

ارزیابی حجم تومورهای تجربی در موش با استفاده از سیستم تصویربرداری نوری در مراحل مختلف رشد

خلاصه

ملیحه سادات حسینی^۱
مرجانه حجازی^{۱ او}
جمشید حاجتی^۲
ذینب حتمی^۳
هانیه محمد رضا^۴
ابراهیم نجف زاده^{۱ او}
آرزو جمالی^۳
آرش پورغلامی نژاد^۵

مقدمه: تصویربرداری مولکولی فلئورسنس در مد بازتابی برای ارائه اطلاعات درمورد فرآیندهای پاتولوژیک یک روش قدرتمند است. رشد تومور یک فرآیند پاتولوژیک شایع است که می‌توان آن را بهوسیله کولیس اندازه‌گیری کرد. دقت اندازه‌گیری هنگام استفاده از کولیس به مهارت کاربر بستگی دارد. تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که روش تصویربرداری مولکولی فلئورسنت (Fluorescence molecular imaging (FMI))^۱ می‌تواند به عنوان روش دقیق‌تر جهت اندازه-گیری آهنگ رشد تومور مورد استفاده قرار گیرد. هدف از ایجاد این پروژه اعتبار دادن به روش FMI جهت سنجش رشد تومور در مقایسه با روش‌های متدالو اندازه‌گیری حجم تومور مانند اندازه‌گیری با کولیس است.

روش بررسی: در این مطالعه با استفاده از مدل حیوانی تومور، همبستگی بین روش غیرتھاجمی فلئورسنت و روش‌های سنتی مورد ارزیابی قرار گرفت. دودمان سلولی WEHI-164 در موس c BALB در ۳۶ موس^۲ که در سه گروه ۱۲ تایی تقسیم شده بودند به صورت زیر پوستی تزریق شد و پس از ۱۰ روز، اندازه تومور بهوسیله کولیس اندازه‌گیری گردید. به طور همزمان اندازه تومور با تزریق ماده فلئورسین در مرکز تومور توسط روش FMI اندازه‌گیری گردید. درنهایت همبستگی بین اندازه‌گیری حجم تومور توسط روش‌های سنتی و اندازه‌گیری توسط روش FMI توسط روش اسپیرمن و منحنی ROC ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد که ضریب بستگی اسپیرمن بین حجم تومور و ارتفاع منحنی شدت فلئورسنت در گروه اول، دوم و سوم شدت به ترتیب ۰/۰۱۹، ۰/۰۰۵ و ۰/۰۰۹ است. آنالیز منحنی ROC نشان می‌دهد که نقطه قطع حجم و وزن تومور بدترتب ۹۳ میلی‌متر مکعب و ۰/۱۲ گرم می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری: در موقعیت ما، بین اندازه‌گیری رشد تومور در موس c BALB FMI توسط با اندازه‌گیری توسط روش‌های مرسوم برای حجم و وزن، همبستگی معنی‌داری وجود ندارد. بنابراین دقت اندازه‌گیری روش FMI در مورد رشد تومور در حیوانات کوچک نیاز به اصلاح و بهبود دارد.

واژه‌های کلیدی: حجم تومور، تصویربرداری اپتیکی، موش بالبسبی، فلئورسین، سلول‌های WEHI-164

^۱ گروه فیزیک پزشکی و مهندسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۲ آزمایشگاه لیزر و اپتیک، مرکز تحقیقات علوم و تکنولوژی دپارتمان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۳ گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۴ گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

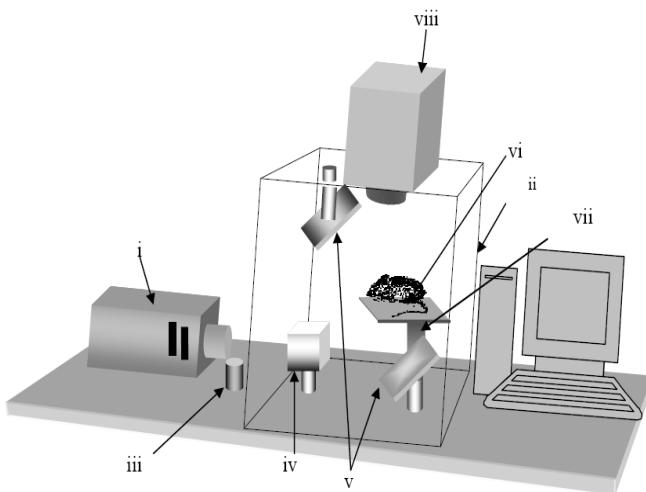
نویسنده مسئول: مرجانه حجازی، تلفن: ۰۹۱۲۴۸۴۱۳۳۹، Mhejazi@sina.tums.ac.ir
پست کرونیک: ۶۶۵۸۱۵۰۵-۰۹۱۲۴۸۴۱۳۳۹

مقدمه

روش‌های تصویربرداری معرفی شده است. در این روش ماده فلئورسنت به داخل تومور تزریق می‌شود تا توسط پرتوی نوری تحریک گردد. بدین ترتیب بافت نشان‌دارشده مبادرت به تابش پرتوی فلئورسنت می‌نماید. شدت پرتوی تابشی با افزایش حجم تومور تغییر می‌کند تا نحوه رشد تومور قابل بررسی گردد. یزدی و همکاران^[۶] اقدام به بررسی روند رشد تومور بدخیم در کبد موش با استفاده از روش بیولومیسنت نمودند. به همین علت نحوه رشد تومورهای بدخیم در فواصل زمانی معین مورد بررسی قرار گرفت سپس با کشتن موش و جداسازی تومور، مبادرت به توزیع تومور نمودند. درنهایت، بین تعداد سلول‌های سرطانی با افزایش شدت فلئورسنت همبستگی با $p < 0.0001$ به دست آورند. اما، پس از بیست

مشاهده تغییرات مولکولی در سطح سلولی و زیرسلولی می‌باشد^[۱] [۲]. در سال‌های اخیر، کاربرد تصویربرداری نوری در تشخیص زودرس سرطان پوست، جراحی و تعیین روش‌های درمان گزارش شده است. برای تعیین روش‌های درمانی، بررسی حجم تومور موردنظر در طول اجرای روش درمانی بسیار اهمیت دارد. هم‌اکنون، تعیین حجم تومور توسط روش‌های اندازه‌گیری با کولیس و وزن کردن با ترازو صورت می‌گیرد. روش‌های مذکور از خطای کاربری بالایی برخوردار است. به طوری که مقدار دقیق حجم تومور از یک نمونه به نمونه دیگر تغییر می‌کند^[۳، ۴ و ۵]. به همین علت روش‌های تصویربرداری نوری به عنوان روش مناسب جهت تعیین حجم تومور نسبت به سایر

بدین ترتیب با استفاده از عدسی‌های تلسکوپی، قطر پرتوی لیزر از یک میلی‌متر به ۱ سانتی‌متر افزایش می‌یابد تا سطح بدن موش به طور یکنواخت تحت تابش پرتوی لیزر قرار بگیرد.



شکل ۱: (الف) لیزر شامل لیزر آرگون، دیود، هلیوم نئون، (ب) اطافک تصویربرداری، (ج) بیم اسپلیتیر، (د) توان سنج، (ه) آینه‌های بزرگ، (و) صفحه شفاف، (ز) دوربین CCD

همزمان با آماده‌سازی چینش اپتیکی مبادرت به ایجاد تومور در موش‌های بالب سی شد. به همین منظور سلول‌های WEHI-164 از رده فیبروسارکوما با منشأ موش از بخش بانک سلولی انتستیتو پاستور ایران تهیه گردید. پس از آماده‌سازی سلول‌ها، یکونیم میلیون سلول WEHI-164 در سمت راست موش‌های بالب سی در محدوده سنی ۶ تا ۸ هفته تزریق شدند. رشد تومورها هر ۴۸ ساعت با اندازه‌گیری توسط کولیس صورت گرفت. در این اندازه‌گیری حجم تومور از رابطه حاصل ضرب پهنا در 0.52×0.052 طول تومور بر حسب میلی‌متر مکعب به دست آمد. به طوری که با گذشت هر هفته، حیوانات با تومورهای هماندازه در یک گروه قرار گرفتند و تصویربرداری شدند. نهایتاً موش‌ها به سه گروه دوازده‌تایی تقسیم شدند.

برای انجام تصویربرداری، موهای موش‌ها جهت حذف تابش اتوفلئورسنت زدوده شد و موش‌ها بر روی نگهدارنده مخصوص حیوان قرار گرفتند تا دمای بدن آن‌ها در حدود ۳۷ درجه سانتی‌گراد حفظ شود. سپس حیوانات با تزریق ماده بیهودی کتامین و زایلazin به مدت ۲۰ دقیقه بیهوش شدند. بعد از آماده‌سازی موش، انجام مراحل تصویربرداری شروع شد.

در مرحله اول تصویربرداری قبل از قراردادن نمونه بر نگهدارنده، تصویری جهت اندازه‌گیری نویز حرارتی CCD تهیه شد. سپس نمونه بر روی نگهدارنده قرار گرفت و ماده فلئورسنت فلئورسین ۰۰۲۱ میلی‌لیتر در مرکز آن تزریق شد. پس از تزریق، تومور نشاندارشده تحت تابش پرتوی لیزر قرار گرفت تا شدت پرتوی فلئورسنت رسیده به سطح بدن نمونه توسط دوربین CCD بسیار

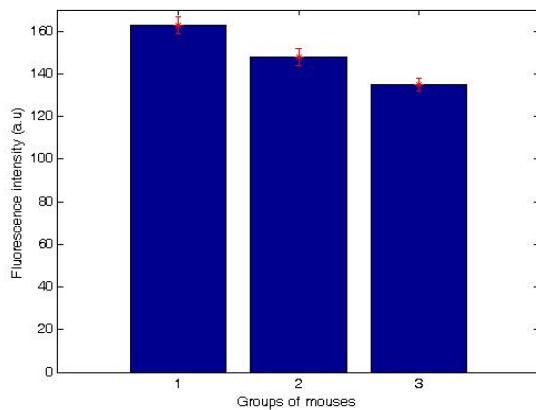
روز این همیستگی تفاوت معنی‌داری نشان داد [۶]. در سال ۲۰۰۷ کیارت و همکاران با استفاده از روش بیولومیسنت و تزریق داخل وریدی ماده فلئورسنت مبادرت به بررسی تغییرات حجم تومور کاشته شده در موش نمودند. به طوری که تکارپذیری این روش ۸۲ درصد گزارش شد [۷]. قابل ذکر است که در این روش ابتدا سلول‌های سلطانی با ماده فلئورسنت مانند لوسی فراز نشان دار و جهت ایجاد تومور به موش تزریق می‌شوند. بنابراین سلول‌های سلطانی بدون تحریک توسط لیزر مبادرت به تابش پرتوی فلئورسنت می‌نمایند. لذا، در روش‌های بیولومیسنت، تومورهای عمیق به علت پایین بودن نسبت سیگنال به نویز قابل رؤیت نمی‌باشند. به همین دلیل اخیراً روش FMT جهت تصویربرداری از تومور در حین جراحی و تغییرات حجم آن گزارش شده است [۸]. نتایج این مقالات امکان پذیری استفاده از روش FMT را جهت ارزیابی اندازه، مورد تأیید قرار می‌دهد. اما تاکنون، همیستگی روش FMT با روش‌های متداول تعیین حجم تومور مورد ارزیابی آماری قرار نگرفته است.

بنابراین هدف این مقاله بررسی همیستگی روش FMT با روش‌های متداول (توزیں و اندازه‌گیری با کولیس) می‌باشد تا جایگزینی این روش به جای روش‌های قابلی در کلینیک امکان‌پذیر گردد. به همین دلیل چینش اپتیکی ملکولی فلئورسنت در مد بازتابشی، طراحی و مورد استفاده قرار گرفت سپس با کاشت تومور در موش مبادرت به تصویربرداری از موش‌ها در فواصل زمانی معین گردید. درنهایت، مقداری به دست آمده از حجم محاسبه شده از روش‌های متداول، مورد ارزیابی دقیق آماری قرار گرفت. نتایج به دست آمده می‌تواند پیش‌آگهی بسیار مهمی را در مورد استفاده از روش جایگزین تعیین حجم تومور در اختیار متخصصان بالینی قرار دهد.

روش بررسی

برای اندازه‌گیری روند رشد تومور، چینش اپتیکی در مد بازتابشی طراحی شد سپس سلول‌های تومورال در موش کاشته شد و با ماده فلئورسنت نشان دار گردید و درنهایت ارزیابی آماری جهت به دست آوردن همیستگی بین روش پیشنهادی و روش‌های متداول صورت گرفت. لذا سامانه تصویربرداری نوری در مد بازتابشی جهت تعیین حجم تومورهای تجربی در موش طراحی و ساخته شد (شکل ۱). در شکل ۱ ملاحظه می‌گردد که چینش اپتیکی شامل لیزر DPSS با طول موج ۴۷۳ پیک نانومتر، توان خروجی ۲۰ میلی‌وات (دربین سیار حساس CCD) ساخت کارخانه Andor، عدسی‌های آکرومات (مدل AC254-030)، با فواصل کانونی ۷ و ۸ سانتی‌متر، ساخت کارخانه Thorlabs (کارخانه Thorlabs) و فیلتر بالاگذر تحریکی بود. در چینش طراحی شده پرتوی لیزر از عدسی‌های آکرومات عبرور می‌کند تا به نمونه برسد. عدسی‌های آکرومات به فاصله ۱۵ سانتی‌متر از یکدیگر قرار گرفتند تا به عنوان عدسی‌های تلسکوپی عمل نمایند.

تصاویر تهیه شده از تومورها در محیط MatLab باز شد و تحت پردازش قرار گرفت. برنامه پردازشی شامل یک فیلتر بالاگذر و یک فیلتر پایین‌گذر جهت کاهش نویز بود. همان‌طور که در شکل ۳ ملاحظه می‌شود، تصویر به دست آمده از تومور دارای پروفایل گوسی است. بنابراین بیشینه ارتفاع منحنی^۱ به عنوان معیاری برای اندازه‌گیری شدت فلئورستن در نظر گرفته شد. نتایج به دست آمده از ارتفاع پروفایل شدت با توجه به آنالیز آماری گروه‌بندی موردنظر به صورت نمودار میله‌ای در شکل ۴ آورده شده است.



شکل ۴: ارتفاع پروفایل شدت با توجه به گروه‌بندی تومورها

همان‌طور که در شکل ۴ ملاحظه می‌گردد، شدت فلئورسانس در گروه اول، دوم و سوم به ترتیب $148/7 \pm 4/3$ ، $163/5 \pm 2/7$ و $133/2 \pm 6/6$ به دست آمد. بنابراین شدت ماده فلئورستن با توجه به گروه‌بندی تومورها بر حسب وزن تومور روند کاهنده داشت.

پس از کشتن موش، با استفاده از وسایل جراحی پوست آن برش داده شد. این برش با دقت بسیار زیاد انجام شد تا بافت تومورال آسیب نمی‌بیند. سپس تومور با چاقوی جراحی شماره ۴ برداشته شد. تومور جدا گردید و بلا فاصله توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۲ رقم اعشار اندازه‌گیری شد. به علاوه دو قطر اصلی آن توسط دوربین CCD بسیار حساس تحت محاسبه گردید. نتایج مربوط به اندازه‌گیری وزن تومور در شکل ۵ ملاحظه می‌شود.

همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، وزن تومورها در گروه اول، دوم و سوم به ترتیب 0.04 ± 0.01 گرم، 0.1 ± 0.03 گرم و 0.45 ± 0.14 گرم به دست آمد. روند وزن تومورها افزاینده می‌باشد که این نشانگر رشد تومور بر حسب زمان است. خاطرنشان می‌شود که بعد تومورها قبل از تصویربرداری و بعد از خارج نمودن تومور از بدن موش با کولیس اندازه گرفته شد. سپس با توجه به معادله ۱ [۳ و ۴]:

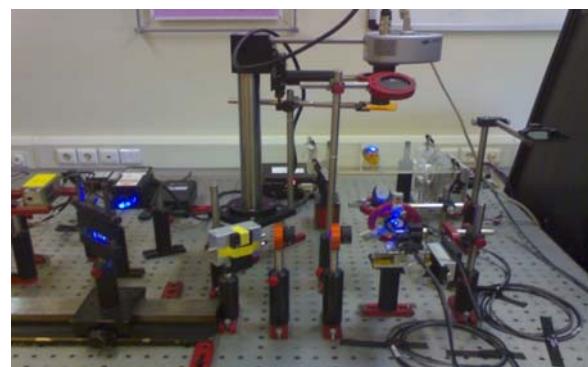
$$\text{Tumor Volume} = ((\text{Width}^2) \times \text{Length}) \times 0.52$$

² Full width at maximum height (FWHM)

حساس، دریافت و ذخیره گردد. پس از تهیه تصویر، نسبت کنتراست به نویز تصویر با استفاده از فیلتر میان‌گذر افزایش یافتد سپس به تصویر به دست آمده منحنی گوسی برازش شد و بیشینه پهنا در نصف ارتفاع ۱ و ارتفاع منحنی به دست آمد FWHM و ارتفاع منحنی به عنوان پارامترهای تعیین کننده شدت فلئورستن محاسبه شدند. همزمان با انجام روش‌های پردازش و آنالیز، مוש قطع نخاع شد و تومور با دقت زیاد برداشته شد. ابعاد تومور جدا شده توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۴ رقم اعشار و کولیس رقمی محاسبه گردید.

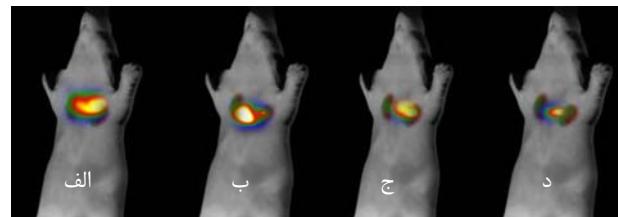
یافته‌ها

در ابتدا چینش اپتیکی آمده و مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۲).



شکل ۲: چیدمان اپتیکی

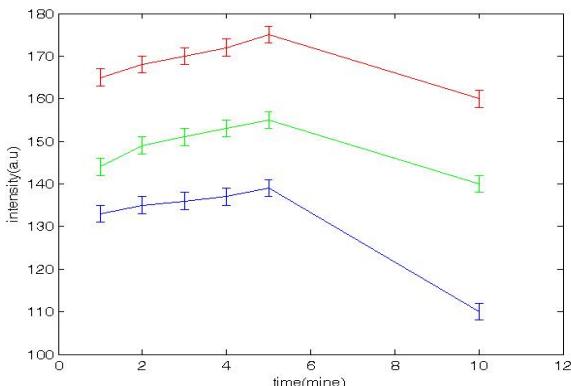
سپس مقدار 200 میلی‌لیتر از فلئورسین به عنوان مقدار بهینه جهت نشاندار کردن تومور تعیین و به مرکز تومور تزریق شد. پس از نشاندار کردن تومور، پرتوی لیزر در حدود ۱ تا ۸ ثانیه به طور یکنواخت بافت هدف را مورد تابش قرار داد. سپس شدت فلئورسانس رسیده به سطح بدن موش توسط دوربین CCD بسیار حساس تحت تصویربرداری قرار گرفت (شکل ۳).



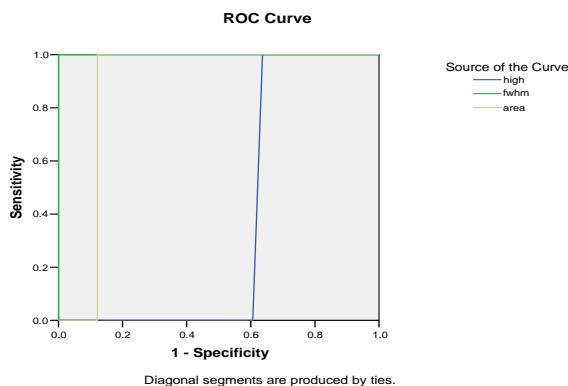
شکل ۳: تصاویر موش تومورال؛ (الف) تومور با اندازه 83 میلی‌متر مکعب، (ب) تومور با اندازه $87/3$ میلی‌متر مکعب، (ج) تومور با اندازه $130/5$ میلی‌متر مکعب، (د) تومور با اندازه 511 میلی‌متر مکعب

¹ Full Width at Half Maximum(FWHM)

بعد از آنالیز واریانس داده‌ها با توجه به طراحی این پژوهش و طراحی چیدمان مورد نظر برای مشخص نمودن نقطه برش^۳ داده‌ها از منحنی‌های ROC استفاده شد. در این منحنی محور عمودی حساسیت و محور افقی ویژگی می‌باشد. هرچه سطح زیر این منحنی به یک نزدیک‌تر باشد، پاسخ سیستم سامانه تصویربرداری دقیق‌تر است. برطبق شکل ۸ دقیق‌ترین پاسخ، مربوط به تومور با حجم ۹۳ میلی‌متر مکعب است.



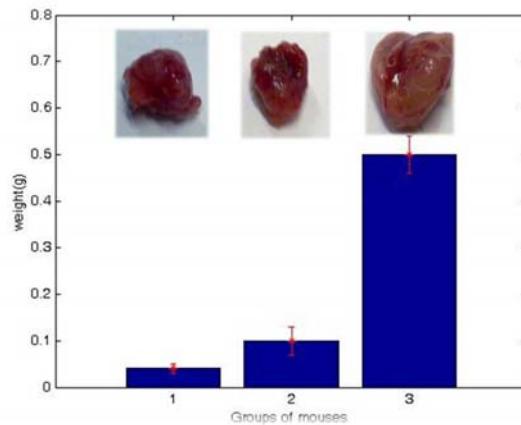
شکل ۷: تغییرات شدت فلئورسانس با زمان پس از تزریق ماده فلئورسین در داخل تومور



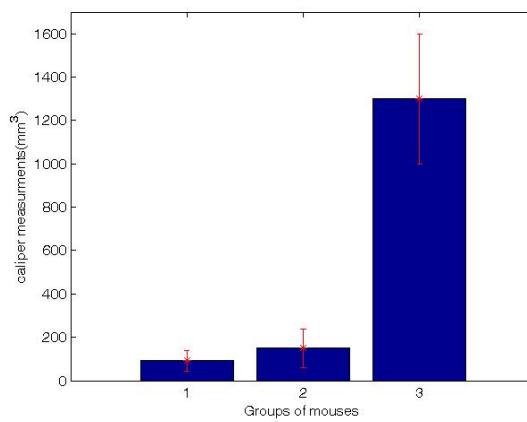
شکل ۸: منحنی ROC برای حجم ۹۳ میلی‌متر مکعب تومور

بر طبق جدول ۱ ویژگی برای حجم ۹۳ متر مکعب ۱۰۰ درصد و حساسیت آن ۸۰ درصد می‌باشد. با توجه به منحنی‌های ROC دریافت شد که حجم تومور بهینه برای انجام این مطالعه ۹۳ میلی‌متر مکعب است و وزن تومور بهینه ۰/۱۲ گرم است. به علاوه در این حجم و وزن بهینه ویژگی و حساسیت به ترتیب ۱۰۰ و ۸۰ درصد می‌باشد. لذا، به دلیل تضعیف زیاد در عمق بیشتر و همچنین نکروز در مرکز تومور، تومورهای خیلی بزرگ مورد بررسی قرار نخواهند گرفت و نیز اندازه تومورها باید از کوچک‌ترین

حجم تومورها محاسبه گردید و طبق آنالیز آماری به دست آمد. با توجه به این اندازه‌گیری حجم در گروه اول، دوم و سوم به ترتیب $84 \pm 43/6$ و 640 ± 239 و $150 \pm 88/2$ میلی‌متر مکعب می‌باشد. همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، این نتایج نشان می‌دهد حجم تومور در هر گروه تغییرات زیادی دارد.



شکل ۵: وزن تومور بر حسب گرم در سه گروه تعیین شده



شکل ۶: حجم تومور بر حسب میلی‌متر مکعب در سه گروه تعیین شده

در حین انجام تصویربرداری، تصاویر متوالی بدون جابه‌جاوی از موش تهیه شد. به همین منظور تصاویر متوالی هر یک دقیقه یکبار تا ۵ دقیقه پس از تزریق ماده فلئورسین در داخل تومور و آخرین تصویر بعد از گذشت ۱۰ دقیقه تهیه شد (شکل ۷) سپس تصاویر مربوطه ذخیره شدند و بیشینه شدت فلئورسانس آن‌ها توسط نرم افزار MatLab محاسبه گردید.

همان‌طور که در شکل ۷ دیده می‌شود، تغییرات شدت فلئورسانست در هر گروه با توجه به زمان تا لحظه ۵ دقیقه افزاینده می‌باشد و بعد از آن شدت فلئورسانس کاهنده است. این مطلب نشان داد که در زمان ۵ دقیقه شدت ماده فلئورسانست به بیشینه مقدار خواهد رسید.

³ cut off point

مزيت نحوه گروه‌بندی در اين مطالعه اين است که با توجه به اينکه گروه‌بندی براساس اندازه مشابه صورت گرفته است، لذا تغييرات اندازه تومورها در هر گروه از تغييرات گروه‌بندی كمتر به صورت تصادفي مي‌باشد.

پس از آماده‌سازی سامانه تصويربرداري، يكى از نکات مورد توجه اين بود که در طول آزمون، تصويربرداري کلية متغيرهای مداخله‌گر ثابت ماندند. به طوري که ميزان ماده تزرير شده برای کلية تومورها ثابت نگه داشته شد. لازم به ذكر است که اين مقدار براساس حساسيت سیستم تصويربرداری تعیین شده بود. ماده پس از تزرير، داخل تومور تجمع کرد و به علت بزرگی اندازه مولکول قادر به ترشح از دیواره‌ها نبود.

براي پيگيري هدف مطالعه، اندازه‌گيری بيشينه ارتفاع پروفایل به دست آمده به عنوان معياری برای ارزیابی حجم تومور تعیین شد. درنتیجه شدت فلئورستن به دست آمده در گروه اول، دوم و سوم به ترتیب $163/5 \pm 2/7$ ، 148 ± 4 و $133/5 \pm 6/6$ به دست آمد. نتایج نشان می‌دهد با افزایش حجم تومور شدت فلئورسانس کاهش می‌يابد. در مطالعه انجام شده توسط يزدي و همكاران [۶] در سال ۲۰۰۳، شدت بيلومينسانس در محدوده ۱۰۶ تا ۱۰۱ بحسب شمارش بر ثانیه به دست آمد. در سال ۲۰۰۴ نيلز و همكاران [۱۱] در مطالعه‌اي فعالیت لوسی فراز را با توجه به وزن تومور در محدوده $106 \times 2/5$ تا 10×106 بحسب شمارش بر ثانیه به دست آوردند.

پس از اتمام تصويربرداري، پروفایل شدت فلئورستن با توجه به زمان پيک زمانی تجمع فلئورسين در تومور محاسبه گردید. اين زمان در اين آزمون ۵ دقيقه به دست آمد. به علاوه در سال ۲۰۰۷ در مطالعه انجام شده توسط مارلين كيرتز و همكاران [۷] نيز اين مدت زمان $5/7 \pm 0/6$ دقيقه بود. همچنين zain paroo در سال ۲۰۰۴ مطالعه‌اي انجام داد [۱۲] که در آن به جای تزرير ماده فلئورستن از لوسی فرين جهت بيان آنژيزم لوسی فراز استفاده شد. حال آنکه در مطالعه انجام شده توسط زاين پارو، پيک زمانی تجمع لوسی فرين $12/7 \pm 0/6$ دقيقه بود. علت اين امر می‌تواند اين باشد که در مطالعاتي که از مواد فلئورستن هدفمند استفاده شده است بعد از تزرير، زمانی صرف می‌شود تا به طور هدفمند به سلول تومoral برسد. چون در اين مطالعه تزرير به صورت داخل صفاقی صورت گرفت، لذا زمانی صرف خواهد شد تا اين ماده به صورت هدفمند به ناحیه تومoral برسد و سپس در تومور تجمع يابد. نتایج به دست آمده با نتایج به دست آمده از مطالعات انجام شده توسط مارلين و زاين پارو همخوانی دارد.

براي به دست آوردن همبستگي از روش آماري اسپيرمن استفاده شد. در اين روش پس از آناليز واريانس اختلاف سه گروه با متغيرهای حجم تومور، وزن، ارتفاع، نصف پهنانی ارتفاع و مساحت زير سطح منحنی به طور مجزا معنی دار به دست آمد. ارزیابی نشان می‌دهد در گروه اول ضرایب اسپیرمن بين حجم تومور، ارتفاع و مساحت زير

اندازه مورد بررسی تومور در اين مطالعه بزرگ‌تر باشد تا ماده فلئورستن از آن نشت نکند.

جدول ۱: سطح زير منحنی ROC برای متغيرهای مختلف

مساحت زير منحنی ROC	متغيرها
۰/۳۷۹	ارتفاع
۱/۰۰۰	نصف ارتفاع بيشينه شدت
۰/۸۷۹	مساحت زير منحنی شدت

بحث

كاربرد تصويربرداری نوری در پژشكی در حال گسترش است. به طوری که استفاده از اين روش در اندازه‌گيری غيرتهاجمی فعالیتهای فيزيولوژیک، تصويربرداری از حیوانات آزمایشگاهی، بررسی گرههای لنفاوی در حین جراحی و تصويربرداری مولکولی فلئورستن گزارش شده است. در روش اخیر با استفاده از نشانگرهای فلئورستن، تصويربرداری عملکردی در سطوح ژنی، سلولی و ارگان‌ها میسر شده است. در روش تصويربرداری مولکولی فلئورستن، ماده فلئورستن به داخل ضایعه مورد نظر تزرير می‌شود سپس با تابش پرتوی لیزر، ماده نشاندار مبادرت به تابش پرتوی فلئورستن می‌نماید که توسط دوربین حساس CCD دریافت و مورد بررسی قرار می‌گیرد.

لذا، هدف از انجام اين پروژه بررسی کاربرد روش تصويربرداری نوری جهت تعیین همبستگی بين شدت فلئورسانس تابشی و حجم تومور در موش بود.

در سال ۱۹۹۹، مطالعه‌اي توسط سوئيني و همكاران [۹] جهت ارزیابی غيرتهاجمی سلول‌های توموری در موش انجام شد. آن‌ها از سلول‌های توموری A20 و BCL1 در ارگان‌های داخلی از قبیل ریه، کبد، گرههای لنفاوی و استخوان در موش BALB/c استفاده کردند. اگرچه اين سلول‌های توموری حساسیت بالایی نشان دادند اما، حساسیت آشکارسازی منابع داخلی به پارامترهای زيادي وابسته است. از جمله اين پارامترها می‌توان به سطح بيان لوسی فراز، عمق سلول‌های نشان‌دارشده در بدن حیوان (فاصله‌ای که فوتون‌ها در بافت باید طی کنند) و حساسیت سیستم آشکارسازی اشاره نمود. لذا، در این مطالعه برای اجتناب از کاهش حساسیت به دلیل عمق سلول‌های نشاندار از تومورهای زيرجلدی و از دودمان سلولی WEHI-164 برای تومورال کردن موش استفاده شد.

پس از رشد تومورها، گروه‌بندی صورت گرفت. در اين پروژه گروه‌بندی براین اساس انجام شد که تومورهای با اندازه مشابه در يك گروه قرار گرفتند. درحالی که در مطالعه‌اي که توسط ماساكی [۱۰] انجام پذيرفت، پس از تزرير دودمان سلولی و قبل از اينکه تومور در حیوان ظاهر شود، گروه‌بندی موش‌ها به طور تصادفي صورت گرفت.

علاوه بر تمام نتایج، منحنی‌های ROC نیز برای این پروژه به دست آمده است این نتایج نشان می‌دهد نقطه برش برای حجم و وزن تومور که بهترین پاسخ را دربرداشتند، به ترتیب ۹۳ میلی‌متر مکعب و ۱۲۰ گرم به دست آمد. در روش‌های مشابه از روش ROC در هیچ مقاله‌ای استفاده نشده است.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد بین شدت فلئورسنت و حجم و وزن تومور ضریب همبستگی ۰/۵۱ به دست آمد. این ضریب نسبت به ضریب همبستگی به دست آمده از سایر تحقیقات مشابه، تفاوت بسیار کمی دارد.

سطح منحنی شدت به ترتیب ۰/۰۹۱، ۰/۱۰۳ و ۰/۰۹۰ و در گروه دوم ۰/۰۹۱، ۰/۱۲۶ و ۰/۰۵۰ و در گروه سوم ۰/۰۵۶، ۰/۰۲۷۷ و ۰/۰۱۴ همچنین در گروه اول ضرایب اسپیرمن بین وزن تومور، ارتفاع، پهنای نصف ارتفاع و مساحت زیر سطح منحنی شدت به ترتیب ۰/۰۹۵، ۰/۰۵۲۴ و ۰/۰۱۳۲ و در گروه دوم ۰/۰۷۱، ۰/۰۲۹ و ۰/۰۱۲۴ در گروه سوم ۰/۰۲۵، ۰/۰۳۰ و ۰/۰۰۴ به دست آمد.

مارلین کیرتز و همکاران [۷] در سال ۲۰۰۷ و همچنین دین و همکاران [۳] در سال ۲۰۰۲ برای آنالیز داده‌های به دست آمده در مطالعه خود از آزمون t-test استفاده کردند. برخلاف آن‌ها یزدی و همکاران [۶] در سال ۲۰۰۳ از روش ANOVA برای ارزیابی داده‌های مطالعه خود استفاده کردند. در مطالعه حاضر نیز از روش ANOVA برای ارزیابی داده‌ها استفاده گردید زیرا آزمون t-test برای ارزیابی دو گروه مورد آزمون به کار می‌رود در حالی که برای سه گروه مورد آزمون باید از روش ANOVA استفاده کرد. بنابراین نتایج به دست آمده از این پروژه دقت بالایی دارند.

References

- Massoud TF, Wang L, Gambhir SS. Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological processes in a new light. *Genes Dev* 2003; 17(5): 545-80.
- Weissleder R, Mahmood U. Molecular imaging. *Radiology* 2001; 219: 316-33.
- Diehn FE, Costouros NG, Miller MS. Noninvasive Fluorescent Imaging Reliably Estimates Biomass in Vivo. *Bio Techniques* 2002; 33: 1250-5.
- Mette MJ, Jesper TJ, Tina B, Andreas K. Tumor volume in subcutaneous mouse xenografts measured by micro CT is more accurate and reproducible than determined by F-FDG-micro PET or external caliper *BMC Medical Imaging* 2008; 8:16.
- Feldman JP. A Mathematical model for tumor volume evaluation using two-dimension. *Journal of applied quantitative methods* 2009; 4(4): 55-62.
- Sharafyazdi SH, Jing M, Mark W, Bryan M. Use of invivo bioluminescence imaging to predict hepatic tumor burden in mice *JSR journal of surgical research* 2004; 120(2): 249-55.
- Keyaerts M, Vanhove C, Caveliers V. Dynamic bioluminescence imaging for quantitative tumour burden assessment using IV or IP administration of D-luciferin: effect on intensity, time kinetics and repeatability of photon emission *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008; 35(5): 999-1007.
- Yiyong T, Hyabei J. Diffuse optical tomography guided quantitative fluorescence molecular tomography. *Appl Opt* 1995; 48: 38-40.
- Sweeney TJ, Mailander V, Tucker AA. Visualizing the kinetics of tumor-cell clearance in living animals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 12044-9.
- Masaki N, Takeshi Y, Shinya K. Monitoring luciferase-labeled cancer cell growth and metastasis in different invivo models *Cancer lett* 2005; 217(2): 243-53.
- Smakman N, Martens A, Kranenburg O. Validation of Bioluminescence Imaging of colorectal Liver Metastases in the Mouse. *Journal of Surgical Research* 2004; 122: 225-30.
- Zain p, Robert A. Bollinger validating bioluminescence imaging as a high-throughput, Quantitative modality for assessing tumor burden molecular imaging 2004; 3(2): 117-24.