ملاحظات بررسی درون‌تنی بافت پستان با طیف سنجی رامان: یک *مقاله مروری*

صدف علی‌پور[۱و۲]، زهره دهقانی بیدگلی[۳*]

۱- مرکز تحقیقات بیماری‌های پستان، پژوهشکده سرطان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۲- گروه جراحی، بیمارستان جامع بانوان آرش، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳- گروه مهندسی پزشکی، دانشکده برق و کامپیوتر، واحد کاشان، دانشگاه آزاد اسلامی، کاشان، ایران.

*نویسنده مسئول: کاشان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کاشان، دانشکده برق و کامپیوتر، گروه مهندسی پزشکی.

تلفن: ۰۳۱-۵۵۵۸۹٤۸۰

E-mail: Dehghani_zohreh@yahoo.com

چکیده

دریافت: ۱٤۰۲/۰٤/۰۱ ویرایش: ۱٤۰۲/۰٤/۰۸ پذیرش: ۱٤۰۲/۰۵/۲۳ آنلاین: ۱٤۰۲/۰٦/۰۱

طیف‌سنجی رامان به‌عنوان یک ابزار ارزیابی مولکولی نوظهور و امیدوارکننده توجه بسیاری از پژوهشگران حوزه زیست پزشکی، به‌ویژه در تشخیص بیماری در ارگان‌های انسانی همچون پستان را به خود جلب کرده است. اکثر مطالعات رامان بر روی پستان به ارزیابی برون‌تنی نمونه‌های بافتی برش خورده دست نخورده یا فرآوری شده پرداخته است، اگرچه برخی مطالعات درون تنی، عمدتا به‌صورت تهاجمی و به‌منظور ارزیابی حاشیه تومور در حین جراحی و تعداد کمی مطالعات غیرتهاجمی نیز وجود دارند. از آنجا که روش ارزیابی رامان غیرتهاجمی یا کم‌تهاجم یک نیاز اساسی جهت انتقال این روش به‌روش‌های بالینی است، در مقاله حاضر، جدیدترین و مرتبط‌ترین مطالعات در این راستا به‌منظور یافتن و معرفی مناسب‌ترین ویژگی‌های سیستم طیف‌سنجی رامان برای ارزیابی درون‌تنی بافت پستان مرور شده‌اند. از این‌رو اسناد پژوهشی شامل مقالات، کتاب‌ها و رساله‌های مرتبط با ارزیابی رامان بافت پستان یا ارزیابی رامان درون‌تنی سایر بافت‌ها جستجو شده و مرتبط‌ترین آنها به‌صورت جامع به‌منظور یافتن جزییات فنی سیستم‌های رامان بکار رفته مطالعه شدند. در نهایت مجموعه‌ای از مناسب‌ترین ویژگی‌های طیف‌سنجی رامان برای ارزیابی درون‌تنی پستان معرفی شده‌اند.

کلمات کلیدی: بیماری‌های پستان، لیزر، فیبرهای نوری، طیف‌سنجی رامان.

سرطان پستان اولین سرطان شایع و علت شایع مرگ ناشی از سرطان، در میان زنان است.[۱] در اروپا، هر ساله بیش از ٤٥٠،٠٠٠ بیمار جدید تشخیص داده می‌شود. درمان به نوع، مرحله و درجه سرطان پستان بستگی دارد.[۲] تشخیص زود هنگام تومورها از طریق غربالگری با استفاده از ماموگرافی منجر به افزایش قابل توجه میزان بقا و همچنین امکان جراحی حفظ پستان و بهبود نتایج از نظر زیبایی شده است.[۳] با این‌حال، از آنجا که تشخیص در ماموگرافی تنها به تغییرات بافتی و نه ساختار شیمیایی آن بستگی دارد، ماموگرافی دارای میزان قابل‌توجهی از مثبت کاذب است و در ۹۰٪-۷۰ از نمونه‌برداری‌ها، ضایعه خوش‌خیم تشخیص داده می‌شود.[٦-٤] بنابراین، تشخیص نهایی با استفاده از بیوپسی و بررسی هیستوپاتولوژی صورت می‌گیرد. ظهور کلسیفیکاسیون در ماموگرافی ویژگیِ بخشی از سرطان‌های پستان است. در حال‌حاضر، افتراق نوع کلسیفیکاسیون در ماموگرافی براساس شکل آن صورت می‌گیرد و روش قابل اعتمادی برای تشخیص دقیق نوع کلسیفیکاسیون‌ها توسط ماموگرافی وجود ندارد. اما، با استفاده از طیف‌سنجی ارتعاشی (طیف‌سنجی مادون قرمز یا طیف‌سنجی رامان) می‌توان کلسیفیکاسیون‌ها و سایر ناهنجاری‌های بافت پستان را از روی ترکیب شیمیایی آنها تشخیص داد. برای اینکه هر روشی به‌صورت درون تنی واقعاً موثر باشد، باید به‌صورت عبوری از پوست قابل استفاده باشد، به‌طوری که تشخیص سریع و

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

ساده آسیب پستان را میسر سازد. این کار می‌تواند آسیب‌دیدگی بیمار، تأخیر زمانی و هزینه‌های بالای بیوپسی را به حداقل برساند.[۷]

در حال حاضر مطالعات متعددی در بررسی بافت پستان با طیف سنجی رامان انجام گرفته است. اکثر مطالعات صورت گرفته به‌صورت برون‌تنی بر روی نمونه‌های برداشت شده توسط بیوپسی سوزنی یا جراحی به‌صورت تازه یا فیکس شده در فرمالین و یا حتی بلوک‌های پارافینی (FFPE) و به‌منظور تعیین نوع ضایعه و به‌ویژه بدخیمی، تعیین نوع کلسیفیکاسیون و یا تعیین حاشیه برداشت تومور در حین لامپکتومی (Lumpectomy) بوده است.[۸و۹] همچنین در مقابل مطالعات محدودتری نیز به‌صورت درون‌تنی به‌طور عمده به‌صورت تهاجمی و به‌منظور تعیین حاشیه تومور در حین جراحی صورت گرفته است.[۵و۱۰] همچنین مطالعات اندکی به‌منظور بررسی غیرتهاجمی بافت پستان بر روی فانتوم پستان انجام گرفته است.[۷]

در راستای مطالعات برون‌تنی، کارهای اولیه توسط Haka و همکاران نشان داد که طیف سنجی رامان می‌تواند بین بدخیمی‌های پستان و بافت سالم پستان تفاوت قائل شود.[۱۱] Kneipp و همکاران از تجزیه و تحلیل طیفی چندمتغیره برای افتراق بین اپیتلیای مجرای طبیعی و تومورهای اپی‌تلیال پستان استفاده کردند.[۱۲] به‌تازگی، Kong و همکاران از میکروطیف سنجی رامان برای مقایسه طیف‌های به‌دست آمده از سرطان مجاری (Ductal carcinoma (DC، استرومای التهابی اطراف و نواحی بافتی حاوی سایر اجزای بافت سالم پستان (لوبول‌ها ، مجاری، استروما، چربی) استفاده کردند.[۱۳] نویسندگان نشان دادند که طیف رامان در DC دارای باندهای طیفی شدیدتر نسبت به سایر بافت‌ها در باندهای اختصاصی اسیدهای نوکلئیک (۷۸۸ cm -1، ۱۰۹۸ cm-1) است. همچنین طیف رامان استرومای التهابی اطراف تومور دارای باندهای با شدت کمتر در نواحی متناظر با کلاژن و شدت بیشتر در باندهای اختصاص یافته به اسیدهای نوکلئیک در مقایسه با طیف رامان استرومای طبیعی بود.[۵]

طیف‌سنجی رامان همچنین برای تشخیص حاشیه تومور در طی جراحی سرطان پستان، هم به‌صورت درون‌تنی و هم به‌صورت برون‌تنی پیشنهاد شده است. تایید حاشیه منفی برداشت را می‌توان با تجزیه و تحلیل سطح نمونه برداشته شده در خارج از بدن به‌دست آورد. برای جلوگیری از خطاهای نمونه‌برداری به‌دلیل اندازه‌گیری‌های یک نقطه‌ای، از طیف‌سنجی رامان پاداستوکس همدوس (Coherent anti-Stokes raman spectroscopy, CARS) برای تهیه تصاویر مولکولی از بافت پستان و شناسایی حاشیه تومور و افتراق انواع مختلف آن استفاده شده است.[۱۴] نویسندگان قادر به تصویربرداری از بافت طبیعی پستان انسان، تکثیر خوش‌خیم و همچنین کارسینومای درجا و مهاجم، به‌صورت برون‌تنی شدند. با تجزیه و تحلیل ویژگی‌های مورفولوژیکی (هندسه و توزیع هسته سلول‌های سرطانی) در تصاویر CARS (به‌طور معمول ۱۲۰ µm در ۱۲۰ µm)، ضایعات سرطانی از بافت طبیعی و ضایعه تکثیرشونده خوش‌خیم جدا شدند: ۸۰٪ از سرطان مجاری تهاجمی (IDC) با درجه متوسط و ۸۵٪ IDC درجه بالا به درستی از هم متمایز شدند.[۱۴] مطالعه دیگری مبتنی بر میکروسکوپ رامان با نمونه‌گیری انتخابی با استفاده از تصویربرداری اتوفلورسانس و طیف‌سنجی رامان، امکان تشخیص سرطان پستان به‌صورت برون‌تنی در مقیاس زمانی سازگار برای استفاده در حین جراحی برای حفظ پستان را نشان می‌دهد.[۱۳] در این روش، طیف رامان در ناحیه اثر انگشت (۶۰۰–۱۸۰۰ cm-1) در مکان‌های نشان داده شده توسط تصاویر اتوفلورسانس جمع‌آوری شد. تشخیص DC فقط با ۵۵۰–۲۵۰ طیف رامان برای نمونه‌های بافتی ۵ mm در ۵ mm (معادل ۱۵ دقیقه) حاصل شد.[۱۳] علاوه‌بر ارزیابی حاشیه بافت برداشته شده، امکان استفاده از طیف‌سنجی رامان برای ارزیابی حین عمل غدد لنفاوی زیر بغل در حین جراحی سرطان پستان نیز بررسی شده است.[۱۵] Horsnell و همکاران توانایی تمایز گره‌های لنفاوی متاستاتیک و نرمال را با استفاده از مدل‌های طبقه‌بندی چندمتغیره بررسی کردند و به حساسیت ۹۲٪–۸۵ و ویژگی ۱۰۰٪–۸۸ (در یک اعتبارسنجی متقابل یکی را کنار بگذار) دست یافتند.[۱۶]

همچنین یک پروب دستی رامان برای جمع‌آوری درون‌تنی طیف‌های رامان تک‌نقطه‌ای در حین جراحی ساخته شده است.[۱۰] نویسندگان ۳۰ طیف رامان از ۹ بیمار را اندازه‌گیری کردند: ۲۹ مورد از حاشیه متعاقباً در بررسی پاتولوژی منفی بود (۲۱ مورد از بافت طبیعی پستان تشکیل شده بودند درحالی‌که هشت مورد شامل تغییر فیبروکیستیک بود) و یک طیف از حاشیه متعاقباً در بررسی پاتولوژی مثبت بود (داکتال کارسینومای پیشرفته درجا). اگرچه فقط یک نمونه بدخیم در آن گنجانده شده بود، اما این مطالعه پتانسیل تشخیص درون‌تنی حاشیه تومور در حین جراحی را نشان داد.[۵]

Stone و همکاران با استفاده از TRS پتانسیل تشخیص داخل بدن

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

را بررسی کردند.[۷] هدف اصلی این مطالعه اندازه‌گیری ترکیب کلسیفیکاسیون پستان و تشخیص آن برای ضایعات حاوی آنها بود. میکروکلسیفیکاسیون‌ها را می‌توان به دو نوع رسوب تقسیم کرد: نوع یک که از دی‌هیدرات اگزالات کلسیم (Calcium oxalate dihydrate, COD) تشکیل شده و نوع دو که از فسفات‌های کلسیم و عمدتا هیدروکسی آپاتیت کلسیم (Calcium hydroxyapatite, HAP) تشکیل شده‌اند. نوع رسوب با بیماری ارتباط دارد.[۱۷] بلورهای اگزالات کلسیم به‌طور عمده در کیست‌های مجرایی خوش‌خیم و به‌ندرت در سرطان یافت می‌شوند، درحالی‌که رسوبات HAP در ضایعات پیش‌رونده که شامل کارسینوماها می‌شود، یافت می‌شود.

اگزالات کلسیم فقط در ضایعات خوش‌خیم و کلسیم هیدروکسی آپاتیت در ضایعات پرولیفراتیو وجود دارد که شامل ضایعات خوش‌خیم و بدخیم است. این مطالعات مقدماتی انجام شده بر روی فانتوم پستان، توانایی شناسایی هیدروکسی آپاتیت کلسیم و مونوهیدرات اگزالات کلسیم را از عمق تا cm ۳-۲ نشان می‌دهد. رویکرد استفاده از (Transmission raman spectroscopy, TRS) در داخل بدن برای پیوند ترکیب کلسیفیکاسیون پستان با پاتولوژی، کارایی غربالگری سرطان پستان را بهبود می‌بخشد و از نمونه‌برداری‌های غیرضروری جلوگیری می‌کند. یک مطالعه موازی بر روی ۲۳۵ کلسیفیکاسیون از ۱۱۰ بیمار، همبستگی معنادار منفی بین غلظت کربنات و پیشرفت درجه پاتولوژی بدخیم را نشان داد.[۱۸] نشان داده شده است که TRS پیش‌بینی غلظت کربنات در کلسیم هیدروکسی آپاتیت را با اندازه‌گیری قله فسفات (در 960 cm-1) به تنهایی ارایه می‌دهد.[۱۹]

با مروری بر مطالعات انجام شده می‌توان دریافت که پتانسیل تمایز ناهنجاری‌های بافتی پستان با طیف‌سنجی رامان وجود دارد و همچنین از آنجا که اساس تشخیص در این روش مبتنی بر ویژگی‌های درون‌زاد بافت است و لذا نیاز به آماده‌سازی نمونه ندارد و در عین حال از پرتوهای لیزر کم‌توان بهره می‌برد می‌تواند به‌صورت غیرمخرب به‌منظور بررسی‌های درون‌تنی بافت پستان مورد استفاده قرار گیرد.[۲۰و۲۱] لیکن همچنان مشکلات مربوط به تضعیف نور در بافت و در نتیجه تضعیف پراکندگی رامان ایجاد شده و نیز پس زمینه طیفی تولید شده در خود فیبرهای تحریک و جمع‌آوری مانعی در مسیر استفاده بالینی این روش به‌صورت درون تنی و غیرتهاجمی ایجاد کرده است.[۲۲] در این مطالعه برآنیم تا با مروری بر انواع و اجزای سیستم‌های طیف‌سنجی رامان، ویژگی‌های یک طیف‌سنجی رامان مورد نیاز برای بررسی درون‌تنی بافت پستان را تحلیل و معرفی کنیم.

ویژگی‌های طیف‌سنجی رامان جهت بررسی درون‌تنی بافت پستان: طیف‌سنجی رامان روشی مبتنی بر پراکندگی غیرالاستیک نور تک‌رنگ است. هنگامی‌که نور تک‌رنگ به داخل نمونه نفوذ می‌کند، پراکندگی‌هایی در طول موج برابر با نور تابشی (پراکندگی رایلی (Rayleigh scattering یا در طول موجی متفاوت از نور تابشی (پراکندگی رامان Raman scattering) ایجاد می‌کند. اختلاف طول موج نور تابشی و نور پراکنده شده در پراکندگی رامان به فرکانس نوسان پیوندهای مولکولی موجود در نمونه بستگی دارد. از این‌رو این تکنیک می‌تواند اطلاعاتی را در سطح مولکولی از نمونه تحت بررسی به‌صورت اثرانگشت منحصر به‌فردی از نمونه به‌دست دهد.

هر طیف رامان توزیع تعداد فوتون‌های پراکنده شده در محدوده‌ای از شیفت‌های رامان را نشان می‌دهد. شیفت رامان برابر با اختلاف عدد موج (معکوس طول موج) نور تابشی و نور پراکنده شده می‌باشد با اختلاف فرکانس نور تابشی و نور پراکنده شده متناسب است. در واقع می‌توان گفت، هنگامی‌که یک فوتون به مولکول برخورد می‌کند در نتیجه تعامل آن با سطوح انرژی نوسانی (فونون‌ها) پراکنده می‌شود. بنابراین هر پیک در طیف رامان متناظر با یک مد نوسانی مولکولی خاص در نمونه است و محل آن نماینده فرکانس آن مد نوسانی خاص می‌باشد که با شیفت رامان نشان داده می‌شود.

انواع روش‌های طیف‌سنجی رامان: امروزه تنوع وسیعی از روش‌های طیف‌سنجی رامان در کاربردهای مختلف شکل گرفته است که می‌توان آنها را در سه دسته کلی، طیف‌سنجی رامان خودبه‌خودی، طیف‌سنجی رامان ارتقا یافته و طیف‌سنجی رامان غیرخطی دسته‌بندی نمود. پاره‌ای از این روش‌ها مبتنی بر روش‌های میکروسکوپی است که عملا تنها بر روی نمونه‌های خارج شده از بدن قابل استفاده است.[۲۳] همچنین روش‌های رامان ارتقا یافته به آماده‌سازی سطح نیاز دارد که بررسی درون‌تنی بافت را غیرممکن می‌سازد. از سوی دیگر اکثر این روش‌ها مبتنی بر پراکندگی رامان رو به عقب می‌باشد و تمرکز آنها بر به‌دست آوردن اطلاعات بیشتر و دقیق‌تر از سطح نمونه

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

متمرکز است. این درحالی‌است که به‌منظور بررسی‌های درون‌تنی بافت پستان لازم است تا حجم نمونه‌برداری نوری مناسبی به‌منظور به‌دست آوردن اطلاعات لازم از طریق نمونه‌برداری‌های نوری محدود از طریق کتتر یا حتی بررسی کامل بافت بدون ورود کتتر، وجود داشته باشد. از این‌رو در عمل روش‌های رامان خودبه‌خودی در ترکیب با کتترهای فیبر نوری، طیف‌سنجی رامان با فاصله فضایی و یا رامان عبوری کاندیدهای مناسب در بررسی درون‌تنی بافت پستان هستند.

طیف‌سنجی رامان سنتی، که نور را به یک نقطه می‌تاباند و از همان ناحیه جمع‌آوری می‌کند، در بافت‌ها عمق نفوذی در حد چند ۱۰۰ میکرون دارد. بنابراین آنالیز به سطح یا نواحی نزدیک سطح نمونه محدود می‌شود. ظهور طیف سنجی رامان با فاصله فضایی (Spatially offset raman spectroscopy, SORS) اندازه‌گیری‌های طیفی از حجم‌هایی به عمق ۲۰-۱۰ mm در داخل نمونه را ممکن ساخته است.[۲۴و۲۵] با افزایش فاصله فضایی نقاط تابش و جمع‌آوری، اندازه‌گیری عمیق‌تر در بافت ممکن است.[۲۶و۲۷]

طیف‌سنجی رامان عبوری (TRS) شکل نهایی SORS است که در آن نقاط تحریک و جمع‌آوری در دو سوی نمونه قرار گرفته‌اند.[۲۸] این روش برای آنالیز حجمی مواد کدر یا مات ایده‌آل است و نشان داده شده است که در چندین میلیمتر بافت امکان‌پذیر است. علیرغم کدر بودن نمونه، نور لیزر می‌تواند به‌طریق پراکندگی از نمونه عبور کند و بسیاری از این فوتون‌ها در برگیرنده اطلاعات رامان هستند و از این‌رو طیف‌سنجی رامان عبوری امکان‌پذیر است. کاربرد این روش در تشخیص سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفته است.[۲۹و۳۰]

اجزای سیستم رامان: یک سیستم رامان به‌صورت کلی از یک منبع نور تکرنگ (لیزر)، جدا کننده طول موج و آشکارساز (طیف نگار) و ادوات انتقال‌دهنده و جمع‌کننده نور تشکیل شده است.[۳۱]

منبع نور: برای بررسی‌های ساختاری حجمی در طیف‌سنجی رامان مرسوم یا تشدیدی معمولا از لیزر در ناحیه طول موج مریی که در ابتدا لیزرهای گازی بوده‌اند، همچون لیزر یون آرگون (طول موج 488 و 514.5 nm) یون کریپتون (با طول موج 530.9 و 647.1 nm) و لیزر هلیوم- نئون (با طول موج 632.8 nm) استفاده می‌شد.[۳۲و۳۳] امروزه به‌دلیل هزینه پایین‌تر، ابعاد کوچک‌تر و قابلیت اطمینان بیشتر، لیزرهای دیودی باند باریک کنترل شده به‌صورت الکترونیکی با طول موج تثبت شده جایگزین لیزرهای گازی و Nd:YAG شده‌اند.[۳۳]

در کاربردهای بیولوژیک، به‌دلیل عمق نفوذ بیشتر نور در پنجره نوری بافت (ناحیه مادون قرمز) و نیز تداخل کمتر اتوفلورسانس بافت در ناحیه مادون قرمز نزدیک در مقایسه با تحریک مرئی، از تحریک در ناحیه مادون قرمز نزدیک (Near infrared, NIR) همچون طول موج‌های 785، 830 یا 1064 nm استفاده می‌شود.[۳۳] طول موج 785 nm شرایط مطلوبی را از نظر جذب کم، عمق نفوذ خوب، فلورسانس پایین و بازده کوانتومی معقول آشکارسازهای مبتنی بر ابزار تزویج بار (Charged coupled device, CCD) فراهم می‌کند و اندازه‌گیری شیفت‌های رامان تا 3500 cm-1 را ممکن می‌کند.[۲۲] با رفتن بیشتر به سمت NIR فلورسانس کاهش بیشتری می‌یابد، مثلا در طول موج 830 nm فلورسانس بافت حداقل به میزان یک چهارم کاهش می‌یابد، اما شدت پراکندگی رامان نیز کاهش می یابد زیرا شدت رامان متناسب با $1/\lambda 4$ است.[۳۴] همچنین آشکارسازهای CCD در طول موج 1064 nm به‌خاطر شکاف باند سیلیکون نمی‌توانند به‌کار روند.[۲۲]

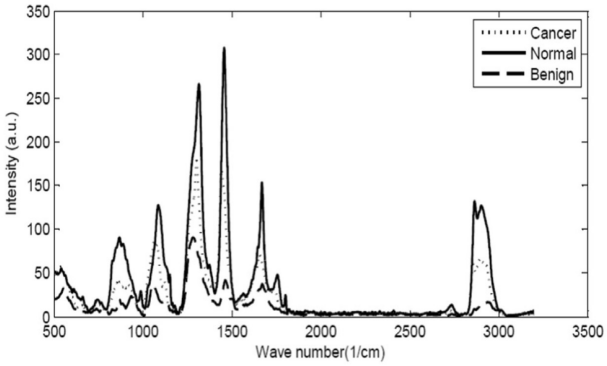
از نظر توان لیزر بر روی سطح نمونه، استاندارد (American National Standards Institute, ANSI) Z136.3-2011 با عنوان "استفاده ایمن از لیزرها در مراقبت‌های بهداشتی" باید رعایت شود.[۲۲] به‌طور کلی، چگالی توان لیزر بر روی بافت باید در محدوده‌ای باشد که ایجاد سمیت سلولی نکند. به‌عنوان یک راهنمای کلی نباید انرژی بیش از $1.5\ W/cm^2$ بر روی سطح پوست براساس استاندارد ANSI اعمال شود. اما تاکنون هنوز راهنما یا استانداری برای استفاده لیزرهای NIR (برای مثال 785 nm) بر سطح اپیتلیال ارگان‌های داخلی وجود ندارد.[۳۳] Bergholt و همکارانش با استفاده از مدلسازی دمایی المان محدود نشان دادند که بدون در نظر گرفتن اثرات خنک‌کنندگی همچون خون‌رسانی و تبخیر در بافت، بیشترین افزایش دمای بافت پس از یک دقیقه تابش لیزر 785 nm با توان 30 mW بر نقطه‌ای به قطر حدود 500 µm در حین اندازه‌گیری رامان، فقط حدود 0.15 °C است و این مقدار افزایش دما بسیار کمتر از حدی است که ایجاد سمیت در بافت و سلول کند.[۲۱] از این‌رو باتوجه به موارد مطرح شده لیزری با طول موج λ_0=۷۸۵ nm و چگالی توان w=۱/۵ w/cm^2 در کاربرد بررسی بافت پستان با طیف سنجی رامان مناسب به‌نظر می‌رسد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

طیف نگار: طیف نگار یا اسپکتروگراف به‌منظور جداسازی اجزای طول موجی متفاوت موجود در نور پراکنده شده از سطح نمونه استفاده می‌شود. یک طیف نگار، به‌طورکلی از یک شکاف ورودی نور، یک بخش جداکننده اجزای طول موج و یک آشکارساز تشکیل شده است. ویژگی‌های بخش‌های فوق در مجموع تعیین‌کننده‌ی محدوده، رزولوشن و حساسیت طیفی خواهد بود.

امروزه از شبکه‌های پراش (Grating) به‌عنوان المان جداکننده اجزای طول موج در کاربرد طیف‌سنجی رامان استفاده می‌شود که می‌تواند از نوع عبوری (Volume Phase Holographic, VPH) و یا انعکاسیِ طلا پوش باشد.[۳۳] بسته به انتخاب شبکه پراش، محدوده طول موجی می‌تواند در محدوده اثر انگشت (Finger print, FP) یعنی 0-2000 cm-1، یا ناحیه عدد موج بالا (High wavenumber, HW) یعنی (2800-4000 cm-1) و یا هر دو باشد.[۳۳]

به‌دلیل ارزش اطلاعات بیوملکول‌های خاص همچون پروتیین‌ها، DNA و چربی موجود در در محدوده FP (800-1800 cm-1) بیشتر مطالعات رامان در این ناحیه متمرکز شده است. اما در استفاده از منابع لیزر مادون قرمز 785nm برای تحریک، اتوفلورسانس پس زمینه بافت و سیگنال رامان برآمده از سیلیکای آمورف فیبر نوری نیز در همین ناحیه قرار می‌گیرد. اتوفلورسانس بافت می‌تواند به‌طور جدی با سیگنال‌های رامان ضعیف در این ناحیه با اشباع کردن CCD تداخل کند. این مورد اولین نگرانی در بافت‌هایی همچون ریه، کبد و معده است.[۳۳] استفاده از طیف‌سنجی رامان عدد موج بالا (HW) به‌دلیل سیگنال‌های رامان به‌نسبت قوی‌تر تولید شده توسط نوسانات کششی نیمه CH3 و CH2 در پروتیین‌ها و چربی‌ها و نیز نوسانات کششی OH در آب در این ناحیه و نیز کاهش قابل‌ملاحظه تداخل سیگنال سیلیکای آمورف فیبر (Amorphous silica fiber) و اتوفلورسانس بافت که ارزیابی بهتر بافت اصلی را ممکن می‌سازد، مورد توجه قرار گرفته است.[۳۳] Duraipandian و همکارانش نشان دادند که استفاده همزمان از ناحیه‌ی FP و HW اطلاعات تشخیصی مکملی را برای افزایش صحت و پایداری تشخصیص ضایعات پیش سرطانی در بافت دهانه رحم فراهم می‌کند.[۳۵و۳۶] در مورد بافت پستان نیز باندهای رامان مهم در هر دو ناحیه FP و ناحیه عدد موج بالا گزارش شده‌اند.[۳۷] یک نمونه از طیف‌های رامان بافت پستان در سه گروه نرمال، خوش‌خیم و سرطانی در شکل ۱ نشان داده شده است. از



شکل ۱: میانگین طیف رامان پستان در سه گروه بافت نرمال، سرطانی و خوش‌خیم.[۸]

این‌رو به‌منظور به‌دست آوردن حداکثر اطلاعات، استفاده از طیف‌سنجی که حداقل محدوده عدد موجی 400-3200 cm-1 را پوشش دهد مورد نیاز است. در کارهایی که هر دو ناحیه FP و HW پوشش داده شده است، سیگنال رامان با سوییچ کردن پی‌درپی لیزرهای متفاوت تحریک یا چرخش گریتینگ برای هر ناحیه طیفی بوده است که برای اندازه‌گیری‌های درون‌تنی سریع مناسب نیست. استفاده از شبکه پراش هیبریدی می‌تواند این مشکل را برطرف نماید.[۳۳] این محدوده عدد موجی بر طبق رابطه ۱ برابر با محدوده طول موجی 810-1048 nm با لیزر تحریک 785nm خواهد بود.

از سوی دیگر با توجه به باندهای مهم بافت پستان که بعضا فاصله تا حدود 1cm-1 از یکدیگر دارند، برای دستیابی به تمام باندهای رامان لازم است که درجه تفکیک طیفی حداقل برابر این مقدار باشد، اما درجه تفکیک طیف نگار تحت تاثیرعوامل مختلفی همچون شبکه پراش، عرض شکاف ورودی و آشکارساز (مثلا اندازه‌ی پیکسل CCD) است و در عمل برای افزایش درجه تفکیک باید از شبکه پراشی با چگالی خط بالا استفاده شود.[۳۳] این امر موجب می‌شود که به آشکارسازی با طول آرایه بزرگتر نیاز باشد و در صورتی‌که آرایه آشکارساز ثابت باشد، با افزایش درجه تفکیک طیفی، محدوده طیفی کاهش می‌یابد. همچنین با افزایش درجه تفکیک طیفی، تعداد فوتون‌های دریافت شده در هر پیکسل آشکارساز کمتر شده و لذا شدت طیف رامان حاصله یا همان حساسیت کاهش

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

می‌یابد که برای جبران این امر ممکن است به زمان‌های اخذ طولانی‌تر نیاز باشد.

یکی از مهمترین ویژگی‌های طیف‌نگار، عدد f؛ یا f-stop یا نسبت f است که برای هر المان نوری برابر با نسبت فاصله کانونی بر قطر آن (N=f/D) است که به‌صورت f/N گزارش می‌شود. این عدد نمایش‌دهنده‌ی قدرت المان در جمع‌آوری نور است. هر چه عدد f کوچکتر باشد قدرت جمع‌کنندگی نور بیشتر است اما اثر عدم انطباق کانونی نیز بیشتر می‌شود.[۳۸] برای کاربرد طیف سنجی رامان بیولوژیک به طیف‌نگاری با عدد f (f/#) کم همچون f/1.8 یا f/2.2 به‌دلیل قدرت جمع‌آوری نور بالا نیاز است.[۳۳]

رایج‌ترین آشکارساز در کاربردهای طیف سنجی امروزه CCD ها هستند. سی‌سی دی‌ها بیشتر براساس حساسیتشان در تشخیص (همچون بازده کوانتومی در یک دمای خاص و نرخ جریان تاریک) مشخص می‌شوند. برای کاهش جریان تاریک از خنک‌سازی ترموالکتریک یا کرایوژنیک برای سی‌سی‌دی استفاده می‌شود.

با توجه به آنچه گفته شد در کاربرد بررسی بافت پستان به طیف‌نگاری با محدود طیفی 400-3200 cm-1 و درجه تفکیک طیفی جدود 1 cm-1 با عدد f کم همچون f/1.8 یا f/2.2 و مجهز به CCD خنک شده، نیاز است.

بخش‌های انتقال‌دهنده و جمع‌کننده نور: برای بررسی درون‌تنی بافت پستان لازم است تا رابط نوری انعطاف‌پذیری بین بافت و طیف‌نگار به جهت سهولت کاربرد در تطابق با آناتومی بدن وجود داشته باشد. کابل‌های فیبر نوری یک راه حل انعطاف‌پذیر برای یک رابط نوری مناسب، بین دستگاه طیف‌سنجی و نمونه مورد بررسی در محل، ارایه می‌دهند. پروب‌های فیبر نوری می‌توانند به داخل حفره‌ها و ساختارهای لوله‌ای پیشرفته، در تماس با سطوح اپی‌تلیال قرار بگیرند و در بافت‌هایی وارد شوند که می‌توانند توسط دستگاه‌های سخت مانند سوزن، سوراخ شوند. پروب‌های فیبر نوری برای طیف‌سنجی نوری می‌توانند به‌صورت کاتترهای انعطاف‌پذیر با قطر خارجی کمتر از ۰/۵ mm تولید شوند.

در کاربردهای بیولوژیک پراکندگی رامان تقریبا ۱۰-۱۰ از نور فرودی است و سیگنال رامان معمولا دامنه‌ای شش مرتبه ضعیف‌تر از سیگنال‌های فلورسنس دارد. مقدار نوری که می‌توان به بافت منتقل نمود به‌دلیل اثرات گرمایی محدود است. لذا طراحی پروب‌های فیبرنوری رامان به هدف جمع‌آوری بیشینه نور انجام می‌شود. به‌علاوه، سیگنال پس‌زمینه برآمده از منبع لیزر، فیبرها و همه ادوات اپتیکی می‌تواند محدوده دینامیک آشکارساز را پر کرده و سیگنال رامان را کاملا مخدوش کند. این سیگنال‌ها باید با فیلترهایی کاهش یابد تا اندازه‌گیری درون‌تنی با حساسیت مناسب انجام شود. محدوده‌ی دینامیک آشکارساز نیز می‌تواند با خوانش‌های چندگانه که نویز را به نسبت جذر تعداد خوانش‌ها کاهش می‌دهد، توسعه داده شود. در حال حاضر، طیف‌های رامان از بافت به‌صورت درون‌تنی در کمتر از پنج ثانیه دریافت می‌شود.[۳۹]

یک فیبر نوری، از یک هسته، یک پوسته آلاییده و یک روکش محافظ تشکیل شده است. نور براساس اصل بازتابش کلی درونی منتقل می‌شود. نیم زاویه مخروط نوری که یک فیبر می‌تواند بپذیرد با روزنه عددی (Numerical aperture, NA) مشخص می‌شود که با اختلاف در ضریب شکست‌های (n) هسته و مواد پوسته مشخص می‌شود.[۳۹]

برای انتقال در محدوده طول موج مرئی، هسته فیبر نوری از شیشه یا پلاستیک ساخته می شود (مثلِ اکریلیک یا پلی استایرن). پوسته ی آلاییده معمولاً از ماده‌ای مشابه اما با ضریب شکست پایین‌تر ساخته می‌شود. از آنجایی که نور در پوسته منتشر نمی‌شود، اتلاف‌های ناشی از جذب اهمیت کمتری دارند. به محض اینکه سیگنال‌های پس‌زمینه ایجاد شده توسط خود فیبر در کاربردی مهم می‌شود و یا دامنه طول موج به ماورا بنفش (Ultra violet, UV) و مادون قرمز (Infrared, IR) گسترش می‌یابد، از سیلیس گداخته با کیفیت برای هسته استفاده می‌شود. فیبرهای تمام سیلیس دارای پوسته‌ی سیلیکای آلاییده هستند، درحالی‌که فیبرهای پوشش‌دار پلاستیکی دارای پوسته سیلیکونی هستند. تولید بهینه پیش‌ساخته فیبرها انتقال از nm ۲۵۰۰-۲۰۰ (فیبر کم هیدروکسیل low hydroxyl fiber) را ممکن می‌سازد و فیبرهای یاقوت کبود انتقال در IR را به بالای nm ۳۰۰۰ نانومتر گسترش می‌دهند.[۴۰-۴۴] این امکان استفاده از پروب‌های فیبر نوری برای طیف‌سنجی‌های رامان تشدیدی فرابنفش (Ultra violet resonance raman,UVRR) و رامان مادون قرمز را ممکن می‌کند.[۳۹و۴۵]

به‌دلیل خم‌شدن و نقص در فیبر که باعث پراکندگی می‌شود، ممکن است نور از هسته خارج شده و به روکش برخورد کند. بیشتر

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

روکش‌های پلاستیکی مانند نایلون و Tefzel در هنگام تابش اشعه ماورا بنفش (UV)، اتوفلورسانس قابل‌توجهی تولید می‌کنند. فیبرهای پوشش داده شده با پلی‌آمید و یا فلز، مانند طلا و آلومینیوم، حداقل فلورانس را از خود نشان می‌دهد.[۴۶] پی برده شده است که سیلیکا سیگنال‌های ذاتی رامان را در تحریک‌های مادون قرمز (NIR) تولید می‌کند که طیف‌سنجی درون‌تنی رامان را مختل می‌کند.[۴۷]

برای کاربردهای طیف‌سنجی، معمولا فیبرهای چندمد با قطر هسته ۵۰ تا ۶۰۰ µm استفاده می‌شود. تکه‌های کوتاه (۱ تا ۲ متری) فیبر با قطرهای بیشتر را می‌توان به‌صورت سفارشی تولید کرد. شعاع خم شدن فیبرکوارتز که در آن هیچ نقص طولانی‌مدت ایجاد نمی‌شود تقریباً ۱۰۰ برابر قطر فیبر است و شعاع خم شدن لحظه‌ای تقریباً ۵۰٪ شعاع خم‌شدن طولانی‌مدت است.[۳۹]

در طراحی پروب رامان برای کاربرد درون‌تنی ملاحظات زیر باید مد نظر قرار گیرد.

الف- پروب باید کارایی خوبی در جمع‌کردن نور پراکندگی رامان با نسبت سیگنال به نویز بالا در زمان خیلی کوتاه (<1-0.5s) بدون آسیب نوری به بافت داشته باشد.[۲۲و۳۳و۴۸] لازمه این امر طراحی مناسب فیبر و نیز استفاده از فیلترهای مناسب است که مکانیسمی جهت حذف نویز لیزر، پراکندگی رایلی و تداخل فلورسانس و رامان برآمده از خود فیبر فراهم نماید.[۳۳]

منبع اصلی نویز در اندازه‌گیری توسط پروب رامان فیبری، پس زمینه طیفی تولید شده در خود فیبرهای تحریک و جمع‌آوری است.[۲۲و۵۲-۴۹] این مشکل که به نوع فیبر بستگی دارد، به‌طورعمده در ناحیه FP رخ می‌دهد. از آنجا که طول فیبر بسیار بیشتر از طول تعامل نور و نمونه است، سیگنال رامان پس‌زمینه تولید شده در فیبر می‌تواند به سادگی سیگنال نمونه را بپوشاند. در محیط‌های با پراکندگی بالا و یا دارای انعکاس به‌دلیل برگشت نور به داخل فیبر و تولید سیگنال رامان بیشتر، این مشکل تشدید می‌شود.[۲۲]

مطالعات نشان داده است که طیف‌های پس‌زمینه تولید شده در فیبرهای سیلیکا شبیه هستند اما تغییرات شدت طیف بسته به ابعاد فیبر، روزنه عددی و جنس فیبر (مثل نوع ناخالصی‌ها) متفاوت است. بر این اساس فیبرهای دارای هسته و پوسته‌ی سیلیکا با هیدروکسیل کم و روزنه عددی بین ۰/۲ تا ۰/۲۵ پس‌زمینه کمی تولید می‌کنند. فیبرهای با پوشش پلیمری، پس‌زمینه زیاد ایجاد می‌کنند و سایر مواد همچون یاقوت و یا شیشه‌های با ناخالصی‌های خاک کمیاب، پس‌زمینه رامان را بهبود می‌دهند که پارامتر مهمی برای طراحی سنسورهای رامان برای کاربردهای اندوسکوپیک است.[۲۲و۵۵-۵۳]

به‌طور خلاصه، صرف‌نظر از نوع فیبر، برای امکان اندازه‌گیری کل محدوده طول موجی، بکارگیری فیلترهای نوری در انتها یا نزدیک به انتهای دورین پروب، پیشنهاد می‌شود. در این شرایط یک فیلتر میانگذر (Band pass, BP) یا کوتاه‌گذر (Short pass, SP) در مقابل نمونه برای اطمینان از اینکه سیگنال رامان پس‌زمینه فیبر تحریک به داخل فیبرهای جمع‌آوری منعکس نمی‌شود، قرار می‌گیرد. فیلتر دیگری به‌عنوان فیلتر ناچ یا بلندگذر (Long pass, LP) عبور نور پراکندگی رایلی را مسدود می‌کند تا از تولید پس‌زمینه رامان در فیبرهای جمع‌آوری جلوگیری کند.[۲۲] معمولا بدین منظور از فیلترهای فیلم نازک و یا فیلترهای هولوگرافیک استفاده می‌شود. قرارگیری دقیق و ثبات مناسب آنها نیز حایز اهمیت است. همچنین قیمت بالای فیلترهای باکیفیت می‌تواند استفاده گسترده از پروب‌های فیبر نوری را محدود کند. از این‌رو راهکارهای جایگزینِ فیلترینگ همچنان از نظر علمی و فنی جالب توجه هستند. Cooney و همکارانش از یک قطعه فیبر شیشه‌ای با ناخالصی هولمیوم (Holmium, Ho) به‌طول ۲ cm، به‌عنوان فیلتر بلندگذر، با تکیه بر باند جذبی ناخالصی که طول موج ۵۳۲ nm را شامل می‌شد، استفاده کردند.[۵۵] به‌خاطر انتقال ضعیف فیبرهای با ناخالصی، در مقایسه با فیبرهای سیلیکای استاندارد، سیگنال رامان جمع‌شده تضعیف می‌شود. جایگزینی ناچ فیلتر استاندارد با یک شبکه پراش براگ فیبری (Fiber bragg grating FBG)، در هسته فیبر، نیز پیشنهاد شده است.[۵۶و۵۷] شبکه‌های پراش براگ می‌توانند بگونه‌ای طراحی شوند که ضریب حذف بالایی در یک محدوده طول موجیِ کمتر از ۰/۵ nm داشته باشند. اما این شبکه‌ها تنها در فیبرهای تک مد با قطر هسته‌ی بین ۱۰ µm-۴ بسیار موثر هستند که جمع‌آوری موثر نور پراکندگی رامان را با مشکل مواجه می‌کند. با این وجود، شبکه‌های پراش براگ حجمی نوشته شده در شیشه‌های انکساری نور-دمایی اندازه‌گیری فرکانس‌های بسیار پایین تا زیر ۱۰ cm-1 را با یک سامانه تکفام ساز تک‌مرحله‌ای ممکن می‌سازد.[۵۸]

ب- هندسه مناسب برای وارد شدن به ضایعه داشته باشد. مثلا برای ورود به ضایعه از طریق سوزن بیوپسی، قطر کمتر از ۲ mm

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

مورد نیاز است.[۲۲]

برای دستیابی به کوچکترین قطرهای پروب، از راه حل تک فیبر در ترکیب با یک پرتوشکن دو رنگ وادوات نوری جفت شده هم‌راستا، استفاده می‌شود. راه‌حلهای تک‌فیبر به‌دلیل مشکلِ کاهش نور تحریک و روشنایی پراکنده به عقب در محل اتصال فیبر و اتوفلورسانس ایجاد شده در کابل فیبر نوری توسط نور تحریک محدود می‌شوند. با این وجود، پروب‌های مبتنی بر تک‌فیبر به کمترین اجزای سازنده پروب نیاز دارند و می‌توانند برای ایجاد کوچکترین نقاط روشنایی در عین داشتن کارایی عالی در جمع‌آوری نور مورد استفاده قرار گیرند. استفاده از فیلترهای نوری، کاربرد پروب‌های تک‌فیبر دوطرفه (یک‌فیبر برای تحریک و جمع‌آوری) را به‌شدت محدود می‌کند. پروب‌های تک‌فیبر که مزایایی در جمع‌آوری دارند، تنها به ناحیه عدد موجی بالا که طیف توسط پس‌زمینه رامان فیبر آلوده نمی‌شود دسترسی دارد.[۲۲]

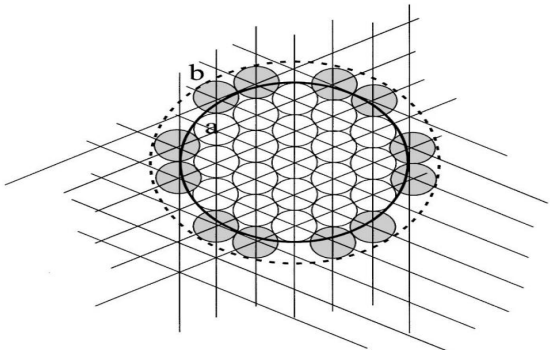
لذا به‌طور معمول از فیبرهای دوشاخه که در آن یک‌فیبر تحریک در مرکز و حلقه‌ای از فیبرهای جمع‌کننده در اطراف آن قرار می‌گیرد، استفاده می‌شود. دسته‌ی دایروی فیبرها در انتهای دورین پروب، به‌صورت خطی در انتهای مبدایی به‌منظور جفت‌شدن با طیف نگار بازآرایی می‌شود.[۲۲و۳۴] برای جمع‌آوری مناسب نور، لازم است فیبرها پوسته‌ی نازکی داشته باشند تا بتوانند در ساختار بهینه‌ای در اطراف فیبر تحریک قرار گیرند.[۲۲] Zhang و همکارانش دریافتند که استفاده از پروب دو شاخه ی چند فیبری با فیلترهایی در جلوی فیبرهای تحریک و جمع‌آوری می‌توانند تداخل فلورسانس و سیگنال‌های رامان فیبر را کاهش دهند.[۵۹]

برای تولید کابل‌های فیبر نوری انعطاف‌پذیر با یک ناحیه فعال نوری بزرگ، فیبرهای با قطر ۲۰۰ µm–۱۰۰ در دسته‌هایی بسته‌بندی می‌شوند. تعداد فیبرهایی (nfiber) که در مقطع گرد قابل دسته‌بندی هستند در شکل ۲ نشان داده شده است.

با این‌حال، این براساس آرایش بهینه فیبر است که معمولاً در شرایط واقعی تولید به‌دست نمی‌آید. برای یک سطح مقطع مشخص، فضای مرده (ناحیه غیرفعال) در بین فیبرها با کاهش قطر فیبرها افزایش می‌یابد و به حد بالای ۲۵٪ وقتی بیش از سه حلقه فیبر استفاده می‌شود، می‌رسد (با ثابت نگه‌داشتن قطر دسته). منطقه غیرفعال همچنین شامل سطح مقطع پوسته و روکش می‌شود که به‌طور معمول بیش از ۳۰٪ از سطح مقطع فیبر منفرد را دربرمی‌گیرد. در صورت برداشتن روکش، ناحیه غیرفعال کاهش یافته و پوسته تقریباً ۱۷٪ از سطح مقطع فیبر را تشکیل می‌دهد. مساحت کل فعال تقریباً ۶۰ تا ۶۵٪ در یک دسته فیبر بهینه‌ی تنگ چیده شده بدون روکش است.[۳۹]

ج- عمق بررسی و حجم نمونه‌گیری نوری مناسب داشته باشد.[۳۳]

در پروب‌های تخت که از عدسی یا فیبر اریب خورده استفاده نمی‌کند، حجم نمونه‌گیری به روزنه عددی فیبرها و چیدمان فیبرها بستگی دارد.[۲۲] در مقابل فیبرهای کانونی از عدسی یا فیبرهای اریب خورده در سر دورین پروب استفاده می‌کند و می‌تواند امکان انتخاب عمق بررسی را با توجه به توجه به مشخصات کانون فیبر فراهم نماید.[۲۲] همچنین پروب کانونی امکان بررسی اختصاصی بافت اپی‌تلیال و تشخیص مراحل اولیه سرطان‌زایی در این بافت‌ها را به شکل بهتری فراهم می‌سازد. اتوفلورسانس و تداخل از لایه‌های زیرین را کاهش می‌دهد و تکرارپذیری اندازه‌گیری‌ها را چون سیگنال رامان دقیقا از نقطه‌ی تحت تماس حاصل می‌شود، بهبود می‌بخشد.[۳۳] اما همچنان حجم نمونه‌گیری به ضرایب جذب و پراکندگی بافت نیز بستگی دارد. Reble و همکارانش با شبیه‌سازی مونت کارلو نشان دادند که حجم نمونه‌برداری بیشتر تحت تاثیر ضریب پراکندگی بافت است و برای مثال عمق نمونه‌گیری در سرطان پوست غیر ملانوما از پوست نرمال بیشتر است.[۶۰]



شکل ۲: بسته‌بندی شش ضلعی الیاف به کمترین سطح مقطع ممکن.[۳۹]

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

فیبرهای اریب خورده به‌صورت تئوری و عملی برای طراحی پروب ارزیابی شده‌اند.[۶۱-۶۳] در مقایسه فیبر تخت با فیبر اریب خورده، فیبر اریب خورده امکان نمونه‌برداری از نواحی کوچکتر در نزدیک فیبر را فراهم می‌کند.[۶۱] Jaillon و همکارانش با استفاده از شبیه‌سازی مونت کارلو رزلوشن عمقی فیبر اریب خورده با لنز کروی و نیم کروی را بررسی کرده‌اند و دریافتند که نسبت سیگنال تولید شده در استروما به سیگنال تولیدشده در بافت اپی‌تلیال به زاویه اریب خوردگی، فاصله بین فیبر تحریک و فیبر جمع‌آوری و نیز فاصله فیبر تا لنز بستگی دارد.[۲۲و۶۴]

در برخی از مطالعات ترکیبی از حالت‌های کانونی استفاده شده است. برای مثال Wang و همکارانش از ترکیب فیبر اریب خورده و لنز کروی استفاده نمودند.[۶۵] آنها اثر زاویه اریب‌خوردگی فیبر و نیز فاصله عدسی کروی تا فیبر را بر فوتون‌های رامان جمع‌آوری شده و نیز نسبت رامان جمع‌آوری شده از بافت اپی‌تلیال به استروما را با شبیه‌سازی مونت‌کارلو بررسی نمودند. این مطالعه نشان داد که هرچه فاصله لنز تا فیبر کمتر باشد نسبت سیگنال جمع‌شده از اپیتلیوم به استروما افزایش می‌یابد و با افزایش زاویه اریب خوردگی عمق بررسی کاهش می‌یابد.

د- فیبر نوری باید منعطف، زیست سازگار و مقاوم در برابر استرلیزاسیون یا یک‌بار مصرف باشد لذا از استفاده از غلاف‌های سخت باید اجتناب شود.[۲۲و۳۳و۳۹و۶۶] یک پروب رامان دارای شبکه‌های پراش براگ فیبری که برای یک‌بار استفاده مناسب است، توسط Dochow و همکارانش گزارش شده است.[۵۷و۶۷]

ه- تماس یا عدم تماس فیبر با بافت نکته‌ای است که باید مورد توجه قرار گیرد، اگرچه در تماس سطح پروب با بافت اندازه‌گیری و تکرار آن ساده‌تر است اما آلوده شدن نوک فیبر هنگامیکه لازم است با یک فیبر چندین طیف اخذ شود، مشکل‌ساز است.[۶۸] در حالت عدم تماس فاصله بهینه بین نوک پروب و نمونه از نظر قدرت جمع‌آوری نیز حایز اهمیت است.[۶۱و۶۲] قرار دادن نوک پروب در یک چارچوب حفاظت‌کننده می‌تواند امکان تنظیم فاصله تا هدف را فراهم کند و همچنین این چارچوب می‌تواند یک‌بار مصرف بوده و از آلودگی نوک فیبر و آلودگی متقابل جلوگیری کند.[۶۹-۷۱]

و- حساسیت برخی فیبرهای نوری به نورهای پراکنده و در نتیجه نیاز به خاموش کردن چراغ‌های اتاق مانعی در برابر کاربردهای بالینی است.[۲۲و۷۲]

ز- عدم همسانی پروب‌ها نکته دیگری است که حایز اهمیت است. در واقع حتی پروب‌های با طراحی یکسان نیز سیگنال‌های مخصوص به خود را نشان می‌دهند. استفاده کردن از فیلترینگ شدیدتر، از آنجا که هر نوع فیلترینگ بخشی از سیگنال مطلوب را نیز حذف می‌کند، می‌تواند مشکل‌ساز باشد.[۲۲] تنها Almond و همکارانش تطابق طیفی بین دو پروب مشابه را گزارش کرده‌اند.[۷۳] راه‌حل این مشکل می‌تواند کالیبره‌کردن تک‌تک پروب‌ها بر مبنای طیف‌های استاندارد همچون سطح آلومینیوم با انعکاس بالا یا پلیمرها یا استفاده از یک استاندارد داخلی مجتمع با فیبر باشد.[۷۴]

ح- برخی از کاربردهای درون‌تنی، به پروب فیبر نوری با دیدجانبی نیاز دارد. این دید جانبی به طرق مختلفی می تواند ایجاد گردد.[۲۲]

برش اریب و سپس صیقل دادن فیبرهای تکی، خروجی فیبر را نسبت به محور فیبر منحرف کرده و امکان دید جانبی را فراهم می‌کند. در زاویه بحرانی برای بازتابش داخلی، نور در استوانه‌ای در جانب فیبر خارج شده و نقطه کانونی بیضوی نزدیک به سطح فیبر را شکل می‌دهد.[۲۲] این طرح توسط de Lima و همکارانش پیاده‌سازی شده است.[۷۵] قرادادن یک آینه با انعکاس ۹۰ درجه در نوک فیبر نیز امکان دید جانبی را فراهم می‌کند.[۲۲و۷۶-۷۹] چرخاندن نوک دورین فیبر با یک وسیله مکانیکی در دایره‌ای به قطر حدود mm ۳۸، قابلیت پذیرش نور در نوک فیبر را بهبود می‌بخشد. پیچش با قطر کمتر منجر به کاهش قابل‌ملاحظه سیگنال در اثر فرار سیگنال از فیبر می‌شود.[۸۰و۸۱] این امر نه تنها می‌تواند باعث کاهش کلی سیگنال شود بلکه حتی می‌تواند با توجه به اینکه فرار نور در اثر پیچش به طول موج بستگی دارد، منجر به اعوجاج طیف رامان نیز بشود.[۲۲و۸۲]

باتوجه به آنچه از مرور مقالات به‌دست آمده است پروب فیبر نوری مناسب برای بررسی درون تنی بافت پستان بهتر است یک پروب دو شاخه با یک فیبر تحریک مرکزی و فیبرهای جمع‌آوری در اطراف باشد. برای هر تک‌فیبر در این مجموعه، فیبر سیلیکای کم OH با روزنه عددی بین ۰/۲ تا ۰/۲۵ پیشنهاد می‌شود. این فیبرهای کم هیدروکسیل نسبت به همتای با هیدروکسیل بالا در ناحیه مورد علاقه ما (nm ۱۱۰۰-۸۱۰) رفتار یکنواخت‌تری داشته و از این‌رو کمتر طیف رامان حاصله را تحت تاثیر قرار می‌دهند. همچنین با توجه به

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

جدول ۱: مشخصات کلی سیستم رامان برای بررسی درون‌تنی بافت پستان

نوع رامان	لیزر	طیف‌نگار	آشکار ساز	پروب
پراکندگی رامان خودبه‌خودی	نوع: لیزر دیودی	#/f کم در حدود f/1.8 یا f/2.2	CCD خنک‌شده با نور پس	پروب فیبر نوری تخت دو شاخه با فیبرها سیلیکای کم OH با ۰/۲<NA<۰/۲۵
SORS یا TRS برای بهبود عمق نفوذ	طول موج: nm ۷۸۵ یا ۸۳۰ توان: W/cm^2 ۱/۵	محدوده طیفی: ۳۲۰۰-۴۰۰ درجه تفکیک طیفی: cm^{-1} ۱	زمینه کم (10^{-11})	

مرور مطالعات به‌نظر می‌رسد در کاربرد درون‌تنی بررسی بافت پستان با طیف‌سنجی رامان که هدف دستیابی به اطلاعات عمقی‌تر است، استفاده از پروب‌های کانونی که جمع‌آوری پراکندگی را به نواحی سطحی متمرکز می‌کند چندان مناسب نیست و به‌منظور افزایش عمق نمونه‌برداری استفاده از نوک تخت برای پروبها بهتر از نوع کانونی است. با توجه به مجموع مطالعات انجام شده و نتیجه‌گیری‌های حاصله در مورد اجزا و مشخصات یک سیستم طیف‌سنج رامان مناسب جهت بررسی درون‌تنی بافت پستان، از نظر نوع طیف‌سنجی، انواع طیف‌سنجی رامان بدون نیاز به آماده‌سازی سطح همچون طیف‌سنجی رامان خودبه‌خودی و به‌ویژه انواع عبوری رامان همچون طیف‌سنجی رامان با فاصله فضایی (SORS) و طیف‌سنجی رامان عبوری (TRS) برای بررسی بهتر ضایعات در عمق پیشنهاد می‌شود. همچنین از نظر نوع لیزر یک لیزر دیود با طول موج nm ۷۸۵ به‌دلیل جذب کم، عمق نفوذ خوب، فلورسانس پایین و بازده کوانتومی معقول آشکارسازها در این طول موج و توان W/cm^2 ۱/۵ که در محدوده توان ایمن از نظر آسیب بافتی قرار دارد توصیه می‌شود. از منظر مشخصات طیف‌نگار، طیف‌نگاری با عدد f (#/f) کم همچون f/1.8 یا f/2.2 به‌دلیل قدرت جمع‌آوری نور بالا و محدوده عدد موجی cm-1 ۳۲۰۰-۴۰۰ به‌منظور به‌دست آوردن حداکثر اطلاعات در هر دو ناحیه FP و HW و با درجه تفکیک 1cm-1 با توجه به فاصله باندهای مهم بافت پستان، با استفاده از شبکه پراش هیبریدی به‌منظور کاهش زمان طیف‌سنجی پیشنهاد می‌شود. همچنین استفاده از آشکارسازهای CCD خنک شده با نور پس زمینه کم به‌دلیل حساسیت بهتر و نویز کمتر توصیه می‌شود. از منظر پروب فیبر نوری انتقال‌دهنده نور برخوردی و برگشتی نیز پروب دوشاخه تخت به‌دلیل عمق نفوذ بیشتر و از جنس سیلیکای کم هیدروکسیل به‌دلیل رفتار طیفی یکنواخت‌تر در ناحیه طیفی مورد علاقه ما پیشنهاد می‌شود. مشخصات سیستم رامان مورد اشاره در جدول ۱ ارایه شده است.

References

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians* 2021;71(3):209-49.
2. Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Annals of oncology* 2007;18(3):581-92.
3. Omranipour R, Alipour S, Hadji M, Bagheri K. Two decades of experience with ductal carcinoma in situ of the breast in the Cancer Institute of Tehran, Iran. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2014;15(6):2771-6.
4. NHSBSP R. Pathological Reporting of Breast Disease: A Joint Document Incorporating the Third Edition of the NHS Breast Screening Programmes Guidelines for Pathology Reporting in Breast Cancer Screening and the Second Edition of the Royal College of Pathologists' Minimum Dataset for Breast Cancer Histopathology. *Sheffield: NHSBSP* 2005.
5. Kong K, Kendall C, Stone N, Notingher I. Raman spectroscopy for medical diagnostics—From in-vitro biofluid assays to in-vivo cancer detection. *Advanced drug delivery reviews* 2015;89:121-34.
6. Arian A, Dinas K, Pratilas GC, Alipour S. The breast imaging-reporting and data system (BI-RADS) Made Easy. *Iranian Journal of Radiology* 2022;19(1).
7. Stone N, Matousek P. Advanced transmission Raman spectroscopy: a promising tool for breast disease diagnosis. *Cancer Research* 2008;68(11):4424-30.
8. Fallahzadeh O, Dehghani-Bidgoli Z, Assarian M. Raman spectral feature selection using ant colony optimization for breast cancer diagnosis. *Lasers in medical science* 2018;33(8):1799-806.
9. Eshraghi-Arani M, Dehghani-Bidgoli Z. Raman Spectroscopy-based Breast Cancer Detection Using Self-Constructing Neural Networks. *Iranian Journal of Medical Physics/Majallah-I Fīzīk-I Pizishkī-i Īrān* 2021;18(2).
10. Haka AS, Volynskaya Z, Gardecki JA, Nazemi J, Shenk R, Wang N, Dasari RR, Fitzmaurice M, Feld MS. Diagnosing breast cancer

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

using Raman spectroscopy: prospective analysis. *Journal of biomedical optics* 2009;14(5):054023-.
11. Haka AS, Shafer-Peltier KE, Fitzmaurice M, Crowe J, Dasari RR, Feld MS. Diagnosing breast cancer by using Raman spectroscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2005;102(35):12371-6.
12. Kneipp J, Schut TB, Kliffen M, Menke-Pluijmers M, Puppels G. Characterization of breast duct epithelia: a Raman spectroscopic study. *Vibrational spectroscopy* 2003;32(1):67-74.
13. Kong K, Zaabar F, Rakha E, Ellis I, Koloydenko A, Notingher I. Towards intra-operative diagnosis of tumours during breast conserving surgery by selective-sampling Raman micro-spectroscopy. *Physics in Medicine & Biology* 2014;59(20):6141.
14. Yang Y, Li F, Gao L, Wang Z, Thrall MJ, Shen SS, Wong KK, Wong ST. Differential diagnosis of breast cancer using quantitative, label-free and molecular vibrational imaging. *Biomedical optics express* 2011;2(8):2160-74.
15. Smith J, Kendall C, Sammon A, Christie-Brown J, Stone N. Raman spectral mapping in the assessment of axillary lymph nodes in breast cancer. *Technology in Cancer Research & Treatment* 2003;2(4):327-31.
16. Horsnell J, Stonelake P, Christie-Brown J, Shetty G, Hutchings J, Kendall C, Stone N. Raman spectroscopy-a new method for the intra-operative assessment of axillary lymph nodes. *Analyst* 2010;135(12):3042-7.
17. Haka AS, Shafer-Peltier KE, Fitzmaurice M, Crowe J, Dasari RR, Feld MS. Identifying microcalcifications in benign and malignant breast lesions by probing differences in their chemical composition using Raman spectroscopy. *Cancer research* 2002;62(18):5375-80.
18. Baker R, Rogers KD, Shepherd N, Stone N. New relationships between breast microcalcifications and cancer. *British journal of cancer* 2010;103(7):1034-9.
19. Kerssens MM, Matousek P, Rogers K, Stone N. Towards a safe non-invasive method for evaluating the carbonate substitution levels of hydroxyapatite (HAP) in micro-calcifications found in breast tissue. *Analyst* 2010;135(12):3156-61.
20. Abramczyk H, Brozek-Pluska B. Raman imaging in biochemical and biomedical applications. Diagnosis and treatment of breast cancer. *Chemical reviews* 2013;113(8):5766-81.
21. Bergholt MS, Zheng W, Ho KY, Teh M, Yeoh KG, So JBY, et al. Fiber-optic Raman spectroscopy probes gastric carcinogenesis in vivo at endoscopy. *Journal of biophotonics* 2013;6(1):49-59.
22. Latka I, Dochow S, Krafft C, Dietzek B, Popp J. Fiber optic probes for linear and nonlinear Raman applications–Current trends and future development. *Laser & Photonics Reviews* 2013;7(5):698-731.
23. Klein K. Label-free microscopic bioimaging by means of confocal Raman spectroscopy on living glioblastoma cells: *Munchen, Technische Universitat Munchen, Diss.* 2013; 2011.
24. Schulmerich MV, Dooley KA, Morris MD, Vanasse TM, Goldstein SA. Transcutaneous fiber optic Raman spectroscopy of bone using annular illumination and a circular array of collection fibers. *Journal of biomedical optics* 2006;11(6):060502-.
25. Matousek P, Clark IP, Draper ER, Morris MD, Goodship AE, Everall N, Towrie M, Finney WF, Parker AW. Subsurface probing in diffusely scattering media using spatially offset Raman spectroscopy. *Applied spectroscopy* 2005;59(4):393-400.
26. Baker R, Matousek P, Ronayne KL, Parker AW, Rogers K, Stone N. Depth profiling of calcifications in breast tissue using picosecond Kerr-gated Raman spectroscopy. *Analyst* 2007;132(1):48-53.
27. Matousek P, Stone N. Recent advances in the development of Raman spectroscopy for deep non-invasive medical diagnosis. *Journal of biophotonics* 2013;6(1):7-19.
28. Matousek P, Parker AW. Bulk Raman analysis of pharmaceutical tablets. *Applied spectroscopy* 2006;60(12):1353-7.
29. Matousek P, Stone N. Prospects for the diagnosis of breast cancer<? xpp qa?> by noninvasive probing of calcifications using transmission Raman spectroscopy. *Journal of Biomedical Optics* 2007;12(2):024008-.
30. Qin J, Kim MS, Chao K, Schmidt WF, Dhakal S, Cho BK, Peng Y, Huang M. Subsurface inspection of food safety and quality using line-scan spatially offset Raman spectroscopy technique. *Food Control* 2017;75:246-54.
31. Lewis IR, Edwards HG. Handbook of Raman Spectroscopy Marcel Dekker. 2002.
32. Hanlon EB, Manoharan R, Koo T, Shafer KE, Motz JT, Fitzmaurice M, Kramer JR, Itzkan I, Dasari RR, Feld MS. Prospects for in vivo Raman spectroscopy. Physics in Medicine & Biology 2000;45(2):R1.
33. Bergholt ms. real-time fiber optic RAMAN spectroscopy for early diagnosis of precancer and cancer in vivo in the upper gastrointestinal tract 2014.
34. Motz JT, Hunter M, Galindo LH, Gardecki JA, Kramer JR, Dasari RR, Feld MS. Optical fiber probe for biomedical Raman spectroscopy. *Applied optics* 2004;43(3):542-54.
35. Duraipandian, S., Zheng, W., Ng, J., Low, J.J., Ilancheran, A. and Huang, Z., 2012. Simultaneous fingerprint and high-wavenumber confocal Raman spectroscopy enhances early detection of cervical precancer in vivo. *Analytical chemistry*, *84*(14), pp.5913-5919.
36. Duraipandian S, Zheng W, Ng J, Low JJ, Ilancheran A, Huang Z , editors. Integrated fingerprint and high wavenumber confocal Raman spectroscopy for in vivo diagnosis of cervical precancer. Advanced Biomedical and Clinical Diagnostic Systems XI; 2013: *International Society for Optics and Photonics*.
37. Lazaro-Pacheco D, Shaaban AM, Rehman S, Rehman I. Raman spectroscopy of breast cancer. *Applied Spectroscopy Reviews* 2020;55(6):439-75.
38. What is a spectrometers F-number? [Available from: https://www.stellarnet.us/what-is-a-spectrometers-f-number./
39. Utzinger U, Richards-Kortum RR. Fiber optic probes for biomedical optical spectroscopy. *Journal of biomedical optics* 2003;8(1):121-47.
40. Pashinin VP, Konstantinov NY, Artjushenko VG, Konov VI, Silenok AS, Muller G, Schaldach B, Ulrich R. Mechanism of UV laser-induced absorption in fused silica fibers. *Fiber & Integrated Optics* 1991;10(4):365-72.
41. Artioushenko VG, Lerman AA, Litvinenko EG, Nabatov AO, Konov VI, Kouznetsov AI, Plotnichenko VG, Pylnov IL, Shtein-Margolina VA, Urusovskaja AA, Vojtsekhovsky VV. Mechanisms of optical losses in polycrystalline fibers. *InInfrared Fiber Optics* III 1992 (Vol. 1591, pp. 83-89). SPIE.
42. Fabian H, Grzesik U, Wörner KH, Henschel H, Koehn O, Schmidt HU. Radiation resistance of optical fibers: correlation between UV attenuation and radiation-induced loss. InOptical Materials Reliability and Testing: Benign and Adverse Environments 1993(Vol. 1791, pp. 297-305). *SPIE*.
43. Vydra J, Schoetz GF, editors. Improved all-silica fibers for deep-UV applications. Specialty Fiber Optics for Medical Applications; 1999: *International Society for Optics and Photonics*.
44. Lu G, Schoetz GF, Vydra J, Fabricant DG, editors. Optical fiber for UV-IR broadband spectroscopy. Optical Astronomical Instrumentation; 1998: *International Society for Optics and Photonics*.
45. Carey P. Biochemical applications of Raman and resonance Raman spectroscopes. *Elsevier* 2012.
46. Muller G, Kar H, Dorschel K, Ringelhan H. Transmission Of Short Pulsed High Power UV Laser Radiation Through Fibres Depending On Pulse Length, Intensity And Long Term Behaviour. InOptical Fibers in Medicine III 1988 Jun 21 (Vol. 906, pp. 231-237). *SPIE*.
47. Brennan JF, Wang Y, Dasari RR, Feld MS. Near-infrared Raman spectrometer systems for human tissue studies. *Applied spectroscopy* 1997;51(2):201-8.
48. Găzdaru D, Chilom C, Călin MA, Geantă C, Popescu A. Laser radiation propagation and heat transfer into cells and tissues. *Romanian J Biophys* 2008;18:73-85.
49. Kosinski SG, Krol DM, Duncan TM, Douglas DC, MacChesney JB, Simpson JR. Raman and NMR spectroscopy of SiO2 glasses co-doped with Al2O3 and P2O5. *Journal of Non-Crystalline Solids* 1988;105(1-2):45-52.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

50. Walrafen GE, Krishnan PN. Model analysis of the Raman spectrum from fused silica optical fibers. *Applied optics* 1982;21(3):359-60.
51. McMillan P. Structural studies of silicate glasses and melts—applications and limitations of Raman spectroscopy. *American Mineralogist* 1984;69(7-8):622-44.
52. Santos LF, Wolthuis R, Koljenović S, Almeida RM, Puppels GJ. Fiber-optic probes for in vivo Raman spectroscopy in the high-wavenumber region. *Analytical chemistry* 2005;77(20):6747-52.
53. Shim MG, Wilson BC. Development of an in vivo Raman spectroscopic system for diagnostic applications. *Journal of Raman spectroscopy* 1997;28(2-3):131-42.
54. Jia W, Yen WM. Raman scattering from sapphire fibers. *Journal of Raman spectroscopy* 1989;20(12):785-8.
55. Cooney TF, Schoen CL, Sharma SK, Carey DM. Rare-earth-doped glass fiber for background rejection in remote fiber-optic Raman probes: theory and analysis of holmium-bearing glass. *Applied spectroscopy* 1993;47(10):1683-92.
56. Stoddart PR, White DJ. Optical fibre SERS sensors. *Analytical and bioanalytical chemistry* 2009;394:1761-74.
57. Dochow S, Latka I, Becker M, Spittel R, Kobelke J, Schuster K, Graf A, Brückner S, Unger S, Rothhardt M, Dietzek B. Multicore fiber with integrated fiber Bragg gratings for background-free Raman sensing. *Optics express* 2012;20(18):20156-69.
58. Glebov AL, Mokhun O, Rapaport A, Vergnole S, Smirnov V, Glebov LB. Volume Bragg gratings as ultra-narrow and multiband optical filters. *InMicro-Optics* 2012 (Vol. 8428, pp. 42-52). *SPIE.*
59. Zhang G, Demos SG, Alfano RR. Raman spectra of biomedical samples using optical fiber probes. *InBiomedical Sensing, Imaging, and Tracking Technologies II* 1997 (Vol. 2976, pp. 2-9). SPIE.
60. Reble C, Gersonde I, Lieber CA, Helfmann J. Influence of tissue absorption and scattering on the depth dependent sensitivity of Raman fiber probes investigated by Monte Carlo simulations. *Biomedical optics express* 2011;2(3):520-33.
61. Cooney TF, Skinner HT, Angel SM. Comparative study of some fiber-optic remote Raman probe designs. Part I: model for liquids and transparent solids. *Applied Spectroscopy* 1996;50(7):836-48.
62. Cooney TF, Skinner HT, Angel SM. Comparative study of some fiber-optic remote Raman probe designs. Part II: tests of single-fiber, lensed, and flat-and bevel-tip multi-fiber probes. *Applied Spectroscopy* 1996;50(7):849-60.
63. Shim MG, Wilson BC, Marple E, Wach M. Study of fiber-optic probes for in vivo medical Raman spectroscopy. *Applied Spectroscopy* 1999;53(6):619-27.
64. Jaillon F, Zheng W, Huang Z. Half-ball lens couples a beveled fiber probe for depth-resolved spectroscopy: Monte Carlo simulations. *Applied optics* 2008;47(17):3152-7.
65. Wang J, Bergholt MS, Zheng W, Huang Z. Development of a beveled fiber-optic confocal Raman probe for enhancing in vivo epithelial tissue Raman measurements at endoscopy. *Optics letters* 2013;38(13):2321-3.
66. Hanlon E, Manoharan R, Koo TW, Shafer K, Motz J ,Fitzmaurice M, et al. Prospects for in vivo Raman spectroscopy. Physics in Medicine & Biology 2000;45(2):R1.
67. Krafft C, Dochow S, Latka I, Becker M, Spittel R, Kobelke J, et al., editors. Multi-core fiber with integrated fiber Bragg grating for background free Raman sensing. *Optical Biopsy* XI 2013: International Society for Optics and Photonics.
68. Short MA, Lam S, McWilliams A, Zhao J, Lui H, Zeng H. Development and preliminary results of an endoscopic Raman probe for potential in vivo diagnosis of lung cancers. *Optics letters* 2008;33(7):711-3.
69. Everall NJ. Modeling and measuring the effect of refraction on the depth resolution of confocal Raman microscopy. *Applied spectroscopy* 2000;54(6):773-82.
70. Lewis IR, Griffiths PR. Raman spectrometry with fiber-optic sampling. *Applied Spectroscopy* 1996;50(10):12A-30A.
71. Yang B, Morris MD. Disposable protective sheath for the fiber-optic Raman probe. *Applied spectroscopy* 1991;45(3):512-3.
72. Utzinger U, Heintzelman DL, Mahadevan-Jansen A, Malpica A, Follen M, Richards-Kortum R. Near-infrared Raman spectroscopy for in vivo detection of cervical precancers. *Applied spectroscopy* 2001;55(8):955-9.
73. Almond LM, Hutchings J, Lloyd GR, Francis-Jones J, Stone N, Barr H, Kendall C. Preclinical evaluation of a Raman spectroscopic probe for endoscopic classification of oesophageal pathologies. *InBiomedical Vibrational Spectroscopy V: Advances in Research and Industry* 2012 (Vol. 8219, pp. 108-114). SPIE.
74. Okagbare PI, Morris MD. Polymer-capped fiber-optic Raman probe for non-invasive Raman spectroscopy. *Analyst* 2012;137(1):77-81.
75. de Lima CJ, Moreira LM, Lyon JP, Villaverde AB, Pacheco MT. Catheters: instrumental advancements in biomedical applications of optical fibers. *Lasers in medical science* 2009;24(4):621-6.
76. Buschman HP, Marple ET, Wach ML, Bennett B, Bakker Schut TC, Bruining HA, Bruschke AV, van der Laarse A, Puppels GJ. In vivo determination of the molecular composition of artery wall by intravascular Raman spectroscopy. *Analytical Chemistry* 2000;72(16):3771-5.
77. Komachi Y, Sato H, Tashiro H. Intravascular Raman spectroscopic catheter for molecular diagnosis of atherosclerotic coronary disease. *Applied Optics* 2006;45(30):7938-43.
78. De Lima CJ, Sathaiah S, Pacheco MT, Zângaro RA, Manoharan R. Side-viewing fiberoptic catheter for biospectroscopy applications. *Lasers in Medical Science* 2004;19:15-20.
79. Mahadevan-Jansen A, Mitchell MF, Ramanujam N, Utzinger U, Richards-Kortum R. Development of a fiber optic probe to measure NIR Raman spectra of cervical tissue in vivo. *Photochemistry and photobiology* 1998;68(3):427-31.
80. de Lima C, Simões M, Silveira L, Silveira F, Villaverde A, Pacheco M. Multifiber optical catheter with bending control of distal end: Applications of Raman biospectroscopy. *Journal of Applied Spectroscopy* 2007;74(1):107-14.
81. Marcuse D. Curvature loss formula for optical fibers. *JOSA* 1976;66(3):216-20.
82. Zendehnam A, Mirzaei M, Farashiani A, Horabadi Farahani L. Investigation of bending loss in a single-mode optical fibre. *Pramana* 2010;74:591-603.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

TUMJ Tehran University Medical Journal, September 2023; Vol. 81, No. 6: 412-424 Review Article

Considerations of in-vivo breast tissue assessment using raman spectroscopy: *a review article*

Sadaf Alipour M.D.[1,2]
Zohreh Dehghani-Bidgoli Ph.D.[3*]

1- Breast Disease Research Center, Cancer Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2- Department of Surgery, Arash Women's Hospital, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Department of Biomedical Engineering, Faculty of Electrical and Computer Engineering, Kashan Branch, Islamic Azad University, Kashan, Iran.

*Corresponding author: Department of Biomedical Engineering, Kashan Branch, Islamic Azad University, Kashan, Iran.
Tel: +98-31-55589480
E-mail: Dehghani_zohreh@yahoo.com

Abstract

Raman spectroscopy, as an emerging and promising molecular assessment tool, has attracted the attention of researchers, especially for disease diagnosis in human organs such as the breast. Although most of the Raman studies on the breast have dealt with ex-vivo examination of either intact or processed excised tissue specimens, there are some in-vivo studies, including intraoperative tumor margin assessment and a few non-invasive studies. Since the non-invasive or minimally invasive Raman assessment technique is an essential need for translation to clinical approaches, in the present article, the most recent and relevant studies in this regard have been reviewed to find and introduce the most proper Raman spectroscopy system's specifications for in-vivo assessment of breast tissue.

Scholarly documents, including articles, books, and dissertations related to Raman assessment of breast tissue or in-vivo Raman assessment of other human organs, were perused in search of the most relevant technical details of Raman systems employed so far. On the one hand, the present study has covered Raman instrumentation aspects of diverse types of Raman spectroscopy, different types of laser source and their specifications, optical elements used in the delivery and collection of light to and from the tissue such as lenses and fibers, detectors and even calibration settings. On the other hand, the main Raman features corresponding to different breast pathologies have been studied, speculating their variations in a non-invasive setting. Having studied all, we tried to find the best feasible configuration for a Raman system in terms of the ability to meet the needs of a non-invasive, in vivo clinical examination of the breast.

In terms of the Raman spectroscopy modality and laser source, SORS/TRS and 785nm laser diode, were selected for in vivo examination of the breast respectively. The pertinent parameters of the spectrograph, detector, and fiber optic probe were introduced as well.

In the present study, detailed specifications of a non-invasive, in vivo Raman apparatus for examination of breast tissue have been studied and specified.

Received: 22 Jun. 2023 Revised: 29 Jun. 2023 Accepted: 14 Aug. 2023 Available online: 23 Aug. 2023

Keywords: breast diseases, laser, optical fibers, Raman spectroscopy.

Copyright © 2023 Alipour et al. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).
Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]