

استخدام ليزر شبه الموصل في حساب تركيز الهيموغلوبين وإنزيم GOT في مصل الدم

عبد الرحمن رشيد محمد مراد*

تاريخ الاستلام: 2007/12/2

تاريخ القبول: 2008/8/7

الخلاصة

استخدم ليزر شبه الموصل Diode Laser بطول موجي 532nm وبقدرة 1 m W في إجراء تحليل الهيموغلوبين Hemoglobin وكذلك في حساب فعالية إنزيم GOT في الدم . بدلا من جهاز المطياف الذي يستخدم الضوء الاعتيادي .

Using Diode Laser for Determination of Hemoglobin and GOT in Blood

Abstract

In this work , Semiconductor Laser Diode (SLD) emitting at 532nm wavelength and 1 mW power was used to detect and analyze the Hemoglobin and GOT in Blood instead of Spectrophotometer.

عام 2001 قدم بحث عن استخدام شبه الموصل في تحليل بعض مركبات الدم [5]. وفي عام 2002 قدم بحث ايضا عن استخدام ليزر شبه الموصل في تحليل بعض مركبات الدم.

النظري Theoretical Part

عندما يمر ضوء احادي الطول الموجي monochromatic خلال محلول فان جزء من الضوء سوف يمتص وفق قانون لامبرت - بيير Lambert – Beers Law والذي يعطى بالعلاقة التالية(1) وكما موضح في الشكل (1).

$$I = I_0(e)^{-kct} \dots\dots(1)$$

حيث ان :

I: شدة الضوء النافذ

I₀: شدة الضوء الساقط

t: سمك الخلية (طول مسار الضوء داخل المحلول)

c: تركيز النموذج

k: ثابت

من تعريف الامتصاصية Absorbance (A) وتعريف النفاذية Transmittance (T)

$$T = I / I_0 \dots\dots(2)$$

$$A = -\log T \dots\dots(3)$$

المقدمة

يعد استخدام الليزر في مجالات تحليلات الدم السريرية ذو اهمية كبيرة وذلك لما تمتاز به اشعة الليزر من مواصفات مثل احادية الطول الموجي والشدة والاتجاهية العالية [1] . ويعد تحليل الهيموغلوبين من التحاليل المهمة في الدم نظرا لاهميته السريرية في الجسم [2] , وعادة تجرى تحاليله باستخدام جهاز المطياف Spectrophotometer الذي يستخدم الضوء العادي . وقد تمكن الباحثون عام 1979 من استخلاص وتنقية وبلورة اكثر من 150 انزيم . وتنقية 600 انزيم من بين اكثر من 1000 انزيم توجد في بعض خلايا الاحياء المجهرية [15] .

وفيما يخص الابحاث الحديثة لاستخدام الليزر في مجال تحليل الدم فقد تمكن الباحث Borisenko في عام 1977 من دراسة التأثيرات الكيميائية - الضوئية للهيموغلوبين من خلال تشعيهه بليزر ذي قدرة واطئة [3] , وفي عام 1998 قدم بحث عن استخدام ليزر هليوم نيون بطول موجي 632nm وبقدرة 1 mW في تحليل بعض مركبات الدم [14]. وفي عام 2000 قدم بحث عن استخدام ليزر الاركون بطول موجي 514-488 nm وبقدرة 1mW في تحليل بعض مركبات الدم [4] . وفي

حيث ان (E) ثابت يمثل معامل الامتصاص المولارى وهو قانون بير-لمبرت

فمن معرفة امتصاصية نموذج يمكن حساب تركيزه وفقا للمعادلة اعلاه .

$$A = Ect \quad \dots\dots\dots (4)$$

الهيموغلوبين Hemoglobin

هو الذي يعطي الدم لونها الاحمر والموجود في كريات الدم الحمر بشكل مزيج من Oxy Hemoglobin مع كمية من Methaemoglobin , Sulfahaemoglobin , ويعرف عادة بخضاب الدم. وللهموغلوبين اهمية سريرية كبيرة, فمثلا زيادة الهيموغلوبين عن الحد الطبيعي يؤدي الى زيادة لزوجة الدم الدائر في الجسم وظهور اعراض مرضية مثل ارتفاع ضغط الدم وعجز القلب اما نقصانه فيؤدي الى فقر الدم. وتتراوح القيم الطبيعية للشخص البالغ بين (13-18 g/100 ml) [2].

تثبيت النموذج والذي يسمح بمرور الضوء عبر الخلية دون تغيير في الزوايا، واستخدمت خلايا نوع كوارتز Quartz حيث تكون ذات نفاذية عالية للطوال الموجية في المنطقة المرئية .

3-الكاشف السليكون Silicon Detector يعمل الكاشف على تحويل الاشعة الضوئية النافذة من النموذج الى اشارة كهربائية وتعتمد شدة الاشارة الكهربائية على شدة الضوء النافذ من النموذج والذي بدوره يعتمد على تركيز النموذج . حيث تكون الاشارة الكهربائية دالة للتركيز . والكاشف المستخدم نوع (RS BPW 21) المنشأ والمواصفات :

أ . قمة استجابة الطيف Peak 556nm Spectral Response

ب . مدى الاطوال الموجية Wavelength 460-750 nm Rang

ج . تيار الظلام 2 nAmp Dark Current

4- مقياس الامتصاصية / النفاذية Absorbance/Percent Transmittance Meter

عمل المقياس على تحويل الاشارة الكهربائية المسجلة من الكاشف دالة نفاذية النسبية والامتصاصية وبذلك يمكن قراءة امتصاصية النموذج مباشرة.

مبدأ عمل المنظومة الليزرية وطريقة القياس:

إن مبدأ عمل المنظومة يعتمد على قياس الامتصاصية الحاصلة من قبل النموذج والتي بدورها دالة للتركيز ويتبع القياس وفقا للخطوات التالية :

- 1- يشغل كل من المصدر الليزري وجهاز الامتصاصية / النفاذية النسبية .
- 2- نضع محلول الكفاءة Blank (محلول التحضير او التفاعل او المذيب) .
- 3- نضع محلول القياس Standard (وهو محلول ذو تركيز معلوم) وتسجل امتصاصيته
- 4- نضع النموذج المجدول Sample (محلول مجهول التركيز) وتسجل امتصاصيته.

انزيم (GOT) Glutamic-bOxaloacetic Transaminase

يوجد انزيم (GOT) بصورة عامة في عدد من الانسجة الموجودة في جسم الانسان وفي بلازما الدم والمادة الصفراء وفي سائل النخاع الشوكي , ومن المصادر الرئيسية لانزيم (GOT) هو في مصلى الدم وعضلة القلب والتي تعتبر غنية باكبر التراكم من الانزيم. كما وان الكبد والكلى تحتوي على كميات فعالة من الانزيم [18],[17]. وان نقص انزيم (GOT) في جسم الانسان يؤدي الى ضعف وعجز عضلة القلب [10]

الجزء العملي Practical part

المنظومة الليزرية المستخدمة Laser System:

صممت المنظومة ليزرية بسيطة لاجراء تحاليل الهيموغلوبين وانزيم GOT والموضحة في الشكل (2) والتي تتركب من الاجزاء التالية:

- 1- المصدر الليزري Laser Source استخدم ثنائى الباعث الليزري Diode Laser بطول موجي 532nm وبقدرة 5mw نوع Class 111B موديل 21CFR Part 1040 . 10 المصنع من قبل شركة Transverse Industrial CO . L T D . Taiwan
- 2- حامل نموذج الخلية Cell Sample Holder صمم ماسك متحرك يعمل على

2- يبين الجدول (3) النتائج المحسوبة بواسطة الليزر ومقارنتها بالنتائج المحسوبة بواسطة المطياف لنفس العينات للنماذج المأخوذة من المستشفى لكلا الجنسين ولمختلف الأعمار وتحت نفس الظروف. والجدول (4) لانزيم GOT وكانت النتائج ضمن النتائج المسموح بها طبيًا .

3- يبين الشكل (5) العلاقة بين الامتصاصية والتركيز لعدد من العينات المقاسة باستخدام الليزر ويلاحظ إن العلاقة بينهما علاقة طردية خطية وهذا ما يتفق مع قانون بيير الذي ينص على أن العلاقة بين الامتصاصية والتركيز هي علاقة خطية بالنسبة للهيموغلوبين. ويبين الشكل (6) العلاقة بين الامتصاصية والفعالية لانزيم GOT.

4- يبين الشكل (7) العلاقة بين التراكيز المحسوبة بواسطة الليزر ومقارنتها بجهاز المطياف لعدة عينات من نماذج تحليل الهيموغلوبين . ويلاحظ من الشكل ان العلاقة بينهما هي علاقة خطية وهذا يؤدي الى توافق النتائج

5- يبين الشكل (8) العلاقة الخطية بين نتائج فعالية انزيم GOT بواسطة منظومة الليزر والمطياف والشكل (9) يبين العلاقة الخطية بين امتصاصية النماذج في منظومة الليزر والمطياف لـ GOT ولوحظ ان الامتصاصية تزداد بزيادة تركيز النموذج وان العلاقة بينهم علاقة خطية وهذا يؤدي الى توافق النتائج مع قانون بيير أيضا.

الاستنتاجات Conclusion

وجد إن هناك إمكانية لاستخدام ثنائي الباعث الليزري Diode Laser بطول موجي 532nm وبقدرة 1mW في تحليل الهيموغلوبين وانزيم GOT في الدم وذلك لاتفاقه مع قمة الامتصاص لهذه النماذج

5- من تركيز النموذج القياسي المعطى يمكن حساب تركيز النموذج المجهول المقارن وفقا للعلاقة (5) الموجودة في الجدول (1).

تحضير النماذج Preparation Sample

تؤخذ العينات من المرضى المصابين بأمراض هيموغلوبين الدم من المستشفى لكلا الجنسين ولمختلف الأعمار والحالة المرضية وذلك بسحب الدم منهم ووضعها في انابيب تحتوي على مادة مانعة للتخثر بدرجة حرارة الغرفة ويتم تحضيرها كما في الجدول (1) الهيموغلوبين والجدول (2) أنزيم GOT [8].

رسم أطيف الامتصاص ومقارنة النتائج

يستخدم جهاز المطياف نوع (CECIL - C7200) فرنسي المنشأ ، يرسم طيف الامتصاص للهيموغلوبين وانزيم GOT قبل المقارنة وذلك للتأكد من مدى مطابقة الطول الموجي لليزر المستخدم مع قيمة امتصاص النموذج ، ويتم حساب تراكيز العينات بواسطة جهاز المطياف (Spectrophotometer) ومن ثم تحسب بواسطة جهاز الليزر لنفس العينات وتحت نفس الظروف وتتم المقارنة بين القراءتين بحساب الانحراف المعياري النسبي R % . S. D لكل عينة والذي يعطى بالعلاقة التالية (6). [9]

$$R.S.D\% = \left| \frac{x_i - x'_i}{x_i} \right| \times 100\% \dots\dots\dots (6)$$

حيث : X_i = القراءة المحسوبة بواسطة الليزر .

x'_i = القراءة المحسوبة بواسطة المطياف .

النتائج والمناقشة

1- يبين الشكل (3) طيف الامتصاص لنموذج تحليل الهيموكلوبين والذي يمثل العلاقة بين الامتصاصية والاطوال الموجية المختلفة. والشكل (4) لانزيم GOT.

Reference

- [1]. Orazio Svello "Principles of laser " 2 nd edition 1988.
- [2]. Norbert W.Tiets " Fundamentals of Clinical Chemistry " 2 nd edition 1976.
- [3]. Borisenko " Biochemistry-Mose" , NO.6, 611. (1997).
- [4]. AL-Dulaimy H..A.S.Doctor Thesis"Constructor an application of Laser System for identification of Blood Constituents "(200) .
- [5]. AL –L uhaiby A.K.MSC.Tesis"Measurement of Activity and Concentration Of some Blood Constituent by Using Laser SYSTEM 2001
- [6].Harold Harler ,Alan H.Growen lock "Practical Clinical Biochemistry.V.2,5th Edition 138,(1980) .
- [7]. Harris , Kratochwl"An Introduction to Chemical analysis"Saunders College Publishing p. 381. (1981).
- [8]. Brit.J.Haemat."International Committee for Standardisation in Hematology 13,71,(1967).
- [9]. Glenn F.Knoll.'Radiation and Detection and Measurement"John Wilky(1974)
- [10]. Yang.V.S, (micro electronics Devices) . p. 743 (1981) .
- [11]. Ronaldc.Deuney.Visible and Ultraviolet spectroscopy.john wiley and sons1987
- [12].Doyglas A.skoog.principles of instrumental Analysis,S.University3edition1988
- [13]. Jin-L-LJ Wang-T,Li-sf electrophoresis vol.20a (1999)
- [14]. Shwiek A M Msc thesis laser system for clinical analysis of some blood Cont, (1998) .
- [15]. الانزيمات المايكروبية والتقنيات الحيوية د. خاف صوفي الدليمي 1999
- [16]. قياس تراكيز بعض مكونات الدم باستخدام الليزر عبد الرحمن خلف علي اللهيبي الجامعه المستنصرية عام 2002
- [17]. بيلا لينكل ترجمة فاروق 1986 عبودي قصيرة (الليزرات) جامعة الموصل
- [18]. Penpham (the light measurement company) England, Catalog (1988)

الجدول (1) نموذج الهيموغلوبين. ملاحظة: 1- إن Reagent: هي المادة التي تتفاعل مع النموذج وتعطى اللون وتعرف بالمذيب أو الكفاء Blank ويتم تصفير الجهاز بها . 2- تم اخذ تركيز النموذج القياسي من المستشفى الذي تم التحضير فيه وقيمته (15 mg / 100 ml)

Procedure		Randox	
Wavelength		(520-650)nm 546nm	
Zero Adjustment		Reagent (20-25)	
Temperature			
Solution	Sample	Standard	B lank
Sample	10 ML	-	-
Standard	-	10 ML	-
Reagent	1 ml	1ml	1ml
Mix incubate, measure after 10 minutes at 25.			
Calculation:-			
$C = \frac{A_{sample}}{A_{standard}} \quad C_{standard} \dots \dots \dots (5)$			
C standard= 15 mg/100ml			

الجدول (2) نموذج أنزيم GOT

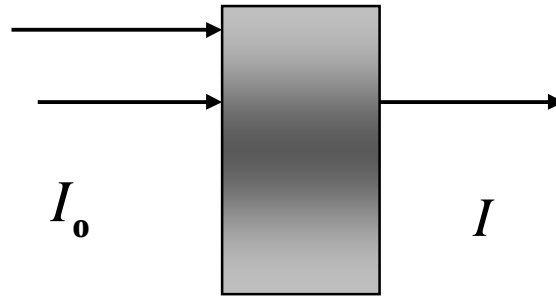
Wave length:-	Mg 546nm (530nm – 550nm)	
Cuvette:-	1cm light Path	
Incubation temperature:-	37C°	
2.1 Measurement against Reagent Blank		
Pipette into test tubes:-		
	Reagent Blank	Sample
Samble	0.5 ml	0.1 ml
GOT Buffer	0.5 ml	
Distilled Water	0.1 ml
Mix , Incabate for exactly 30 min at 37C°		
2.4 – Dinitrophenylhydrazine	0.5 ml	0.5 ml
Mix , allow to stand for exactly 20 min at 20 to 25 C°		
Sodium Hydroxide	5.0 ml	5.0 ml
Mix , read the Absorbance of samle (A _{sample}) against the reagent blank after 5 min		

الجدول (3) النتائج المحسوبة بواسطة الليزر وجهاز المطياف للهيموغلوبين

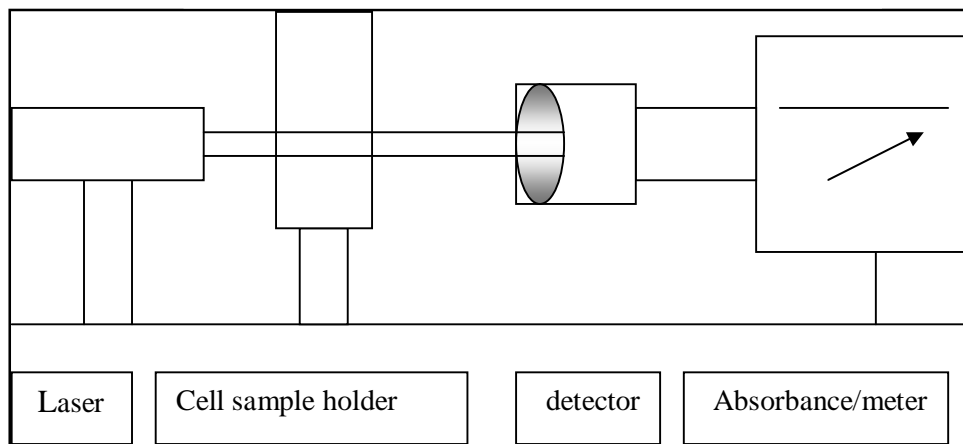
Sam ples	Obtained by Spectrophotometer		Obtained by Laser		RSD(%)
	A	C(mg/dI)	A	C(mg/dI)	
St.	0.42		0.40		
1	0.60	21.42	0.54	20.25	5.7
2	0.38	13.5	0.37	13.80	2.2
3	0.54	19.28	0.46	17.25	11.7
4	0.39	13.92	0.30	11.25	23.7
5	0.21	7.50	0.22	8.25	9
6	0.28	10	0.25	9.37	2.4
7	0.20	7.14	0.17	6.37	12
A= absorbance C= concentration dI= 100 ml					

الجدول (4) النتائج المحسوبة بواسطة الليزر وجهاز المطياف لأنزيم GOT

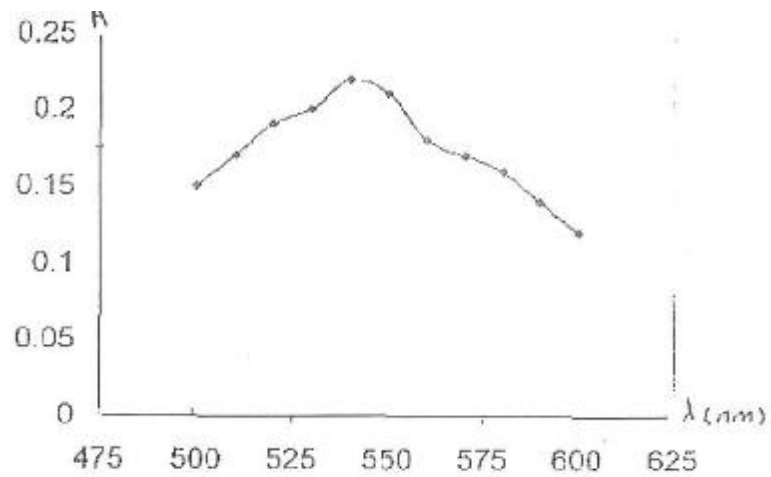
Sample	Spectrophotometer		Laser system		R.S.D %
	Asp.	Activity (U/I)	L.S.S	Activity (U/I)	
S1	0.27	17.5	0.22	14.5	17.142
S2	0.31	19.5	0.28	17.5	10.256
S3	0.32	21	0.31	20	4.761
S4	0.40	27	0.38	25.5	5.555
S5	0.38	25.5	0.35	23	9.803
S6	0.93	26	0.40	27	3.846



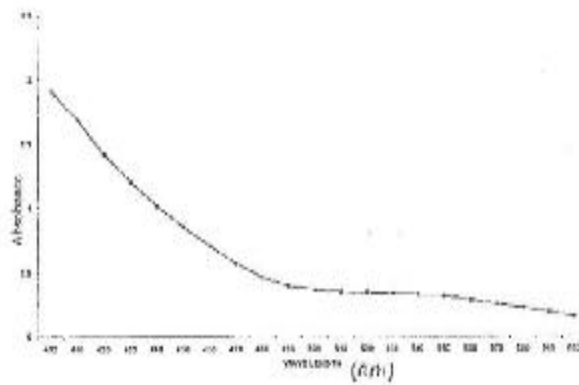
شكل (1) يبين امتصاص الاشعة في خلية النموذج



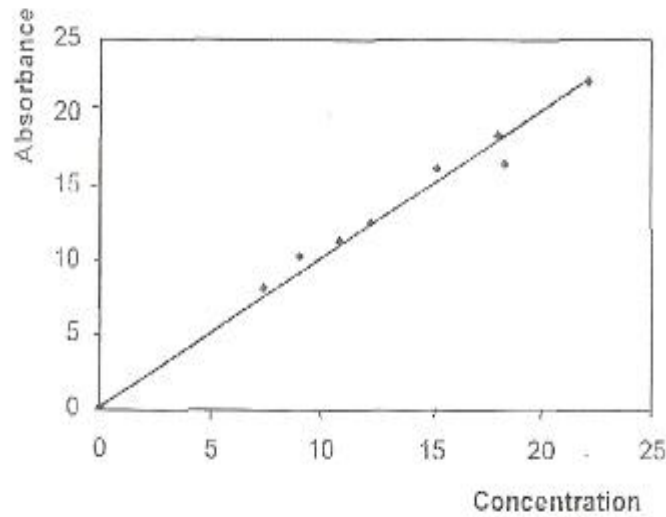
شكل (2) المخطط البصري للمنظومة الليزرية



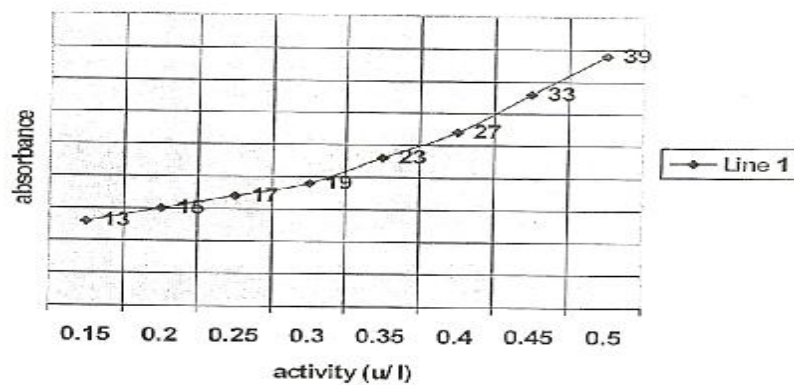
الشكل (3) يبين العلاقة بين الامتصاصية والطول الموجي



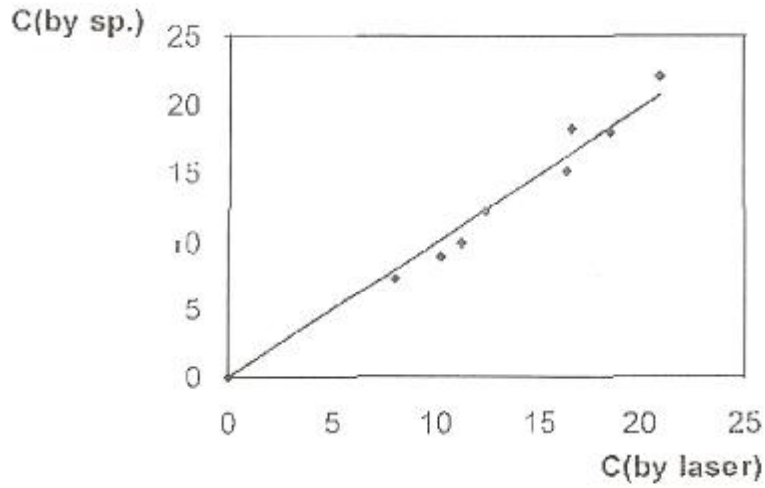
الشكل (4) العلاقة بين الطول الموجي والامتصاصية لإنزيم GOT



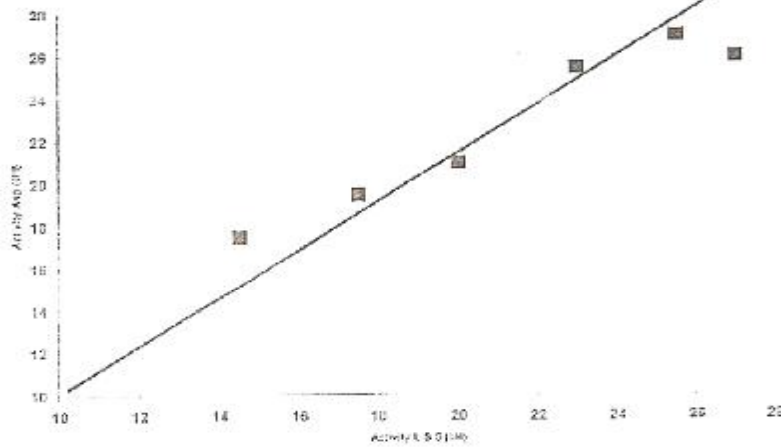
الشكل (5) العلاقة بين الامتصاصية والتركيز للهيموغلوبين



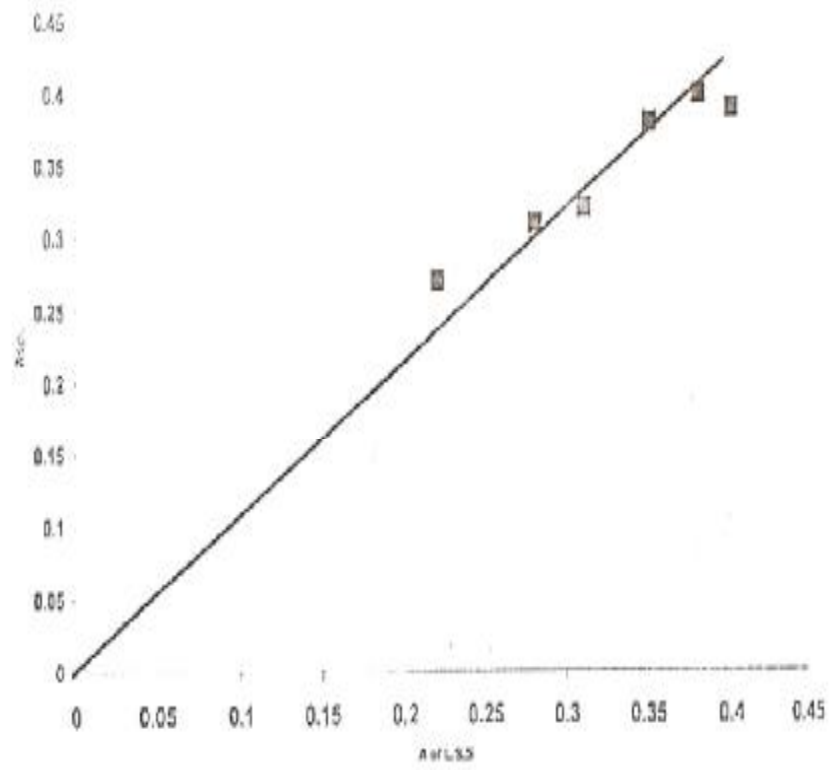
الشكل (6) العلاقة بين الامتصاصية والفعالته



الشكل (7) العلاقة بين التراكيز المصنوية بواسطة الليزر والمطياف للهيموغلوبين



الشكل (8) يوضح العلاقة الخطية بين نتائج فعالية الإنزيم بواسطة منظومة المطياف والمنظومة الليزرية (GOT)



الشكل (9) العلاقة الخطية بين امتصاصية النماذج في منظومة الليزر ومنظومة المطياف (GOT)