

بررسی امکان تشخیص سرطان پستان با استفاده از شتاب‌دهنده سنکروترون از طریق تکنیک طیف‌سنجی فلورسانس اشعه ایکس (XRF) از نمونه‌های مو و ناخن

طیب کاکاوند^{۱*}، مجتبی بدری^۱، احسان سلیمی^۲ و ساحل گنجی^۱

^۱ گروه فیزیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی، قزوین، ایران.

^۲ تأسیسات منبع نور ایران، مؤسسه تحقیقات علوم بنیادی، تهران، ایران.

*قزوین، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، گروه فیزیک، کدپستی: ۳۴۱۴۸۹۶۸۱۸.

پست الکترونیکی: kakavand@sci.ikiu.ac.ir

چکیده

سرطان پستان یکی از شایع‌ترین دغدغه‌های جوامع بشری است که متأسفانه در حال گسترش است و امروزه شایع‌ترین سرطان در زنان و دومین عامل مرگ و میر پس از سرطان ریه است. در نتیجه، تشخیص زودهنگام سرطان یکی از گام‌های موثر در درمان قطعی سرطان در جهان به شمار می‌آید. در این مطالعه، طیف‌سنجی فلورسانس اشعه ایکس با استفاده از شتاب‌دهنده سنکروترون بر روی نمونه‌های مو و ناخن به منظور مقایسه غلظت عناصر روی، کلسیم و گوگرد موجود در نمونه‌های زنان سالم و مبتلایان به سرطان پستان انجام شد. نمونه‌های سالم از زنانی که در معاینات فیزیکی و همچنین تصویربرداری ماموگرافی هیچ علامتی از سرطان پستان نداشتند جمع‌آوری شد و نمونه‌های سرطانی از افراد که با روش‌های مرسوم مانند ماموگرافی و بیوپسی علائمی از تومورهای بدخیم سرطانی در آن‌ها مشاهده شده، گردآوری شد. نتایج این مطالعه از طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس در سنکروترون الترا واقع در تریست ایتالیا به دست آمده است که نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار عنصر روی در نمونه‌های مو و افزایش معنی‌دار گوگرد در نمونه‌های ناخن بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد سالم است، در حالی‌که در سطح کلسیم هیچ تغییر معنی‌داری مشاهده نشد.

کلیدواژگان: سرطان پستان، فلورسانس اشعه ایکس، عناصر کمیاب، مو، ناخن، تابش سنکروترون.

۱. مقدمه

سرطان پستان یکی از انواع سرطان‌های شایع در زنان به شمار می‌آید و متأسفانه سالانه تعداد قابل توجهی از مبتلایان به این سرطان زندگی خود را از دست می‌دهند. سلول سرطانی گاهی از همان ابتدا به صورت بدخیم ایجاد می‌شود. وقتی سلول بدخیم به شکل غیر عادی تولید مثل می‌کند، همه بافت را در بر می‌گیرد و به بافت‌های دیگر هم حمله می‌کند و آن‌ها را هم آلوده می‌کند. در این صورت اصطلاحاً می‌گویند سرطان متاستاز کرده و به مرحله پیشرفته رسیده است. سرطان پستان عمدتاً از مجاری شیری شروع می‌شود [۱]. غددهای شیری پستان غده‌هایی هستند که شیر می‌سازند و مجاری شیری لوله‌هایی هستند که شیر مادر

[۱۱،۱۲]. در سال ۲۰۱۵ اصغر مازیار و همکارانش تحقیقی در رابطه با امکان تشخیص سرطان پستان با استفاده از طیف سنجی فلورسانس پرتو ایکس از موی انسان انجام دادند، در این تحقیق مقدار عناصر کلسیم، روی، منیزیم، گوگرد موجود در موی اشخاص مبتلا به سرطان پستان و افراد سالم مورد مقایسه و بررسی قرار گرفته است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که مقدار تمام عناصر مورد بررسی در افراد سالم در مقایسه با افراد مبتلا به سرطان بالا است. این تحقیق با استفاده از تجهیزات متداول (x-ray tube) طیف سنجی فلورسانس و پراش ایکس انجام شده که برای نمونه‌های کوچک و غیر همگن مانند مو و ناخن دارای درصد خطای بالایی است [۱۳].

به منظور آنالیز عنصری و تعیین توزیع کمی عناصر مختلف در انواع نمونه‌ها از جمله بافت‌هایی با دقت بالا، روش فلورسانس اشعه ایکس^۵ (XRF) مورد استفاده قرار می‌گیرد. بنابراین جهت آنالیز عنصری نمونه‌های ناخن و مو در این تحقیق از این روش استفاده شده است [۱۴،۱۵]. در طیف‌سنج فلورسانس اشعه ایکس، نمونه تحت تابش تشعشعات پرشدت اشعه ایکس قرار می‌گیرد. غالباً منبع یک تیوب اشعه ایکس است اما به منظور دستیابی به تصاویر با کیفیت و دقت آنالیز در حد یک ذره در یک بلیون ذره (ppb) از تابش فوق العاده پرشدت پرتوهای ایکس گسیلی از سنکروترون استفاده می‌شود. عناصر مورد تابش واقع شده در نمونه در وضعیت تحریکی و ناپایدار شروع به تابش اشعه ایکس مشخصه فلورسنت با بسامدهای گسسته (معادل رنگ‌ها در نور مرئی) می‌کنند. این رنگ‌ها که بیانگر بسامد خاصی است، برای هر کدام از عناصر موجود در نمونه منحصر به فرد است و بیانگر وجود آن عنصر در نمونه است. درخشندگی رنگ‌ها در تصویر بیانگر فراوانی عناصر موجود در نمونه است. منابع پرتو برای طیف‌سنجی، معادل یک

را از بافت غده‌ای به نوک پستان می‌برند [۲،۳]. عوامل مختلفی ممکن است خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش دهند، مانند شروع قاعدگی در سنین پایین، سن دیررس در یائسگی، سن دیررس در اولین بارداری، سابقه خانوادگی، چاقی، مصرف الکل و هورمون درمانی از علل احتمالی افزایش خطر سرطان پستان هستند [۴].

پس از سرطان ریه، سرطان پستان دومین عامل مرگ و میر در بین زنان است که یکی از سرطان‌های تشخیص داده شده در سراسر جهان است. آمارها نشان داده که میزان بروز سرطان پستان و میزان مرگ و میر در طی ۲۰ سال گذشته به‌ویژه در کشورهای کم‌تر توسعه یافته افزایش یافته است [۶،۵].

تشخیص سرطان در مراحل اولیه می‌تواند به‌طور بالقوه امید به زندگی بیماران را به‌ویژه در دراز مدت افزایش دهد. روش‌های مختلفی برای تشخیص سرطان پستان، از جمله ماموگرافی^۱، اولتراسوند^۲، تصویربرداری تشدید مغناطیسی، توموگرافی^۳ کامپیوتری، بیوپسی^۴ و توموگرافی گسیل پوزیترون وجود دارند و بعضی از آن‌ها در مراکز درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. هر یک از روش‌های فوق دارای محدودیت‌هایی مانند هزینه‌های بالا و نیازمند حضور تمام وقت بیماران در مراکز تشخیصی در طول فرآیند تشخیص می‌باشند. برای زنان جوان‌تر روش‌های تشخیصی سنتی فوق، ناخوشایند است و در مواردی روش‌های تشخیص سنتی پرخطا و غیردقیق می‌باشند [۷،۸]. روش‌های غیرمستقیمی نیز برای تشخیص سرطان، از جمله آنالیز عناصر کمیاب در نمونه‌های مو، ناخن، سُرْم و بافت پستان، سال‌ها مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [۹،۱۰].

بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که افزایش غلظت برخی از عناصر در بافت تومور به نظر می‌رسد که با رشد عروق در تومور و افزایش عرضه خون در سطح تومور همراه باشد

⁴ Biopsie

⁵ X-ray Fluorescence

¹ Mammography

² Ultrasound

³ Tomography

به هسته) بیشتر از بقیه لایه‌ها است لذا احتمال این‌که الکترون‌های لایه L در لایه K دیده شوند بسیار بالا است. بنابراین شدت تشعشعات حاصل از گذار L به K در یک اتم (K_{α} - x ray) بسیار بیشتر از شدت فوتون‌های حاصل از گذار M به K (K_{β} - x ray) می‌باشد.

به‌طور کل می‌توان نتیجه گرفت که $I_{K_{\alpha}} > I_{K_{\beta}} > I_{K_{\gamma}}$ و $E_{K_{\alpha}} < E_{K_{\beta}} < E_{K_{\gamma}}$ که در آن $I_{K_{\alpha}}$ ، $I_{K_{\beta}}$ و $I_{K_{\gamma}}$ شدت تشعشعات مشخصه عنصر مربوطه هستند و همچنین $E_{K_{\alpha}}$ ، $E_{K_{\beta}}$ و $E_{K_{\gamma}}$ انرژی فوتون‌های اشعه ایکس مشخصه عناصر هستند [۱۹].

۳. مواد و روش‌ها

۱.۳. شتاب‌گر سنکروترون

سنکروترون‌ها با سرعت الکترون نزدیک به سرعت نور، درخشندگی 10^{12} مرتبه بیشتر از یک لامپ پرتو ایکس، قطبیدگی عالی، انرژی قابل تنظیم و واگرایی کم، ابزاری قدرتمند برای تولید نور در محدوده طول موج مادون قرمز تا پرتو ایکس سخت است که در زمینه‌های مختلف استفاده‌های متعددی دارد. در شتاب‌دهنده سنکروترون، باریکه خط شامل تجهیزاتی برای بهینه‌سازی پرتو از نظر فضایی، انرژی و هدایت آن به نمونه است. این خط شامل بخش‌های مختلفی از جمله پیش‌خوان برای حذف باریکه‌های نامطلوب و کاهش بارگرایی، بخش اپتیک پرتو ایکس برای بهینه‌سازی نور از نظر انرژی و فضایی، و اتاقک آزمایش که شامل پراش‌سنجی، طیف‌سنجی و آشکارسازهای مختلف برای نمونه‌گذاری است.

۱.۱.۳. سنکروترون الترا

سنکروترون الترا یک شتاب‌گر سنکروترونی نسل سوم است و محدوده انرژی فعالیت آن ۲ و ۲/۵ گیگاالکترون ولت است. تولید فوتون‌ها در بازه eV تا چند ده keV، دارای ۲۸ باریکه با

رنگ متفاوت در طیف نور رنگی است. پرشدت‌ترین منبع فوتون برای طیف‌سنجی پرتو ایکس از طریق تشعشعات ناشی از الکترون‌های شتاب‌دار حاصل از شتاب‌دهنده‌های سنکروترون تأمین می‌شود [۱۷، ۱۶]. علاوه بر ویژگی‌های فوق، به‌دلیل مشخصات خاص تابش سنکروترونی مانند نقطه بودن پرتوهای روی نمونه، شار زیاد، واگرایی کم و قطبی‌شدن خطی، تابش سنکروترون یک گزینه ایده‌آل به‌عنوان منبع فوتون طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس است [۱۸]. در این تحقیق از روش‌های فلورسانس سنکروترونی با هدف امکان‌سنجی تشخیص سرطان پستان از طریق مقایسه بین طیف فلورسانس عناصر معدنی موجود در نمونه‌های مو و ناخن انسان‌های سالم و مبتلا به سرطان، استفاده شده است. نتایج حاصل از این پژوهش که در باریکه خط XRD۱ سنکروترون الترا ایتالیا انجام شده است، نشان دهنده کاهش قابل ملاحظه عنصر روی در نمونه‌های مو بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد سالم است.

۲. تئوری فلورسانس پرتو ایکس (XRF)

هنگامی که یک منبع اشعه ایکس اولیه از یک لوله اشعه ایکس یا یک منبع پر شدت و قدرت تفکیک بالا مثل تابش‌های سنکروترونی به نمونه‌ای برخورد کند، اشعه ایکس می‌تواند توسط اتم جذب شده یا در داخل مواد پراکنده شود. فرآیندی که در آن اشعه ایکس با انتقال تمام انرژی خود به یک الکترون مقید توسط اتم جذب شود «اثر فوتوالکتریک» نامیده می‌شود. در طی این فرآیند، اگر اشعه ایکس اولیه انرژی کافی داشته باشد، الکترون‌ها از لایه‌های داخلی (K، L، M و ...) خارج می‌شوند و جای خالی ایجاد می‌کنند با ایجاد یک حفره در لایه K تشعشعات ایکس حاصل از گذارهایی از ترازهای L، M، N و ... به حفره موجود در تراز K به‌ترتیب به‌صورت K_{α} ، K_{β} ، K_{γ} و ... نامگذاری شده‌اند. معمولاً در XRF صرف‌نظر از نوع چشمه، سطح مقطع یونیزاسیون لایه K (نزدیک‌ترین لایه

ویژگی‌های مختلف از جمله طیف‌سنجی پرتو ایکس، فلورسانس، تصویربرداری توموگرافیک و طیف‌سنجی جذب الکترونی و پراش تحت فشار بالا است.

خواص جذبی عناصر اصلی در نمونه‌ها و نتایج آزمایشات اولیه مشخص شدند و جزئیات آن‌ها در جدول ۲ به دقت لحاظ شده است.

جدول (۱). مشخصات باریکه.

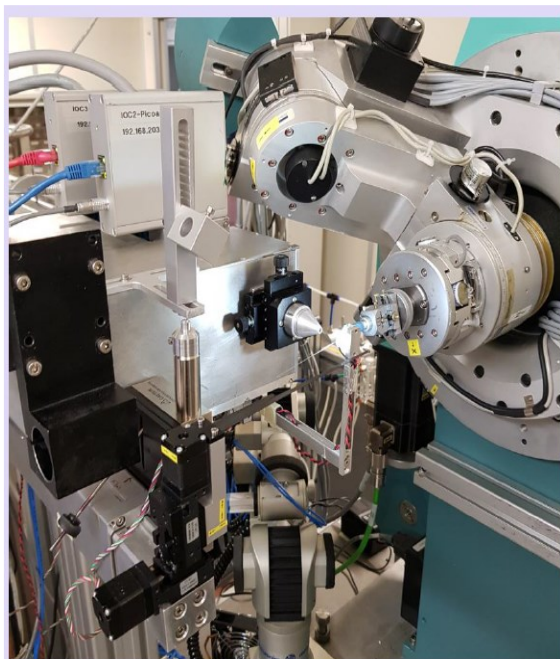
بازه انرژی	۴-۲۱ keV
شار فوتونی	$10^{12}-10^{13}$ Ph/sec
اندازه باریکه خط بر روی نمونه	$0.7-0.2$ mm ²
بازشدگی زاویه‌ای	$2/3$ mrad \times $0/3$ mrad

جدول (۲). تنظیمات باریکه جهت طیف‌سنجی XRF.

مقدار	واحد	کمیت
۰/۰۷	آنگستروم	طول موج
۱۷/۷۱	keV	انرژی
۵	دقیقه	مدت زمان طیف‌سنجی برای هر نمونه

۲.۳. آشکارساز طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس

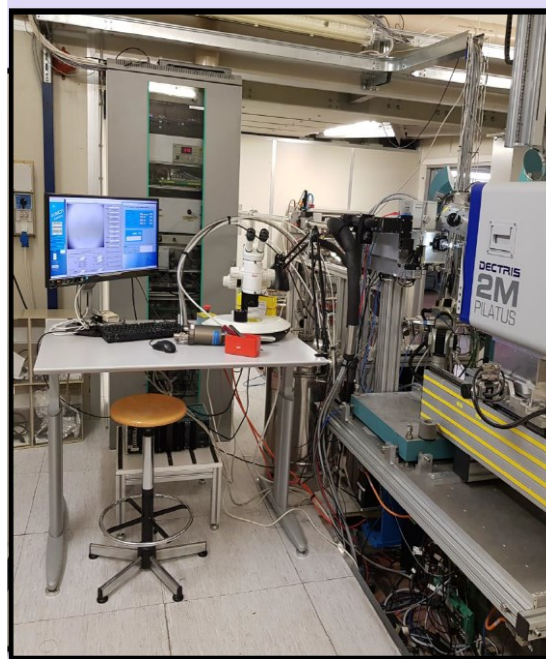
آشکارسازهای نیمه‌هادی سیلیکونی شرکت آمپتک مطابق شکل ۲ جهت انجام طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس استفاده شد.



شکل (۲). آشکارسازهای نیمه‌هادی سیلیکونی شرکت آمپتک.

۲.۱.۳. باریکه خط طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس سنکروترون الترا

باریکه خط طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس در سنکروترون الترا مطابق شکل ۱ با انرژی ۴ تا ۲۱ کیلو الکترون ولت و شار 10^{13} فوتون بر ثانیه، برای آزمایش‌های طیف‌سنجی مولکول‌های کوچک، و حتی در یک سیستم جانبی در این خط باریکه جهت بلورنگاری پروتئین‌ها، طیف‌سنجی پراش ایکس از پودرها و آزمایشات حالت جامد مورد استفاده قرار می‌گیرد (جدول ۱).



شکل (۱). خط باریکه طیف‌سنجی پرتو ایکس.

تنظیمات دقیق باریکه سنکروترونی برای پژوهش توسط پژوهش‌گر اصلی بر اساس خواص جذبی عناصر اصلی در نمونه‌ها و نتایج آزمایشات اولیه مشخص شدند و جزئیات آن‌ها در جدول ۲ به دقت آمده است. تنظیمات دقیق باریکه سنکروترونی برای پژوهش توسط پژوهش‌گر اصلی بر اساس

محاسبه احتمال رویداد این دو فرض (P_{value}) می‌توان فرض صفر را به‌طور کامل رد کرد زیرا گفته می‌شود که تفاوت معنا داری بین این دو گروه وجود دارد. هر چه قدر خطا (d) در محاسبات بیش‌تر باشد تفاوت معنادار هم بیش‌تر خواهد بود و هر چه تفاوت معنادار بیش‌تر باشد توان مطالعه بیش‌تر خواهد شد که به آن توان آزمون (Z_{β}) گویند.

در این بحث انحراف معیار (S_d) که با خطا (d) رابطه مستقیم دارد، قابل تغییر نیست. تنها کاری که برای حل این مشکل می‌توان انجام داد بالا بردن حجم نمونه است زیرا با بالا بردن حجم نمونه، توان آزمون زیاد می‌شود در نتیجه خطا کاهش پیدا می‌کند. خطاها به دو دسته تقسیم می‌شوند:

۱- خطای نوع اول هنگامی رخ می‌دهد که تفاوت معنادار کمی در فرض اول وجود داشته باشد که با P_{value} برابر است و باید کم‌تر از ۰/۰۵ باشد و خطای نوع اول را با علامت α نمایش می‌دهند.

۲- خطای نوع دوم هنگامی رخ می‌دهد که فرض اول پژوهش درست است اما پژوهش‌گر به اشتباه فرض پژوهش را رد کرده و فرض دوم را می‌پذیرد. خطای نوع دوم را با $\beta = (1 - \alpha)$ نشان می‌دهند.

با توجه به توضیحات بالا می‌توان حجم نمونه (n) را که در بحث آمار پزشکی تعداد نمونه مورد مطالعه قابل قبول است را از فرمول (۱) به‌دست آورد.

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \times \sigma_p^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2} \quad (1)$$

در فرمول (۱)، منظور از μ_1 و μ_2 میانگین به‌دست آمده از آنالیز غلظت عناصر می‌باشد و منظور از Z_{α} و Z_{β} سطح اطمینان و توان آزمون است که در محاسبات از جداول توزیع نرمال به‌دست می‌آید.

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}} \quad (2)$$

در آشکارسازهای آمپتک پرتوهای ایکس بر اثر پدیده فوتو الکتریک در یک لایه سنسور نیمه هادی (سیلیکون یا کادمیوم تلوراید) به سیگنال‌های الکتریکی تبدیل می‌شوند و این آشکارسازها به دلیل تشخیص مستقیم فوتون‌ها در اکثر باریکه خط‌های سنکروترونی برای انواع تکنیک‌ها از جمله طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس مورد استفاده قرار می‌گیرند. اطلاعات دقیق این آشکارساز در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول (۳). مشخصات آشکارساز آمپتک.

Type	Fluorescence
Sensor	SDD for X-Ray detection (۵۰۰ μm)
Detector size	۲۵ mm^2
Electronic Noise (typical)	۷۳ eV FWHM
FWHM (For ۵۹ keV Peak of ^{55}Fe)	۱۲۵-۱۴۰ eV

۳.۳. جمع آوری نمونه

طیف‌سنجی روش پارامتر حجم در علم فیزیک تعریف متفاوتی در علم پزشکی و مبحث آمار پزشکی دارد. تعریف حجم در آمار پزشکی به معنی تعداد نمونه است، فرض کنید می‌خواهیم میانگین قد افراد دو کشور ایران با نماد μ_1 و ترکیه با نماد μ_2 را محاسبه کنیم که باید قد هر نفر در این دو کشور که با نماد X_1 و X_2 است را محاسبه کرده، تا میانگین قد این دو کشور به‌دست آید. جواب در دو فرض خلاصه می‌شود:

۱- میانگین قد افراد در کشور ایران بزرگ‌تر از میانگین قد افراد در کشور ترکیه است.

۲- میانگین قد افراد در کشور ایران کوچک‌تر مساوی میانگین قد افراد در کشور ترکیه است.

فرض اول را با فرض صفر (H_0) و فرض دوم را با فرض مخالف (H_A) نشان می‌دهند، که رد کردن فرض صفر نشان‌دهنده این است که هیچ ارتباطی بین این دو گروه مورد مطالعه وجود ندارد و برای اثبات فرض مخالف باید فرض صفر رد شود. با

در فرمول (۲)، منظور از n_1 و n_2 حجم نمونه به دست آمده از مطالعات قبلی در افراد دارای سرطان و سالم است و S_1 و S_2 خطای مربوط به محاسبات μ_1 و μ_2 است.

گروه مورد مطالعه شامل ۲۵ بیمار در سنین ۳۵ تا ۷۴ سال بودند که با روش‌های سنتی و مرسوم مانند ماموگرافی و بیوپسی، تومورهای بدخیم در بافت پستان آن‌ها تشخیص داده شده بود. نمونه‌های ناخن و موی آن‌ها قبل از هر گونه درمان، مانند شیمی درمانی، جراحی، رادیوتراپی یا هورمون درمانی جمع آوری شد. ۲۵ زن سالم ۳۲ تا ۷۵ ساله که طی غربالگری سالانه سرطان پستان به عنوان موارد سالم تأیید شده بودند، به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. بیماران مبتلا به سرطان پستان و افراد سالم از نظر سن و قومیت همسان بودند. حجم نمونه با استفاده از روش تعیین حجم نمونه در مطالعات بهداشتی با فاصله اطمینان ۹۵ درصد و توان مطالعه ۷۰ درصد در بخش وضعیت دو نمونه در دفترچه راهنما محاسبه شد [۲۰]. نمونه‌ها از فروردین تا مرداد ۱۳۹۸ با همکاری بیمارستان خاتم الانبیا تهران جمع آوری شد. همه موارد مورد مطالعه از لحاظ قومیتی فارس (ایرانی) بودند. آن‌ها از هدف مطالعه مطلع شده و رضایت شفاهی داده بودند. آزمودنی‌ها از نظر سابقه پزشکی، وضعیت تأهل، مصرف قرص‌های مکمل، محصولات مو و ناخن و انواع مختلف آب تحت نظر قرار گرفتند. برای به دست آوردن تمامی اطلاعات دموگرافیک^۱ و عادات آزمودنی‌ها از فرم پرسش‌نامه استفاده شد. مقایسه داده‌های جمعیت شناختی و عادات در دو گروه افراد سالم و بیماران مبتلا به سرطان پستان بررسی شد.

تمام نمونه‌های مو، از گردن نزدیک به سطح سر با قیچی جراحی بریده شدند و نمونه‌های ناخن از ناخن‌های دست با ناخن‌گیر فولادی ضد زنگ جمع‌آوری شد. تمام نمونه‌ها طبق

روش‌های آماده‌سازی نمونه آژانس بین‌المللی انرژی اتمی، برای آنالیز فلورسانس اشعه ایکس شسته و ضد عفونی شدند [۲۱]. نمونه‌ها در کیسه‌های پلاستیکی مخصوص در دمای اتاق (۲۲- ۲۰ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. برای تثبیت نمونه‌ها در جهت پرتو بر روی نگه‌دارنده نمونه، از نوع خاصی از موجین در سنکروترون^۲ استفاده شده است. لوله‌های هماتوکریت پلاستیکی^۳ و مویرگ‌های دراموند^۴ به عنوان نگه‌دارنده نمونه برای نمونه‌های مو استفاده شده است.

۴.۳. تابش نمونه

عناصر به عنوان شاخص‌های اصلی برای مقایسه سرطان انتخاب شدند؛ و عناصر گروه‌های کنترل، روی، کلسیم، گوگرد، آهن و استرانسیم مشخص شدند [۱۳]. از پرتو تکفام و پرشدت پرتو ایکس در شتاب‌دهنده سنکروترون الترا، برای عناصر کمیاب در نمونه‌های مو و ناخن با تکنیک طیف‌سنجی فلورسانس اشعه ایکس استفاده شد. آنالیز به روش طیف‌سنجی پرتو ایکس یکی از ۲۸ خط پرتو عامل در تأسیسات سنکروترون الترا واقع در تریست^۵ ایتالیا است، که انرژی پرتو فوتون در محدوده ۴-keV قابل تنظیم می‌باشد و همچنین ابعاد باریکه فوتون تک انرژی با شدت 10^{13} - 10^{12} فوتون بر ثانیه در مترمربع روی نمونه با قطر $0.7 \times 0.2 \text{ mm}^2$ کانونی شده است. برای تشخیص سیگنال فلورسانس ساطع شده از نمونه‌ها، آشکارساز سدسطحی سیلیکونی شرکت آمپتک (Amptek X-123 SDD) استفاده شد. در این مرحله از طیف‌سنجی فلورسانس اشعه ایکس با انرژی $17/75$ کیلو الکترون ولت باریکه، هر نمونه به مدت ۵ دقیقه تحت تابش اشعه X قرار گرفت و هر عنصر با بیشینه قله مشخصه‌اش که مرتبط با گسیل فوتون‌های $K\alpha$ و $K\beta$ فلورسانس آن‌ها هستند، شناسایی شدند.

¹ Demographics

² Elettra Synchrotron

³ Haematocrit tubes

⁴ Drummond capillaries

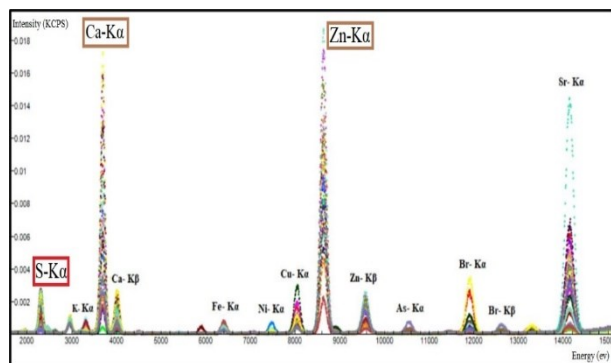
⁵ Trieste

۴. نتایج

قدرت تفکیک انرژی قله‌ها باریک‌تر خواهند شد و طیف فلورسان اشعه ایکس از نظر عملکرد بهتر خواهد شد. با توجه به نمودارهای ۱ و ۲ عناصر موجود در همه نمونه‌های جمع‌آوری شده حکایت از وجود ۱۵ عنصر مثل آرسنیک، برم، کلسیم، کلر، کبالت، مس، کروم، آهن، منگنز، نیکل، پتاسیم، استرانسیم، گوگرد، وانادیم و روی دارد. همان طوری که در نمودارها مشاهده می‌شود، جهت دستیابی به دقت بالا در آنالیز تابش فلورسانس هر کدام از عناصر فوق، اشعه مشخصه ایکس با شدت بالای آن‌ها را در نظر گرفته شده است.

۱.۴. مقایسه عنصر روی موجود در نمونه‌های ناخن و مو

با توجه به نتایج مندرج در طیف‌ها (شکل‌های ۳ و ۴) عناصر متعددی از آنالیز ناخن و موی افراد مختلف مشاهده شده است، اما اندازه شدت به دست آمده از قله‌های K_{α} در طیف فلورسانس پرتو ایکس نمونه‌های مو و ناخن همه افراد، نشان می‌دهد که سه عنصر روی، کلسیم و گوگرد که دارای فراوانی بیشتری در مقایسه با سایر عناصر موجود در نمونه هستند را می‌توان به عنوان شاخص انتخاب کرد. جدول ۴ انرژی تابش فلورسانس ساطع شده از هر عنصر که به تابش مشخصه آن عنصر شناخته می‌شود را در طول گذار الکترون از لایه L به K (K_{α}) و لایه M به K (K_{β}) بر حسب الکترون ولت (eV) نشان می‌دهند [۱۹].



شکل (۳): طیف فلورسانس مربوط به نمونه‌های مو.

آنالیز نمونه مو و ناخن از ۵۰ زن، ۲۵ مورد مبتلا و ۲۵ مورد شاهد در بررسی، انجام شد که میانگین سنی در گروه شاهد و مبتلا به ترتیب $10/2 \pm 4/8$ و $11/5 \pm 5/4$ است که میانگین سنی در گروه مبتلا کمی بیش‌تر از گروه شاهد است. براساس مشاهدات و بررسی‌های اولیه مشخص شد که سن اکثر بیماران بالای ۴۰ سال (۸۸ درصد) است و تقریباً ۱۲ درصد از بیماران سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان پستان در بستگان درجه یک خود (مادر، خواهر یا فرزند) داشتند که سه برابر بیش‌تر از افراد سالم است و همچنین تقریباً ۸۰ درصد از همه افراد در هر دو گروه شش ماه قبل از جمع‌آوری نمونه از محصولات رنگ‌کننده مو استفاده می‌کرده‌اند. با توجه به مدارک پزشکی همه افراد در هر دو گروه، مشخص شد که بیش از ۵۶ درصد از افراد گروه شاهد (غیر مبتلا) به‌طور منظم از قرص‌های مکمل، از جمله ویتامین D، کلسیم و روی، به مدت بیش از شش ماه استفاده می‌کرده‌اند، در حالی که فقط ۳۲ درصد از افراد گروه مبتلا به سرطان پستان از این نوع قرص‌ها استفاده می‌کرده‌اند.

نمودارهای ۱ و ۲ نمونه‌ای از طیف فلورسانس پرتو ایکس را نشان می‌دهد. محور افقی انرژی تابش فلورسانس بر حسب الکترون ولت است و محور عمودی شدت پرتوهای ایکس مشاهده شده در هر انرژی بر حسب واحد زمان (ثانیه) را نشان می‌دهد. هر قله حاکی از حضور عنصر خاصی است و ارتفاع قله‌ها متناسب با تعداد پرتوهای ایکس شمرده شده است، که متناسب با جرم عنصر موجود در نمونه است. به‌طور کل واحد شدت در طیف سنجی فلورسانس اشعه ایکس شمارش در واحد ثانیه است.

Count Per Second (CPS) = واحد شدت در آنالیز فلورسانس
به‌طور کلی عرض قله‌ها نشانگر توانایی آشکارساز برای تشخیص انرژی‌های مختلف است (رزولوشن انرژی) یا به‌عبارتی دیگر سطح انرژی اشعه ایکس را مشخص‌تر می‌کند. با بهتر شدن

۲.۴. خطا در محاسبه سطح زیر قله‌ها در طیف‌سنجی-XRF

داده‌های اندازه‌گیری شده در بررسی‌های آماری و استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی کاملاً دقیق نیستند و مقدار انحراف معیار و خطای معیار میانگین صفر نیست در نتیجه عدم قطعیتی که وجود دارد را باید با عدد بیان کرد.

جدول (۵). مقادیر میانگین، کمینه و بیشینه عنصر روی.

میتلا (ناخن)	سالم (ناخن)	میتلا (مو)	سالم (مو)	
۸/۵۹۴	۸/۶۸۷	۹/۶۳۲	۱۵/۴۳۸	میانگین
۳/۹۱۳	۱/۷۱۹	۲/۱۳۸	۲/۴۵۹	کمینه
۱۷/۲۱۱	۲۳/۶۷۶	۱۸/۵۲۹	۳۱/۹۲۳	ماکزیمم

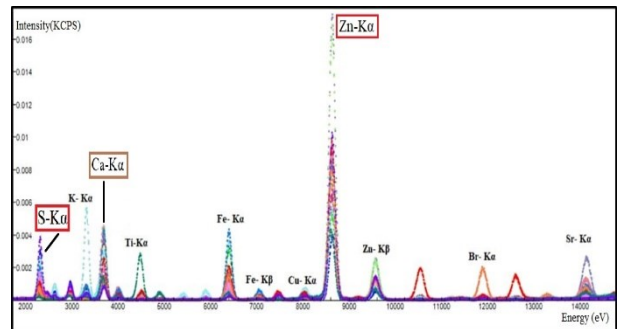
جدول (۶). مقادیر میانگین، کمینه و بیشینه عنصر کلسیم.

میتلا (ناخن)	سالم (ناخن)	میتلا (مو)	سالم (مو)	
۲/۴۴۵	۲/۱۶۹	۷/۳۶۳	۷/۸۷۰	میانگین
۰/۵۱۳	۰/۲۴۲	۰/۳۹۹	۰/۵۴۷	کمینه
۴/۴۱۷	۵/۸۷۰	۱۶/۹۶۶	۲۳/۹۱۰	ماکزیمم

جدول (۷). مقادیر میانگین، کمینه و بیشینه عنصر گوگرد.

میتلا (ناخن)	سالم (ناخن)	میتلا (مو)	سالم (مو)	
۱/۳۶۷	۰/۷۵۰	۱/۵۶۹	۱/۶۲۳	میانگین
۰/۳۰۰	۰/۲۰۲	۰/۱۳۸	۰/۲۸۰	کمینه
۳/۹۱۵	۳/۰۴۲	۳/۰۵۵	۴/۲۱۰	ماکزیمم

در آمار انحراف معیار یکی از شاخص‌ها پراکندگی است که نشان می‌دهد به‌طور میانگین داده‌ها چه مقدار از مقدار متوسط فاصله دارند. اگر انحراف معیار مجموعه‌ای از داده‌ها نزدیک به صفر باشد، نشانه آن است که داده‌ها نزدیک به میانگین هستند و پراکندگی اندکی دارند، در حالی که انحراف معیار بزرگ بیانگر پراکندگی قابل توجه داده‌ها است. خطای معیار میانگین برای برآورد میزان نزدیکی میانگین نمونه به میانگین جمعیت استفاده می‌شود. برای ارزیابی دقت محاسبه



شکل (۴): طیف فلورسانس مربوط به نمونه‌های ناخن.

جدول (۸). انرژی قله‌های $K\alpha$ و $K\beta$ عناصر موجود در نمونه‌های ناخن

و مو حاصل از طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس.

عناصر در نمونه مو		عناصر در نمونه ناخن			
عنصر	$K\alpha$ (eV)	$K\beta$ (eV)	عنصر	$K\alpha$ (eV)	$K\beta$ (eV)
S	۲۳۰۷	-----	S	۲۳۰۷	-----
Ca	۳۶۹۱	۴۰۱۲	Ca	۳۶۹۱	۴۰۱۲
Ti	۴۵۱۰	-----	K	۳۳۱۳	-----
Fe	۶۴۰۳	۷۰۵۷	Fe	۶۴۰۳	-----
Ni	۷۴۷۲	-----	Ni	۷۴۷۲	-----
Cu	۸۰۴۷	-----	Cu	۸۰۴۷	-----
Zn	۸۶۳۸	۹۵۷۲	Zn	۸۶۳۸	۹۵۷۲
As	۱۰۵۴۳	-----	As	۱۰۵۴۳	-----
Br	۱۱۹۰۸	-----	Br	۱۱۹۰۸	۱۳۲۷۱
Kr	۱۲۶۴۹	-----	Sr	۱۴۱۵۶	-----
Sr	۱۴۱۵۶	-----			

در این قسمت از مقاله به بررسی دو فاکتور سطح زیر قله در نمودار و شدت تشعشعات ایکس مشخصه (قله $K\alpha$) این سه عنصر پرداخته شده است که مطابق جداول ۵، ۶ و ۷ مقادیر میانگین، کمینه و بیشینه سطح زیر قله $K\alpha$ به ترتیب برای عناصر روی، کلسیم و گوگرد موجود در ناخن افراد سالم و مبتلا به سرطان پستان بر حسب شمارش بر ثانیه (CPS) استخراج شده است. جدول ۸ نشان دهنده مقادیر میانگین، کمینه و بیشینه سطح زیر قله $K\alpha$ برای عنصر روی موجود در ناخن افراد سالم و مبتلا به سرطان پستان برحسب CPS است.

۵. تحلیل نتایج

هدف از این تحقیق بررسی ارتباط احتمالی بین روی، کلسیم، گوگرد، آهن و استرانسیوم موجود در مو و ناخن، و وجود تومورهای سرطانی در بافت پستان بود. در این زمینه ۵۰ نمونه، ۲۵ نفر سالم و ۲۵ بیمار مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سطح زیر قله فوتون‌های اشعه ایکس مشخصه K_{α} مربوط به اتم‌های روی، کلسیم و گوگرد برای موارد بیمار و سالم در جدول ۹ مشاهده شده است و همان‌طور که در این جدول به وضوح نمایان است، نتایج حاصل از طیف سنجی فلورسانس پرتوایکس نشان دهنده کاهش معنا دار مقدار میانگین سطوح زیر نمودار عنصر روی نمونه های مو و ناخن در افراد مبتلا به سرطان پستان بوده و همچنین مشاهده شد که مقدار عناصر کلسیم و گوگرد نیز در نمونه‌های موی افراد مبتلا به سرطان پستان کم‌تر از مقدار میانگین این عناصر در نمونه موی افراد سالم بوده است. مقدار عنصر کلسیم موجود در نمونه های ناخن افراد بیمار در مقایسه با افراد سالم بالاتر بوده اما تفاوت مشهودی در مورد دو عنصر کلسیم و گوگرد مشاهده نشد.

جدول (۹). مقایسه میانگین سطوح زیر نمودار قله‌های روی، کلسیم

و گوگرد در نمونه های افراد سالم و مبتلا به سرطان.

عناصر	مو سالم	مو مبتلا	ناخن سالم	ناخن مبتلا
Zn	۲/۶۵۵	۱/۶۵۴	۱/۵۴۵	۱/۵۱۱
Ca	۰/۹۸۴	۰/۹۲۱	۰/۲۹۵	۰/۳۵۷
S	۰/۱۹۴	۰/۱۸۸	۰/۱۱۵	۰/۱۷۵

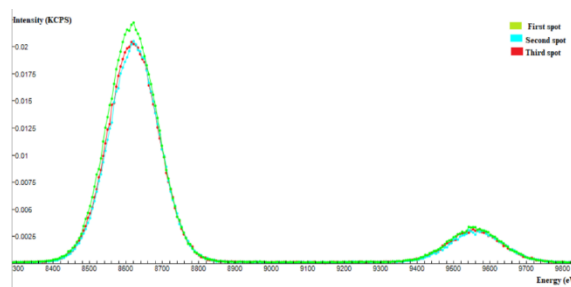
کاهش معنادار آماری روی در گروه بیمار با نتایج سایر محققین از جمله مرجع [۱۱، ۱۰] مطابقت دارد که سطوح پایین روی را در بیماران مبتلا به نمونه‌های سرطان پستان گزارش کرده‌اند. همچنین، چندین مطالعه کاهش معناداری را در میانگین غلظت کل روی در موهای بیماران مبتلا به سرطان ریه مشاهده کرده‌اند [۲۲]. سطح روی می‌تواند ارتباط نزدیکی با جذب آن

سطح زیر قله‌ها، در نمونه مو شماره ۵۰، از طیف‌سنجی فلورسانس در سه نقطه مختلف استفاده شد. اندازه سطح زیر قله‌های K_{α} کلسیم، K_{β} و روی در این نقاط محاسبه شد. نتایج مربوط به سطح زیر قله‌ها در این سه نقطه، انحراف معیار و خطای معیار میانگین در جدول ۸ ارائه شده است و همچنین در این جدول داده‌های سطر اول مربوط به K_{α} کلسیم و داده‌های سطر دوم و سوم به ترتیب مربوط به K_{α} و K_{β} روی است.

جدول (۸). اندازه گیری خطا در محاسبه سطح زیر قله های X-ray

مربوط به K_{α} عناصر شاخص بر حسب CPS.

نقطه اول	نقطه دوم	نقطه سوم	میانگین	انحراف معیار	خطای معیار
۰/۶۳۹	۰/۸۴۹	۱/۱۱۰	۰/۸۶۶	۰/۱۹۳	۰/۱۱۱
۲۱/۸۰۳	۳۰/۳۳۳	۲۰/۷۹۱	۲۰/۷۴۲	۰/۷۵۷	۰/۴۳۷
۳/۱۹۴	۳/۰۰۳	۲/۹۲۵	۳/۰۴۱	۰/۱۱۳	۰/۰۶۵

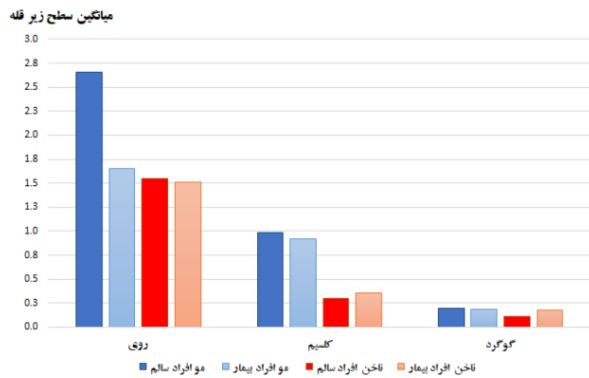


شکل (۵): مقایسه شدت K_{α} و K_{β} عنصر زینک در سه نقطه از

نمونه جهت محاسبه میزان خطا.

مقایسه شدت K_{α} و K_{β} عنصر زینک در سه نقطه از نمونه جهت محاسبه میزان خطا که اطلاعات آن در جدول ۸ نمایش داده شده در شکل ۵ شدت بر حسب انرژی رسم شده است. همان طوری که کاملاً در شکل نشان داده شده است، نمودارها در نقاط سه گانه که با رنگ‌های مختلف نشان داده شده است، کاملاً بر هم منطبق هستند. این انطباق از مقدار انحراف معیار و خطای انحراف معیار محاسبه شده که کاملاً قابل پیش بینی بود.

بافت‌های سالم پستان حکایت از افزایش تمرکز این عنصر در بافت تومور در مقایسه با بافت سالم بوده است [۲۸،۱۱].



شکل (۶). مقایسه میانگین شدت قله‌های عناصر روی، کلسیم و گوگرد در طیف فلورسانس نمونه‌های افراد سالم و مبتلا به سرطان پستان.

تغییر در غلظت این عنصر با تولید عروق خونی جهت افزایش خون رسانی به تومور در حال رشد مرتبط به نظر می‌رسد [۲۹]. نتایج حاصل از این پژوهش نشان‌گر کاهش معنا دار مقدار عنصر روی نمونه‌های موی اشخاص مبتلا به بیماری سرطان پستان در مقایسه با نمونه موی افراد سالم بوده است که می‌تواند ناشی از تجمع این عنصر در بافت تومورها به دلیل سوخت و ساز بالای تومور و سرعت رشد و تکثیر بالای سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های عادی باشد.

۵. تشکر و قدردانی

این کار بر روی خط یک XRD در الترا انجام شد. نویسندگان مایل هستند صمیمانه از تیم خط پرتو، دکتر مائوریزو پولتاروتی و دکتر جورجیو بایس برای حمایت‌ها و تلاش‌های واقعی‌شان تشکر کنند. همچنین از دکتر مارکو مارازی برای حمایت از این تحقیق تشکر ویژه‌ای به عمل می‌آید. از حمایت بیمارستان‌ها و مؤسسات زیر قدردانی می‌کنیم: مرکز بین المللی فیزیک نظری، بیمارستان خاتم الانبیاء، تأسیسات منبع نور ایرانیان و دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره).

در بدن داشته باشد. ثابت شده است که روی یک ماده معدنی کمیاب است که برای رشد حیاتی و برای عملکرد چندین فرآیند سلولی ضروری است. علاوه بر این، ممکن است نقش مهمی در علت و پیامد سرطان داشته باشد [۲۴،۲۳]. بیش از یک دهه است که غلظت بالای روی در بافت سرطان پستان مشاهده شده است. علت انباشت روی و پیامدهای اختلال تنظیم روی به خوبی درک نشده است [۲۵]. کاهش عنصر روی در نمونه‌های مختلف (خون و موی سر) بیماران مبتلا به سرطان پستان احتمالاً می‌تواند نتیجه تجمع بیش از حد این عنصر در تومورهای پستان باشد. در نتیجه، نمونه‌های مو می‌توانند منبع قابل اعتمادی برای آنالیز نشان‌گر زیستی روی در نظر گرفته شوند.

با توجه به شکل ستونی ۶ متوجه شدیم که تفاوت معنادار در میانگین شدت قله عنصر روی بین افراد سالم و مبتلا به سرطان پستان وجود دارد. مقدار این عنصر در نمونه‌های موی افراد سالم به طرز قابل توجهی بیش‌تر از نمونه‌های مبتلا به سرطان پستان است. همچنین، مقادیر کلسیم و گوگرد نیز در نمونه‌های موی افراد سالم به میزان معناداری بیش‌تر از نمونه‌های مبتلا به سرطان پستان است. اما مقادیر این سه عنصر در نمونه‌های ناخن دو گروه تفاوت معناداری ندارد. عنصر روی در تقسیم سلولی، رشد سلولی، ترمیم زخم‌ها و تجزیه کربوهیدرات‌ها در بدن نقش دارد. عنصر روی از چندین طریق در فرایند تکثیر سلولی شرکت می‌کند و همچنین وجود این عنصر برای سیستم‌های آنزیمی که بر تقسیم سلولی و تکثیر سلولی تأثیر دارند ضروری است [۲۶].

زیست‌شناسان سلولی دریافته‌اند که برای تکثیر سلولی ضروری است و در هر گونه جانوری که تاکنون مورد مطالعه قرار گرفته است، نارسایی رشد یکی از اولین نشانه‌های کمبود عنصر روی بوده است [۲۷]. تحقیقات در رابطه با موضوع مقایسه میزان عنصر روی موجود در تومورهای سرطانی و

1. W. Majeed, B. Aslam, I. Javed, T. Khaliq, F. Muhammad, A. Ali, A. Raza. Breast cancer: major risk factors and recent developments in treatment. *Asian Pac. J. Cancer. Prev.* 15 (8) (2014) 3353-3358.
2. R. A. Jesinger. Breast anatomy for the interventionalist. *Tech. Vasc. Interv. Radiol.* 17 (1) (2019) 3-9.
3. G. N. Sharma, R. Dave, J. Sanadya, P. Sharma, K. K. Sharma. Various types and management of breast cancer: an overview. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 1 (2) (2010) 109.
4. Y. S. Sun, Z. Zhao, Z. N. Yang, F. Xu, H. J. Lu, Z. Y. Zhu, W. Shi, J. Jiang, P. P. Yao, H. P. Zhu. Risk factors and preventions of breast cancer. *Int. J. Biol. Sci.* 13 (11) (2017) 1387.
5. J. Ma, A. Jemal. Breast cancer statistics. *Breast Cancer Metastasis and Drug Resistance: Springer* (2013) 1-18.
6. M. I. Nounou, F. ElAmrawy, N. Ahmed, K. Abdelraouf, S. Goda, H. Syed-Sha-Qhattal. Breast cancer: conventional diagnosis and treatment modalities and recent patents and technologies. *Breast Cancer Basic Clin. Res.* 9 (2015).
7. L. Wang. Early diagnosis of breast cancer. *Sensors* 17 (7) (2017) 1572.
8. A. B. Nover, S. Jagtap, W. Anjum, H. Yegingil, W. Y. Shih, W. H. Shih, A. D. Brooks. Modern breast cancer detection: a technological review. *Int. J. Biomed Imaging* 2009 (2009) 902326.
9. N. E. Allen, J. S. Morris, R. A. Ngwenyama, T. J. Key. A case-control study of selenium in nails and prostate cancer risk in British men. *Br. J. Cancer* 90 (7) (2004) 1392-1396.
10. F. Larner, L. N. Woodley, S. Shousha, A. Moyes, E. Humphreys-Williams, S. Strekopytov, A. N. Halliday, M. Rehkämper, R. C. Coombes. Zinc isotopic compositions of breast cancer tissue. *Metallomics* 7 (1) (2015) 112-115.
11. L. Jouybari, F. Kiani, A. Akbari, A. Sanagoo. A meta-analysis of zinc levels in breast cancer. *J. Trace. Elem. Med. Biol.* 56 (2019) 90-99.
12. X. Wu, J. Tang, M. Xie. Serum and hair zinc levels in breast cancer: a meta-analysis. *Sci. Rep.* 5 (2015) 12249.
13. A. Maziari, D. Shahbazi-Gahrouei, M. B. Tavakoli, V. Changizi. Non invasive XRF analysis of human hair for health state determination of breast tissue. *Iran. J. Cancer Prev.* 8 (6) (2015).
14. Z. W. Chen, W. M. Gibson, H. Huang. High definition x-ray fluorescence: principles and techniques. *X-ray Optics. Instr.* 2008 (2008) 318171.
15. R. Zhang, L. Li, Y. Sultanbawa, Z. P. Xu. X-ray fluorescence imaging of metals and metalloids in biological systems. *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 8 (3) (2018) 169.
16. R. Jenkins. X-ray fluorescence spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* 2 (1999) 1773-1799.
17. B. Beckhoff, B. Kanngießer, N. Langhoff, R. Wedell, H. Wolff. *Handbook of Practical X-ray Fluorescence Analysis.* Springer Science & Business Media, Berlin, 2007.
18. A. Iida. Synchrotron Radiation X-Ray Fluorescence Spectrometry. *Encyclopedia Analyt. Chem. Appl. Theor. Instr.* (2006) 1-23.
19. A. C. Thompson, D. Vaughan. (Eds.) *X-Ray Data Booklet.* LBNL, University of California, Berkeley, 2001.
20. S. K. Lwanga, S. Lemeshow. *Stanley & World Health Organization. Sample size determination in health studies: a practical manual / S. K. Lwanga and S. Lemeshow.* World Health Organization, 1991.
21. IAEA Sampling. Storage and sample preparation procedures for X-ray fluorescence analysis of the environmental materials. IAEA. Vienna, 1997.
22. T. Oyama, K. Matsuno, T. Kawamoto, T. Mitsudomi, T. Shirakusa, Y. Kodama. Efficiency of serum copper/zinc ratio for differential diagnosis of patients with and without lung cancer. *Biol. Trace. Elem. Res.* 42 (2) (1994) 115-127.
23. A. Q. Truong-Tran, L. H. Ho, F. Chai, P. D. Zalewski. Cellular zinc fluxes and the regulation of apoptosis/gene-directed cell death. *J. Nutr.* 130 (5) (2000) 1459S-1466S.
24. L. A. Saryan, D. T. Minkel, P. J. Dolhun, B. L. Calhoun, S. Wielgus, M. Schaller, D. H. Petering. Effects of zinc deficiency on cellular processes and morphology in Ehrlich ascites tumor cells. *Cancer Res.* 39 (7) (1979) 2457-2465.
25. K. Geraki, M. J. Farquharson, D. A. Bradley. Concentrations of Fe, Cu and Zn in breast tissue: a synchrotron XRF study. *Phys. Med. Biol.* 47 (13) (2002) 2327.
26. R. S. MacDonald. The role of zinc in growth and cell proliferation. *J. Nutr.* 130 (5) (2000) 1500-1508.
27. B. E. Golden. Zinc in cell division and tissue growth: physiological aspects. In: *Zinc in Human Biology,* Springer, London (1989) pp. 119-128.

28. H. W. Kuo, S. F. Chen, C. C. Wu, D. R. Chen, J. H. Lee. Serum and tissue trace elements in patients with breast cancer in Taiwan. *Biol. Trace. Elem. Res.* 89 (1) (2002) 1-11.
29. K. Geraki, M. J. Farquharson, D. A. Bradley. Concentrations of Fe, Cu and Zn in breast tissue: a synchrotron XRF study. *Phys. Med. Biol.* 47 (13) (2002) 2327.