



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



بررسی خواص اپتیکی گلبول قرمز سالم و مبتلا به تالاسمی

هستی فریبرز^۱، سلمان مهاجر مازندرانی^{۱،۲*}، محمد حسین مجلس آرا^{۱،۲}

^۱آزمایشگاه بیوفوتونیک، دانشکده فیزیک، دانشگاه خوارزمی، کرج

^۲پژوهشکده علوم کاربردی، دانشگاه خوارزمی، کرج

Ha.fariborz@gmail.com, *mohajer@khu.ac.ir, majlesara@gmail.com

چکیده - تشخیص بیماری از روی اختلال سلول‌های زیستی یکی از مهمترین موضوعات مورد توجه محققین بین رشته ای است. روش‌های بسیاری برای مطالعه‌ی سلول‌های زیستی وجود دارد که روش‌های اپتیکی از غیرتهاجمی‌ترین و دقیق‌ترین آن‌هاست. در این مقاله شاخص‌های اپتیکی بافت خون فرد سالم و بافت خون بیماران تالاسمی با هدف تمایز دادن بررسی شده است. نمونه‌های خون روی لام شفاف ثابت شده و تحت تابش نور لیزر با طول موج ۵۳۲ نانومتر قرار گرفته و چگالی اپتیکی، تغییر فاز غیرخطی و ضریب شکست غیرخطی همه نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان دادند که نمونه‌های خونی سالم و بیمار دارای رفتار غیرخطی اپتیکی واضحی هستند. تغییر فاز غیر خطی نمونه‌های سالم بطور میانگین کمتر از نمونه‌های بیمار بود.

کلید واژه- گلبول قرمز، روبش محوری، چگالی نوری، ضریب شکست غیرخطی

Investigation of optical properties of healthy and thalassemic erythrocyte

Hasti Fariborz¹, Salman Mohajer Mazandarani^{1,2,*}, Mohammad Hossein Majles Ara^{1,2}

¹Biophotonics laboratory, Physics department, Kharazmi University, Karaj

² Applied Science Research Center, Kharazmi University, Karaj

Abstract- Diagnosis of the disease from biomedical disorder is one of the most important issues for interdisciplinary researchers. There are many methods for studying biological cells; the most non-invasive and precise are optical methods. In this research, the optical parameters of the blood of healthy persons and thalassemia patients have been investigated to find differences between them. Blood samples were fixed on a transparent slide and irradiated with 532 nm laser light and optical density, nonlinear phase shift and nonlinear refractive index of all samples were measured. The results showed that healthy and patient blood samples had evident nonlinear optical behaviour. The nonlinear phase change of the healthy samples was, on average less than the patient samples.

Keyword – Erythrocyte, Z-Scan, Optical Density, Non-Linear Refractive Index

مقدمه

گلبولهای قرمز یکی از عناصر اصلی خون و صفحاتی مقعرالطرفین هستند که شکل ویژه‌ی آنها، نسبت سطح به حجم را افزایش می‌دهد و بدین ترتیب تبادل اکسیژن و دی‌اکسید کربن را تسهیل میکند. گلبول‌های قرمز فاقد هسته و حاوی پروتئین حامل اکسیژن یعنی هموگلوبین هستند. [1] تالاسمی یکی از بیماری‌های نقص ژنتیکی خون است که بر اساس عدم وجود و یا کاهش تولید زنجیره‌ی گلوبین به وجود می‌آید و بر همین اساس دسته‌بندی می‌شود. سندروم تالاسمی از عدم تعادل در نسبت زنجیره‌های گلوبین α و β ایجاد می‌شود که این عدم تعادل باعث اختلال در فعالیت گلبول‌های قرمز می‌شود. زنجیره‌های گلوبین ناپایدار بیماران تالاسمی دارای اندازه و بار الکتریکی متفاوتی از افراد سالم هستند و عدم قابلیت اتصال آنها به همدیگر و حضور آنها در نسبت‌های غیر طبیعی، منجر به تغییر شکل گلبول‌های قرمز و عدم شکل‌پذیری آن می‌شود. خاصیت شکل‌پذیری در عملکرد اصلی گلبول قرمز، یعنی تبادل اکسیژن و دی‌اکسید کربن نقش کلیدی دارد و اختلال در شکل‌پذیری در سندروم تالاسمی منجر به گیر افتادن و از بین رفتن گلبول‌های قرمز در طحال و در نهایت کم‌خونی می‌شود. همچنین تغییرات در اندازه و سائز گلبول‌های قرمز در سندروم تالاسمی دیده می‌شود. [2] در بین روش‌های اپتیکی، تابحال از پراکندگی اشعه ایکس برای دسته‌بندی نمونه‌های خونی تالاسمی و از روش فلوسیتومتری کمی برای اندازه‌گیری مقدار گلبول قرمز در داخل رگ‌ها استفاده شده است. [3][4]

تئوری

ضریب شکست غیر خطی مواد متقارن با توجه به شدت تابش فرودی تغییر میکند.

$$n = n_0 + n_2 \quad (1)$$

که n ضریب شکست کل و n_2 ضریب شکست غیر خطی مرتبه ی دوم و I شدت تابش است. همچنین جذب مواد به صورت زیر نمایش داده می‌شود:

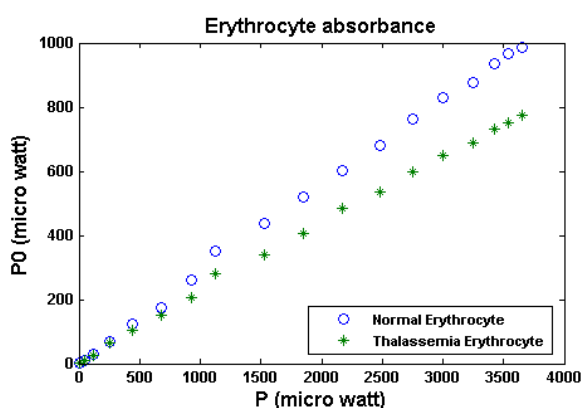
$$\alpha_t = \alpha + \beta I \quad (2)$$

که α_t جذب کل و α جذب خطی و β جذب غیرخطی است. در روش روبش محوری نمونه در جهت محور اپتیکی از منطقه ی کانونی می‌گذرد. قطر پرتو با فاصله از کانون تغییر میکند پس شدت خروجی بر حسب فاصله تغییر میکند. شدت نور بالا در منطقه ی کانونی باعث القا پاسخ های نوری غیر خطی مانند جذب دو فوتونی یا شکست غیر خطی خواهد شد. تابع توزیع گاوسی، تابع مرسوم میدان فرودی است که گرادیان شدت در تابع گاوسی باعث می‌شود که نمونه شدت های مختلفی را فواصل شعاعی تجربه کند و به محیطی با ضریب شکست های مختلف تبدیل شود. هر جبهه موج با عبور از محیط دچار تغییر فاز میشود. اندازه این تغییر فاز به طول موج نور، ضریب شکست محیط و طول آن بستگی دارد. در یک نمونه غیر خطی ضریب شکست وابسته به شدت است پس هر نقطه از نمونه تغییر فازی متناسب با شدت دریافتی از جبهه موج گاوسی نشان میدهد. در روش روبش محوری در حالت دریچه بسته یک روزنه تنها پرتوهای بخش محوری را عبور میدهد (قسمت بیشینه تابع گاوسی) با حرکت دادن نمونه در راستای محور روبش شدت ورودی به آشکارساز تغییر کرده و ثبت می‌شود و میتوان تغییر فاز و ضریب شکست غیر خطی را محاسبه کرد.

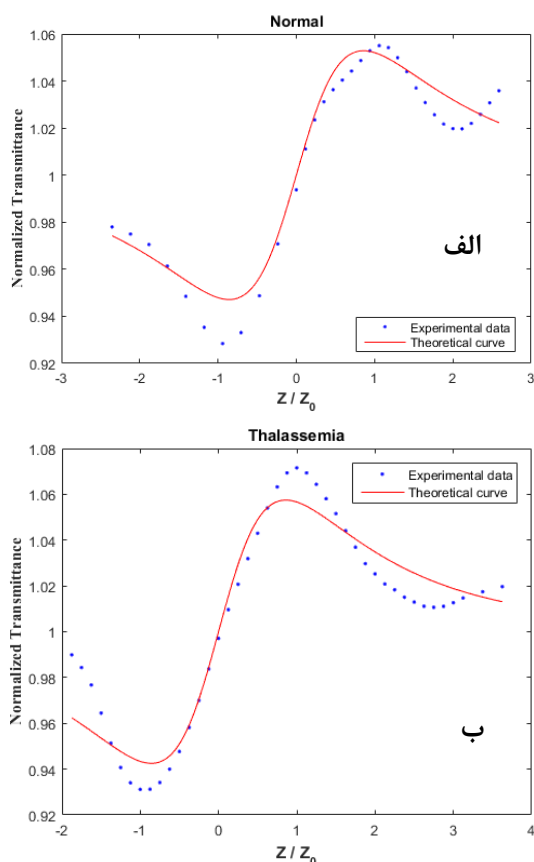


شکل ۱: تصویر چیدمان روبش محوری استفاده شده برای محاسبه ضریب شکست

بدست آورده شد. همچنین داده ها تابع عبور بهنجار شده از چیدمان روبش محوری دریاچه بسته بدست آمد و با برازش تابع نظری نمودار برروی داده ها اختلاف قله و دره در مورد نمونه های سالم و بیمار محاسبه و از روی آن تغییر فاز غیر خطی و ضریب شکست غیر خطی محاسبه شد.



شکل ۳: نمودار توان دریافتی دکتور در حضور و عدم حضور نمونه برای گلبول های سالم و بیمار تالاسمی



شکل ۴: نمودار تابع عبور بهنجار شده روبش Z دریاچه بسته و برازش انجام شده (الف) نمونه سالم و (ب) بیمار تالاسمی

در این روش ضریب شکست غیر خطی نمونه ها را با استفاده از معادله ی زیر بدست می آوریم:

(۳)

$$n_2 = \frac{\lambda \Delta T_{P-V}}{2\pi L_{eff}(0.406)(1-S)^{0.25} I_0}$$

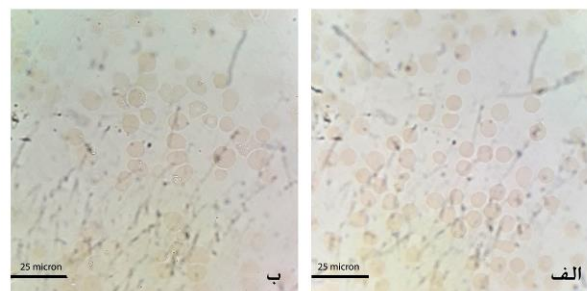
که در آن I_0 بیشینه شدت در کانون عدسی و S ضریب عبور روزنه است که در این آزمایش 0/105 است.

α و L_{eff} به ترتیب ضریب جذب خطی و ضخامت موثر نمونه هستند و L ضخامت نمونه است. [۵]

$$L_{eff} = \frac{1-e^{-\alpha L}}{\alpha} \quad (4)$$

مواد و روش ها

از یک قطره از نمونه های خون بیماران تالاسمی لکه ی خونی بر روی لام تهیه شد و بعد از خشک شدن لکه خون از چند قطره متانول برای ثابت کردن شکل گلبول ها استفاده شد. نمونه های بدست آمده در زیر میکروسکوب بررسی شدند و محدوده هایی با تراکم نسبتا همگن برای انجام آزمایش علامت گذاری شدند.



شکل ۵: تصویر نمونه آماده شده از گلبول ها در زیر میکروسکوپ، (الف) نمونه سالم و (ب) بیمار تالاسمی، مقیاس هردو تصویر یکسان است.

اندازه گیری اپتیکی

ابتدا برای بدست آوردن جذب خطی نمونه ها با استفاده از یک قطبشگر مقادیر توان فرودی را تغییر دادیم و مقادیر دریافتی آشکارساز در عدم حضور نمونه اندازه گیری شد و با همان ترتیب توان دریافتی در حضور نمونه اندازه گیری شد نمودار توان در حضور نمونه بر توان در عدم حضور نمونه با نرم افزار متلب رسم شد و شیب خط با استفاده از برازش

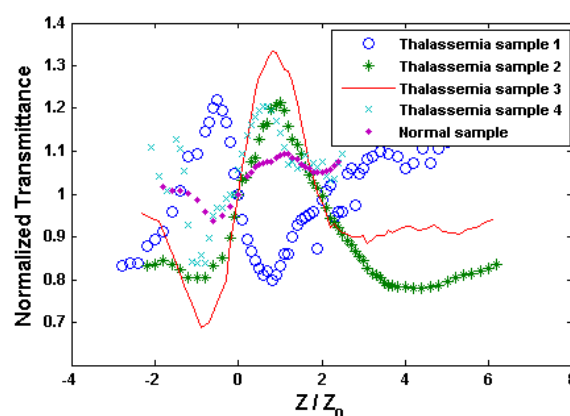
نمونه‌های سالم و بیمار همگی از مرتبه‌ی $10^{-6} \text{ cm}^2/\text{W}$ اندازه‌گیری شدند ولی تغییر فاز غیر خطی نمونه‌های سالم بطور میانگین کمتر از نمونه‌های بیمار بود. با توجه به کثرت و تفاوت بافت خونی هر فرد این بررسی نیاز به تعداد نمونه‌های بیشتری برای یافتن الگوی مشخص دارد.

سپاسگزاری

از سازمان انتقال خون ایران بابت همکاری تشکر می‌شود.

مراجع

- [1] ش. نظری، درسنامه خون. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی.
- [2] بسته جامع خدمات درمانی در بیماران تالاسمی. وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی، معاونت سلامت، مرکز مدیریت پیوند و بیماری‌های خاص.
- [3] K. Pattanapanyasat *et al.*, "Flow Cytometric Quantitation of Red Blood Cell Vesicles in Thalassemia," vol. 31, no. September 2003, pp. 23–31, 2004.
- [4] O. S. Desouky, W. M. Elshemey, and N. S. Selim, "X-ray scattering signatures of β -thalassemia," *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. A Accel. Spectrometers, Detect. Assoc. Equip.*, vol. 607, no. 2, pp. 463–469, 2009.
- [5] C. Techniques, O. Nonlinear, M. G. Kuzyk, C. W. Dirk, and E. W. Van Stryland, "Z-Scan Measurements of Optical Nonlinearities," no. 3, pp. 655–692, 1998.



شکل ۵: نمودار توابع عبور بهنجار شده روبش محوری درپچه بسته تمام نمونه‌ها

نمونه	OD	$ n_2 $ ($\times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{W}$)	$ \Delta\Phi_0 (\text{rad})$
بیمار ۱	$1/14 \pm 0/01$	$4/22 \pm 0/05$	$0/77 \pm 0/01$
بیمار ۲	$1/56 \pm 0/01$	$9/22 \pm 0/05$	$0/69 \pm 0/01$
بیمار ۳	$0/94 \pm 0/01$	$7/85 \pm 0/05$	$1/28 \pm 0/01$
بیمار ۴	$1/78 \pm 0/01$	$1/93 \pm 0/05$	$0/50 \pm 0/01$
سالم	$1/28 \pm 0/01$	$3/82 \pm 0/05$	$0/26 \pm 0/01$

جدول ۱: نتایج ضریب شکست و اختلاف فاز و چگالی نوری نمونه‌های خونی بیمار تالاسمی و سالم

نتیجه‌گیری

یافتن پارامترهای مناسب اپتیکی می‌تواند منجر به روش تشخیصی مناسبی برای جایگزین کردن روش‌های بیوشیمیایی موجود باشد. در این بررسی گلبول قرمز بخاطر ساختار ساده و بدون هسته برای مطالعه مناسب تشخیص داده شد و در بین بیماری‌های خونی گلبول قرمز تالاسمی، با توجه به شیوع در منطقه خاورمیانه، انتخاب شد. چگالی اپتیکی، تغییر فاز غیرخطی و ضریب شکست غیرخطی همه نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و نتایج نشان دادند که نمونه‌های خونی سالم و بیمار دارای رفتار غیرخطی اپتیکی واضحی هستند. مقادیر چگالی اپتیکی برای بیماران بین ۰/۹۴ تا ۱/۷۳ متغیر بود ولی برای نمونه سالم به طور میانگین ۱/۳۱ بود همچنین مقادیر ضریب شکست غیر خطی