استخدام ليزرشبه الموصل ى 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 موجى 532nm وبقدرة 1 m W في اجراء تحليل الهيموغلوبين Hemoglobin وكذلك في حساب فعالية انزيم GOT في الدم . بدلا من جهاز المطياف الذي يستخدم الضوء الاعتيادى .

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.

المقدمة

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

وفيما يخص الابحاث الحديثة لاستخدام الليزر فى مجال تحليل الدم فقد تمكن الباحث Boriskenko فى عام 1977 من دراسة التأثيرات الكيميائية – الضوئية للهيموغلبين من خلال تشعيعه بليزر ذى قدرة واطئة [3] , وفى عام 1998قدم بحث عن استخدام ليزر هليوم نيون بطول موجى 632nm وبقدرة 1 mW فى تحليل بعض مركبات الدم [14] . وفى عام 2000 قدم بحث عن استخدام ليزر الاركون بطول موجى nm 488-514 وبقدرة 1Mw فىتحليل بعض مركبات الدم [4] .وفى عام 2001 قدم بحث عن استخدام شبه الموصل فى تحليل بعض مركبات الدم [5] .وفى عام 2002 قدم بحث ايضا عن استخدام ليزر شبه الموصل فى تحليل بعض مركبات الدم.

النظري Theoretical Part

عندما يمر ضوء احادى الطول الموجى monochromaticخلال محلول فأن جزء من الضوء سوف يمتص وفق قانون لامبرت - بيير Lambert – Beers Law والذى يعطى بالعلاقة التالية(1) وكما موضح في الشكل (1).

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

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)

$$T = I / I_0 \quad ....(2)$$

$$A = -\log T \quad ....(3)$$

* قسم العلوم التطبيقية, الجامعة التكنولوجية/ بغداد

https://doi.org/10.30684/etj.27.3.17
2412-0758/University of Technology-Iraq, Baghdad, Iraq
This is an open access article under the CC BY 4.0 license http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

فمن معرفة امتصاصية نموذج يمكن حساب تركيزه وفقا للمعادلة اعلاه .

A= Ect .....(4)

الهيموغلوبين Hemoglobin

هو الذي يعطي الدم لونهالاحمر والموجود في كريات الدم الحمر بشكل مزيج من Oxy Hemoglobin مع كمية من Methaemoglobin , Sulfahaemoglobin , ويعرف عادة بخضاب الدم. ولليهيموغلوبين 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] .

انزيم Glutamic-bOxaloacetic (GOT) 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 مصل الدم وعضلة القلب والتي تعتبر غنية باكبر التراكيز من الانزيم. كما وان الكبد والكلية 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 اليزرى Laser Source استخدم ثنائى الباعث الليزرى Diode Laser بطول موجى 532nm وبقدرة 5mw نوع Class 111B موديل 21CFR Part 1O المصنع من قبل 1O4O . شركة Transverse Industrial CO . L T D Taiwan

2-حامل نموذج الخلية Cell Sample Holder صمم ماسك متحرك يعمل على تثبيت النموذج والذى يسمح بمرور الضوء عبر الخلية دون تغيرفى الزوايا ، واستخدمت خلايا نوع كوارتز Quartz حيث تكون ذات نفاذية عالية للطوال الموجية فى 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 والذى بدورة 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 النسبية Absorbance/Percent Transmittance Meterعمل 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 المظومة يعتمد على قياس الامتصاصية الحاصلة من قبل النموذج والتى بدورها دالة للتركيز ويتبع القياس وفقا للخطوات التالية :

1- يشغل كل من المصدر الليزرى وجهاز الامتصاصية / النفاذية النسبية .

2- نضع محلول الكفيء Blank (محلول التحظير او التفاعل او المذيب) .

3- نضع محلول القياس Standard (وهو محلول ذو تركيز معلوم) وتسجل امتصاصيتة

4- نضع النموذج المجدول Sample (محلول مجهول التركيز) وتسجل امتصاصيتة.

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

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

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 ووضعه في انابيب تحتوى على مادة مانعه للتخثر بدرجة حرارة الغرفة ويتم تحضيرها كما في الجدول (1) الهيموغلوبين والجدول (2) أنزيم GOT [8].

رسم أطياف الامتصاص ومقارنة النتائج

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

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

حيث : Xi = 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.

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

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 لإنزيم 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 ل GOT ولوحظ ان الامتصاصية تزداد بزيادة تركيز النموذج وان العلاقة بينهم علاقة خطية وهذا يؤدي الى توافق النتائج مع قانون بير أيضا.

الاستنتاجات Conclusion

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

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

Reference

[1]. Orazio Svello "Principles of laser " 2 nd edition 1988.
[2]. Norbert W.Tiets " Fundeontals of ClinicalChemsitry " 2 nd edition 1976.
[3]. Borisenko " Biochemietry-Mose" , NO.6, 611. (1997).
[4]. AL-Dulaimy H..A.S.Doctor Thesis"Constructor an application of Laser
System for identifcatino of Blood C onstitutes "(200) .
[5]. AL –L uhaiby A.K.MSC.Tesis"Measurement of Activity and Concentration
Of some Blood Constituent by Using Laser S YSTEM 2001
[6].Harold Harler ,Alam H.Growen lock "Practical Clinical Biochemisty.V.2,5th Edition 138,(1980) .
[7]. Harris , Kratochwl"An Introduction to Chemical analysis"Saunders College Publishing p. 381. (1981).
[8]. Brit.J.Haemat."Inter national Committee for Stardcrdisation in Hematology
13,71,(1967).
[9]. Glenn F.Knoll.'Radiation and Detection and Measurement"JohnWilwy(1974)
[10]. Yang.V.S, (micro electronics Devices) . p. 743 (1981) .
[11]. Ronaldc.Deuney.Visible and Ultravioletspectroscopy.john wileyand sons1987
[12].Doyglas A.skoog.principles of instrumental
Analysis,S.University3edition1988
[13]. Jin-L-LJ Wang-T,Li-sf electro phoresis vol.20a (1999)
[14]. Shwiek A M Msc thesis laser system for clinical analysis of some blood
Cont, (1998) .
[15]. الانزيمات المايكروبية و التقنات الحيويـــة د خاف صوفى الدليمى 1999
[16]. قياس تراكيز بعـــض مكونـــات الـــدم باستخدام الليزرزعبد الرحمن خلف على اللهيبـــى الجامعـــــــــــه المستنـــــــــــصريةعام2002
[17]. بيلا ا لينكل ترجمة فـــاروق 1986 عبودى قصيرة (الليزرات) جامعة الموصل
[18]. Penpham (the light measurement company) England, Catalog (1988)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

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

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

الجدول (2) نموذج أنزيمGOT

Wave length:- Cuvette:- Incubation temperature:-	Mg 546nm (530nm – 550nm) 1cm light Path 37C°	
2.┌ Measurement against Reagent Blank		
Pipetteionto 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		

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

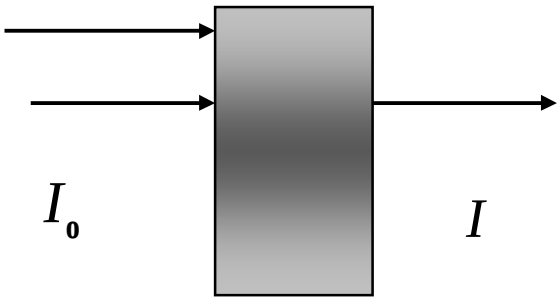
الجدول (3) النتائج المحسوبة بواسطة الليزر وجهاز المطياف للهيموغلوبين

Samples	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					

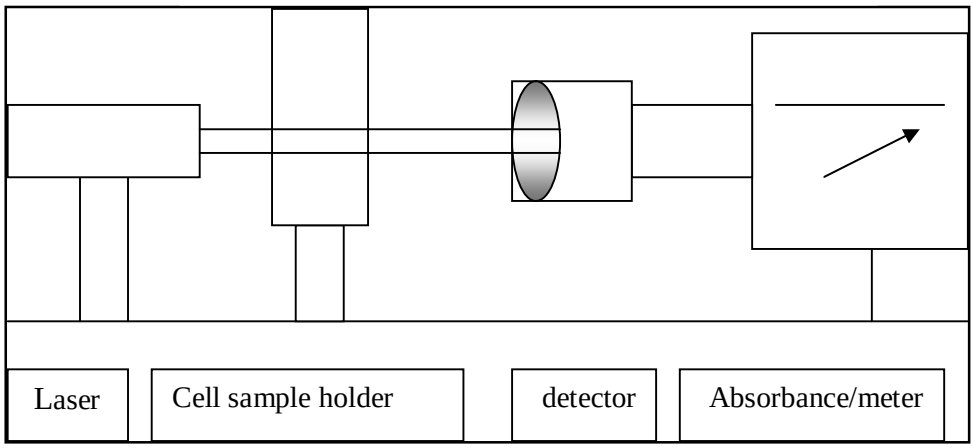
الجدول (4) النتائج المحسوبة بواسطة الليزر وجهاز المطياف لأنزيم GOT

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

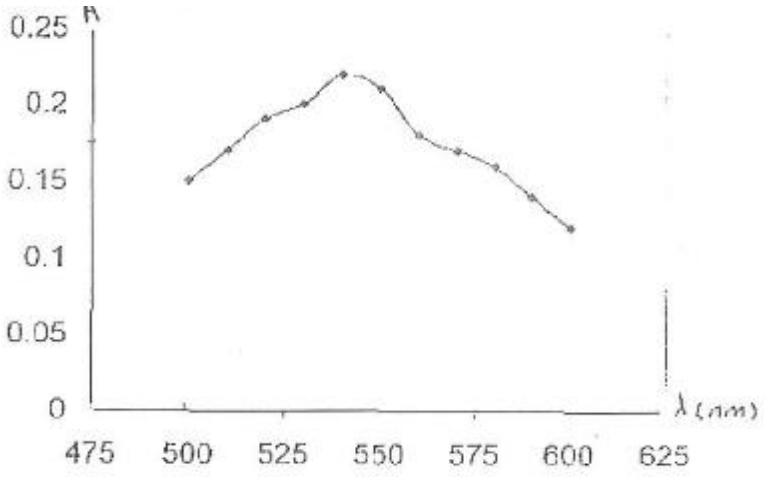
PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



شكل (1) يبين امتصاص الاشعه في خلية النموذج

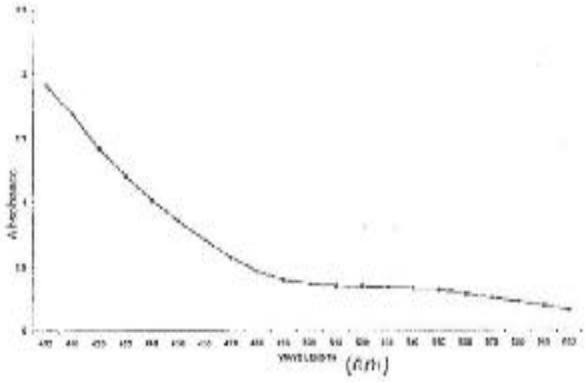


شكل (2) المخطط البصري للمنظومة الليزرية

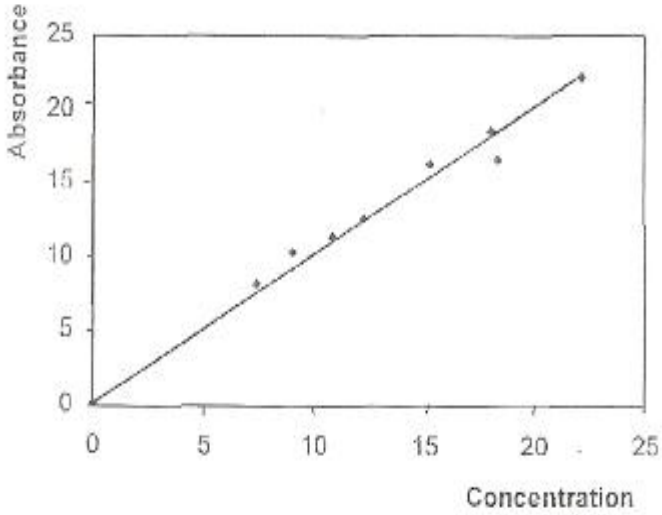


الشكل (3) يبين العلاقة بين الامتصاصية والطول الموجي

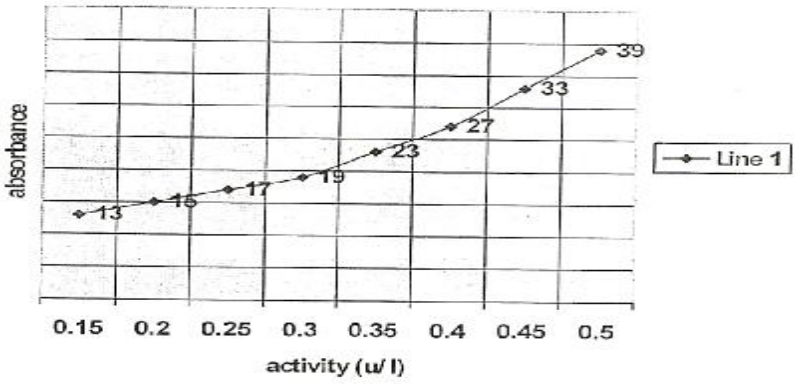
PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



الشكل (ب) العلاقة بين الطول الموجي والامتصاصية لانزيم GOT

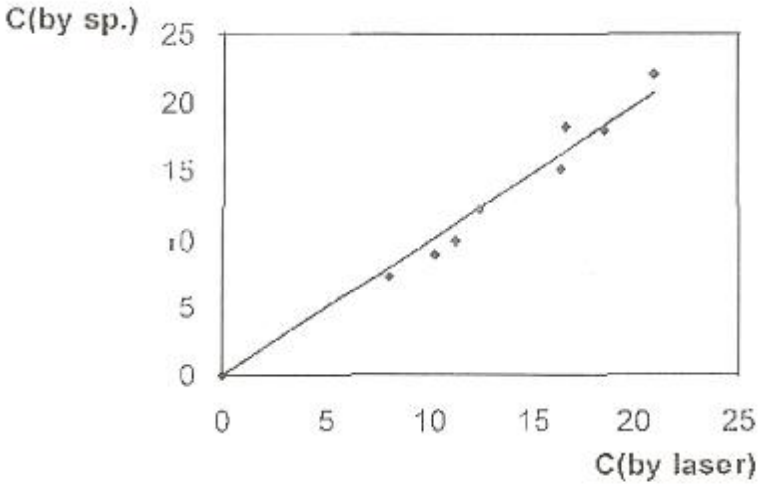


الشكل (ج) العلاقة بين الامتصاصية والتركيز للهيموغلوبين

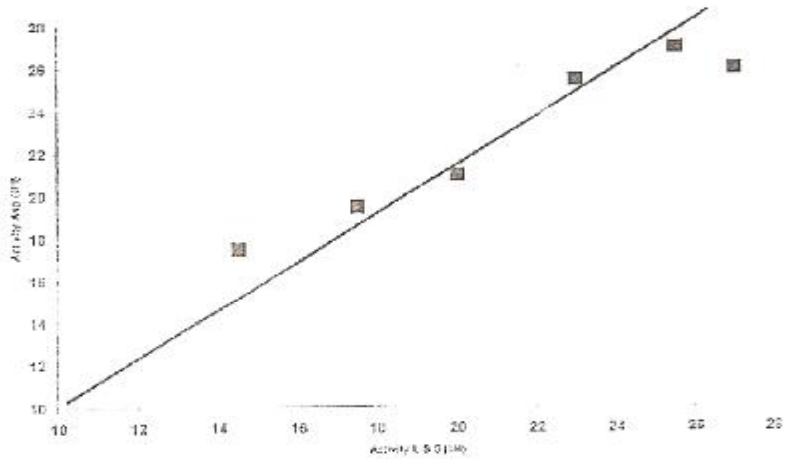


الشكل (د) العلاقه بين الامتصاصيه و الفعاليه

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

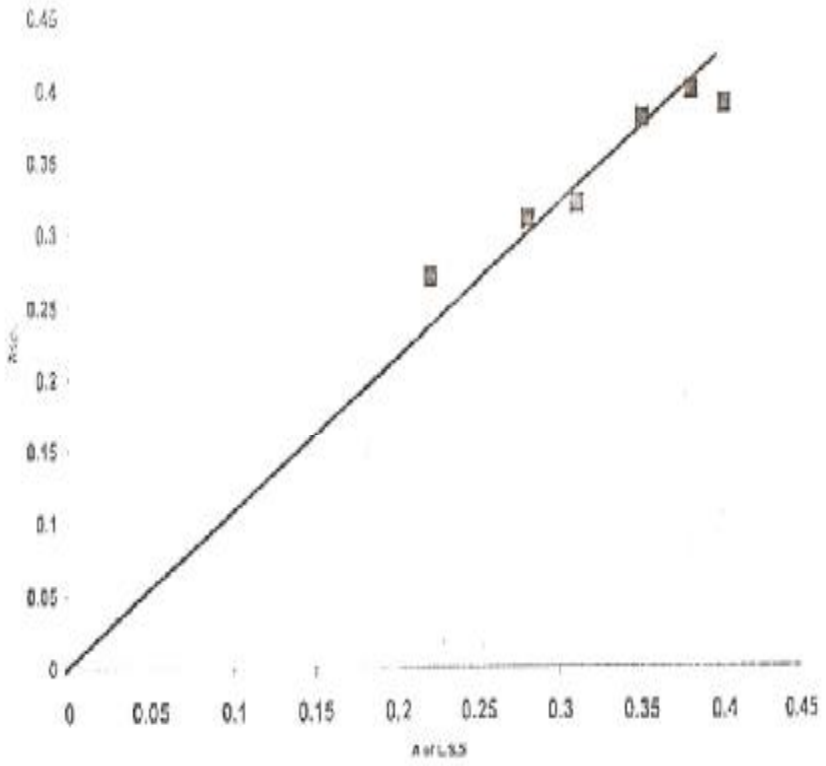


الشكل (7) العلاقة بين التراكيز المحسوبة بواسطة الليزر والمطياف للهيموغلوبين



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

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



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

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com