تقليل الهشاشة التناضحية للدم بتشعيعه بليزر الهليوم - نيون (160µW)

عصام زهير الخالد و محمد كوسا و محمد الصالحي

قسم الفيزياء (بحوث الليزر) ــ كلية العلوم ــ جامعة دمشق ــ سورية

تاريــخ الإيداع 2009/09/14

قبل للنشر في 2010/05/10

الملخص

يعدّ فحص الهشاشة التناضحية لكريات الدم الحمراء، كواحد من أهم وأفضل المراجع التي يــتم بهــا الحكم على صلاحية الدم للنقل إلى المحتاج؛ من عدمه في المستشفيات، إذ يتم بهذا الفحص معرفة معــدل نسبة تحلل كريات الدم الحمراء بالنسبة إلى زمن الحفظ، في محلول ملحي قياسي.

وفي هذا البحث قمنا بدراسة تأثير أشعة ليزر هليوم–نيــون ذي قــدرة منخفــضة 160µW؛ علــى الهشاشة التناضحية لكريات الدم الحمراء، باستعمال عدة أساليب وطرائق فحصٍ مختلفةٍ.

وقد أوضحت هذه الدراسة مدى تغير منحنى الهشاشة التناضحية مع الزمن، إذ اتــضح جليــاً زيــادة نسبة تحلل كريات الدم الحمراء مع التقدم في زمن الحفظ، وقد تــم اســتخدام جهــاز التحليــل الطيفــي Spectrophotometer في تحديد الامتصاص عند 540nm للعينات جميعها قبل التشعيع وبعده.

وتم بالتجريب محاولة الوصول لأفضل طريقة لتشعيع العينة داخل أنبوب الاختبار؛ إذ تم التوصل إلــى التشعيع بليزرين أفقيين من جهتين متقابلتين ومتوازيتين لكنهما مختلفا المنحى، وذلــك لتغطيــة العينــة المستهدفة بالكامل، مع التحريك والتقليب تباعاً.

ثم درس تأثير مدة التشعيع من حيث تقليل نسبة التحلل؛ عند استخدام أشعة ليزر هليــوم–نيــون ذي القدرة 160µW، فوجد أن مدة أربع وعشرين ساعة هي الفُضلى؛ حيث قلّت نسبة تحلــل كريــات الــدم الحمراء عند 50% من تركيز محلول كلوريد الصوديوم القياسي؛ إلى نحو 5.5% من نسبتها دون تشعيع (قبل التعريض). وخلصت الدراسة إلى أن تشعيع كريات الدم الحمراء بأشعة ليزر هليوم–نيون ذي القدرة 160µW وبالكيفية المعروضة، تؤدي إلى إنقاص نسبة تحلل كريات الدم الحمراء إلى نحو النصف؛ ممّــا يعني إمكانية زيادة مدة الحفظ في بنوك الدم بالشروط المتّبعة هناك.

الكلمات المفتاحية: الليزر، التشعيع، الهشاشة التناضحية، التحليل الطيفي، الهليــوم–نيون، نسبة التحلل.

Decreasing Blood Fragility by Irradiation With He-Ne Laser (160µW)

I. Z. Al Khalid, M. Kosa and M. Al Salhi
Department of Physics, Faculty of Sciences, Damascus University, Syria

Received 14/09/2009
Accepted 10/05/2010

ABSTRACT

Blood osmotic fragility test was applied on RBCs as a first step in the present study. This test is one of the most important tests used in blood transfusion at hospitals. Through this test, and with relation to the storage time in salt solution, the average of RBCs hemolysis is determined.

This study focuses on studying the effects of 160µW Laser on some blood characteristics like osmotic fragility and testing ways.

This study showed that fragility changes by time. RBCs hemolysis increases by time of storage. Spectrophotometer was used at 540nm for identifying absorption of all samples, before and after irradiation.

An experiment was made to access the best way of irradiating of the sample inside the test tube: By shooting two differently oriented horizontal beams from two opposite and parallel sides and by stirring and flipping blood tubes respectively, irradiation was maintained and the entire sample was covered.

The best result for decreasing hemolysis was found when 160µW was used for the duration of 24 hours. Before exposure, the RBCs hemolysis was decreased by 5.5% when used in NaCl solution of 50% density.

The results indicated that irradiating RBCs with 160µW leads to decreasing RBCs hemolysis by ½, which means that blood life time can be increased under the conditions prescribed.

Key words: Laser, Irradiating, Osmotic Fragility, Spectral analysis, He-Ne, analysis percentage.

المقدمة

توصل العلم الحديث في استخدام أشعة الليزر وتطبيقاتها الطبية إلى تشخيص وعلاج كثير من الأمراض بالاعتماد على خواصه المتعددة وتأثيراته الدقيقة وأطواله الموجية المختلفة، ولاسيما تلك التي أطوالها الموجية في منطقة الأشعة تحت الحمراء، لشدة امتصاص طاقتها بواسطة الماء الموجود في الأنسجة الحية، كجراحات المسالك البولية، وطب العيون، فاستخدم الياج: لإزالة المياه الزرقاء، الآرجون الأخضر λ=515nm: في لحام الانفصال الشبكي لشدة امتصاص الدم لطاقته، وأخرى لإزالة الأورام، والعلاج الطبيعي، وإزالة تقرحات المعدة والاثنا عشر، وسرعة التئام الجروح بخاصةٍ لمرضى البول السكري الذين يعانون من صعوبة التئام الجروح، حيث يُعتمَد تأثيره الكهرمغناطيسي.[1]

وقد ابتدأت كثير من الدراسات والتجارب العملية الحالية بدراسة إمكانية الاستفادة بشكل كبير؛ من أيٍّ من مكونات الدم المفصولة في العمليات الجراحية، والدراسات الطبية المختلفة، على مدىً واسعٍ من أوقات حفظه المختلفة وفق دراسات ضوئية طيفية تعتمد الليزر بشكل كبير كأحد أهم المؤثرات والمؤشرات على مدى تغير خواصه[1،9].

ومن المعروف أن بعض خواص الدم تتغير خلال حفظه؛ لذا فقد تم الاعتماد على ما حدث في السنوات الأخيرة من تقدم طبي هائل؛ خصوصاً في مجال التطبيقات الطبية العديدةِ لأشعة الليزر إذ عُدّت كأداة تقليدية لتشخيص مواقع عديدة وعلاجها داخل الجسم معتمدةً على خواصه المتفردة وتأثيره الحراري وطوله الموجي.

لذا فكّرنا في استخدام ليزر He-Ne خاصة، لتحسين خواص الدم، وذلك بإعطائه جرعات محددة منه لأزمان مختلفة، بعد التبرع مباشرة وعند مدد مختلفة في أثناء حفظه؛ ثم قياس خواصه البيوفيزيائية ومقارنتها قبل التشعيع وبعده، بهدف الحصول على أحسن جرعة مناسبة تحسن من خواص الدم، ولا تؤثر سلبياً أو تحدث تغييرات غير مرغوب فيها قياساته الطيفية الأخرى، ومن ثم الحصول على نتائج مرجوة ومرضية حول إمكانيةِ زيادة مدة تخزينه في بنوك الدم، مما يؤدي إلى زيادة الاستفادة منه على مدى أوسع ومدداً زمنية أطول، بينما كان في الماضي يتخلص منه إثر انتهاء مدة تخزينه أو مقاربتها الانتهاء، وقد تكون بعض فصائله المحفوظة من النادرة الوجود O^-.

مواد البحث وطرائقه

اعتمدت طريقة (بار بارت وكو–وركرز) [4،2] في تحضير المحلول الملحي عالي التوتر ومختلف التراكيز وقياسي (ذو حامضية7.4) للاستخدام، ثم تضاف كميات ضئيلة من الدم إلى كميات كبيرة من المحلول الملحي المناسب والمختلف التراكيز (بنسبة 1:

100)، وهذا الجزء المضاف إلى كل تركيز من المحلول هو الذي يحدد فيما بعد المقياس المطلوب، ويجرى هذا الاختبار في درجة حرارة الغرفة (15- 25°م).

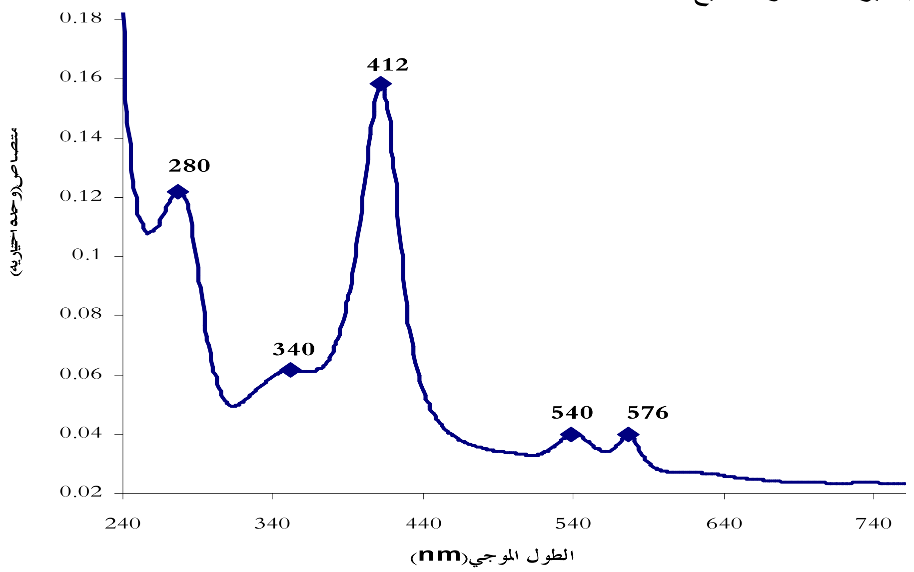
يحضر المحلــول الملحــي (كلوريــد الــصوديوم NaCl) ذو أســموزية مــساوية لــ100جم/ليتر (1.71مول/ليتر)؛ مع ضبط درجة الأس الهيدروجيني (الحامضية).

حُضّرت العينات المستهدفة للقياس وفصل مكوناتها (Centrifuge) في جهاز الفصل المركزي ومسحها ضوئياً لقياس نسبة تحلل كل منها بأخذ طيف الامتصاص لهــا عنــد 540 نانومتراً.

قيست نسبة التحلل المئوية % ورُسمت العلاقة بين التراكيز المختلفة ونسبة التحلــل المئوية، واستُخدم جهاز التحليل الطيفي (UV-Vis Spectrometry)، الذي يعطي نتائج دقيقة جداً،حتى ثمانية أرقام على يمين الفاصلة.

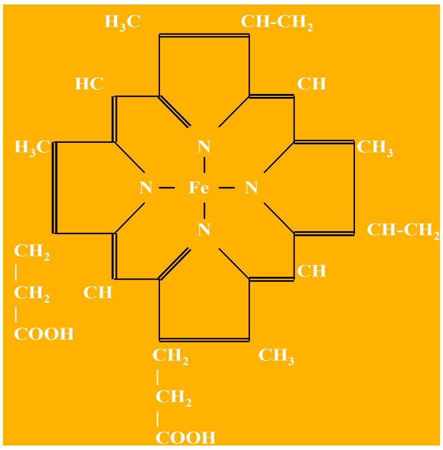
حُدّدت منطقة الامتصاص عند 540 نانومتراً؛ لأن أعلــى امتــصاص لهيموجلــوبين كريات الدم الحمراء عند 540-542نانومتراً؛ (شكل1)، واســتخدم الرائــق المفــصول للتركيز المثالي (9.0جم/ليتر NaCl) كمرجع لقياس التحلل (As a blank) [3،5].

يعطي معلومات جيدة عن بنية تركيب الهيموجلوبين في الدم وأية تغيرات تطرأ عليــه بتأثير الحفظ والتشعيع.



الشكل (1) طيف الامتصاص لهيموجلوبين الدم في المدى (200nm-800nm) عند إضافته إلى محلول كلوريد الصوديوم الملحي القياسي (تركيز 0.9%)

يتضح من الشكل عدة نطاقات لامتصاص الهيموجلوبين عند أطوال موجية مختلفة:



-أجزاء البروتين: (للجلوبين) يقع في المدى الطيفي (200nm-340nm) ويعود سبب الامتصاص فيه؛ عند الأطوال الموجية الآتية:

-(220nm) إلى السلسلة الألفاتية.

-(280nm) إلى السلسلة الأروماتية.

-(340nm) إلى تفاعل (رابطة) الهيم مع الجلوبين، كما تدل على الرابطة غير التساهمية بين الجلوبين والهيم، وعلى استقرارية الهيموجلوبين، وكذا نهاية نطاق الأشعة الفوق بنفسجية وبداية النطاق المرئي.

-أجزاء الهيم: يقع طيف امتصاصه في المدى المرئي، وتعود نطاقات الامتصاص فيه عند الأطوال الموجية التالية:

-(410-415nm) إلى نطاق سُوْرِتْ (Soret band).

-(540nm) إلى الرابطة بين الحديد والنتروجين في البروفيرين الحلقي (porphyrin ring).

النتائج والمناقشة

1- قياس هشاشة الدم التناضحية:

ثبت طبياً أن مقياس الهشاشة التناضحية الذي يحدد نسبة تحلل كريات الدم الحمراء؛ هو من أكثر القياسات دقة في تحليل أمراض الدم الوراثية وتشخيصها (كمرض البحر الأبيض المتوسط "الثلاسيميا Thalassaemia"[6،7،10]، وأمراض الدم المنجلي وخلافه)؛ كما أنه يعدُّ من أفضل الاختبارات التي تجرى لإثبات صلاحية الدم للنقل؛ إذ من خلاله يستطيع الباحثون والأطباء إثبات وجود كثير من أمراض الدم من عدمها؛ لذا فإننا في هذه الدراسة اعتمدنا في المقام الأول استخدام هذا المقياس لتحديد أثر ليزر الهليوم-نيون؛ في تحسين خواص الدم من عدمه.

ولتحقيق هذا الغرض والوصول إلى أفضل النتائج، والتأكد من حساسية مقياس الهشاشة التناضحية لكرات الدم الحمراء، وأيضاً للحصول على مقياس مرجعي قبل دراسة تأثير أشعة الليزر عليها؛ كان لابد حسب المتبع علمياً[11،12]، من إجراء عدد من التجارب، (10مرات)، كان الهدف منها ملاحظة تغير هشاشة كريات الدم الحمراء في أثناء التخزين، ودون متوسط نتائجها أدناه.

2- قياس هشاشة كريات الدم الحمراء في حالة الحفظ العادية (4ْم) ومدى تغيرها مع الزمن:

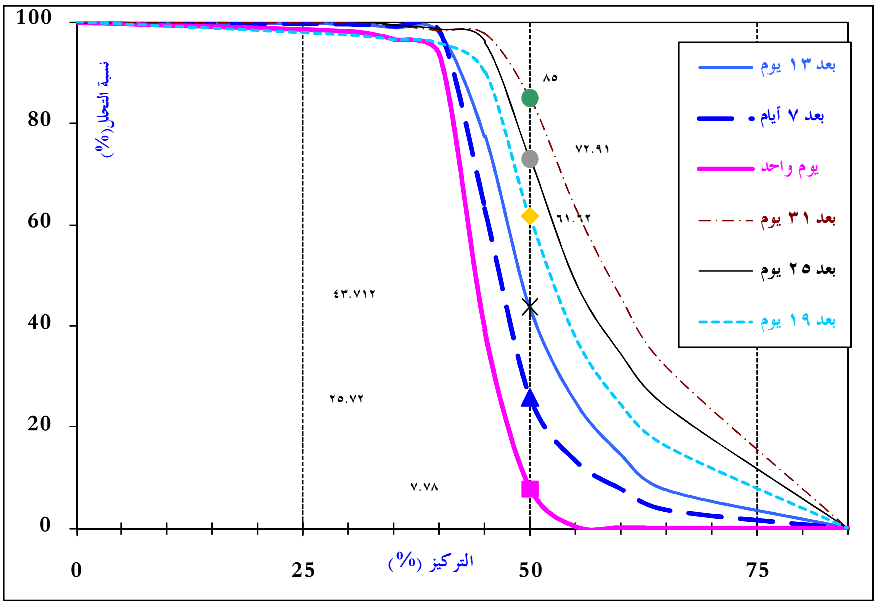
من المسلم به طبياً[2،11،12،13] أنه في مقياس الهشاشة التناضحية، يعدُّ الدم الطبيعي والخالي من الأمراض الوراثية؛ هو الذي يبدأ معدل تحلله ما بين 45-55% من تركيز محلول كلوريد الصوديوم الملحي القياسي (NaCl: Normal Saline) الموضوع فيه؛ لذا فقد أُخذت قراءة نسبة تحلل كريات الدم الحمراء عند 50% من تركيز المحلول الملحي القياسي وحُدّدت هذه النسبة كمقياس للهشاشة في القياسات التالية جميعها للعينات المختلفة الأخرى. ثم أُخذت العينات المستهدفة 10عينات وقيست الهشاشة التناضحية لها في مدد مختلفة من الحفظ (كل ستة أيام)، وملاحظة ولوحظ مع الزمن؛ وعند كل مدة أُخذ متوسط النتائج وبُوِّبَت؛ كما في جدول (1) الذي يوضح هشاشة كريات الدم الحمراء مقدرة بالنسبة المئوية إلى تحللها مع نسبة تركيز محلول كلوريد الصوديوم الملحي القياسي (NaCl-Normal Saline).

الجدول (1) تغير الهشاشة (نسبة التحلل) بالنسبة إلى الزمن مع تراكيز مختلفة من المحلول الملحي القياسي؛ لكريات الدم الحمراء الطبيعية؛ كل ستة أيام من الحفظ.

تركيز المحلول الملحي القياسي (NaCl: Normal Saline) (%)	الهشاشة التناضحية للدم (نسبة التحلل) / 6 أيام. Osmotic (%) Fragility / 6 Days.					
	بعد يوم واحد	بعد7 أيام	بعد13 يوما	بعد19 يوما	بعد25 يوما	بعد31 يوما
0	100	100	100	100	100	100
30	98.234	99.603	99.751	97.403	99.978	99.989
35	96.629	99.206	99.022	96.52	99.29	99.471
40	93.339	98.113	98.007	95.778	98.466	98.482
45	39.005	63.158	77.397	90.093	96.064	97.744
50	**7.785**	**25.72**	**43.719**	**61.622**	**72.909**	**84.999**
55	0.241	13.297	25.024	37.762	48.47	63.237
60	0.080	7.795	14.6	24.46	34.34	45.62
65	0.008	3.674	7.533	16.189	24.009	31.886
85	0	0	0	0	0	0
الانحراف المعياري	**45.09**	**42.688**	**40.287**	**37.093**	**35.826**	**33.794**

رُسمت العلاقة بين التحلل (مقياس الهشاشة) وتركيز المحلول الملحي القياسي عند مدد مختلفة من الحفظ؛ (شكل 2) الذي يبيّن أن نسبة التحلل لكريات الدم الحمراء تزداد بزيادة

زمن الحفظ؛ أي أن هناك علاقة طردية بين الزمن والتحلل، (وقد أُخذت النسبة المئوية للتحلل عند التركيز 50% من محلول كلوريد الصوديوم الملحي القياسي كمرجع يوضح المقصود).



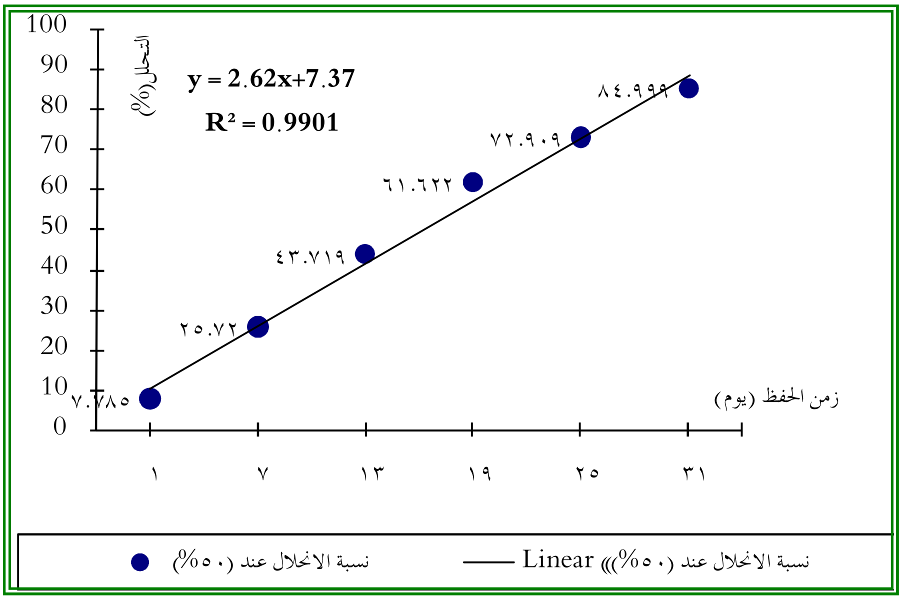
الشكل (2) العلاقة بين نسبة تحلل كريات الدم الحمراء ونسبة تركيز محلول كلوريد الصوديوم الملحي القياسي؛ لعينة دم طبيعية؛ كل ستة أيام من الحفظ.

ولأهمية دراسة مقياس التحلل ومدى تغيره مع الزمن لوحظت العلاقة بين التحلل وزمن الحفظ، وتبويبها في الجدول (2) الذي يوضح هشاشة كريات الدم الحمراء مقدرة بالنسبة المئوية لتحللها عند تركيز (50%) من محلول كلوريد الصوديوم القياسي، ومدة حفظ العينة (معدل كل 6 أيام).

الجدول (2) تغير هشاشة كريات الدم الحمراء الطبيعية (نسبة تحللها) عند 50 % من تركيز محلول كلوريد الصوديوم الملحي القياسي؛ وزمن الحفظ.

مدة الحفظ (يوم)	نسبة التحلل عند (50%) من تركيز المحلول الملحي القياسي لكلوريد الصوديوم
1	7.785
7	25.72
13	43.719
19	61.622
25	72.909
31	84.999
الانحراف المعياري	26.752

ولمزيد من إيضاح هذه النتائج؛ رُسم منحنى العلاقة بين نسبة تحلل كريات الدم الحمراء عند تركيز 50% من المحلول الملحي القياسي لكلوريد الصوديوم وبين مدة الحفظ (كل ستة أيام)، (شكل 3) الذي أظهر علاقةً طرديةً بين نسبة تحلل الكريات الدموية الحمراء (الهشاشة التناضحية لها)؛ ومدة الحفظ، أي أنها تتزايد بازدياد مدة الحفظ.



الشكل (3) العلاقة بين هشاشة كريات الدم الحمراء الطبيعية (نسبة تحللها) عند 50 % من تركيز محلول كلوريد الصوديوم الملحي القياسي؛ وزمن الحفظ.

3- قياس هشاشة كريات الدم الحمراء بعد تعريضها لشعاع ليزر الهليوم–نيون ذي قدرة 160 ميكروواط:

ولبحث تأثير تعريض عينات الدم لليزر الهليوم–نيون في هشاشة كريات الدم الحمراء ومقارنتها بالعينات الطبيعية غير المشعة، مع ملاحظة تثبيت المقارنة في التحلل عند نسبة 50% من تركيز المحلول القياسي (NaCl)؛ تم التشعيع بليزر الهليوم–نيون ذي القدرة 160 ميكروواط لعينة الدم (بكمية 1.5ملل)؛ وفق الخطوات الآتية:

ــ التشعيع مدة 12 ساعة، من اتجاه أفقي واحد، ومن ثم قياس الهشاشة التناضحية؛ باحتساب نسبة تحلل كريات الدم الحمراء مع تغير تراكيز نسب المحلول الملحي القياسي لكلوريد الصوديوم، وبوّبت النتائج لكل من العينة الطبيعية (دون تشعيع) والمشععة كما يتضح في جدول (3).

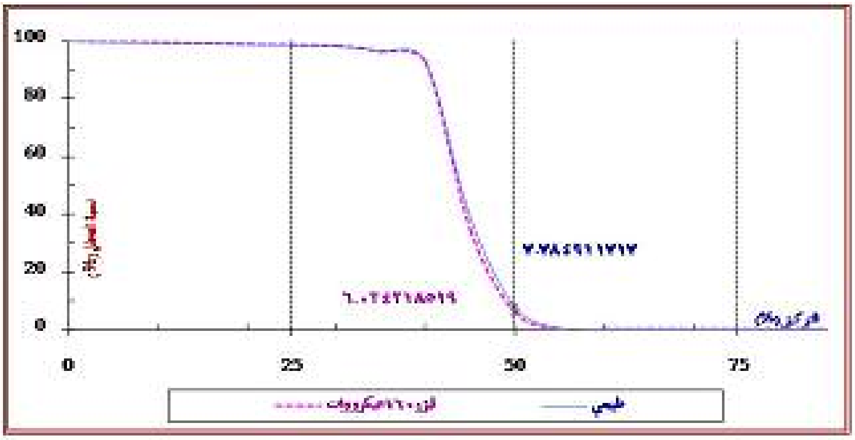
الجدول (3) المقارنة بين نسبتي التحلل (%)؛ لعينتين من كريات الدم الحمراء؛ قبل التشعيع بليزر الهليوم-نيون (160 ميكرووات) وبعده من اتجاه أفقي واحد، مدة 12 ساعة بعد يوم احد فقط من الحفظ؛ عند التراكيز المختارة من المحلول الملحي القياسي لكلوريد الصوديوم.

نسبة تركيز محلول كلوريد الصوديوم الملحي القياسي (%)	نسبة تحلل كريات الدم الحمراء بعد يوم واحد(%)	
	طبيعية	مشعّعة بليزر(160ميكرووات)
0	100	100
30	98.23434992	98.18260631
35	96.62921348	96.40647429
40	93.33868379	92.26111199
45	39.00481541	34.04787827
50	7.784911717	6.024218519
55	0.240770465	0.279447945
60	0.080256822	0.069370752
65	0.008025682	0.007278876
85	0	0
المتوسط	**43.53210**	**42.72784**
الانحراف المعياري	**47.52883**	**47.59213**
الخطأ المعياري	**15.02994**	**15.04995**
قيمة (ت) : T-TEST	**.018**	**.019**

ومن قيمة (ت) في الجدول يتضح أنه لا يوجد فرق دال إحصائيا

ولمزيد من إيضاح النتائج أعلاه رُسمت العلاقة بين نسبة تحلل كريات الدم الحمراء ونسبة التغير في تركيز المحلول الملحي القياسي لكلوريد الصوديوم، (شكل4)؛ الذي يوضح أيضاً نسبة التحلل عند تركيز 50% من المحلول القياسي لكل من العينة الطبيعية (دون تشعيع) والعينة المشععة، التي وجدت على التتابع (7.78 %، 6.02%).

يلاحظ من الشكل (4)، وقيم التحلل عند تركيز 50 % عليه؛ أن هناك فرقاً بسيطاً بين منحنيي العينة المرجعية للدم (دون تشعيع)، والعينة المشععة؛ الذي يظهر أن تحلل كريات الدم الحمراء قد قلّ بنسبة تقريبية (~ 1.7%) كنتيجة للتشعيع بأشعة الليزر، وهذا يدل على أن لأشعة ليزر الهليوم نيون تأثيراً إيجابياً في تقليل نسبة تحلل الكريات الدموية الحمراء، ومن ثم تحسين خواصها من حيث زيادة قدرتها على تحمل الضغط الأسموزي في المحلول الملحي، ومن ثم إمكانية زيادة مدة الحفظ.



الشكل (4) العلاقة بين نسبة تحلل كريات الدم الحمراء ونسبة تركيز محلول كلوريد الصوديوم القياسي لعينتي المرجع والعينة المعرضة لليزر الهليوم نيون (160 ميكروواط) من اتجاه أفقي واحد؛ مدة 12 ساعة بعد يوم واحد فقط من التبرع.

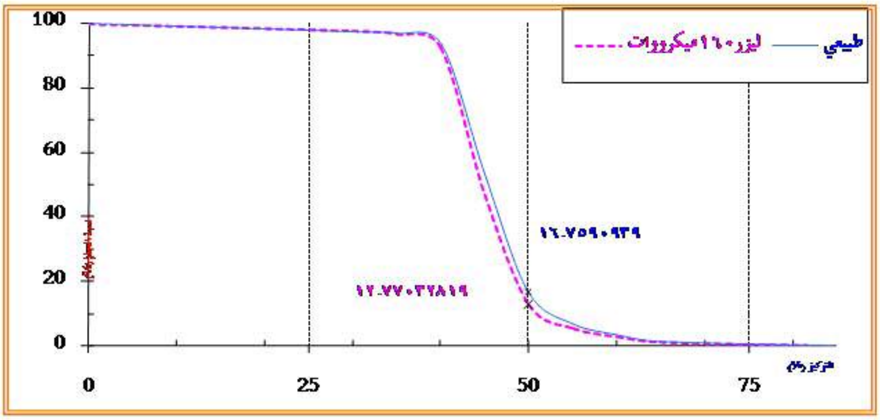
زيادة مدة تعريض عينات الدم حتى أربع وعشرين ساعة، مع الحفاظ على ظروف التشعيع نفسها (درجة الحرارة، التحريك..)، وعند قياس نسبة التحلل لكريات الدم الحمراء المشععة، ومقارنتها بمثيلتها غير المشععة (التي لها مدة التخزين نفسها)؛ عند تغير التراكيز المختلفة للمحلول القياسي، تم الحصول على النتائج المبوبة بجدول (4).

الجدول (4) المقارنة بين نسبتي التحلل (%)؛ لعينتين من كريات الدم الحمراء؛ قبل التشعيع بليزر الهليوم–نيون (160 ميكرووات) وبعده من اتجاه أفقي واحد، مدة 24 ساعة بعد أربعة أيام فقط من الحفظ؛ عند التراكيز المختارة من المحلول القياسي لكلوريد الصوديوم.

نسبة تركيز محلول كلوريد الصوديوم الملحي القياسي (%)	نسبة تحلل كريات الدم الحمراء بعد أربعة أيام (%)	
	طبيعية	مشعّعة بليزر(160ميكرووات)
0	100	100
30	97.58435943	97.69928375
35	97.04859479	96.76326099
40	93.79640944	92.78348686
45	54.10282921	46.94929957
50	16.7590939	12.77032819
55	6.993138453	5.345802284
60	3.599962402	2.71818137
65	1.409906946	1.067175565
85	0	0
المتوسط	**47.12943**	**45.60968**
الانحراف المعياري	**45.70304**	**46.09055**
الخطأ المعياري	**14.45257**	**14.57511**
قيمة (ت): T-TEST	**.010**	**.012**

ومن قيمة (ت) في الجدول يتضح أنه يوجد فرق دال إحصائيا على مستوى (0.01) ولا يوجد على مستوى (0.12)

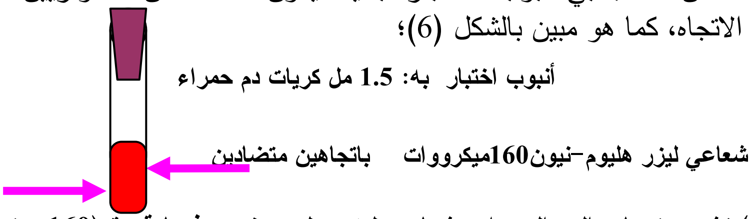
يعرض شكل (5)؛ النتائج أعلاه كعلاقة بين نسبة تحلل كريات الدم الحمراء ونسبة التغير في تركيز المحلول الملحي القياسي لكلوريد الصوديوم، الذي يوضح أيضاً نسبة التحلل عند تركيز 50% من المحلول القياسي لكل من العينة الطبيعية (دون تشعيع) والعينة المشععة، التي وجدت على التتابع (16.76 %، 12.77%).



الشكل (5) العلاقة بين نسبة تحلل كريات الدم الحمراء ونسبة تركيز محلول كلوريد الصوديوم القياسي لعينتي المرجع والعينة المعرضة لليزر الهليوم نيون (160 ميكروواط) من اتجاه أفقي واحد؛ مدة 24 ساعة بعد أربعة أيام فقط من التبرع.

ويلاحظ من الشكل أعلاه، وقيم التحلل عند تركيز 50 % عليه؛ أن هناك فرقاً حادثاً بين منحنيي العينة المرجعية للدم (دون تشعيع)، والعينة المشععة؛ الذي يظهر أن التحلل قلَّ بنسبة (~ 3.99%) بعد مضاعفة مدة التعريض لأشعة الليزر، مما يدل على أن زيادة مدة التعريض لأشعة ليزر الهليوم–نيون تؤثر إيجابياً في تقليل نسبة تحلل الكريات الحمراء، ومن ثم زيادة قدرتها على تحمل الضغط الأسموزي في المحلول الملحي أكثر من ذي قبل، ومن ثم إمكانية زيادة مدة الحفظ مدة أطول.

ــ زيادة كفاءة التشعيع لكمية الدم بمضاعفة التشعيع للعينة وذلك بالتعريض أفقياً للقدرة نفسها أعلاه من كلا جانبي أنبوب الاختبار؛ بحيث يكون الشعاعان متوازيين لكنهما متضادي الاتجاه، كما هو مبين بالشكل (6)؛



الشكل (6) تشعيع كريات الدم الحمراء بشعاعي ليزر هليوم–نيون ذويا قدرة (160 ميكروواط) أفقياً من كلا جانبي أنبوب الاختبار.

هذه الطريقة في التشعيع تضمن التوزيع المتجانس لأشعة الليزر على كامل العينة وتغني نوعاً ما عن عملية التحريك خاصة في أثناء المدة الطويلة في التشعيع، وقد تم تعريض عينات الدم بهذه الطريقة مدة أربع وعشرين ساعة، مع الحفاظ على ظروف التشعيع نفسها في التجارب السابقة (درجة الحرارة،..)، وعند مقارنة نسبة تحلل كريات الدم الحمراء المشععة بنسبة تحلل العينة غير المشععة التي لها مدة التخزين نفسها؛ مع تغير التراكيز المختلفة للمحلول القياسي، تم الحصول على النتائج المبوبة بجدول (5).

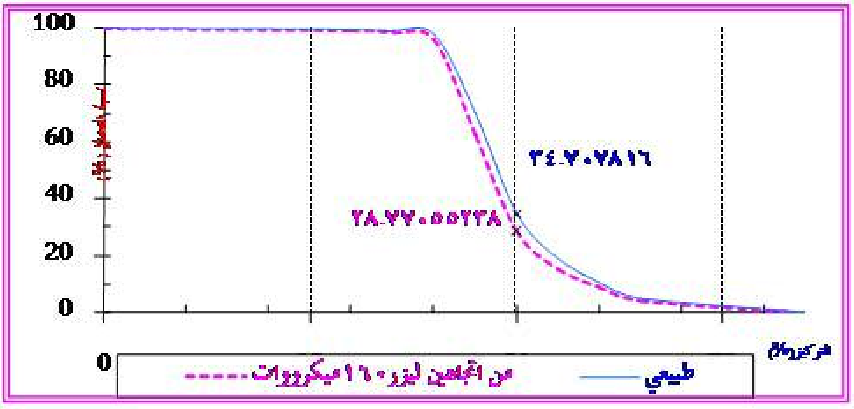
الجدول (5) المقارنة بين نسبتي التحلل (%)؛ لعينتين من كريات الدم الحمراء؛ قبل التشعيع بليزر الهليوم–نيون (160 ميكرووات) وبعده من اتجاهين أفقيين متقابلين لكلا جهتي أنبوب الاختبار، مدة 24 ساعة بعد عشرة أيام من الحفظ؛ عند التراكيز المختارة من المحلول القياسي جميعها.

نسبة تركيز محلول كلوريد الصوديوم الملحي القياسي (%)	نسبة تحلل كريات الدم الحمراء بعد عشرة أيام (%)	
	طبيعية	مشعّعة من اتجاهين بليزر(160ميكرووات)
0	100	100
30	99.784195	99.35750087
35	99.307355	98.54183239
40	97.860028	96.18936224
45	70.731842	62.57688082
50	34.707816	28.77055238
55	19.268046	15.63975803
60	11.003871	8.884332796
65	5.3311649	4.372519227
85	0	0
المتوسط	**53.79943**	**51.43327**
الانحراف المعياري	**43.69086**	**44.05457**
الخطأ المعياري	**13.81626**	**13.93128**
قيمة (ت) : T-TEST	**.004**	**.005**

ومن قيمة (ت) في الجدول يظهر بوضوح جلي أنه يوجد فرق دال إحصائياً على مستوى دلالة (0.005).

ولزيادة الإيضاح، رُسمت العلاقة بين نسبة تحلل كريات الدم الحمراء ونسبة التغير في تركيز المحلول الملحي القياسي لكلوريد الصوديوم، (شكل 7)؛ الذي يوضح أيضاً نسبة التحلل عند تركيز 50% من المحلول القياسي لكل من العينة الطبيعية (دون تشعيع) والعينة المشععة، التي وجدت على التتابع (34.71%، 28.77%).

يلاحظ من الشكل (7)، وقيم التحلل عند تركيز 50 % عليه؛ أنه قد حدث فرق واضح بين منحنيي العينة المرجعية للدم (دون تشعيع)، والعينة المشععة؛ الذي يظهر أن التحلل قد قلّ بنسبة (ـ 5.94%) تقريباً؛ بعد التوزيع المتجانس لأشعة الليزر على كامل العينة.



الشكل (7) العلاقة بين نسبتي تحلل كريات الدم الحمراء، وتركيز محلول كلوريد الصوديوم القياسي لعينتي المرجع والعينة المعرضة لليزر الهليوم نيون (160 ميكرووات) من اتجاهين أفقيين متقابلين لكلا جهتي الأنبوب، مدة 24 ساعة بعد عشرة أيام من الحفظ.

ومن النتائج أعلاه، والرسوم البيانية، ونتائج التحليل الإحصائي ظهر بوضوح أن التعريض بهذه الطريقة أعطى نتائج أفضل من ذي قبل، ومن ثم إمكانية زيادة مدة الحفظ مدة أطول.

أخيراً ولتلخيص النتائج التي توصلنا إليها، قمنا بإيراد طريقة التشعيع ومدتها، وكذا مدة الحفظ؛ وتبويبها في جدول (6) أدناه؛

الجدول (6) المقارنة بين نسبتي التحلل عند (50 %) من المحلول القياسي؛ لعينتين من كريات الدم الحمراء؛ قبل التشعيع بليزر الهليوم-نيون (160 ميكرووات) وبعده بعدة طرائق مدداً مختلفة من زمن الحفظ والتشعيع.

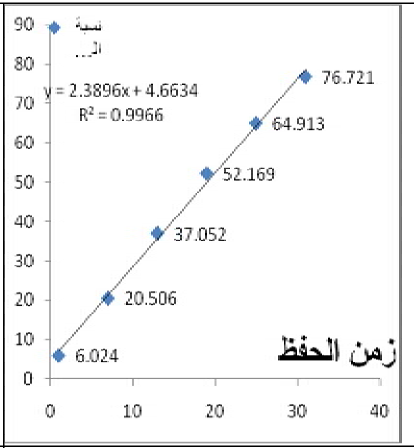
طريقة التشعيع	مدة الحفظ (يوم)	مدة التشعيع (ساعة)	نسبة التحلل عند (50%) من تركيز المحلول الملحي القياسي لكلوريد الصوديوم: طبيعية (بلا تشعيع)	نسبة التحلل عند (50%) من تركيز المحلول الملحي القياسي لكلوريد الصوديوم: مشعة بليزر هليوم-نيون(160ميكرووات)
من اتجاه أفقي واحد	1	12	7.78	6.02
	4	24	16.76	12.77
من اتجاهين أفقيين مختلفين لكلا جانبي أنبوب الاختبار	10		34.71	28.77

ولأهمية الدراسة يلاحظ أننا:

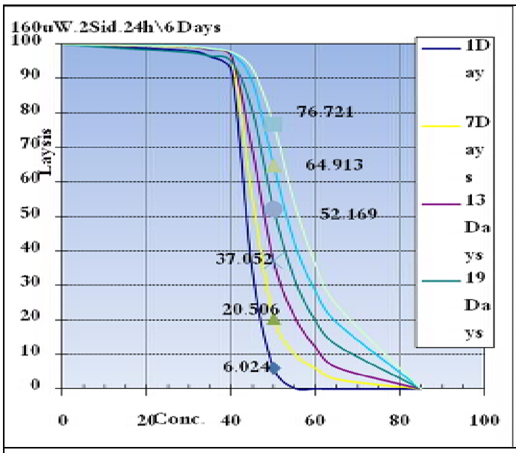
1. قمنا بزيادة القدرة المطبقة على العينات إلى (385 ميكرووات، 235 ميكرووات) مع الحفاظ على ظروف التشعيع نفسها (24ساعة، درجة الحرارة، التحريك..)، وفحص

العينات بعد التشعيع ظهرت نتائج سلبية، وخثرات لكريات الدم الحمراء، مما يدل على تكسرها واحتمالية التأثير الحراري لليزر، فتم استبعاد تلك القدرات.

2. كررنا التجارب ست مرات؛ ودوِّنت متوسطات القراءات في النتائج أعلاه؛ وأثبتت الدراسة والملاحظة المتواصلة، وفحص العينات كل ستة أيام، أن تأثير أشعة ليزر الهليوم–نيون لا يزول بزوال المؤثر؛ بل تزيد نسبة تحلل العينة المشعّعة، (شكل 8)؛ بسبب زيادة مدة الحفظ؛ وبمقارنتها بعينة المرجع يظل الفرق في نسبة التحلل للعينتين المشععة وغير المشععة واضحاً؛ وهو دليل على أن تأثير أشعة الليزر ليس مجرد تأثير آني ينتهي بزوال المؤثر؛ إنما يظل مرافقاً للعينة كخاصية من خواصها، وكأنما زاد في عمرها أو بمعنى آخر جعلها أكثر قدرة على تحمل الضغط الأسموزي الواقع عليها.



الشكل (8) أ– العلاقة بين نسبة تحلل كريات الدم الحمراء المشععة عند 50% من تركيز محلول كلوريد الصوديوم الملحي القياسي؛ وزمن الحفظ.



الشكل (8) ب– العلاقة بين نسبة تحلل كريات الدم الحمراء ونسبة تركيز محلول كلوريد الصوديوم الملحي القياسي؛ لعينة دم مشعّعة؛ كل ستة أيام من الحفظ.

الخاتمة

1) يتضح مما سبق أن القدرة (160ميكرووات) تؤثر إيجابياً في تقليل نسبة تحلل كريات الدم الحمراء، وهو يعطي دلالة واضحة على التأثير الكهرمغناطيسي المحتمل لأشعة ليزر الهليوم نيون في الكريات الدموية الحمراء، ومن ثم تحسين خواصها من حيث زيادة قدرتها على تحمل الضغط الأسموزي في المحلول الملحي، ومن ثم إمكانية زيادة مدة الحفظ.

2) أفضل طريقة للتشعيع بهذه القدرة هي من اتجاهين متقابلين لأنبوب الاختبار بحيث يكون الشعاعان أفقيين متوازيين ومختلفي المنحى.

3) أنسب مدة زمنية للتشعيع بهذه القدرة (160ميكرووات) وبالطريقة نفسها أعلاه؛ هي 24 ساعة.

4) يؤثر ليزر الهليوم نيون المنخفض القدرة في إنقاص نسبة تحلل الكريات الدموية الحمراء إلى نحو 5.5% منها دون تشعيع.

5) لا تؤثر مدة الحفظ بعد التعريض في التحلل، أي يبقى التأثير واضحاً خلال مدة الحفظ، بمعنى أن تأثير الليزر ليس آنياً.

6) زيادة القدرة المطبقة بالظروف نفسها لليزر الهليوم نيون إلى قدرات أعلى (385 ميكرووات، 235 ميكرووات)، يؤثر سلباً في كريات الدم الحمراء ويسهم في تكسر جدرها، وظهور الخثرات فيها.

كلمة شكر

تم أخذ العينات المستهدفة [كيس 50ملل] من كريات الدم الحمراء المفصولة عن مكونات الدم الأخرى (Back Cells)؛ من بنك الدم في مستشفى الملك خالد الجامعي، بجامعة الملك سعود بمدينة الرياض بالمملكة العربية السعودية، وهي "آنية التبرع" من فئة (O^+) والمثبت بالفحص خلوها من جميع الأمراض التي تمنع نقلها للمريض؛ محفوظة في 4°م داخل كيس يحوي موانع التجلط، ثم تم عمل جميع القياسات بمختبرات الفيزياء في كلية العلوم بجامعة الملك سعود فالشكر والعرفان للدكتور محمد الصالحي، الذي أسهم كثيراً في هذا البحث، بالتعاون مع المعهد العالي لبحوث الليزر وتطبيقاته، والشكر موصول للأستاذ الدكتور محمد كوسا المشرف الرئيس على هذا البحث.

REFERENCES المراجع

1. السيد محمود السيد سليمان، محمد بن سليمان العائد؛ (1424هـ) مقدمة في الفيزياء الحيوية وتطبيقاتها الطبية؛ دار الخريجي للنشر والتوزيع، الرياض – المملكة العربية السعودية.
2. Parpart, A. K., Lorenz, P.B., Parpart, E. R., Greegg, J. R. and Chase, A.M.(1947); The osmotic resistance (fragility) of human red cells. Journal of Clinical Investigation,26, 636.
3. Brill, Alexander G.; Brill, Grigory E; Shenkman, Boris; Tamarin, Ilya; Dardik, Rima; Varon, David; Savion, Naphtali; (1999,1998) Low power laser irradiation of blood inhibits platelet function: Role of cyclic GMP. Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering (3569), Proceedings of the Effects of Low-Power Light on Biologigal Systems IV, Stockholm,SWE, p 4-11.
4. Olban, M., Wachowicz,B., Koter,M., Bryszewska,M. (1998); The biostimulatory effect of red laser irradiation on big blood platelet function, Cell Biol. Int.22(3) 245-248.
5. Baranov, V.Yu.; Chekhov, Dmitry I.; Leonov, Alexei G.; Leonov, Pavel G. Ryaboshapka, Olga M.;Semenov, S.Yu.; Splinter, Robert; Svenson, Robert H.;Tatsis, G.P.; (1999) Heat –induced change in optical properties of human whole blood in vitro, Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering,, (3599), Proceedings of The Optical Diagnostics of Biological Fluids IV,San Jose,CA,USA, P 180-187.
6. Khairullina, A.Y.; Oleinik, T.V.;(1996) Biophysical Information on the Blood Status Upon Irradiation by He-Ne Laser, Journal of Applied Spectroscoupy, (63), n 2, p 260.
7. Manteifel, Valentina; Karu, Tiina; (1999,1998) Activation of chromatin in T-Iymphocytes under the He-Ne Laser radiation, Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering, (3569), Proceedings of the Effects of Low-Power Light on Biologigal Systems IV, Stockholm, SWE, p12-16.
8. Chichuk, T.V.; Stranadko, E. F.; Strashkevich, I. A.; Klebanov, G.I.; (2000) Laser-induced priming of human blood leucocytes, Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering, (4059), p119-124.
9. R Pologea-Moraru, T Savopol, M Makropoulou, A Serafetinides and E Kovacs;(1996); He-Ne laser radiation effects on human erythrocytes, Progress in Biophysics and Molecular Biolgy, (65), Supplement, Page 94.
10. Fischer,F. Aulmann,M. Maier-Borst,W., Lorenz,W.J. (1998) Blood cell damage after in vitro irradiation of fresh whole blood with 630nm laser light. Blood Cells Mol Dis, 24(3), 385-395.
11. Gowdy, J. and Koneman, E.W. (1967). Erythrocyte osmotic fragility adapted to the AutoAnalyser. American Journal of Clinical Pathology, 47, 682.
12. E.Setoudeh Maram, Z. Mohtashm Amiri, M. Haghshenas. (2000); Effectiveness of Osmotic Fragility Screening with Varying Saline Concentration in Detecting B-Thalassemia Trait. Department of Biostatistic and Epidemiology, Community Medicine, and internal Medicine, Shiraz University of Medical Sciences and Health Services, Shiraz, Iran.
13. Biology 3420; Osmotic Fragility and Membrane Permeability of Mammalian Erythrocytes. Animal Physiology all 2003 Lab #1.