

کاربرد بیناب نمایی فروشکست القایی لیزری در آنالیز سرم خون و تشخیص دیابت

مهدی شمخانی^{۱*}، مهسا قزلباش، سید محمد رضا دربانی، ابوالحسن مبشری

چکیده

در این پژوهش، قابلیت روش بیناب نمایی فروشکست القایی لیزری به منظور تشخیص دیابت نوع ۲ به وسیله آنالیز سرم خون افراد مبتلا نشان داده شد. عناصر موجود در سرم خون ناشتای ۲۴ فرد سالم و دیابتی با استفاده از این روش شناسایی شدند. نتایج تحقیق نشان داد که میزان منیزیم و پتاسیم در سرم نمونه دیابتی بسیار پایینتر از میزان آن در سرم نمونه سالم است. در حالیکه در مورد عنصر کلسیم روند معکوس مشاهده گردید. نتایج به دست آمده، کارآمدی این روش را در آنالیز انواع نمونه‌های بیولوژیکی بخوبی نشان می‌دهد. همچنین مطابق نمودارهای پراکندگی بر مبنای شدت خطوط گسیلی $O I$ ، $H I$ ، $Na I$ ، $K I$ ، $Ca II$ ، $Mg II$ و دو گروه سالم و دیابتی از تفکیک پذیری خوبی برخوردار می‌باشند.

کلمات کلیدی: بیناب نمایی، فروشکست القایی لیزر، تشخیص دیابت.

مقدمه

توانستند حضور گونه‌های اتمی و یونی سبک مانند: کربن، هیدروژن، اکسیژن، نیتروژن و تعدادی عناصر فلزی مانند: آهن، کلسیم، سدیم و پتاسیم در بیناب‌های گسیلی از پلاسما القائیده لیزری سطح سرم خون نشان دهند [۳].

دیابت نوعی بیماری مزمن است که با تغییر میزان مواد ریز مغذی همچون منیزیم، کلسیم و پتاسیم همراه است [۴و۵]. این بیماری در اثر عدم تولید انسولین توسط لوزالمعده و یا عدم استفاده بدن از انسولین تولید شده، رخ می‌دهد [۶]. از اصلی‌ترین خطرات ابتلا به این بیماری، اختلال در عملکرد سامانه‌های قلبی-عروقی، مغزی، بینایی و کلیه‌ها به دلیل بالا رفتن قند خون است [۷].

در این مطالعه پس از تهیه سرم خون، بیناب هر کدام از نمونه‌ها با استفاده از روش LIBS ثبت و پس از

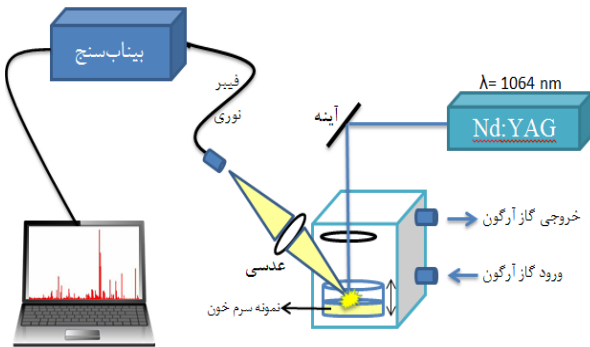
بیناب نمایی فروشکست القایی لیزری^۱ (LIBS) بواسطه داشتن ویژگی‌های منحصر بفردی نظیر قابلیت شناسایی هم‌زمان، سریع و آنی چند عنصری، عدم نیاز به آماده سازی نمونه و همچنین نیاز به مقدار کمی از ماده جهت آنالیز روشی موثر برای تشخیص انواع گونه-های عنصری موجود در یک ماده می‌باشد. با توجه به ویژگی‌های فوق، کاربرد این روش در آنالیزهای پزشکی فراوان می‌باشد [۱و۲]. براساس مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۸ توسط ملیچی^۲ و همکارانش انجام شد، آنها

۱. پژوهشکده علوم و فناوری اپتیک و لیزر، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، اصفهان

1- Laser Induced Breakdown Spectroscopy

2- N. Melikechi, et al

شامل یک لیزر Nd:YAG سوئیچ Q با طول موج ۱۰۶۴ نانومتر، انرژی خروجی ۱۰۰ میلی ژول و پهنای تب 7 ± 2 نانوثانیه می‌باشد. بیناب تولیدی در ناحیه طیفی ۱۸۲ تا ۱۰۵۷ نانومتر با توان تفکیک $0.3/0$ نانومتر ثبت گردید. طرحواره چیدمان LIBS مورد استفاده در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲: طرحواره چیدمان LIBS

بحث و تحلیل نتایج

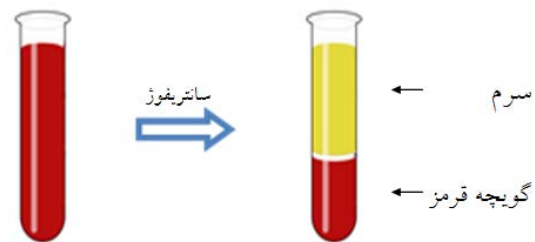
بیناب‌های گسیلی از پلاسمای سطح سرم خون در ناحیه ۱۸۲ تا ۹۷۰ نانومتر توسط طیف‌سنج ثبت شدند. برای کاهش سطح نوفه و افزایش شدت خطوط از گاز آرگون با جریان شارش ثابت استفاده شد. بیناب LIBS سرم خون فرد سالم در شکل ۳ نشان داده شده است. گونه‌های اتمی و یونی عناصر سبک مانند: کربن، هیدروژن، اکسیژن، نیتروژن و تعدادی عناصر فلزی مانند: آهن، کلسیم، منیزیم، سدیم و پتاسیم آشکار سازی شدند. اطلاعات طول موجی مربوط به برخی خطوط اتمی و یونی موجود در سرم در جدول ۱ آورده شده است.

شناسایی عناصر موجود در آنها، به منظور دسته‌بندی و تفکیک نمونه‌های سالم از ناسالم، براساس شدت برخی خطوط اتمی و یونی شاخص نظیر H, O, Mg, Ca, Na و K به مطالعه‌ی نمونه‌ها پرداخته خواهد شد.

ابزار و چیدمان آزمایش

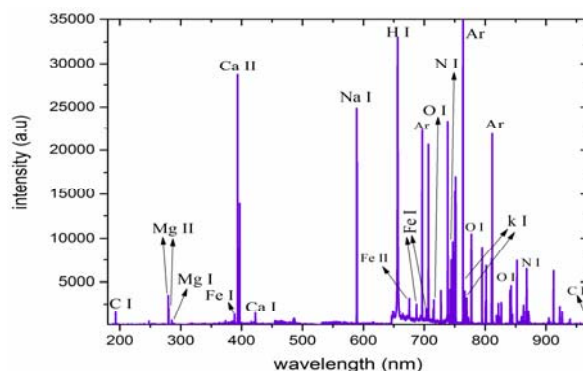
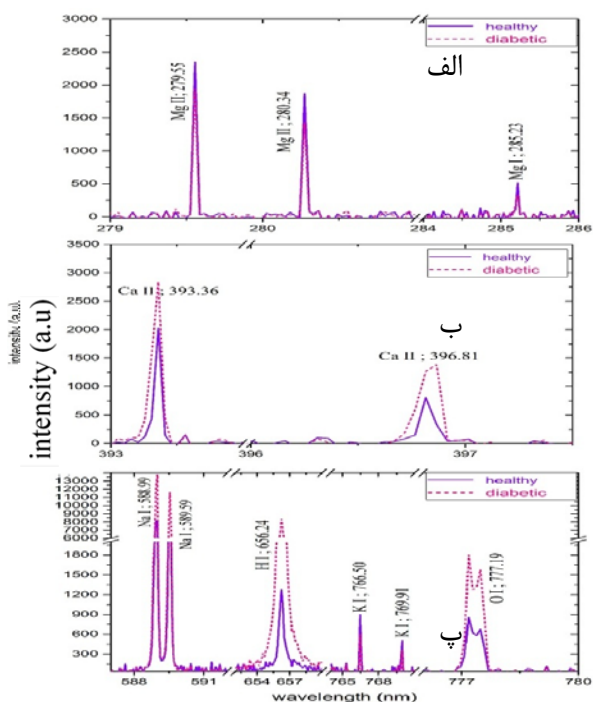
۲۴ نمونه سرم خون سالم و ناسالم با قند خون ناشتای مشخص از آزمایشگاه خون تهیه شدند. همچنین در ادامه اختلاف مقادیر شدت طیفی این دو گروه باهم مقایسه و بررسی گردید.

برای تهیه‌ی سرم، نمونه خون گرفته شده از بیمار توسط دستگاه سانتریفوژ به مدت ده دقیقه با سرعت زیاد تحت چرخش قرار گرفته تا سرم خون (مایع شفاف) از گویچه‌های قرمز (لخته‌ی) آن جدا شود. طرحواره جدا شدن سرم خون از گویچه‌های قرمز آن در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱- طرحواره‌ای از فرآیند سرم خون

تپ خروجی لیزر برای تشکیل پلاسمای لیزری توسط عدسی بر روی سطح سرم خون موجود در سل استوانه‌ای که روی یک پایه متحرک XYZ قرار دارد، کانونی شده و با شکستن پیوندهای مولکولی سطح ماده پلاسمای القایی لیزری ایجاد می‌شود. با جمع‌آوری تابش‌های حاصل از نشر این پلاسمای بواسطه یگانه بودن ترازهای انرژی هر عنصر از آن می‌توان به شناسایی مواد و ترکیبات آلی موجود در نمونه پرداخت [۱۸]. در این پژوهش برای ثبت بیناب LIBS از سامانه LIBSCAN100 ساخت شرکت Applied Photonics استفاده شد. این سامانه



شکل ۳: بیناب LIBS سرم خون فرد سالم در محیط گاز آرگون

جدول ۱: برخی خطوط اتمی و یونی شناسایی شده در سرم [۹]

Element	Wavelength (nm)
Na I	۵۸۸/۹۹-۵۸۹/۵۹
K I	۷۶۶/۵۰-۷۶۹/۹۱
Ca I	۴۲۲/۷۰
Ca II	۳۹۳/۳۶-۳۹۶/۷۸
Mg I	۲۸۵/۲۳
Mg II	۲۷۹/۵۵-۲۸۰/۳۴
Fe I	۳۸۸/۳۲-۶۸۷/۱۸-۷۰۳/۰۲-۸۶۸/۱۲
Fe II	۶۷۵/۴۳
C I	۱۹۳/۰۹-۲۴۷/۸۰-۹۵۶/۸۴
N I	-۷۴۴/۲۲-۷۴۶/۸۳-۸۲۱/۶۳-۸۵۹/۴۰ ۷۴۲/۳۶ -۸۷۰/۳۲-۸۷۱/۱۷-۸۷۱/۸۸-۹۳۹/۲۷ ۸۶۲/۹۲
O I	۷۱۵/۶۷-۷۷۷/۱۹-۸۴۴/۶۷-۹۲۶/۶۰
H I	۴۸۶/۱۰-۶۵۶/۲۴

شکل ۴: شدت خطوط الف- منیزیم ب- کلسیم پ-

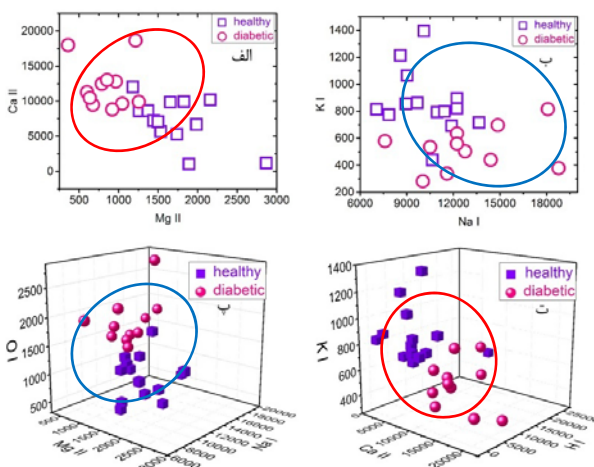
سدیم، هیدروژن، پتاسیم و اکسیژن در نمونه سرم افراد

سالم و دیابتی

علی‌رغم اینکه عنصر منیزیم در فعالیت‌های غدد آدرنال (فوق کلیوی) و ترشح هرمونهای مولد انرژی نقش مهمی ایفا می‌کند، افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ دارای سطح کمتری از این عنصر در خون می‌باشند [۴]. از طرفی کمبود منیزیم باعث تغییر متابولیسم کلسیم می‌شود. همچنین تغییرات مقدار کلسیم به مقدار گلوکز موجود در سرم خون وابسته است، بطوریکه ارتباط مستقیمی بین غلظت یون یکبار یونیده کلسیم و خطر ابتلاء به بیماری دیابت وجود دارد [۵ و ۱۰]. بیماری دیابت خطر ابتلا به انواع بیماری‌هایی نظیر پرفشاری خون و بیماری‌های قلبی-عروقی را افزایش می‌دهد [۷]. کمبود منیزیم باعث کاهش کاذب پتاسیم و در نهایت سبب افزایش نسبت سدیم به پتاسیم خواهد شد و پیامد آن به افزایش فشار خون و افزایش غلظت سدیم سرم منجر خواهد شد [۱۰]. برهم کنش تپ لیزر با سطح سرم خون و تشکیل پلاسمای لیزری سبب ایجاد گونه‌های کربن، هیدروژن و

نمودارهای پراکندگی شکل ۶ (الف-ت) نشان می‌دهند، با استفاده از شدت‌های خطوط گسیلی مربوط به طول موج‌های

K, Ca II:393.36 nm, Mg II: 279.55 nm
و H I: 656.24 nm, Na I:588.99
O I:777.19 به خوبی می‌توان دو گروه سالم و دیابتی را از هم تفکیک نمود.



شکل ۶: نمودار پراکندگی ۲ بعدی از شدت خطوط

(الف) Ca II - Mg II

(ب) K I - Na I و نمودار پراکندگی ۳ بعدی از شدت خطوط

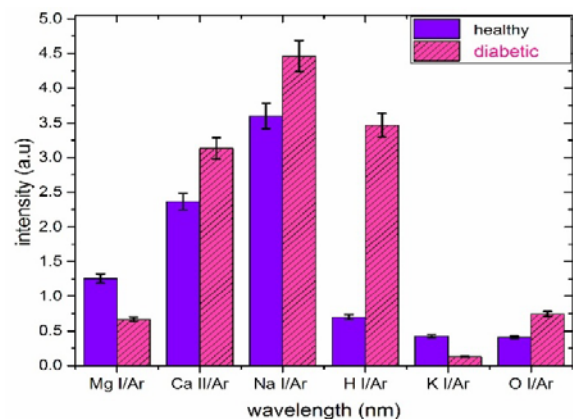
(پ) O I - Na I - Mg II

(ت) K I - H I - Ca II از بیناب LIBS سرم افراد سالم و دیابتی

در شکل ۶ (الف و ب) به ترتیب نمودار پراکندگی ۲ بعدی مربوط به یون Ca II بر حسب یون Mg II و اتم K I بر حسب اتم Na I و همچنین در شکل ۶ (پ و ت) به ترتیب نمودار پراکندگی ۳ بعدی مربوط به داده‌های حاصل از گونه‌های O I - Na I - Mg II و Ca II - H I - K I - رسم گردیده است. با توجه به این که در نمودار پراکندگی ۳ بعدی داده‌های حاصل بر حسب سه عنصر مختلف رسم شده‌اند، مشاهده می‌کنیم داده‌های موجود در نمودار پراکندگی ۳ بعدی از تفکیک پذیری بهتری نسبت به داده‌های نمودار پراکندگی ۲ بعدی بهره‌مند می‌باشند [۱۱].

اکسیژن می‌شود که با توجه به بالا بودن میزان گلوکز (قند) ($C_6H_{12}O_6$) در سرم فرد دیابتی، شدت خطوط نشری این گونه‌ها در نمونه دیابتی دارای مقادیر بالاتری نسبت به نمونه فرد سالم می‌باشد. به دلیل شدت ضعیف نشر عنصر کربن در فاز مایع سرم تشخیص آن برای ما در این تحقیق تقریباً غیر ممکن بود. مطابق شکل ۴ (الف-پ) شدت گسیل حاصل از گونه‌های اتمی و یونی کلسیم، هیدروژن و اکسیژن در فرد دیابتی بیشتر از فرد سالم می‌باشد و گونه‌های اتمی و یونی منیزیم و پتاسیم در فرد سالم بیشتر از فرد دیابتی است که با استدلال فوق همخوانی دارد.

مقایسه‌ای از تغییرات شدت خطوط LIBS سرم خون نمونه سالم و فرد مبتلا به دیابت نسبت به طول موج Ar: 763.57 در نمودار شکل ۵ نشان داده شده است.



شکل ۵: مقایسه شدت خطوط LIBS سرم خون نمونه سالم با دیابتی

به منظور دسته‌بندی نتایج به بررسی نمودار پراکندگی برخی از عناصر دخیل در بیماری دیابت پرداخته شده است. از آنجایی که در بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری با حجم زیادی از داده‌ها روبرو هستیم، استفاده از نمودار پراکندگی و بررسی داده‌ها برای افزایش دادن سرعت تحلیل آنها می‌تواند بسیار مفید باشد [۱۱ و ۱۲].

نتیجه گیری

های خطوط گسیلی مربوط به عناصر مختلف در دو گروه سالم و دیابتی از تفکیک پذیری خوبی برخوردار می-باشند.

سپاسگزاری

از آزمایشگاه تشخیصی-طبی درمانگاه تخصصی امام حسین (علیه السلام) شاهین شهر صمیمانه قدردانی و سپاسگزاری می‌کنیم.

منابع

- [1] Kumar Singh] V., and Kumar Rai A.; "Prospects for laser induced breakdown spectroscopy for biomedical applications: a review."; *Lasers in medical science* **26.5** , 2011, PP. 673-687
- [2] Vivek K., et al; "Importance of laser induced breakdown spectroscopy for biomedical applications: a comprehensive review"; *Materials Focus* 3.3, 2014, PP. 169-182
- [3] Melikechi N., et al; "*Laser-induced breakdown spectroscopy of whole blood and liquid organic compounds*"; *Biomedical Optics*, International Society for Optics and Photonics, 2008
- [4] Nsonwu A. C., et al; "*Glycemic control and serum and urine levels of zinc and magnesium in diabetics in Calabar, Nigeria*"; *Pakistan J Nutr* **5.1**, 2006, PP. 75-8
- [5]. Barbagallo M, et al; "*Effects of Aging on Serum Ionized and Cytosolic Free Calcium Relation to Hypertension and Diabetes*"; *Hypertension* **34.4** , 1999, PP. 902-906
- [6] David M., et al; "*Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes*"; "*Diabetes care* **32.1** , 2009, PP. 193-203

در این پژوهش از روش بیناب نمایی فروشکست القایی لیزری (LIBS) جهت شناسایی عناصر موجود در سرم خون نمونه‌های سالم و دیابتی، استفاده شد. نتایج حاصل نشان داد که نمونه خون افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ دارای سطح کمتری از عنصر منیزیم می‌باشد. کمبود منیزیم در نمونه دیابتی دیده شد که اثر قابل توجهی در تغییرات متابولیسم کلسیم داشته و به مقدار گلوکز موجود در سرم خون نیز وابسته است. در حالیکه این روند برای یون یکبار یونیده کلسیم معکوس است. شدت-

[۷] عمرانی‌رنجبر، سوید غلامحسین ؛ « عوارض مزمن دیابت ». مجله دیابت و لیپید ایران، سال ۱۳۸۳، شماره ۳، صفحه ۱۲۷-۳۴.

[8] D. A. Cremers; "*Handbook of Laser Induced Breakdown Spectroscopy*"; Chichester: wiley, (2006).

[9] http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines_form.html

[۱۰] شهدادی، حسین و همکاران ؛ « ارزیابی سطح سرمی منیزیم در بیماران دیابتی نوع دو ». مجله پرستاری دیابت، سال ۱۳۹۳، شماره ۲، صفحه ۶۲-۵۲

[11] Jorge S., et al; "*Advanced recognition of explosives in traces on polymer surfaces using LIBS and supervised learning classifiers*"; *Analytica chimica acta* **806** , 2014, PP.107-116.

