌زمان مورد بررسی قرار گرفته است.

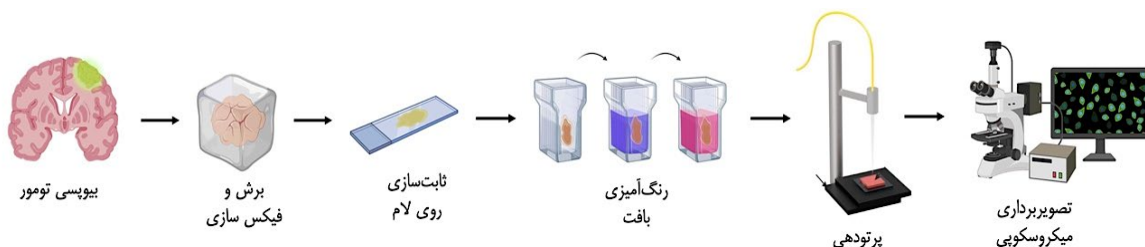
طبق بررسی‌های ما، به نظر می‌رسد این پژوهش اولین تصویربرداری فلورسانس لیزری از نمونه‌های سرطانی اولیه و متاستاتیک بافت مغز در ایران باشد.

1. 5-Aminoleucine Acid
2. Indocyanine Green
3. Stummer
4. Christian
5. Hematoxylin Eosin

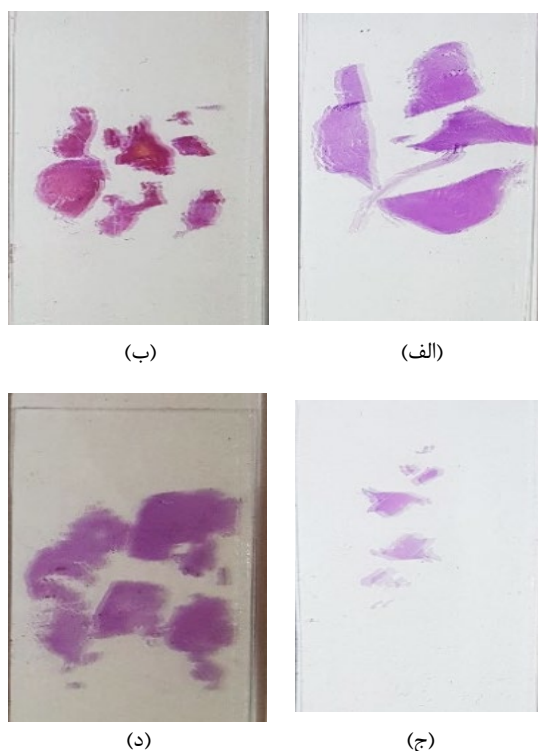




شکل ۱. نمونه بافت‌های سرطانی مغز انسان؛ (الف) نمونه ۱، (ب) نمونه ۲، (ج) نمونه ۳ و (د) نمونه ۴.



شکل ۲. مراحل آماده‌سازی، رنگ‌آمیزی نمونه تا ثبت تصاویر میکروسکوپی.



شکل ۳. نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده به روش HE. (الف) نمونه ۱، (ب) نمونه ۲، (ج) نمونه ۳ و (د) نمونه ۴.

۳.۲ تصویربرداری فلورسانس

میکروسکوپ فلورسانس بر پایه پدیده فلورسانس کار می‌کند؛ یعنی نمونه‌ای که با ماده فلورسنت (فلوروفور) نشان‌دار شده، پس از پرتو دهی توسط نوری در طول موج مشخص (معمولاً نور فرابنفش یا آبی) تحریک می‌شود و نوری با طول موج بلندتر و انرژی کمتر از خود گسیل می‌کند. نور فلورسنت گسیلی پس از

برای تصویربرداری نوری، ابتدا نمونه‌ها در ضخامت $5 \mu\text{m}$ برش داده شده و برای تشخیص ناحیه بافت تومور، مقاطع به روش HE رنگ‌آمیزی شدند و توسط یک متخصص مشاور آسیب‌شناس عصبی برای تأیید تشخیص هیستوپاتولوژیکی مورد بررسی قرار گرفتند. هماتوکسیلین، هسته سلول‌ها را به رنگ آبی مایل به ارغوانی رنگ‌آمیزی می‌کند و ائوزین، سیتوپلاسم، فیبرهای بافتی و سلول‌های موجود در بافت‌های مختلف را به رنگ صورتی در می‌آورد. ساختارهای دیگر در سلول سایه‌ها، رنگ‌ها و ترکیبات گوناگونی از این رنگ‌ها را به خود می‌گیرند. از این‌رو، آسیب‌شناس می‌تواند به راحتی هسته و سیتوپلاسم سلول را از یکدیگر تشخیص دهد.

در شکل ۳، تصاویر نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده به روش HE نشان داده شده است. در نواحی اجتماع سلولی و هسته‌های صورتی می‌توان شدت وخامت و تجمع سلول‌های سرطانی را مشاهده کرد. در واقع، ناحیه‌ای از سلول‌ها که رنگ و شکل و تجمع متفاوتی نسبت به سایر نواحی دارند، ناحیه سرطانی است. بافت توموری توسط تغییراتی که در اندازه و شکل هسته‌ها مشاهده می‌شود، از بافت سالم قابل تمایز است. در واقع، هماتوکسیلین، به دلیل قابلیت پیوند با DNA و RNA که در هسته سلول‌ها قرار دارند، هسته‌ها را نمایان می‌کند. تکثیر غیرطبیعی سلول‌های توموری که ناشی از تغییراتی در تراکم سیتوپلاسم است به کمک رنگ ائوزین در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده می‌شود. افزون بر این، الگوی کلی رنگ‌آمیزی HE، طرح و توزیع عمومی سلول‌ها را نشان می‌دهد و یک نمای کلی از ساختار نمونه بافتی را ارائه می‌دهد.



تصویربرداری‌های فلورسانس به کمک میکروسکوپ فلورسانس برند Leica مدل DMI ۶۰۰۰ B ساخت کشور آلمان با لنز ۱۰X انجام شده است. میکروسکوپ لیزری هم‌کانون از خاصیت فلورسانس نمونه جهت تصویربرداری از سلول‌ها و نمونه‌های زیستی استفاده می‌کند. تصویربرداری با حداکثر دو رنگ مختلف و در بازه رنگ سبز و قرمز امکان‌پذیر است؛ لذا باید در انتخاب رنگ‌ها، فاصله منطقی بین طول‌موج‌ها رعایت گردد. نمونه نباید خشک شود و نیز باید در تاریکی آماده شود و در مدت تصویربرداری در تاریکی باقی بماند.

۳. بحث و نتایج

۱.۳ بافت‌شناسی

نمونه بافت‌ها از ۴ بیمار تهیه شده است. همه بافت‌ها پس از نمونه‌برداری یا جراحی در محلول فرمالین نگهداری شده‌اند تا از هرگونه تغییر شکل یا ساختار مولکولی ناخواسته جلوگیری شود. بافت‌های مورد مطالعه توسط پزشک آسیب‌شناس مورد بررسی قرار گرفته‌اند. گزارش پزشک آسیب‌شناس در مورد بافت‌های مورد نظر نشان دادند که نمونه‌های ۱ تا ۴ به ترتیب از انواع مننژیوما، متاستاتیک کارسینوما، گلیومای درجه پایین و گلیومای درجه بالا هستند.

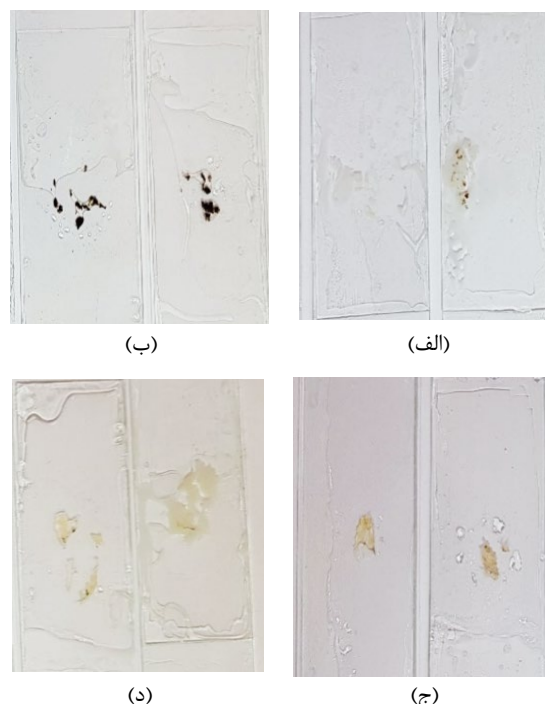
۲.۳ تصویربرداری نوری نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با HE

براساس شواهد و نتایج آسیب‌شناسی، ناحیه بافت سرطانی که حین جراحی توسط جراح برداشته می‌شود، همراه با قسمتی از بافت سالم است. در روش تصویربرداری نوری با رنگینه HE، همتوکسیلین به هسته سلول‌ها رنگ می‌دهد و آن را به رنگ آبی تیره در می‌آورد، در حالی که ائوزین به سیتوپلاسم و سایر قسمت‌های بافتی و اجزای ماتریکس خارج سلولی، رنگ صورتی تا قرمز می‌دهد. در زیر میکروسکوپ نوری، سلول‌های بافت‌های سالم دارای ساختار منظم و سازماندهی شده و در قالب‌های مشخصی مانند لایه‌های اپیتلیال هستند، اما در تومورهای سرطانی، معمولاً سلول‌ها از نظر اندازه، شکل و توزیع هسته‌ها غیرطبیعی هستند. ویژگی‌هایی مانند افزایش تعداد سلول‌های تقسیم‌شونده (میتوز) و تغییرات در ساختار سلول‌ها، نشان‌دهنده سرطانی بودن بافت است.

همان‌طور که در تصاویر HE شکل ۵ مشاهده می‌شود، سلول‌ها در بعضی نقاط و نواحی با پیکان‌های قرمز رنگ به صورت غیرعادی افزایش و تجمع یافته‌اند که این رفتار متفاوت در تولید مثل سلولی، نشانه سلول‌های سرطانی است. در اطراف این توده‌ها نیز می‌توان نواحی مربوط به سلول‌های سالم را مشاهده کرد که سلول‌ها به صورت یکنواخت‌تر در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند. این نواحی بسیار محدود هستند زیرا در حین

عبور از عدسی شیئی، به چشمی میکروسکوپ یا آشکارسازهایی مانند دوربین CCD می‌رسد و تصویری با کنتراست بالا و اختصاصی از مولکول‌ها یا ساختارهای هدف در نمونه ایجاد می‌کند. در روش تصویربرداری با میکروسکوپ فلورسانس، از رنگ‌های فلورسانس برای مشاهده تغییرات زیستی در سطح سلولی، مولکولی و بیوشیمیایی، ارزیابی مورفولوژی و نوع سلول‌ها و نیز تفاوت‌های ساختاری بافت مانند اندازه و شکل هسته استفاده می‌شود [۲۷]. بنابراین، فلوروفورهای برونزا به عنوان عامل نشانه‌گذاری تومور به مولکول‌ها و ساختارهای خاص در بافت مانند پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک یا سایر مولکول‌های زیستی متصل می‌شوند. سلول‌های رنگ‌آمیزی شده پس از جذب نور لیزر در طول‌موج خاص، نوری در طول‌موج بلندتر گسیل می‌کنند و تشخیص سلول‌های سالم و سرطانی با مقایسه شدت تابشی برآمده از این بافت‌ها انجام می‌شود.

برای تصویربرداری فلورسانس، نمونه‌ها در دو ضخامت کم ($5\text{ }\mu\text{m}$) و زیاد (۲ الی ۳ cm) برش خورده و برای ثبت تصاویر فلورسانس ذاتی با نشانگر HE و برای ثبت تصاویر فلورسانس خارجی با محلول SF و اتانول رنگ‌آمیزی شده‌اند. در این رنگ‌آمیزی، نمونه‌های برش خورده به مدت ۲۰ min در محلول غوطه‌ور شدند. سپس لام‌ها ۲ مرتبه، به مدت ۱ min با آب مقطر و الکل شست‌وشو داده شدند و توسط چسب آکواتکس روی لامل ثابت شدند. در نهایت، مطابق شکل ۴ روی نمونه‌ها روغن ایمرسیون ریخته شده و توسط لامل دیگری فیکس شدند.



شکل ۴. نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با محلول SF و اتانول در بافت‌های (الف) نمونه ۱، (ب) نمونه ۲، (ج) نمونه ۳ و (د) نمونه ۴.

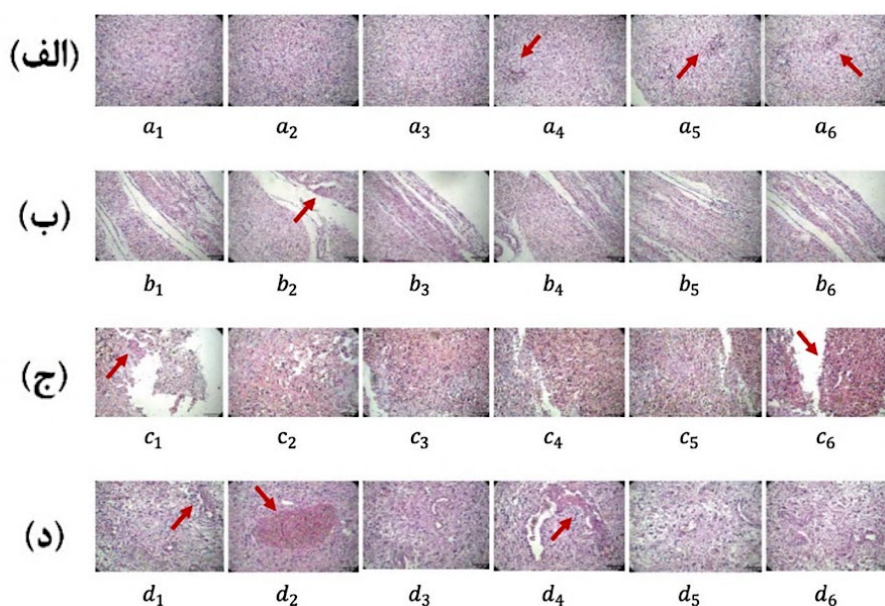


ناحیه‌ای از تصویر نمونه که دارای شدت فلورسانس بالاتری است، تجمع سلول‌های سرطانی را نشان می‌دهد. در واقع، سلول‌های سرطانی براساس ویژگی‌های سلولی متفاوت، وجود منافذ و حفره‌های بیشتر و داشتن فلوروفورهای ذاتی (مانند اسیدهای آمینه، NADH، فلاوین‌های FAD و FMN، کلاژن، الاستین و ...) بیشتر از بافت سالم، می‌توانند در طول موج ۶۶۲ nm بازجذب شده و سپس فلورسانس گسیل کنند. با این فلورسانس ذاتی، ناحیه سرطانی (روشن) نسبت به ناحیه سالم (تیره) قابل تشخیص است.

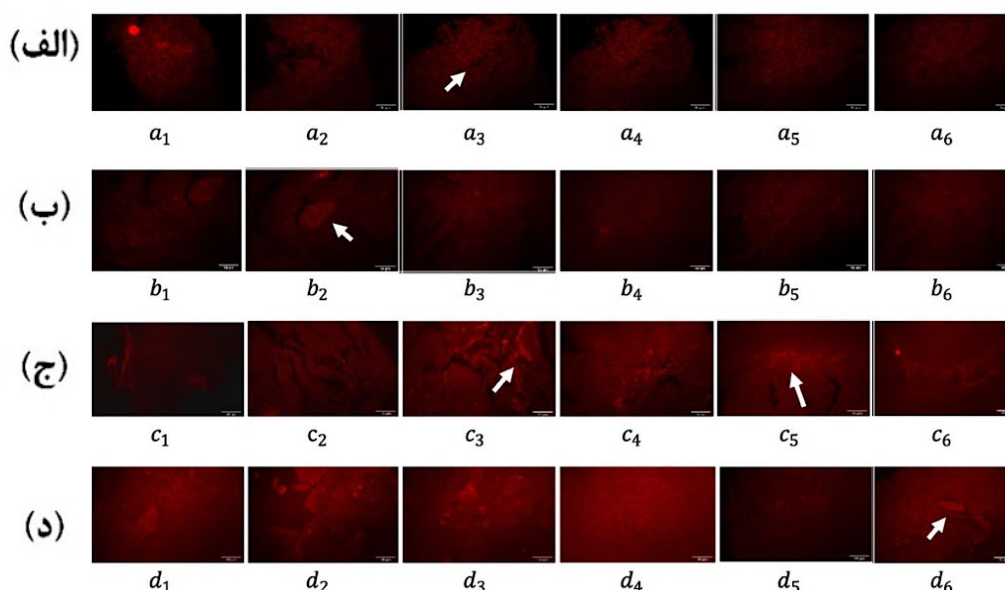
عمل، جراحان تمام سعی خود را می‌کنند که کمترین آسیب را به بافت سالم وارد کنند زیرا مغز تنها عضو در بدن است که آثار جبران‌ناپذیر و غیر قابل ترمیم دارد.

۳.۳ تصویربرداری فلورسانس ذاتی

از نمونه‌های مورد نظر با استفاده از یک میکروسکوپ فلورسانس Leica با لیزر دایود قابل تنظیم در طول موج ۶۶۲ nm در محدوده توانی از مرتبه چند میلی‌وات، بازه تحریک ۵۸۰-۵۹۰ nm و بازه آشکارسازی ۶۴۰-۶۶۰ nm تصویربرداری شد که تصاویر به‌دست آمده در شکل ۶ نشان داده شده است.



شکل ۵. تصاویر میکروسکوپ نوری نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با HE: سری (الف) مننژیوما، سری (ب) متاستاتیک کارسینوما، سری (ج) گلیوما درجه پایین و سری (د) گلیوما درجه بالا.



شکل ۶. تصاویر فلورسانس ذاتی؛ سری (الف) مننژیوما، سری (ب) متاستاتیک کارسینوما، سری (ج) گلیوما درجه پایین و سری (د) گلیوما درجه بالا.

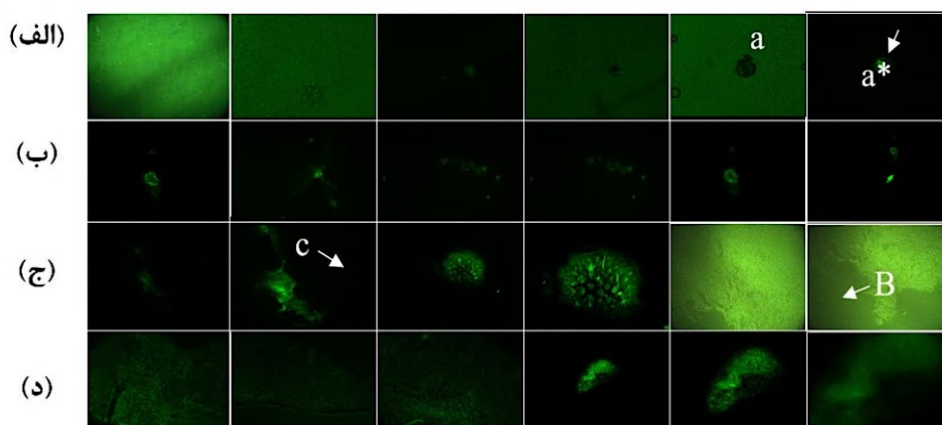


فلورسانس است. به طور معمول، شدت تابش ناشی از بافت‌های سرطانی به دلیل نفوذپذیری بیشتر رنگ در منافذ بافت، شدیدتر است. نتایج حاصل از این تصویربرداری کمک می‌کند که به صورت واضح تفاوت جذب SF در بافت‌های سالم و سرطانی و شدت‌های متفاوت این نواحی به وضوح دیده شود.

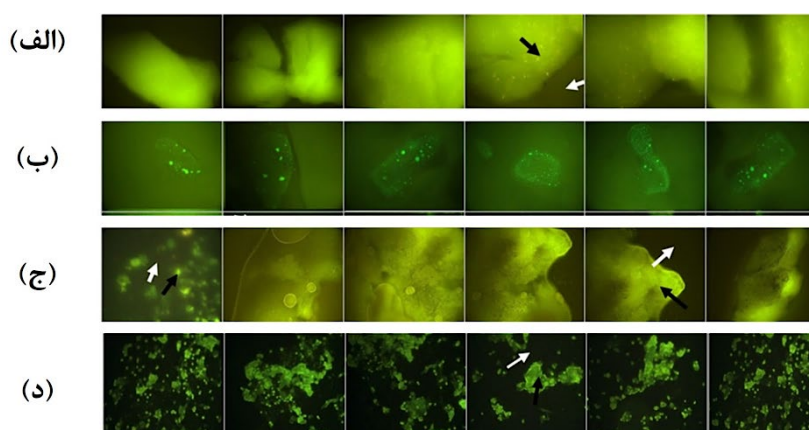
مطابق شکل ۸ برای نمونه‌های با برش ضخیم (۲ الی ۳ cm)، نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با محلول SF با اتانول در میکروسکوپ فلورسانس در دو ناحیه تاریک (سبز تیره) و روشن (سبز فسفری و درخشان) دیده شدند. براساس گزارش‌های قبلی، بافت و سلول‌های سرطانی به‌خاطر ویژگی‌های ساختاری خود جذب SF بالایی دارند و تجمع SF در این نواحی بیشتر از نواحی سالم است.

۴.۳ تصویربرداری فلورسانس نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با محلول SF فلورسانس با کمک فلوروفورهای برون‌زا مانند SF، با افزایش شدت تابشی در حین جراحی فرایند تشخیص را بهبود می‌دهد. به این منظور، ابتدا نمونه‌ها در دو ضخامت کم ($5 \mu m$) و زیاد (در حدود ۲ الی ۳ cm) تهیه شدند و پس از رنگ‌آمیزی با محلول SF با اتانول، بین لام و لامل فیکس شدند.

در شکل ۷، نتایج تصویربرداری نمونه‌های برش‌خورده با ضخامت کم نشان داده شده است. مطابق شکل، نواحی تیره‌تر و تاریک‌تری وجود دارند که در این نواحی جذب SF بسیار پایین بوده یا بافت آن را جذب نکرده است. در مقابل، با جست‌وجو در سطح لام زیر میکروسکوپ فلورسانس، برخی از نواحی به رنگ سبز درخشان و روشن مشاهده می‌شوند و این نواحی با چشم غیرمسلح نیز درخشان و نورانی هستند. این نواحی، نشان‌دهنده جذب بالای SF توسط سلول‌های سرطانی و انتشار پرتو



شکل ۷. فلورسانس نمونه‌های سرطانی (الف) مننژیوما، (ب) متاستاتیک کارسینوما، (ج) گلیومای درجه پایین و سری (د) گلیومای درجه بالا با ضخامت $5 \mu m$ رنگ‌آمیزی شده با محلول SF در اتانول.



شکل ۸. تصاویر فلورسانس نمونه‌های برش‌خورده با ضخامت زیاد (۲-۳ cm) رنگ‌آمیزی شده توسط محلول SF با اتانول. (الف) مننژیوما، (ب) متاستاتیک کارسینوما، (ج) گلیومای درجه پایین و سری (د) گلیومای درجه بالا.



در سال ۲۰۱۰، حاتمی و همکاران برای اولین بار، کاربرد یک سیستم FLIM آندوسکوپی را برای مشاهدات و تشخیص حین عمل گلیوبلاستوما^۴ مولتی فرم (GBM^۴) و شناسایی خودفلورسانس بافت مغز نشان دادند [۳۰]. یافته‌های این تحقیق، پتانسیل استفاده از FLIM را به عنوان ابزاری برای جراحی هدایت شده با تصویر^۵ تومورهای مغزی نشان می‌دهد. شش سال بعد، مرور جامعی در زمینه جراحی هدایت شده با فلورسانس به عنوان یکی از روش‌های نوظهور «ترانزستیک» جراحی توسط بلیخ^۶ و همکاران انجام شد. در این بررسی، تکنیک‌های فلورسانس فعلی مورد استفاده در عمل جراحی مغز و اعصاب برای بیماران تومور مغزی و همچنین، سایر عوامل نوظهور، مانند پروپ‌های مبتنی بر فعالیت و پروپ‌های مولکولی هدفمند که می‌توانند ویژگی بیومولکولی را برای تصویربرداری و درمان جراحی فراهم کنند و نیز راه‌حل‌های مهندسی و نوری موجود برای تصویربرداری جراحی فلورسنت به تفصیل توصیف شدند [۳۱].

در تشخیص تومورهای مغزی گلیوما با استفاده از تصویربرداری فلورسانس توسط SF، براساس تحلیل هیستوپاتولوژیک نمونه‌های بیوپسی، حساسیت^۷ ۸۰/۸ تا ۹۵/۲٪ و ویژگی^۸ ۷۹/۱ تا ۱۰۰٪ گزارش شده است [۳۲، ۳۳].

در آینده، توسعه الگوریتم‌های پردازش تصویر مبتنی بر هوش مصنوعی می‌تواند به تشخیص خودکار نواحی توموری کمک کند. همچنین، ترکیب این روش با تصویربرداری MRI حین عمل یا OCT می‌تواند داده‌های چندوجهی ارزشمندی برای جراحان فراهم کند. توسعه فلوروفورهای اختصاصی‌تر که به گیرنده‌های بیان شده در تومورهای مغزی متصل می‌شوند، گام بعدی در افزایش حساسیت و ویژگی این روش خواهد بود. در نهایت، انجام مطالعات بالینی گسترده‌تر برای ارزیابی تأثیر این فناوری بر میزان برداشت تومور، عوارض جراحی، و بقای بیماران ضروری است.

در شکل‌ها، فلش‌های سیاه نقاطی که فلورسین بیشتری جذب شده است و سبز درخشان‌تری دارند را نشان می‌دهند و فلش‌های سفید، بیانگر نواحی مات با رنگ سبز تیره‌تر هستند. با وجود آنکه تصویربرداری فلورسانس ابزاری قدرتمند برای مطالعه فرایندهای مولکولی و سلولی است اما، در طراحی آزمایش‌ها و تفسیر نتایج باید محدودیت‌های آن از جمله کاهش وضوح به دلیل نور پس‌زمینه، سفیدشدگی نوری^۱، عمق نفوذ محدود و وابستگی به شرایط محیطی و تجهیزات مدنظر قرار گیرند [۲۸].

۴. نتیجه‌گیری

تاکنون برای تشخیص سرطان مغز در حین عمل و کاهش درصد خطای جراح، راه حل مطمئنی در نظر گرفته نشده است. پژوهش‌های جدید نشان می‌دهند که با درنظر گرفتن طیف اختصاصی هر بافت و به‌کارگیری فلوروفور مناسب می‌توان دقت در تشخیص بلادرنک بافت سرطانی را بالا برد. از این‌رو در این پژوهش، کاربرد تصویربرداری فلورسانس با استفاده از نشانگر SF به عنوان یک روش غیرتهاجمی مکمل برای تشخیص دقیق حدود تومورهای مغزی حین عمل جراحی مورد بررسی قرار گرفت. تمایز نوری ناشی از شدت فلورسانس بافت‌های سرطانی و سالم می‌تواند به جراحان مغز و اعصاب کمک کند تا با دقت بیشتری مرز بین بافت تومورال و سالم را در حین عمل تشخیص دهند.

از لحاظ کاربردی، این سیستم می‌تواند در قالب یک میکروسکوپ جراحی مجهز به فیلترهای مناسب برای تحریک و ثبت فلورسانس SF پیاده‌سازی شود. این فناوری نیازمند تغییرات حداقلی در پروتکل‌های جراحی فعلی است و می‌تواند به سادگی در اتاق عمل ادغام شود. مزیت دیگر استفاده از SF، سابقه طولانی استفاده بالینی آن، دسترسی آسان و هزینه پایین در مقایسه با سایر فلوروفورها مانند ICG یا ALA-۵ است.

تامپسون^۲ و همکاران در سال ۲۰۰۲ از طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری تفکیک زمانی (TR-LIFS^۳) برای توصیف و تشخیص غیرتهاجمی تومور مغزی در مدل گلیوما C6 استفاده کردند. آن‌ها نشان دادند که روش می‌تواند برای تمایز تومورهای مغزی از بافت طبیعی (ماده خاکستری و سفید مغز) براساس امضای فلورسانس با تفکیک زمانی استفاده شود [۲۹].

4. Glioblastoma Multiforme

5. Image-Guided Surgery

6. Belykh

7. Sensitivity

8. Specificity

Journal of Nuclear Science, Engineering and Technology

Vol. 46 (3), Serial Number 113, 2025, P 21-30

1. Photobleaching

2. Thompson

3. Time-Resolved Laser-Induced Fluorescence Spectroscopy

مجله علوم، مهندسی و فناوری هسته‌ای

دوره ۴۶، شماره ۳، جلد ۱۱۳، پاییز ۱۴۰۴، ص ۲۱-۳۰



مراجع

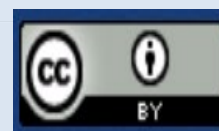
1. Gunaydin G, Emre Gedik M, Ayan S. Photodynamic Therapy for the Treatment and Diagnosis of Cancer—A Review of the Current Clinical Status. *Front. Chem.* 2021;9:686303.
2. Hadjipanayis C.G, Stummer W. 5-ALA and FDA Approval for Glioma Surgery. *J. Neurooncol.* 2019;141(3):479–486.
3. Chen B, Wang H, Ge P, Zhao J, Li W, Gu H, Wang G, Luo Y, Chen D. Gross total resection of glioma with the intraoperative fluorescence-guidance of fluorescein sodium. *Int. J. Med. Sci.* 2012;8(9):14-708.
4. Bruno A.C, Kali Pellicer San M, Matías D.C, Paula M.O, Luis E.I. State-of-the-art photodynamic therapy for malignant gliomas: innovations in photosensitizers and combined therapeutic approaches. *Explor Target Antitumor Ther.* 2025;6:1002303.
5. Jia-Shu C, Jacob S.Y, Mitchel S.B. Current and Future Applications of 5-Aminolevulinic Acid in Neurosurgical Oncology. *Cancers.* 2025;17:1332.
6. Hadeel M.M, Siddharth S, Tania M.A, Mohammed A.M, Gabriel S.G.P, Ankit I.M. Enhancing Glioblastoma Resection with NIR Fluorescence Imaging: A Systematic Review. *Cancers.* 2024;16:3984.
7. Alfano R, Pu Y. Optical biopsy for cancer detection. In: *Lasers for Medical Applications: Diagnostics. Therapy and Surgery.* 2013.
8. Kondepudi A, Pekmezci M, Hou X, Scotford K, Jiang Ch, Rao A, Harake E.S, Chowdury A, Al-Holou W, Wang L, Pandey A, Lowenstein P.R, Castro M.G, Koerner L.I, Roetzer-Pejrimovsky Th, Widhalm G, Camelo-Piragua S, Movahed-Ezazi M, Orringer D.A, Lee H, Freudiger Ch, Berger M, Hervey-Jumper Sh, Hollon T. Foundation models for fast, label-free detection of glioma infiltration. *Nature.* 2025;637(8045):439-445.
9. Moksada R, Yanni L, Intraoperative fluorescence redefining neurosurgical precision. *International Journal of Surgery.* 2025;111(1):998-1013.
10. Matsuda M, Sugii N, Sakamoto N, Yamano A, Ishikawa E. Significance of 5-ALA-Guided Fluorescence in Resection of Invasive Intracranial Meningiomas: Findings from a Prospective Clinical Study. *Cancers.* 2025;17(7):1191.
11. Chirizzi C, Pellegatta S, Gori A, Falco J, Rubiu E, Acerbi F, Bombelli F.B. Next-generation agents for fluorescence-guided glioblastoma surgery. *Bioeng Transl Med.* 2023;9(3):e10608.
12. Schupper A.J, Rao M, Mohammadi N, Baron R, Lee J.Y.K, Acerbi F, Hadjipanayis C.G. Fluorescence-Guided Surgery: A Review on Timing and Use in Brain Tumor Surgery. *Frontiers in Neurology. Frontiers Media S.A.* 2021;12.
13. Acerbi F, Broggi M, Schebesch K.M, Höhne J, Cavallo C, De Laurentis C, Eoli M, Anghileri E, Servida M, Boffano C, Pollo B, Schiariti M, Visintini S, Montomoli C, Bosio L, Emanuele La Corte E, Broggi G, Brawanski A, Ferroli P. Fluorescein-guided surgery for resection of high-grade gliomas: A multicentric prospective phase II study (FLUOGLIO). *Clin Cancer Res.* 2018;24(1):52–61.
14. Haringsma J, Tytgat G.N.J. Fluorescence and autofluorescence. *Bailliere's Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 1999;13(1):1–10.
15. Olivo M, Ho C.J.H, Fu C.Y. Advances in fluorescence diagnosis to track footprints of cancer progression in vivo. *Laser Photonics Rev.* 2013;7(5).
16. Combs C.A. Fluorescence Microscopy: A Concise Guide to Current Imaging Methods. *Curr Protoc Neurosci.* 2010 Jan;0 2:Unit2.1.
17. Sheng W, Zhang C, Mohiuddin T.M, Al-Rawe M, Zeppernick F, Falcone F.H, Meinhold-Heerlein I, Hussain A.F. Multiplex Immunofluorescence: A Powerful Tool in Cancer Immunotherapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(4):3086.
18. Ouyang Y, Liu Y, Wang Z.M, Liu Z, Wu M. Flim as a Promising Tool for Cancer Diagnosis and Treatment Monitoring. *Nanomicro. Lett.* 2021;13:133.
19. Erten A, Hall D, Hoh C, Tran Cao H.S, Kaushal S, Esener S, Hoffman R.M, Bouvet M, Chen J, Kesari S, Makale M. Enhancing magnetic resonance imaging tumor detection with fluorescence intensity and lifetime imaging. *J. Biomed Opt.* 2010;15(6):066012.
20. Manoharan R, Parkinson J. Sodium fluorescein in brain tumor surgery: Assessing relative fluorescence intensity at tumor margins. *Asian J Neurosurg.* 2020;15(1):88–93.
21. Cavallo C, De Laurentis C, Vetrano I.G, Falco J, Broggi M, Schiariti M, Ferroli P, Acerbi F. The utilization of fluorescein in brain tumor surgery: A systematic review. *Journal of Neurosurgical Sciences.* 2018;62(6):690-703.
22. Xu R, Teich W, Frenzel F, Hoffmann K, Radke J, Rösler J, Faust K, Blank A, Brandenburg S, Misch M, Vajkoczy P, Onken J.S, Resch-Genger U. Optical Characterization of Sodium Fluorescein In Vitro and Ex Vivo. *Front Oncol.* 2021;11:654300.
23. Zhang D.Y, Singhal S, Lee J.Y.K. Optical Principles of Fluorescence-Guided Brain Tumor Surgery: A Practical Primer for the Neurosurgeon. *Neurosurgery.* 2019;85(3):312-324.
24. Aebisher D, Przygórzewska A, Myśliwiec A, Dynarowicz K, Krupka-Olek M, Bożek A, Kawczyk-Krupka A, Bartusik-Aebisher D. Current Photodynamic Therapy for Glioma Treatment: An Update. *Biomedicines.* 2024;12(2):375.



25. Stummer W, Suero Molina E. Fluorescence Imaging/Agents in Tumor Resection. *Neurosurgery Clinics of North America*. 2017;28(4):569-583.
26. Ewelt C, Nemes A, Senner V, Wölfer J, Brokinkel B, Stummer W, Holling M. Fluorescence in neurosurgery: Its diagnostic and therapeutic use. Review of the literature. *J Photochem Photobiol B Biol*. 2015;148:302-309.
27. Lichtman J, Conchello J.A. Fluorescence microscopy. *Nature Methods*. 2006;2(12):910-919.
28. Hilšer M, Trylčová J, Bušek P, Šedo A. Limitations of macroscopic fluorescence imaging for the estimation of tumor growth in an orthotopic glioma mouse model. *Folia Biol (Praha)*. 2012;58(3):128-133.
29. Reid C.T, Keith L.B, Babek K, Laura M. Detection of experimental brain tumors using time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy. *Optical Biopsy IV, Robert R. Alfano, Editor, Proceedings of SPIE*. 2002; 4613.
30. Sun Y, Hatami N, Yee M, Phipps J, Elson D.S, Gorin, Schrot R.J, Marcu L. Fluorescence lifetime imaging microscopy for brain tumor image-guided surgery. *Journal of Biomedical Optics*. 2010;15(5):056022.
31. Belykh E, Martirosyan N.L, Yagmurlu K, Miller E.J, Eschbacher J.M, Izadyazdanabadi M.H, Bardanova L.A, Byvaltsev V.A, Nakaji P, Preul M.C. Intraoperative Fluorescence Imaging for Personalized Brain Tumor Resection: Current State and Future Directions. *Front Surg*. 2016;3(55):1-27.
32. Manoharan R, Parkinson J. Sodium Fluorescein in Brain Tumor Surgery: Assessing Relative Fluorescence Intensity at Tumor Margins. *Asian J. Neurosurg*. 2020;15(1):88-93.
33. El-Magid Makia M.A, Ragab A.M, El-Badawy M.K, El-Sheikh M.O. The Role of Intraoperative Sodium Fluorescein-Guidance in Maximizing the Resection of Contrast-Enhancing Brain Gliomas. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2023;91: 4492-4498.

COPYRIGHTS

©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.

**استناد به این مقاله**

غوغایی، فاطمه، ایلچی قزائی، مریم، قزلباش، مهسا، سجاد، بتول. (۱۴۰۴)، تشخیص دقیق تومورهای مغزی اولیه و متاستاتیک به کمک تصویربرداری فلورسانس لیزری با هدایت فلوروفور برونزای سدیم فلورسین. مجله علوم، مهندسی و فناوری هسته‌ای، ۱۱۳ (۳)، ۲۱-۳۰. DOI: <https://doi.org/10.24200/nst.2025.1768.2090>.

Url: https://jonsat.nstri.ir/article_1743.html

