واحد بین الملل

پایان نامه کارشناسی ارشد
در رشته‌ی فیزیک- اپتیک لیزر

پراکندگی نور از روی گلبول های قرمز خون

به کوشش
ایمان منصوریان

استاد راهنما
دکتر حمید نادگران

شهریور ۱۳۹۲

بسم الله الرحمن الرحيم

به نام خدا

اظهار نامه

اینجانب ایمان منصوریان دانشجوی رشته فیزیک گرایش اپتیک لیزر دانشکده علوم اظهار می کنم که این پایان نامه حاصل پژوهش خودم بوده و در جاهایی که از منابع دیگران استفاده کرده ام، نشانی دقیق و مشخصات کامل آن را نوشته ام. همچنین اظهار می کنم که تحقیق و موضوع پایان نامه ام تکراری نیست و تعهد می نمایم که بدون مجوز دانشگاه دستاوردهای آن را منتشر ننموده و یا در اختیار غیر قرار ندهم . کلیه حقوق این اثر مطابق با آیین نامه مالکیت فکری و معنوی متعلق به دانشگاه شیراز است.

نام و نام خانوادگی:ایمان منصوریان

تاریخ و امضا:

به نام خدا

پراکندگی نور از روی گلبول های قرمز خون

به کوشش

ایمان منصوریان

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه به عنوان بخشی

از فعالیت های تحصیلی لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته ی

فیزیک- لیزر و اپتیک

از دانشگاه شیراز- واحد بین الملل

شیراز

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی شده توسط کمیته پایان نامه با درجه: عالی

دکتر حمید نادگران، استاد بخش فیزیک (استاد راهنما).....

دکتر عبدالناصر ذاکری، استاد بخش فیزیک (استاد مشاور) .....

دکتر محمود حسینی فرزاد، استادیار بخش فیزیک (استاد مشاور).....

شهریور ۱۳۹۲

تقدیم به

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگان

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است

به پاس قلب های بزرگشان که فریاد رس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می گراید

و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند

این مجموعه را به **پدر و مادر عزیزم** تقدیم می کنم

سپاسگزاری

به استناد آیه ی شریفه ی ۱۰ از سوره ی مبارکه ی فاطر که خداوند می فرماید" الیه یصعد الکلم الطیب والعمل الصالح یرفعه" ، سخنان و کلام ارزشمند به سوی خدا صعود می کند و با ابدیت سنخیت پیدا کرده و همواره آثار خود را ظاهر می سازند ;
بسی شایسته است ازتلاش های مداوم وکوشش های مستمر جناب آقای دکتر حمید نادگران که دراشاعه ی تعلیم وتربیت وبسط وتوسعه ی علم ودانش ونیزاز روشن رای و کارگشایی ثمربخش شما به عنوان استاد راهنما درکمال امتنان وافتخارتقدیروتشکرنموده و همچنین از اساتید مشاور جناب آقایان دکتر ذاکری و حسینی فرزاد کمال تشکر و قدردانی را دارم.

چکیده

پراکندگی نور از روی گلبول های قرمز خون

به کوشش
ایمان منصوریان

یکی از مسائل مورد توجه در اپتیک پراکندگی نور است، نور می تواند به عنوان ابزاری برای پیدا کردن پارامترهای ظاهری و سطحی جسمی بدون تماس با آن مورد استفاده قرار گیرد. روش پراکندگی امواج الکترومغناطیس از جمله روش هایی است که می توان از سطوح غیر صلب اطلاعات کسب کرد. پراکندگی این امواج از روی اجسام به اندازه، شکل، مواد تشکیل دهنده و غلظت آنها بستگی دارد.

ناهنجاریهای ساختاری و مکانیکی گلبول های قرمز خون با اختلالات مهم مرتبط شده است. می توان از روش پراکندگی نوری به جمع آوری داده ها ی مکانیکی از خواص مکانیکی و دینامیک سلول های زنده و خواص نوری آنها بدون تماس فیزیکی با گلبول های قرمز پرداخت.

گلبول های قرمز خون به شکل یک سیلندر هستند که دارای عمق، عرض گودی، ارتفاع و ضخامت بوده ، که همان پارامتر های کلینیکی آنها نامیده می شوند. پارامترهای کلینیکی گلبول های قرمز می تواند تغییر کند.

در این رساله با استفاده از تبدیل فوریه نور پراکنده شده از گلبول های قرمز خون تحت اولین تقریب بورن مدلی تئوری ارائه داده می شود که در آن دامنه و فاز امواج الکترومغناطیسی پراکنده شده برروی گلبول های قرمز خون ناسالم مورد آزمایش را، محاسبه می گردد و داده های بدست آمده را با داده های بدست آمده مشابه از روی گلبول های سالم مقایسه می شود. این کار را بر روی اسمیرخون انجام می دهند [۱] که ابزار تشخیصی استاندارد در آسیب شناسی است.

کلید واژگان: پراکندگی- فوریه- مشخصات کلینیکی گلبولهای قرمز خون

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱ کلیات ۲
۱-۲ تاریخچه ۳
۱-۳ خون و اجزای آن ۷
۱-۴ اسمیر خون ۹

فصل دوم: پراکندگی و انواع آن

۲-۱ پراکندگی ۱۱
۲-۲ انتقال نور در محیط چگال ۱۶
۲-۳ انواع پراکندگی ۱۶
۲-۴ پراکندگی رامان ۱۹
۲-۵ پراکندگی بریلوئن ۲۱
۲-۶ پراکندگی استوکس ۲۳
۲-۷ پراکندگی آنتی استوکس ۲۵

فصل سوم: روش تحقیق

۳-۱ مقدمه ۲۸
۳-۱-۱ تبدیل فوریه ۲۸
۳-۲-۱ تابع دلتای دیراک ۲۹
۳-۲ تقریب بورن ۲۹
۳-۳ محاسبه دامنه میدان پراکنده شده روی گلبول قرمز خون ۳۳
۳-۳-۱ تقریب های اعمال شده ۳۹

عنوان **صفحه**

فصل چهارم: نتایج محاسباتی
۴-۱ پراکندگی از تک گلبول قرمز خون ۴۱
۴-۲ پراکندگی از اسمیر خون ۴۴

نتیجه گیری نهایی ۴۶

فهرست منابع و مآخذ ۴۷

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱-آزمایش DPM توسط لیزر آرگون ۵
شکل۱-۲- گسترش خون طبیعی ۸
شکل۱-۳-کم خونی مگابلاستیک ۸
شکل ۱-۴-کم خونی فقر آهن ۹
شکل ۲-۱-مقدار متوسط موج هائی که به نقطه مشاهده P می رسند صفر است ۱۲
شکل ۲-۲ پراکندگی نور در یک محیط همگن و نا همگن ۱۴
شکل ۲-۳ طیف فرکانسی پراکندگی خود به خودی نور ۱۷
شکل ۲-۴ توضیح ترازی پراکندگی رامان. (a) پراکندگی استوکس (b) پراکندگی
آنتی استوکس ۲۰
شکل ۲-۵ پراکندگی استوکس ۲۴
شکل ۲-۶ پراکندگی آنتی استوکس ۲۶
شکل ۳-۱- نقطه مشاهده p، مکانی که تابع موج پراکنده شده در آن
محاسبه می شود ۳۲
شکل ۳-۲ k_i بردار موج فرودی و $\overrightarrow{k_s}$ بردار موج پراکنده و θ زاویه پراکندگی ۳۶
شکل (۳-۳) مدل گلبول قرمز خون به همراه مشخصه های ذاتی آن ۳۹
شکل (۴-۴) طرح حداقل مربعات خطا در مقیاس لگاریتم نوار رنگی ارزش
خطای نسبی بر حسب (a.u) نشان میدهد ۴۴
شکل (۴-۵)(a) تصویر برداری فاز کمی از اسمیر خون (b) مقایسه پراکندگی زاویه ای از مدل
شبیه سازی شده و اندازه گیری شده ۴۵

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

تصویر ۴-۱-(a) فاز کمی در صورت وجود نویز. (b) شبیه سازی تصویر فاز در صورت وجود نویز . (c) منحنی پراکندگی در صورت وجود نویز ۴۲
تصویر ۴-۲- (d) فاز کمی در صورت عدم نویز. (e) شبیه سازی فاز کمی در صورت عدم نویز . (f) منحنی پراکندگی در صورت عدم وجود نویز..... ۴۲
تصویر۴-۳- (a) منحنی پراکندگی زاویه ای با افزایش D (b) منحنی پراکندگی زاویه ای با افزایش δ..... ۴۳

فصل اول

مقدمه

۱-۱- کلیات

عوامل و ویروس هایی در طبیعت وجود دارند که باعث ایجاد تغییرات در گلبول قرمز خون می شوند، از آنجا که گلبول های قرمز خون اکسیژن و موا مغذی را به سراسر بدن انتقال می دهند هرگونه اختلالی در آنها باعث ایجاد بیماری در بدن فرد مبتلا شده می شود، تشخیصه این نوع بیماریها که از روی اندازه گیری شکل و اندازه گلبول های قرمز خونی صورت می گیرید از دیر باز توسط دستگاه های پیشرفته انجام می گرفته، دستگاه های موجود نمی توانند تغییرات شکل گلبول ها و اختلالات کلینیکی و تغییرات زاویه ای را به دقت اندازه بگیرند. ما با استفاده از تبدیل فوریه نور پراکنده به صورت تئوری شکل و اندازه گلبول های قرمز خونی ناسالم را با ارائه تغییرات زاویه و مکانی با دقت بالا شبیه سازی می کنیم.

با استفاده پراکندگی می[1] ، قسمت پراکندگی رامان تبدیل فوریه دامنه میدان نور پراکنده بر روی گلبول های قرمز خون را بدست آورند و به اندازه گیری پارامترهای کلینیکی آن با ارائه تغییرات زوایه ای و مکانی با دقت بالا پرداخته اند و توانستن شکل سه بعدی گلبول های قرمز خون را شناسایی کنند.

ما در این رساله با بررسی و تحقیق این موضوع در چندین رساله به شرح و جمع آوری آن پرداخته ایم.

[1]- Mie

۱-۲ تاریخچه

پرتو نگاری بر روی گلبول های قرمز خون ابتدا به سال ۱۹۷۵ که لنون و همکارانش با استفاده از میکروسکوپ فاز کنتر است (pcm)[1] لرزش و نوسانات گلبول های قرمز خون را تحت شرایط فیزیولوزیکی نشان دادند، برمی گردد و توابع همبستگی برای شدت لرزش گلبول ها را در نقاط مختلف بر روی سطح گلبول ها اندازه گیری کردند.[۲]

زیلکرو ساکمن در سال ۱۹۸۷ با استفاده از میکروسکوپ تداخل فاز کنتراست (RICM)[2] براساس الگوی تداخل سنج نیوتنی و تجزیه و تحلیل فوریه، توسط تداخل نور منعکس شده از سطح سلول و از سطح شیشه ای (اسلایدی که گلبول های قرمز خون روی آن ثابت شده است) سطح غشاء پلاسما گلبول قرمز خون مانند لرزش سلولی را با دامنه کوچکتر از ۵۰ نانومتر و طول موج میکرومتر، مشخصات سطح گلبول ها را بررسی کردند [۳] . و نیز میکروسکوپ دیگری که در طیف نگاری از گلبول های قرمز به ما کمک می کند میکروسکوپ تداخل فلورسانس (FLIC)[3] است که تکنینشان متکی بر استنباط موقعیت فلور سنت رنگ مولکول های متصل شده به غشاء گلبول های قرمز خون است و براساس تشخیص و تجسم از شدت و رنگ نور تولید شده توسط تعامل بین میدان نور و نمونه است. این تکنیک تغییر فاز نوری از داخل نمونه ای که رنگ دانه های تغییر پیدا کرده را اندازه گیری و گلبول های ناسالم را شناسایی می کند [۴].

از کارهای تئوری در زمینه پراکندگی نور روی گلبول های قرمز خون ابتدا کارلسون و همکارانش در سال ۲۰۰۵، توانستند با استفاده از روش عددی تفاوت در حوزه زمان (FDTD) و تقریب (RYTOV) و تقریب دو قطبی گسسته (DDA)، گلبول های قرمز خون را شبیه سازی کنند و حجم و جهت گلبول های قرمز خون را تحت پراکندگی با زاویه ۳۰ درجه نشان دهند.[۵]

در سال ۲۰۰۶، پوپسکو و همکارانش با استفاده از روش غیر تماسی (novel noncontant) که براساس تداخل نوری توانستند درمقیاس نانو، نوسانات غشاء گلبول های قرمز خون و

[1] - Phase Contrast micro photometry
[2] - Reflection interference contrast micropy
[3] - Fluorescence interference contrast

(Guv)[1] را اندازه بگیرند و ضریب تنش برای غشاء گلبول های قرمز خون را بدست آورند و نشان دادند که افزایش این ضریب باعث تغییر شکل گلبول های قرمز خون می شود[۶].

پوپسکوو، پارک و در سال ۲۰۰۸، با استفاده از میکروسکوپ نوری اطلاعات دقیقی از میدان پراکنده شده و ضریب شکست گلبول های قرمز خونی انسان دریافت کردند و یک چهارچوب برای استخراج غشا مکانیکی و دینامیکی از گلبول های قرمز خون ارائه دادند. در این فرض به توضیحاتی از انواع میکروسکوپ های نوری می پردازیم: میکروسکوپ نوری یک ابزار مهم برای تحقیقات بیولوژیک و زیست شناسی برای قرن ها بوده است. از زمان اختراع میکروسکوپ فاز کنتراست توسط فردریک که در سال ۱۹۵۳ جایزه اصیل در فیزیک بهلو اهدا شد این ابزار و تکنیک های مرتبط با آن یکسنگ بنای هر آزمایشگاه زیست شناسی سلولی بوده است که به عنوان ابزار تحقیقاتی غیر تهاجمی به کار می رود. روش های فاز کنتراست و فاز سنتی (DIC)[2] ذاتا کیفی و فاقد ویژگی subcellur هستند. این روش به طور کلی نیاز به تغییر و اصلاح ساختار مولکولی و سلولی از جمله نفوذ پذیر کردن سلول و یا رنگ آمیزی و یا اصلاح ژنتیکی برای سلول های زنده دارد. در طول سال های گذشته پیشرفت های قابل توجهی در روش میکروسکوپ های (QPM)[3] ، میکروسکوپ فاز کمی برای غلبه بر محدودیت میکروسکوپ فاز کنتراست (DIC) صورت گرفته است. تمام تکنیک های فاز کمی ارائه اطلاعات، به طور همزمان از میدان گسترده ای از یک رویکرد تجربی برای توصیف رفتار مکانی و زمانی از نمونه است. آزمایشگاه ها را با توجه به روش های تجربی و ابزار دقیق که قادر به تصویربرداری کمی تمام زمینه سلول های زنده است با استفاده از کنتراست ذاتی سلولی مانند ضریب شکست و پراکندگی نوری، توسعه داده اند. بر خلاف تکنیک های فاز کنتراست که اساساً تصویر از مرزهای یک شی را در اختیار قرار می دهد روش های تصویربرداری فاز کمی قادر به تصویربرداری فاز مطلق مرتبط با سلول ها و ساختار آنها است. که اساس کار آنها اندازه گیری تاخیر فاز در ارتباط با عبور نور از نمونه است. اگر چه روش های تداخلی فاز کمی برای تصویربرداری سلول های زنده با حساسیت نانومتر در زمان های میلی ثانیه پیشرفت زیادی داشته است اما رویکرد تجربی برای غلبه بر نویز موجود در محیط و نویز پس زمینه و تثبیت

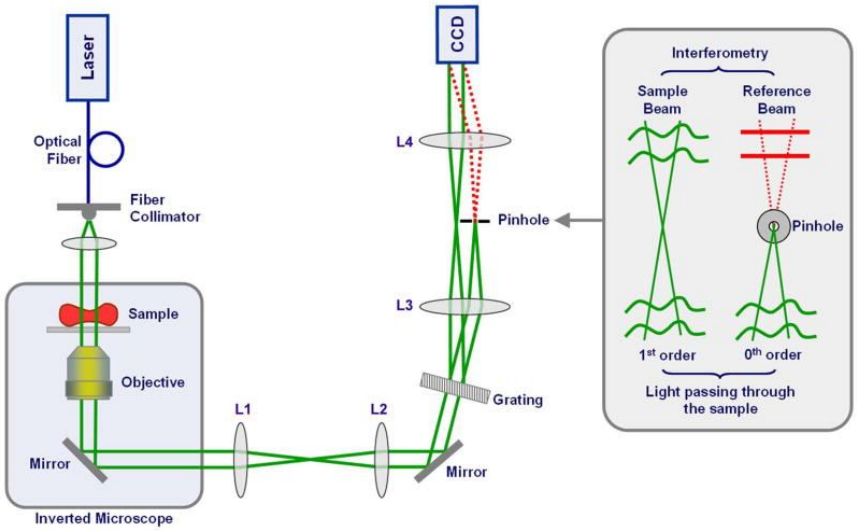
[1] - giant unilamellar resicles
[2] - Differential inter ference contrast
[3] - Quantitative phase microscopy

سیگنال را ابزاری به ابزار دیگر متفاوت است، خلاصه ای از سه رویکرد تجربی از تکنیک های مربوطه برای مطالعه دینامیک[1] RBC به صورت زیر است:

میکروسکوپ فاز فوریه (FPM)[2] ، ترکیبی از میکروسکوپ فاز کنتراست با تغییر فاز تداخل به منظور بازیابی تصاویر فاز کمی با وضوح عرضی بالا در اندازه های نانومتری است. FPM بسیار پایدار و به خوبی اطلاعاتی از پویایی سلول در مدت زمان طولانی تاخیر ساعت ارائه می دهد.

میکروسکوپ فاز هیلبرت (HPM)[3] این روش با میدان تک شات[4] وضوح فضائی و اطلاعاتی از فاز کمی در مقیاس میلی ثانیه فراهم می کند. HPM از طریق تبدیل هیلبرت به تعیین کمی تغییر فاز ناشی از نمونه می پردازد.

میکروسکوپ فاز پراش (DPM)[5] ، این میکروسکوپ با استفاده از هندسه مشترک FPM و قابلیت تک شات HPM ، تصویر برداری فاز کمی از میلی ثانیه به ساعت را فراهم می سازد. علاوه بر این می تواند با میکروسکوپ فلورسناس و روش های دیگر ترکیب شود و میکروسکوپ مرکب را قادر سازد.



شکل ۱-۱-آزمایش DPM توسط لیزر آرگون

[1] - Red Blood cell
[2] - Fouirer phase mieroscopy
[3] - Hilbert phase microscopy
[4] - Single shot
[5] - Diffraction phase microscopy

در ادامه به میکروسکوپ فاز CT و میکروسکوپ (TPM)[1] می پردازیم که در میکروسکوپ فاز CT از جذب اشعه ایکس در بافت ها به تصویربرداری از ساختار درونی بدن می پردازند این در میکروسکوپ TPM به جای اشعه ایکس در CT ، از امواج نور استفاده می شود و تغییرات در ضریب شکست به جای جذب، نقشه های ساختاری از بافت های درون بدن را ارائه می دهد.

ترکیب میکروسکوپ فاز تداخل با الگوریتم های CT ، تصاویر سه بعدی سلول را با دقت و جزئیات آن تحلیل می کند.[۷]

همچنین با استفاده از دو روش میکروسکوپ فاز سی تی و میکروسکوپ فاز پراش (DPM) توانستند تغییرات ضریب شکست و فرایندهای غشایی گلبول های قرمز خون انسان را در تهاجم انگل مالاریا بدست آورند و ارتباط تجربی این شاخص های ذاتی و حالات پاتولوژیک را بیان کردند. [۸].

در همین سال دینگ و وانگ برای اولین بار با استفاده از تبدیل فوریه نور پراکنده شده از اجسام ناهمگن و پویا توانستند فاز پراکندگی الاستیک نور و دامنه دینامیک پراکندگی نور از اجسام را بدست آورند [۹] . با استفاده از این روش میلت در سال ۲۰۱۰، نوسانات سلول ها در مقیاس نانو و خواص پویا از اسکلت سلول های عصبی را شناسایی کرد [۱۰].

پارک و یا موچی همچنین در با تلاش های بیشتر در زمینه پراکندگی نور از روی گلبول های قرمز در سال ۲۰۰۹، با استفاده از تصویربرداری اسپکروسکوپی شیفت فاز در نمونه آزمایشگاهی خون انسان و بهره بردن از طول موج های مختلف منبع نور و پراکندگی آنها از گلبول های قرمز خون (RBC) غلظت همگلوبین (RBC) را بدست آورند .[۱۱]

در ادامه در سال ۲۰۱۰، محققان توانستنn با استفاده از پرتو نگاری از روی گلبول های قرمز خون بهره های بیشتری ببرند به طوری که:

دینگ و همکارانش با میکروسکوپ (SLIM)[2] روش تصویربرداری فاز کمی (QPI)[3] میدان پراکنده شده از گلبول های قرمز خون را اندازه گیری کردند. SLIM ، ترکیی از دو روش کلاسیک تصویربرداری نوری است: میکروسکوپ فاز کنتراست Zerink ، که تصاویری با شدت

[1] - Tomographic phase microscopy
[2] - Spatial light interference microscopy
[3] - Quantitative phase imaging

کنتراست بالا از نمونه های شفاف ارائه می دهد و هولوگرافی گابور [1]، که در آن اطلاعات مربوط به فاز نمونه ثبت شده است. بنابراین SLIM نشان می دهد کنتراست ذاتی ساختار سلول و علاوه بر آن ارائه تصاویر کمی طول مسیر نور در سراسر نمونه که نتیجه دقت توپوگرافی است. [۱۲] و نیز درزمینه تهاجم انگل مالاریا به گلبول های قرمز خونی سالم انسان، پارک و دیز – سیلوا با استفاده از میکروسکوپ فاز کمی و روش تبدیل فوریه نور پراکنده شده از اجسام، تغییرات در گلبول های قرمز خون را شناسایی کردند [۱۳]، پارک و همکارانش به دنبال این روش توانستند دینامیک غشا گلبول های قرمز خون را با میکروسکوپ فاز پراش (DPM) و یک روش جدید ریاضی توصیف کنند و این اندازه گیری ها نشان داد با افزایش تنش در غشاء گردش خون تغییر می کند و مانع از تحویل اکسیژن به سلول های بدن می شود. [۱۴]

و در نهایت در همین سال میر و دینگ با پراش پرتو فاز (DPC) cytometry [2] به آنالیز اسمیر خون انسان پرداختند و توانستن اطلاعات کلینیکی گلبول های قرمز خون از جمله حجم، مساحت سطح و قطر آن را بدست آوردن و اغلب بیماری ها را از جمله کم خونی، سرطان خون و عفونت ها را شناسایی کردند. [۱۵]

۱-۳- خون و اجزای آن

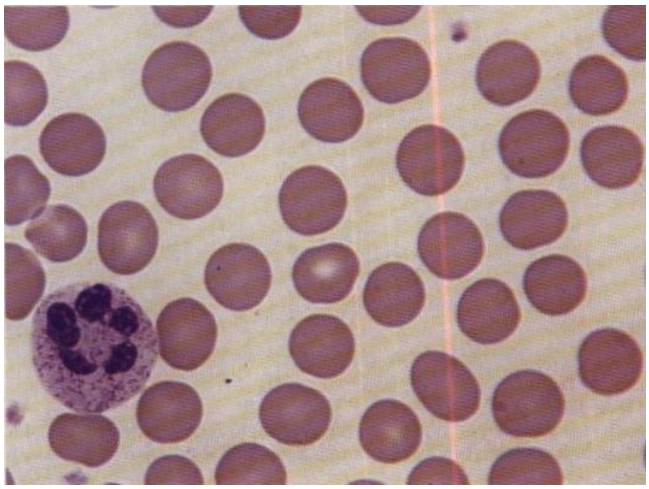
خون متشکل از سلول ها و مایعی است که بطور منظم و یک طرفه در سیستم چرخشی بسته ای در حال گردش است. این حرکت عمدتاً ناشی از انقباضات ریتمیک عضله قلب است. یک فرد بالغ در حدود ۵/۵ لیتر خون دارد. خون از دو جزء تشکیل شده است: سلول ها که شامل پلاکت و گلبول های قرمز و گلبول های سفید می باشد و مایع که پلاسما نام دارد. سلول های خون در پلاسما شناور است.

غشا گلبول های قرمز خون مسئول ایجاد سختی و مقاومت برشی است و نقشی حیاتی در گلبول های قرمز خون دارد. اختلال غشاء باعث تغییرات پارامترهای کلینیکی گلبول های قرمز

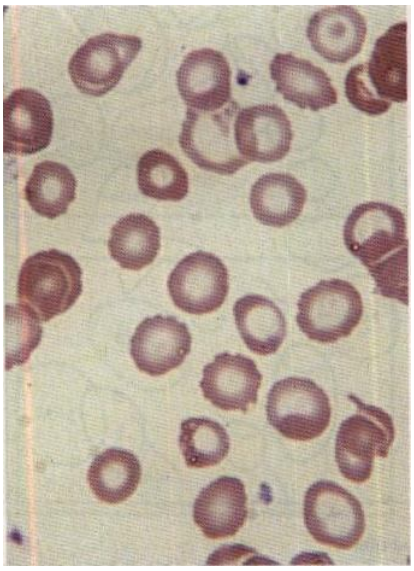
[1] - Gabor's holography
[2] - Diffraction phase cytometry

خون می شود.

در زیر تصاویری از گلبول های قرمز خون طبیعی و بیماریهای مرتبط به تغییر شکل واندازه و تعداد گلبول های قرمز نشان داده شده است.



شکل۱-۲- گسترش خون طبیعی [۱۶]



شکل۱-۳-کم خونی مگابلاستیک [۱۶]