

کاربردهای روش آنالیز¹ PIXE در پرتو پزشکی

دکتر محمد فقیه حبیبی

استادیار-دانشکده مهندسی فیزیک دانشگاه صنعتی امیرکبیر

دکتر حسین آفریده

استادیار-مرکز تحقیقات هسته‌ای سازمان انرژی اتمی

چکیده:

کاربرد روش آنالیز PIXE برای آنالیز نمونه‌های بیوپزشکی، خصوصاً عناصر کم مقدار در بافت بیولوژیکی یعنی عناصری با غلظت کمتر از 10^{-5} یا به عبارت دیگر یک ده هزارم جرم خشک شده آنها می‌باشد. با توجه به اینکه کم شدن این عناصر کم مقدار در بدن منجر به بی‌نظمی متابولیک می‌گردد و تعداد عناصر کم مقدار در بدن به مرور زمان بیشتر شناخته می‌شود، تکنیک کاربرد روش آنالیز PIXE نقش مهمتری پیدا می‌کند. عمل این عناصر کم مقدار بدین ترتیب است که یک یا چند اتم از این عناصر کم مقدار در محل‌های فعال یک ملکول پروتئین قرار می‌گیرد و فعالیت آنزیمی آنها مستقیماً به غلظت فلزی این عناصر ارتباط پیدا می‌کند به طوری که عناصری مانند کبالت، ید، آهن، مس و روی تشکیل دهنده صدها آنزیم می‌باشند. روش PIXE بر اساس اسپکترومتری اشعه X است که نمونه را با پرتو پروتون بمباران می‌کند و حاصل آن پرتاب الکترونیهای داخلی اتم و پر شدن جای خالی این الکترونها توسط الکترونها لایه بیرونی و بالاخره انتشار اشعه X می‌باشد. با تعیین انرژی‌های مختلف اشعه X می‌توان اتم مربوطه را تشخیص داد. مزیت این روش نسبت به سایر روشها آنست که در یک آزمایش می‌توان عناصر کم مقدار بسیاری را تعیین نمود. زیرا به آسانی می‌توان تعداد زیادی نمونه را بمباران کرد. به علاوه این روش از سرعت عمل بالایی نیز برخوردار است. برای مثال با روش PIXE می‌توان پانزده عنصر مهم را هم‌زمان در پلاسما و بافت تعیین نمود. آنالیز PIXE از حساسیت بالایی در مورد نمونه‌های بیومدیكال برخوردار است و می‌تواند نمونه‌های بسیار کوچک را آنالیز کند. در روشهای جداسازی بیوشیمی برای مجزا کردن اجسام مختلف از قبیل آنزیم مقدار کمیت بدست آمده در محدوده میلی گرم و میکرو گرم می‌باشد. ضمناً بعضی مواد بیولوژیکی مانند دندان، استخوان و پوست را بدون هیچ گونه آماده سازی می‌توان بمباران کرد.

از روش آنالیز PIXE با مطالعه در تغییر عناصر کم مقدار در بدن، برای تشخیص امراض می‌توان استفاده کرد. به عنوان مثال تغییر غلظت و مقادیر اندازه گیری شده از آنها دارای نظم خاصی می‌باشند. ضمناً از این روش جهت آنالیز گیاهان و تعیین عناصر کم مقدار در آنها نیز استفاده می‌شود.

Biological and Medical Application of PIXE

M. Faghih Habibi, Ph.D.

Assistant Professor of Amirkabi University

H. Afarideh, Ph.D.

Assistant Professor of Nuclear
research center of A.E.O.I

1- Proton Induced X-ray emission

Abstract:

PIXE technique is used for a trace element analysis of biomedical samples. The common definition of trace element is that it is an element having a concentration of less than 10^{-5} in a biological tissue, which corresponds to roughly 10^{-4} in terms of dry mass. Deficiency in the supply of an essential trace element leads to a metabolic disorder. Physiological effect of a trace elements is, to a great extent, determined by an association with proteins in metallo-enzymes. Once a few metal atoms are situated at the active sites of the large protein molecule, the enzymatic activity is directly related to the trace metal concentration. Elements such as cobalt, Iodine, Iron, Copper and zinc are constituents of hundreds of enzymes and proteins. PIXE is an analytical method based upon x-ray spectrometry. The multi-elemental nature of PIXE in combination with high sensitivity permits the determination of many trace elements in a single run. High sensitivity in absolute terms is also of great importance for the analysis of biomedical samples, since the amount of material available for analysis is often quite small. When biochemical separation procedures are used for isolating various substances, for example enzymes. The quantities obtained are often very small being in the range of mg- μ g.

It has been known for a long time that many diseases lead to a change in trace element concentrations in the body, Therefore determination of their concentration is highly important. Trace element concentration in cancerous tissue also has been one of the most popular subjects for PIXE investigations in the medical field.

۱) مقدمه

جدول ۱ - غلظت عناصر کم مقدار اساسی در پلاسمای خون، کبد و کلیه

| غلظت بر حسب PPM (وزن خشک شده) | | | عناصر |
|-------------------------------|------|--------|---------|
| کلیه | کبد | پلاسما | |
| 0.01 | 0.01 | 0.02 | کروم |
| 0.9 | 1.4 | 0.01 | منگنز |
| 0.01 | 0.06 | 0.001 | کبالت |
| 3 | 7 | 1.1 | مس |
| 50 | 50 | 1.8 | روی |
| 0.1 | 0.7 | 0.1 | Se |
| 0.04 | 1 | 0.2 | مولیبدن |

عناصر کم مقدار در سیستم گوارشی جذب بدن می گردند. بعد از اینکه در شکل یونی از دیواره دستگاه گوارش (معدة و روده) عبور کردند، توسط جریان خون به کبد حمل شده و در آنجا ذخیره می شوند. بنابراین کبد حاوی غلظت بالای این عناصر می باشد. از کبد این عناصر کم مقدار توسط پروتئینها به ارگانهای مختلف انتقال یافته و در این ارگانها در تعداد بسیار زیادی از واکنشهای بیوشیمی شرکت می نمایند. اثرات فیزیولوژی آنها تا حد زیادی توسط چسبندگی آنها به پروتئینها در (Metallo-Enzymes) تعیین می شود. یک یا چند اتم فلزی در محلهای فعال یک ملکول پروتئین بزرگ قرار گرفته و فعالیت آنزیمی مستقیماً به غلظت فلزی عناصر کم مقدار ارتباط

بافت بیولوژیکی اساساً از مواد آلی تشکیل شده است. اما درعین حال شامل تعدادی از عناصر سنگین تر با غلظتهای کم به نام عناصر کم مقدار نیز می باشد. بسیاری از روشهای آنالیز از جمله روش آنالیز PIXE برای آنالیز نمونه های بیوپزشکی استفاده شده است. برای فراهم ساختن زمینه بحث بر روی قابلیت های کاربرد PIXE لازم است که چندین واقعیت شناخته شده درباره عناصر کم مقدار در ارگانهای حیاتی را به طور خلاصه بازگو نماییم.

عناصر کم مقدار عناصری هستند که دارای غلظت کمتر از 10^{-5} در بافتهای بیولوژیکی می باشند که تقریباً برابر با یک ده هزارم جرم خشک شده آنهاست. از اینرو همه عناصری که دارای غلظت کمتر از آهن باشند، عناصر کم مقدار نامیده می شوند و این بیانگر این است که تعداد این عناصر نسبتاً زیاد می باشد. بهترین گروه شامل عناصر اساسی است که برای مناسب و صحیح کار کردن سیستمهای حیاتی لازم است. کم بودن این عناصر کم مقدار اساسی منجر به بی نظمی متابولیک می گردد. جدول (۱) این عناصر کم مقدار و میزان غلظت آنها را در بدن نشان می دهد.

تعداد عناصر کم مقدار اساسی به دلیل توسعه تکنیکهای آنالیز به طور پیوسته در حال افزایش است. تحقیقات بیشتر تعداد عناصر جدول (۱) را افزایش داده و تکنیک PIXE هم به خوبی نقش خود را در این امر نشان می دهد.

می یابد. در هر حال به نظر می رسد که عناصر کم مقدار نقش مهمی در اتصال نسبتاً شل تر با پروتئین داشته باشند. بعضی عناصر کم مقدار مانند کبالت نقش خیلی ویژه آنزیمی دارند که تنها عمل بیولوژیکی آن در ساختن یون فعال در ویتامین B_{12} می باشد. عنصر دیگر ید است که در غده های تیروئیدی عنصر تشکیل دهنده هورمون تیروکسین (Thyroxin) است. از طرف دیگر عناصری مانند آهن، مس و روی تشکیل دهنده صدها آنزیم و پروتئین می باشند. این عناصر به طور گسترده ای در بدن توزیع شده اند و غلظت آنها در ارگانهای مختلف متفاوت است.

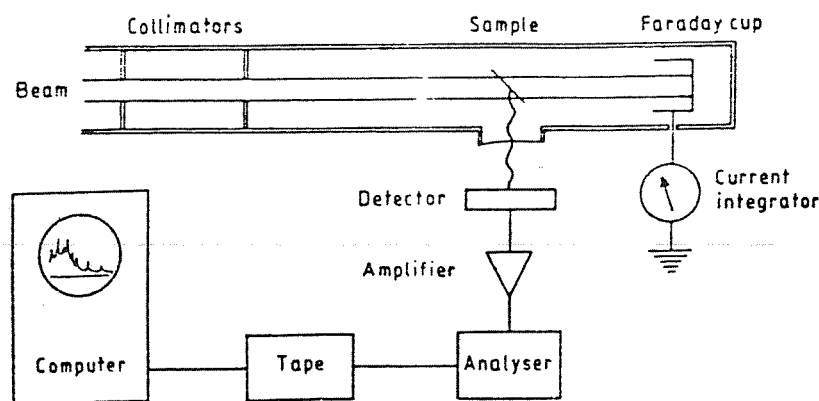
۲) اساس تکنیک PIXE

روش PIXE بر پایه اسپکترومتری اشعه X است. همانطور که در شکل (۱) نشان داده شده است، پرتو پروتون برای پرتاب الکترونهاى داخلی آنها در نمونه ها مورد استفاده قرار گرفته است. در اثر پرتاب این جاهای خالی در اتم توسط الکترونهاى لایه بیرونی، اشعه X منتشر می شود که انرژی این اشعه برای هر اتم مقدار مشخصی است. لذا انرژی اشعه X مشخص کننده اتمی است که از آن منتشر شده است. اگر انتقال الکترون از لایه های بیرونی به لایه K صورت پذیرد منجر به اشعه ایکس K و اگر به لایه L الکترون صورت پذیرد منجر به اشعه ایکس L می گردد.

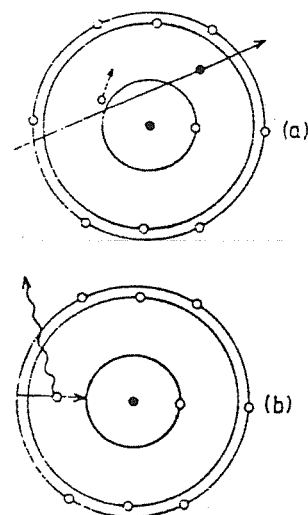
همانطور که در شکل (۲) نشان داده شده است، آنالیز PIXE نیاز به یک شتاب دهنده کوچک دارد که قادر باشد پرتوهای پروتون و در بعضی موارد پرتوهای هلیوم یا یونهاى سنگین تر تولید کند. برای انجام آنالیز PIXE در مرکز تحقیقات هسته ای سازمان انرژی اتمی ایران از شتاب دهنده DC3Mev از نوع واندوگراف Vande Graaff که قادر است یونهاى پروتون، دوترون و هلیوم تولید نماید استفاده می شود. پرتو خارج شده از شتاب دهنده پس از عبور از آهنربای الکتریکی که به عنوان آنالیزور عمل می کند، به یکی از خطوط انتقال پرتو هدایت می شود. سپس دسته پرتو وارد محفظه خلاء می گردد که در آن نمونه ها تحت آنالیز قرار دارند. اشعه X خارج شده از نمونه توسط آشکار ساز Si(Li) ثبت گردیده و پالس خروجی از آشکار ساز پس از عبور از تقویت کننده های لازم وارد آنالیزور چند کاناله می گردد. این آنالیزور می تواند به یک سیستم کامپیوتری وصل گردد.

۳) انتخاب نمونه

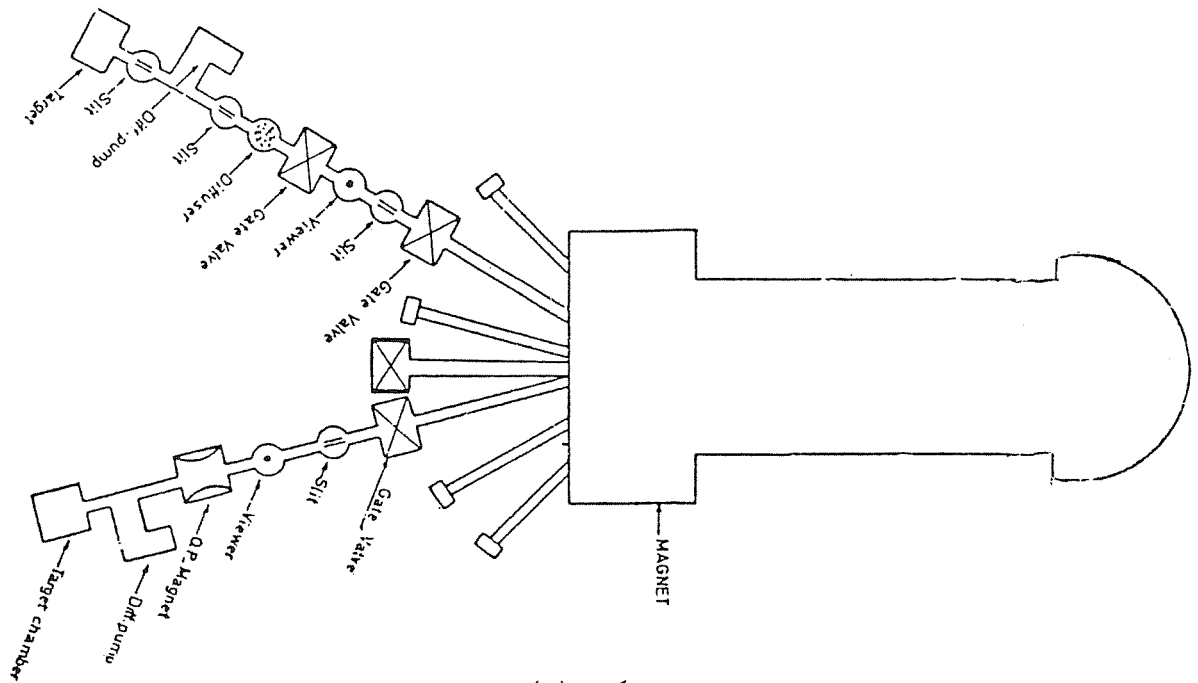
در کارهای انجام شده در گذشته آنالیز نمونه های بیولوژیکی همواره با مشکلاتی مواجه بوده است که یکی از مشکلات نمونه گیری می باشد. نمونه گیری معمولاً از ارگانی صورت می گیرد که در آن عناصر کم مقدار خاصی فعال است، اما



شکل (۱-ب)



شکل (۱-الف)



شکل (۲)

از مواد رسوب کننده غیرمحلول قرار گرفته است استفاده نمودند.

۴) قابلیت‌های PIXE در زمینه های بیومدیکال

روشهای گوناگونی برای آنالیز عنصری نمونه های بیومدیکال به کار گرفته شده است. سؤال مورد بحث آنست که تا چه اندازه این روش می تواند مورد استفاده قرار بگیرد و این روش چه مزایائی دارد. پاسخ به این سؤال با تشریح کاربردهایش داده می شود. این کاربرد توانائیهای مهم PIXE را در این زمینه نشان می دهد. طبیعت چند عنصری PIXE همراه با حساسیت بالای آن این اجازه را می دهد که تنها در یک آزمایش بتوان عناصر کم مقدار بسیاری را تعیین نمود. حد پایین غلظت قابل اندازه گیری برای مواد ارگانیک معمولاً در مرتبه 10^{-6} تا 10^{-7} می باشد. در مقایسه با جدول (۱) می توان گفت که اگر پلاسمای خون به عنوان نمونه در نظر گرفته شود، عناصر کم مقدار آهن، مس، روی و برم به آسانی قابل اندازه گیری می باشند. برای تعیین بعضی از عناصر کم مقدار با غلظت کم لازم است که حساسیت سیستم را بهینه نمود. این کار معمولاً با کاهش زمینه و با افزایش غلظت از طریق خشک کردن تحت برودت (Freeze-Drying) و یا خاکستر کردن نمونه امکان پذیر است. با این روش حد پایین

بهرحال این فعالیتها در تمام بدن پخش می باشند. در بعضی از موارد اطلاعات کمی در مورد عمل عناصر کم مقدار و محل تجمع آنها وجود دارد. همچنین مسائل عدیده ای در عمل وجود دارد. از همه ارگانهای بدن بوسیله Outopsy می توان نمونه گرفت. اما در ماده حیاتی به وضوح محدودیتهایی وجود دارد. لذا اغلب سعی می شود نمونه هایی گرفته شود که بیانگر محتوی میانگین عناصر کم مقدار در بدن باشند. یکی از بهترین انتخاب سرم خون است. انتخاب دیگر نمونه های مویی می باشد. اغلب فرض می شود که محتویات عناصر کم مقدار در مو همانند بدن است، این فرض ممکن است صحیح نباشد، اما در هر حال آنالیز آن جهت تعیین عناصر کم مقدار جالب است. مسأله دیگر این است که تا چه اندازه ای تعیین غلظت کلی عناصر می تواند اطلاعاتی در باره فعالیت بیولوژیکی بدهد که توسط آنزیم و پروتئین مشخص می گردد و چگونه عناصر کم مقدار در سطوح سلولی توزیع شده اند؟ می دانیم که اجزاء مختلف سلول دارای ترکیبات عنصری گوناگون می باشند، اما برای عناصر کم مقدار داده های کمی وجود دارد. در بررسی که توسط Hasselmann (۱) و همکارانش انجام گردید از روش PIXE برای تعیین غلظت عناصر در موش صحرائی برای اجزاء مختلف سلول از قبیل هسته سلول، جداره (Membrane and Debris) و Mitochondria و Microsomes و موادی که روی طبقه ای

اندازه گیری تا حدود 0.01 PPM قابل دستیابی است. تجزیه و تحلیل اندازه گیریهای عملی نشان می دهد که عناصر کروم، نیکل، سئیم، استرانسیم، مولیبدن و سرب بایستی قابل اندازه گیری در پلاسماهای خون در تحت شرایط مطلوب باشد. همچنین یادآوری می شود که روش آنالیز PIXE، چندین عنصر عمده نظیر پتاسیم، کلسیم، کلر، گوگرد و فسفات را اندازه گیری می کند و اغلب دانستن غلظت این عناصر مورد نظر است. لذا با روش PIXE تعیین پانزده عنصر مهم به طور همزمان در پلاسما و بافت میسر می باشد. بسیاری از عناصر عمده و کم مقدار در واکنشهای پیچیده بیوشیمی در بدن دخالت دارند. همچنین می دانیم که اثرات Synergetic وجود دارد به طریقی که غلظت عنصر خاصی عمل عنصر دیگر را تحت الشعاع قرار می دهد. لذا اطلاعات به دست آمده از PIXE در باره آنالیز عنصری ما را تقریباً از کسب اطلاعات دیگر در این زمینه بی نیاز می سازد. حساسیت بالا برای آنالیز نمونه های بیومدیكال بسیار مهم است، زیرا میزان نمونه جهت آنالیز اغلب بسیار کوچک است. برای مثال Massonnet و Sommer (۲) روش PIXE را جهت مطالعه عرق بدن از بیماران مبتلا به مرض Cystic Fibrosis مورد استفاده قرار دادند. نمونه های عرق جمع آوری شده فقط دارای حجم ۰/۵ میکرولیتر بودند. معمولاً در روشهای جداسازی بیوشیمی برای مجزا نمودن اجسام مختلف از قبیل آنزیم مقدار کمیت بدست آمده خیلی کوچک و در محدوده میلی گرم، میکروگرم می باشد. مزیت دیگر نمونه با وزن کم برای آماده ساختن میکروسکپی بافت است. Danscher, Kemp (۳) لایه نازکی از بافت مغز را آنالیز کردند و نتایج بسیار خوبی از نمونه های با وزن کمتر از ۱۰۰ میکروگرم به دست آوردند. در همه این حالات روش PIXE فوق العاده مناسب است. بقیه روشهای آنالیز ممکن است برای بعضی از عناصر حساسیت بهتری را داشته باشند اما آنها مانند PIXE قادر به پوشش طیف وسیع عناصر نیستند. عواملی که باید در انتخاب روشهای آنالیز مدنظر قرار گیرند مقدار کار مورد نیاز جهت آماده سازی نمونه و سرعت آنالیز می باشد. روش PIXE برای این منظور بر سایر روشها برتری دارد. بعضی مواد بیولوژیکی مانند دندان، استخوان، ناخن و پوست بدون هیچگونه آماده سازی می توانند مستقیماً مورد بمباران قرار گیرند. در بسیاری از موارد دیگر خشک نمودن ساده یا خشک نمودن تحت بروود تنها اقدامی است که بایستی انجام پذیرد. مواد خشک شده یا Pulverized تحت فشار به صورت قرص در آمده و یا بر روی یک ورقه نازک

نباشته شده سبب می گردند که به آسانی جهت بمباران جایجا شوند. زمان لازم جهت بمباران عملاً کوتاه (حدود چند دقیقه) می باشد و اگر سیستم اتوماتیک و کامپیوتری باشد به آسانی می توان تعداد زیادی از نمونه ها را مورد بمباران قرار داد. این مزیت مهم PIXE است اما در تحقیقات بیومدیكال چنین نیست. برای مثال در بررسی ارتباط بین بیماری و عدم موازنه عناصر کم مقدار تعداد زیادی نمونه لازم است تا اینکه بتوان تغییرات یک نمونه خاص را حذف نمود. به علاوه لازم است که از چندین انواع بافت نمونه تهیه کرد. برای مثال Van Rinsvelt و همکارانش (۴) در کار تحقیقاتی خود ۱۵۰۰ نمونه را برای تعیین ۱۰ تا ۱۵ عنصر در ۱۲ ارگان مختلف مورد آنالیز قرار دادند. در بعضی موارد مانند آنالیز دندان، استخوان و مویز اقدامی جهت آماده سازی نمونه لازم نیست. آنالیز آنها می تواند در خلاء یا در یک محیط گاز بی اثر انجام پذیرد. برای سرد کردن نمونه محیط گاز بی اثر جحیت دارد. بعضی مواد مانند برگ درختان فقط خشک کردن لازم دارند و پس از گذاشتن در یک چهارچوب مناسب مانند نمونه های دیگر آماده بمباران می شوند. بافتهای ارگانیک یخ زده می توانند توسط میکروتوم بریده شوند و اگر لایه ها خیلی نازک نباشند، می توان آنها را خشک نمود و به عنوان هدفهای بدون زیرلایه مورد بمباران قرار داد. یا می توان بر روی یک ورقه نازک پلاستیکی گذاشت و سپس بمباران کرد. تکنیکی که غالب اوقات مورد استفاده قرار می گیرد، خشک کردن تحت بروود می باشد (Lyophilization) نمونه در خلاء در دمای ازت مایع حداقل برای مدت یک روز نگاه داشته می شود، بدین وسیله ترمه محفظه خالی بین مولکولها (Porous) خشکیده (Pulverized) می شود و نمونه کاملاً مخلوط می گردد و نهایتاً یک نمونه همگون به دست می آید که به آسانی می تواند بر روی محملی از ورقه نازک قرار گیرد و یا به صورت قرص درآید. خشکیدگی تحت بروود یک روش راحت بوده و مزیت آن این است که جسم نمونه به $\frac{1}{5}$ وزن اولیه اش کاهش می یابد. این سبب می شود که زمینه طیف کاهش یافته و حساسیت بهتر شود. روش دیگر خاکستر مرطوب است این روش حل کردن نمونه توسط محلولهای اکسید کننده مانند اسید نیتریک در مجاورت مقدار کمی از اسید سولفوریک یا پراکسید تیدروژن می باشد. از معایب این روش می توان عدم حل شدن کامل نمونه و یا وارد شدن ناخالصی را به نمونه ذکر کرد. خاکستر سازی نسبتاً روش وقت گیری است و بازدهی در حساسیت روش PIXE با این

روش همیشه مقرون به صرفه نیست اگر نمونه حاوی مقدار زیادی مواد غیر آلی مانند نمکهای کلرور سدیم و کربنات کلسیم باشد، این نمکها منبع اصلی زمینه در طیف خواهند بود. لذا در این موارد حذف مواد ارگانیک فقط مقدار اندکی حساسیت این روش را بالا خواهد برد.

۵ - کاربردها

اکنون تعدادی از کاربردهای PIXE را مطالعه می کنیم.

الف: امراض و عناصر کم مقدار:

از سالهای پیش معلوم گردیده است که بسیاری از امراض منجر به تغییرات عناصر کم مقدار در بدن می گردند. عناصری که مورد مطالعه قرار گرفته اند شامل آهن، مس و روی می باشند. امروزه عناصر بیشتری را می توان توسط روش PIXE مورد مطالعه قرار داد.

یکی از امراض که با غلظت غیر طبیعی عنصر کم مقدار مشخص می گردد، مرض (Rheumatoidea, Thrists) است. در عمل تراپی که به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد، نمک طلا تزریق می گردد (Lclome (Chrosy Therapy) و همکارانش (۵) از PIXE برای تعیین غلظت طلا و دیگر عناصر کم مقدار در پلاسمای خون استفاده کردند و تحت شرایط التهاب (Inflammatory) دریافتند که نسبت به افراد طبیعی تحت کنترل غلظت مس افزایش و غلظت روی کاهش می یابد. مطالعات روی ۳۲ مریض در مدت یک سال نشان داد که غلظت بالای طلا، باعث کم نگه داشتن غلظت روی می گردد. لذا توانستند ارتباط خوبی بین غلظت روی و وضعیت سلامتی مریض ارائه نمایند.

در رابطه با اندازه گیری غلظتهای خیلی پایین عناصر کم مقدار می توان از کار Simonoff و همکارانش (۶) یاد نمود. آنها معتقدند که روش معمولی آنالیز برای اندازه گیری Cr رضایت بخش نیست، لذا روش PIXE همراه با روش تغلیظ قبل از بمباران (Pre-Concentration) را انتخاب نمودند و به این طریق به حد پایین حدود ۰/۳ نانوگرم در میلی لیتر پلاسما دست یافتند. هدف پزشکی این مطالعه ارتباط بین بیماری شریان کرونری (Coronaryartery) و میزان کروم پلاسما بوده و معلوم گردید که بیماری سبب می گردد که میزان کروم به مقدار $\frac{1}{10}$ کاهش می یابد.

بیماری سندروم ری (Reyes Syndrom) که یک مرض سخت در بچه ها می باشد و معمولاً از طریق عفونت (Viral Syndrome) بوجود می آید. بهبودی طبیعی اولیه ممکن

است منجر به Reyes Syndrome گردد. تغییرات پاتولوژی به نظر می رسد که اساساً محدود به میتوکندری می گردد. جالب است که بدانیم رفتار میتوکندری Mitochondria خیلی حساس به غلظت عناصر کم مقدار فلزی می باشد. استفاده از آسپیرین به عنوان درمان گاهی باعث می شود که آسپیرین به عناصر کم مقدار فلزی اتصال بیابد. در یک رشته از مقالات علمی Rinsrel و همکارانش (۷) جنبه های مختلف Syndrome را مورد مطالعه قرار داده اند. با استفاده از PIXE کاهش سلنیم و مس را در سرم و کبد و افزایش آهن و روی را در سرم بیماران مبتلا Reyes Syn-drome را نشان دادند. مطالعات بعدی با موش های صحرایی که اسید Valporic و اسید 4-Pentenox را مورد استفاده قرار داده بودند (استفاده از این اسیدها منجر به بیماری شبیه سندروم ری می گردد) تغییرات مشابه ای در میزان عناصر کم مقدار در سرم و کبد را نشان داد. برای امتحان پیوند آسپیرین به فلزات، غلظت این عناصر کم مقدار در موش هایی که به طور Chronically در معرض این دارو قرار گرفته بودند را تعیین کرد، معلوم شد میزان سلنیم در سرم و کبد کاهش می یابد. این کار نشان می دهد که چگونه PIXE می تواند در مطالعات مفصل متابولیسم عناصر کم مقدار مورد استفاده قرار گیرد. البته به شرطی که جوامع پزشکی چنین مطالعاتی را تقاضا نمایند. این گونه مطالعات هم اکنون در آزمایشگاه واندوگراف بخش فیزیک هسته ای مرکز تحقیقات هسته ای در حال انجام می باشد. برای مثال میزان عناصر کم مقدار در بزاق دهان برای افراد سالم و مبتلا به بیماریهای دهان در حال انجام می باشد.

شکل (۳) اسپکتر حاصل از آنالیز بزاق ترشح شده از دهان توسط PIXE را نشان می دهد. به صورت پیوسته نمونه هایی از بیمارستانهای مختلف جهت آنالیز به این بخش ارسال می گردد.

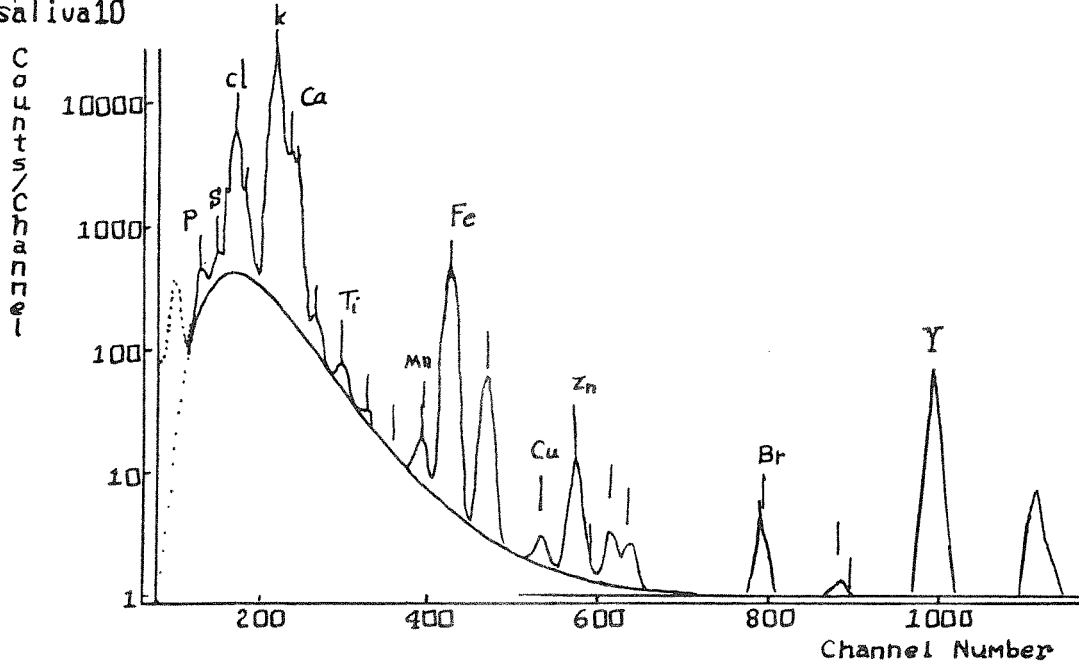
به عنوان مثال شکل (۴) اسپکتر حاصل از آنالیز نمونه کبد ارسالی از بیمارستان امام خمینی را جهت بررسی میزان عنصر روی که نشان دهنده مرض ویلسون است نشان می دهد.

ب: بافت های سرطانی

غلظت عناصر کم مقدار در بافتهای سرطانی یکی از مهمترین موضوعات مورد تحقیق توسط PIXE در زمینه های پزشکی می باشد. امروزه به خوبی شناخته شده است که رشد Tumour باعث تغییرات غلظت عناصر کم مقدار می گردد. عناصری که بیشترین توجه را جلب می کنند، کلسیم، آهن، مس

Spectrum P0049.SPE
saliva10

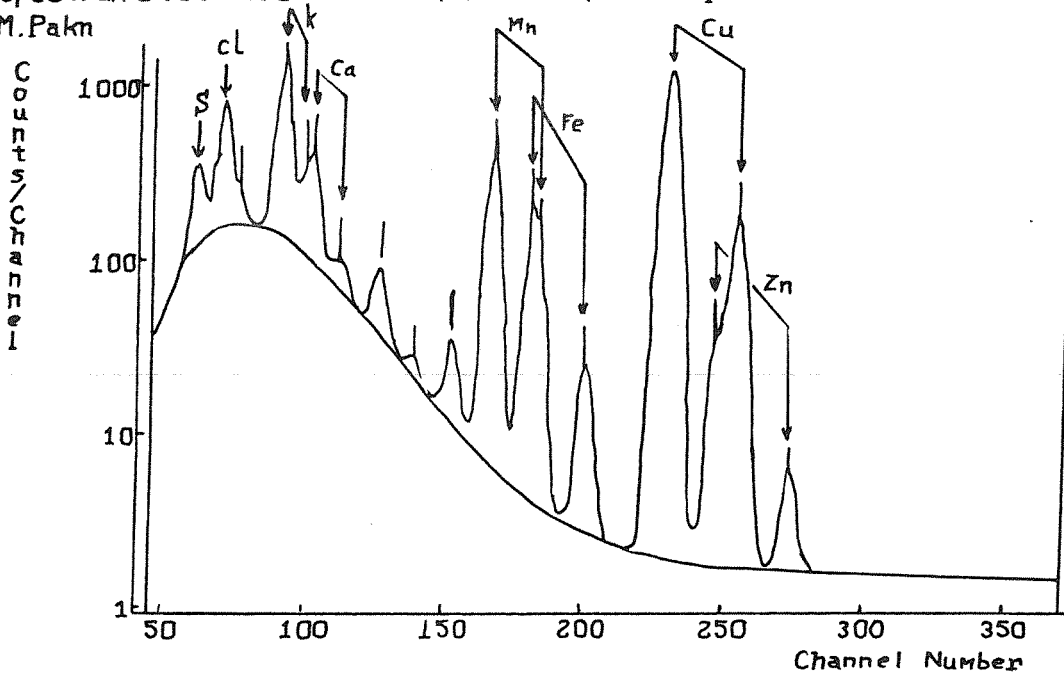
Iteration 6: ChiSquare = 8.3; Dif = 2.8



شکل (۳)

Spectrum P0113.SPE
M.Pakn

Iteration 7: ChiSquare = 1.6; Dif = 18.9



شکل (۴)

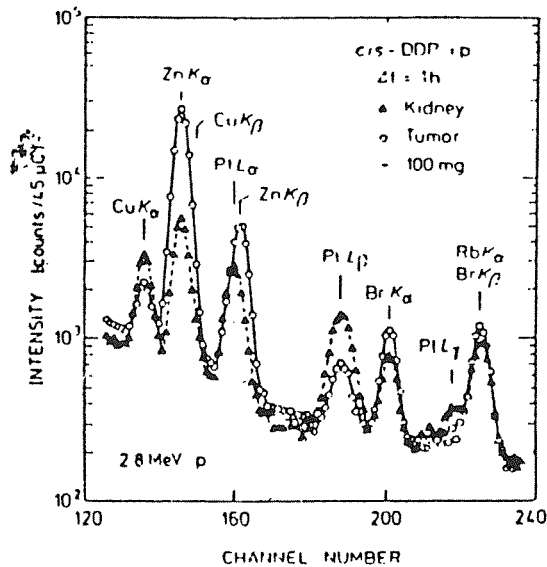


Figure 11.3 Part of a PIXE spectrum from a sample of mouse tissue after injection of cis-DDP. The platinum L_{α} line is well resolved [18]. Reproduced by permission of North-Holland Physics Publishing

شکل (۵)

گسترده‌ای از توزیع منطقه‌ای عناصر کم مقدار در مغز انسان توسط Maenhant و همکاران (۱۳) گزارش شده است. مغزهای ۱۲ نفر در (Antopsy) برداشته شد و نمونه‌های بافتی از ۴۶ منطقه نیمکره مغزی (Cerebral Hemisphere)، ساقه مغز و مخچه کنده شدند. مقادیر اندازه‌گیری نظم جالبی را ارائه می‌دهند. مثلاً غلظت فلز روی در قسمت خاکی رنگ تقریباً دو برابر قسمت سفید بود. Hock و همکاران (۱۴) با استفاده از پرتو با قطر چند میکرومتر PIXE کبد مبتلا به مرض Crohottical را مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که مقدار فوق‌العاده زیادی از فلز مس در منطقه التهاب حاد (Acute Inflammation) در محدوده بین پارانشیم و بافت همبند انباشته شده است.

ج) نمونه‌های مو

آنالیز مو برای چندین سال مورد توجه بود اگرچه نتایج، جنجال‌آفرین بودند. این امید می‌رود که مو بتواند عامل خوبی جهت بیان میانگین غلظت عناصر در بدن باشد. این مطالعات در آزمایشگاه واندوگراف مرکز تحقیقات سازمان انرژی اتمی انجام می‌شود. مطالعات زیادی در دیگر آزمایشگاه‌های جهان انجام گرفته است. برای مثال می‌توان کار Chen و همکاران (۱۵) را نام برد که موی سر کارگران را در کارخانه‌ای که با

روی می‌باشند. با استفاده از PIXE به آسانی می‌توان این عناصر و چند عنصر دیگر را اندازه‌گیری نمود. همیشه این امکان وجود دارد که تغییراتی در خواص ویژه عناصر کم مقدار به دست آورد که برای تشخیص سرطان مفید باشد. Uda و همکاران (۸) مقدار هشت عنصر را برای بافتهای سرطانی و سالم در کلیه، مثانه، بیضه و غده تیروئید به دست آورد Weber و همکارانش (۹) نه عنصر را در شش انسان معین کردند. بعضی عناصر مخصوصاً کلسیم، آهن و روی اختلاف زیادی را بین افراد سالم و مبتلا به بیماری نشان دادند. به هر حال تغییرات در غلظت در ارگانهای مختلف همسان نبود. این باعث تعجب نیست، زیرا رشد تومور عمل طبیعی ارگان را مختل می‌سازد و چون ارگانها عملهای مختلفی را انجام می‌دهند، لذا هیچ دلیلی وجود ندارد که انتظار داشته باشیم نتیجه تغییرات در غلظت عناصر کم مقدار یکسان باشد.

روش دیگر تعیین عناصر کم مقدار در نمونه‌هایی مانند خون و مو که تقریباً می‌توانند میانگین غلظت این عناصر در بدن را بدهند Kwiatkowski و همکاران (۱۰) تعداد ۹ عدد از این عناصر را در ۱۱۶ نمونه از سری بیمارانی که از سرطان زوده بزرگ رنج می‌بردند، آنالیز نمودند و دریافتند هرگونه تغییرات در غلظت تقریباً با مراحل اولیه بدخیمی همخوانی داشته و با سرطانهای تشخیص داده شده همخوانی ندارد. بیشتر بررسیهای مربوط به غلظت عناصر در بافتهای سرطانی غالباً در روی تومور می‌باشد. Tapper و همکاران (۱۱) جلوی تومور مغز انسان و بافتهای جانبی را زمانی که متابولیسم مخصوصاً بالا بود مورد مطالعه قرار دادند. و حاصل کار آنها مؤید این بود که میزان عناصر کم مقدار مس، آهن و روی در بیشترین مقدار ممکن در قسمت جلویی تومور بود. آخرین مثال کاربرد PIXE در تراپی سرطان می‌باشد Hictal و همکاران (۱۲) نحوه جذب (Cis-Dichlor-Diamin-Platinum) در تومور کلیه موش را مورد مطالعه قرار دادند. منحنی L_{α} مربوط به عنصر پلاتین در PIXE به خوبی قابل مشاهده است. شکل (۵) یکی از منحنیهای است که آنها توسط آزمایش به دست آوردند. این اطلاعات جهت بیمارانی که تحت تراپی Cis-Dop قرار می‌گیرند به عنوان پایه‌ای جهت تعیین میزان پلاتین در خون و ادرار مورد استفاده قرار گرفتند.

۶) توزیع عناصر کم مقدار در بدن

مطالعات متعددی نشان می‌دهد که غلظت عناصر کم مقدار در ارگانهای مختلف به شدت متغیر می‌باشد. مطالعات

می باشد. تهیه نمونه ها فوق العاده ساده و در بسیاری حالات فقط باید نمونه را خشک کرد، که در آزمایشگاه و اندوگراف سازمان انرژی اتمی در این رابطه فعالیتهایی صورت گرفته است. در شکل (۶) طیف حاصل از آنالیز گیاه نشان داده شده است.

ز) آنالیز نمونه های کم وزن

در بسیاری گزارشات تحقیقاتی که در مورد کاربردهای بیولوژیکی PIXE آمده است مزیت بارز PIXE، حساسیت بالای آن سبب شده است که نمونه های کم وزن را بتوان آنالیز نمود. حد نهائی حساسیت البته با اعمال میکرو PIXE (پرتو ابعاد میکرونی) قابل دستیابی است اما تعداد بسیار زیادی حالت های میانی وجود دارد که در آن وزن نمونه در حدود میلی گرم- میکروگرم می باشد.

یکی از این حالتها آنالیز مواد به دست آمده در بررسی های جداسازی خلوصی بیوشیمی می باشد که برای مثال می توان از آنزیمهای فلزی (Metals-Enzymes) نام برد. Lochmoller و همکاران (۱۹) عناصر آهن، مس، کبالت و روی را در چهار آنزیم مختلف تعیین کرد و نشان داد که PIXE یک روش خیلی مناسب آنالیز است. Demeter و همکاران

گالیم آرسنیک کار می کردند، آنالیز نمودند. نتایج آنالیز آنها نشان می دهد که میزان افزایش غلظت آرسنیک بستگی به زمانی دارد که آنها در معرض آن قرار می گیرند.

د) نمونه های دندان

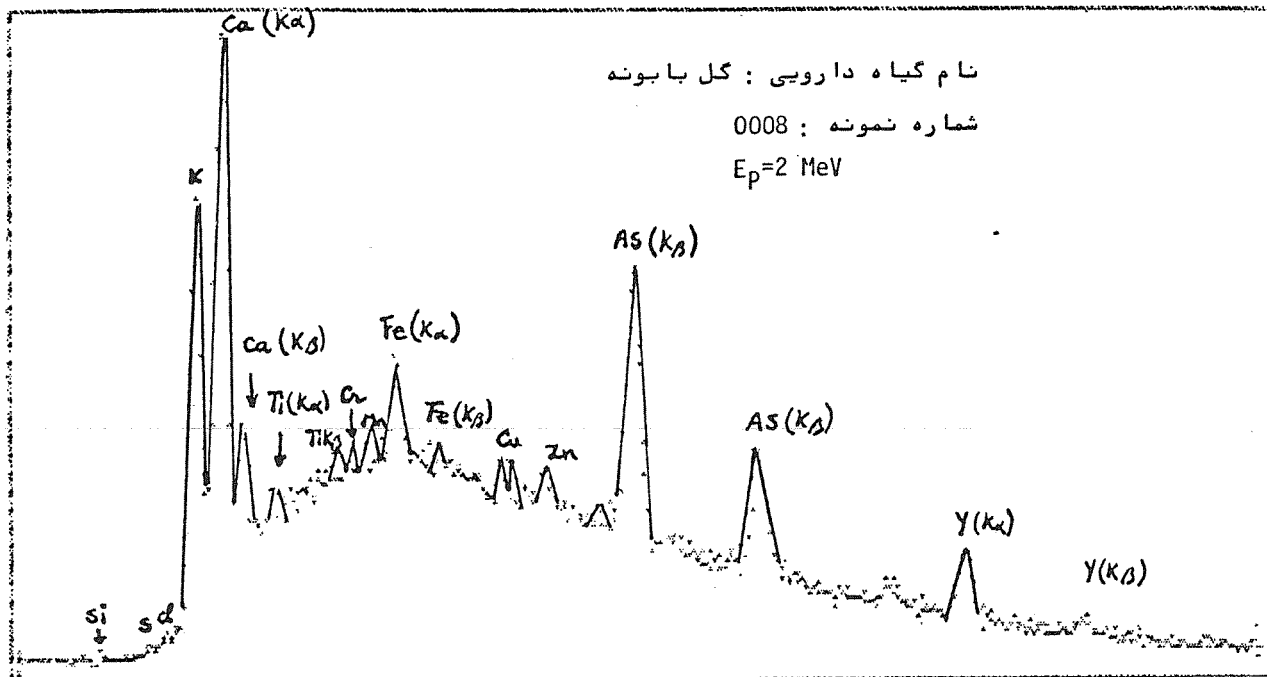
نمونه های دندان برای تعیین عناصر کم مقدار توسط روش PIXE به وسیله محققین زیادی انجام پذیرفته است که می توان از کار Akseisson, Ahiberg (۱۶) و همکاران نام برد.

ه) مواد بیولوژیکی شاخصی برای آلودگی محیط زیست

امروزه به خوبی شناخته شده است که آلودگی هوا ناشی از مصرف سوخت های فسیلی منجر به آلودگی خاک و سبزیجات می گردد. همچنین پیشنهاد شده است که رشد درختان متأثر از این آلودگی است، لذا چوب می تواند شاخصی جهت آلودگی محیط زیست باشد. عده زیادی از محققین از جمله Legge و همکاران (۱۷) Nagi و همکاران (۱۸) کارهای جالبی در این زمینه گزارش داده اند.

و) نمونه های گیاهی

آنالیز گیاهان توسط تکنیک PIXE به سادگی انجام می پذیرد مخصوصاً غلظت عناصر کم مقدار نسبتاً زیاد



شکل (۶)

روشهای معمول آنالیز دیگر برای تعیین این عناصر مناسب نیستند. مخصوصاً اینکه غلظت این عناصر کم بوده و جرم قابل اندازه گیری نیز کوچک می باشد. یکی از حالتها، اندازه گیری کلسیم در داخل گلبولهای قرمز خون می باشد. غلظت به علت عمل پمپاژ کلسیم خیلی کم بوده (در مرتبه میکروگرم در گرم در گلبول قرمز) و اطلاعات چاپ شده پراکندگی وسیعی را نشان می دهد. Simonoff و همکاران (۶) ابتدا کلسیم را با Sr رسوب داده و بدین وسیله مقدار زیاد عنصر پتاسیم را که در آنالیز PIXE با کلسیم تداخل می کرد، حذف نمودند. یکی از مشکلات آنها آلودگی کلسیم در آب و ظروف بود. در آزمایش دیگر Jonsson و همکاران (۲۲) دو روش PIXE و جذب اتمی را برای بررسی ترکیب عنصری لنفوسیت (Lymphocytes) بشری بکار گرفتند و دریافتند که PIXE دقت بیشتری را ارائه می دهد.

(۲۰) نمونه ای که حاوی ۰/۴ پیکومول از یک آنزیم بود مورد آنالیز قرار داد و مقدار آهن اندازه گیری برابر $10^{-11} \times 2/2$ گرم بود. Weber و همکاران (۲۱) در آنزیم D-D-Carboxy-Deptidose-Ends-peptidase وجود فلز روی را نشان دادند.

ط) آنالیز عناصر عمده

اگر چه کاربرد اصلی PIXE در زمینه های بیوپزشکی برای آنالیز عناصر کم مقداری می باشد، اما روش PIXE همچنین برای تعیین بعضی از عناصر عمده مانند فسفر، گوگرد، کلر، پتاسیم و کلسیم بسیار مناسب می باشد. نقش این عناصر در بسیاری از واکنشهای بیوشیمی بسیار مهم است. فسفر و گوگرد جزء ساختار بعضی از اسیدهای آمینه (Aminoacid) مهم هستند، غلظت پتاسیم، کلسیم و کلر فشار اسموزی سلول و پتانسیل الکتریکی در جداره سلول را تعیین می کند.

REFERENCES:

- 1- I. Hasselmann, W.Koenig, F. W. Richter, u. Steiner, U. Watjen, J.C. Bode and W. Ohta, Nucl. Instr. Meth. 142, 163 (1977).
- 2- F. Sommer and B. Massonnet, Nucl. Instr. Meth., B22, 201 (1987).
- 3- K.Kemp and G. Danscher, Histochemistry, 59, 167 (1979). an Rinsvelt, R. D. Lear and W. R. Adams, NInstr.Meth142,171(1977)
- 4- H.A. Van RinsveLt, R. D. Lear and W. R. Adams, Nucl. Instr. Meth., 142, 171(1977).
- 5- R. Lecomte, Paradis, S. Monaro, M.Barrette, G.Lamoureux and H.-A. Menard, Nucl. Instr. Meth., 181, 301 (1981).
- 6- M. Simonoff, Y.Liabador, G.N. Simonoff, M.R. Boisseau and M. F.Lorient Rodaut, J.Radioanal. Nucl. Chem. Letters, 94, 297 (1985).
- 7- J. M.Anders, R.W. Hurd, H. A. Van Rinsvelt, P.A. Small, W. Maenhaut and J. Vandenhaut, Nucl. Instr. Meth., B22, 217 (1987).
- 8- M. Uda, K. Maeda, Y. Sasa, H. Kusuvama and Y. Yokode, Nucl. Instr. Meth., B 22 184, (1987).
- 9- G.Weber, G. Rubaye, P. Bartsch, A. Collignon, Y.Beguvin, I. Roelandts and J. M. Delbrouck, Nucl. Instr. Meth. , B3., 326 (1984).
- 10- N. M. Kwiate, M. Cholewa, J. Kajfosz, K.W. Jones, R. E. Shore and A. L. Redrick, Nucl. Instr. Meth., B22, 166 (1987).
- 11- U. A. S. Tapper. K. G. Malmqvist, A. Brun and L.G. Salford, Nucl. Instr. Meth., B22, 176(1987).
- 12- B. Hietel, F. Schulz and K. Wittmaack, Nucl. Instr. Meth., B3, 343 (1984).
- 13- W. Maenhaut, J. Vandenhaut, H. Duflou and J. De Reuck, Nucl. Instr. Meth. ,B22. 138(1987).
- 14- D. Heck. A. Ochs. A . Klemppnow, K.A. Maier and C. Kratt, Nucl Instr. Meth., B22, 196 (1987)
- 15- J. Chen, Y. Guo, H. Li, C. Ren., g. Tang, X. Wang, F. Yang and H. Yao Nucl. Instr. Meth., 181, 269(1981).
- 16- M. Ahlberg and R. Akselsson, Int. J. Appl. Rad. Iso., 27, 279 (1976).
- 17- A. H.Legge, H. C. Kaufmann and J. W. Winchester, Nucl. Instr. Meth., B3, 507 (1984).
- 18- M. Nagi. J. Iniuk and V. Valkovic, Nucl. Instr. Meth., B22, 465 (1987).
- 19-C. H. Lochmuller, J.G.Galbraith, R. L. Walter and R. E . Willis, Anal. Biochem., 57,618(1974).
- 20- I. Demeter, Z. Szokefalvi Nagy. L.Varga, L. Keszthelyi and K. Hollos-Nagy, Acta Biochem. Biophys. Acad. Sci. Hung., 14, 197(1979).
- 21- G.Weber, G. Robaye. J. M. Delbrouck, I. roclandts. O.Dideber,P. bartsch and M. C. De Pauw, Nucl. Instr. Meth., 168, (1980)
- 22- G. G Jonsson, A. Olsson, R. W. Pero, J. Pal-lon, A.-k. Ekholm and S. A. E. Johansson. to be published.