

تشخیص دیابت با استفاده از آنالیز مو به روش LIBS-PLS DA

خلاصه

مقدمه: دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها در دنیا می‌باشد. روش‌های تشخیص این بیماری پرهزینه و نیازمند نمونه‌گیری از خون بیمار می‌باشد. یکی از روش‌های نوین تشخیص دیابت آنالیز طیف موی سر است. هدف ما در این پژوهش استفاده از لیزر و علم بیناب‌نمایی برای تشخیص کم هزینه و بدون نیاز به مواد مصرفی برای تشخیص سریع دیابت است.

روش بررسی: در این پژوهش، به منظور تشخیص دیابت به وسیله آنالیز موی سر توانایی روش بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا موی سر ۵۰ فرد دیابتی و ۵۰ فرد سالم نمونه‌برداری و بیناب آن‌ها ثبت شد. سپس به منظور ایجاد یک مدل برای تشخیص و پایش افراد دیابتی از یک روش آماری چندمتغیره به نام آنالیز تفکیکی حداقل مربعات جزئی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج این پژوهش نشان داد، تشخیص دیابت به وسیله آنالیز موی سر و همچنین پیش بینی نمونه‌های ناشناس مورد آزمون به روش LIBS امکان‌پذیر است و نمونه‌های ناشناس مورد آزمون با دقت ۱۰۰ درصد به روش LIBS-PLS DA به درستی گروه‌بندی شدند.

نتیجه‌گیری: روش LIBS-PLS DA می‌تواند به عنوان یک روش جدید در کنار روش‌های مرسوم موجود برای تشخیص دیابت به منظور کاربردهای کلینیکی مورد استفاده قرار بگیرد.

واژه‌های کلیدی: بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری، آنالیز تفکیکی حداقل مربعات جزئی، موی سر، دیابت

زهرا درخشان‌زاده^۱
محمد وحید دستجری^۲
حسن رنجبر عسکری^۳

۱. کارشناسی ارشد رشته فیزیک، گروه فیزیک، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران
۲. کارشناسی ارشد رشته فیزیک گروه فیزیک، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۳. استاد، دکترای فیزیک، گروه فیزیک، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران

نویسنده مسئول: زهرا درخشان‌زاده، تلفن: ۰۹۲۲۶۴۴۷۹۲۰
پست الکترونیک: mandanaderakhshanzade@gmail.com

مقدمه

دیابت نوعی بیماری مزمن است که با تغییر میزان مواد ریزمغذی همچون منیزیم، کلسیم و پتاسیم همراه است [۱ و ۲]. این بیماری در اثر عدم تولید انسولین توسط لوزالمعده و یا عدم استفاده بدن از انسولین تولیدشده، رخ می‌دهد [۳]. امروزه، دیابت یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی - درمانی، اقتصاد و اجتماعی جهان محسوب می‌شود [۴]. به گونه‌ای که بیش از صد و هفتاد میلیون نفر در دنیا مبتلا به این بیماری هستند. در کشور ما بالغ بر چهار میلیون نفر به این بیماری مبتلا هستند. افراد دیابتی بیشتر از افراد عادی در معرض عوارضی چون نابینایی، حملات قلبی، نوروپاتی، نوروپاتی، بیماری‌های اندام تحتانی و قطع عضو هستند. بروز عوارض مزمن دیابت با مقادیر بالای گلوکز خون ارتباط دارد، به همین دلیل افراد دیابتی بیشتر از افراد عادی در معرض عوارضی چون نابینایی، ناراحتی های قلبی، نوروپاتی و نوروپاتی قرار می‌گیرند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که عوارض غیرقابل برگشت دیابت ناشی از محصولات نهایی گلیکاسیون است که با ایجاد تغییر در ترکیب کلسترول، آلبومین، کلاژن و هموگلوبین زمینه بروز عوارض مختلف را در افراد دیابتی فراهم می‌سازد [۵].

پس از سال ۲۰۰۰، کاربردهای بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری^۱ در صنایع نظامی و پزشکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شد [۶]. روش LIBS به‌واسطه داشتن ویژگی‌های منحصربه‌فردی نظیر شناسایی هم‌زمان چندعنصری، سریع و آنی بودن و عدم نیاز به آماده‌سازی و همچنین نیاز به مقدار کمی از نمونه (نانوگرم)، جهت آنالیز مواد مختلف از جمله نمونه‌های بیولوژیکی به کار گرفته شده است [۷]. بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری یکی از روش‌های بیناب‌نمایی گسیل اتمی است که براساس آشکارسازی و آنالیز گسیل‌های پلاسمای نمونه استوار است، با گسترش پلاسما و سرد شدن آن گونه‌های یونی، اتمی و مولکولی مرتبط با عناصر موجود در نمونه شروع به گسیل می‌کنند که با ثبت این گسیل‌ها توسط بیناب‌سنج و تحلیل طول‌موج‌ها و شدت‌های گسیلی می‌توان به اطلاعات کیفی و کمی از همه گونه‌های موجود در نمونه دست‌یافت [۸]. در سال‌های اخیر، در زمینه پزشکی از این روش جهت تشخیص بافت سالم از بافت سرطانی مختلف مانند سنگ کلیه استفاده شده است. در دندان پزشکی با استفاده از روش بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری عناصر تشکیل‌دهنده دندان طبیعی و همچنین پروتز دندان مورد بررسی قرار گرفتند [۹ و ۱۰] و همچنین شادمان و همکاران روش LIBS را به‌منظور مقایسه عناصر موجود در ناخن افراد معتاد و سالم استفاده نمودند [۱۱]. براساس مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۸ توسط ملیچی و همکاران انجام شد، آن‌ها توانستند حضور گونه‌های اتمی و یونی سبک مانند کربن، هیدروژن، اکسیژن، نیتروژن و تعدادی از عناصر فلزی مانند آهن، کلسیم، سدیم و پتاسیم در بیناب‌های گسیلی از پلاسمای القائیده لیزری سطح سرم خون

را نشان دهند [۱۲].

در این پژوهش امکان تشخیص فرد دیابتی و سالم با آنالیز موی سر این افراد با استفاده از روش بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری بررسی می‌شود. این امکان‌سنجی بر داده‌های ثبت‌شده از فرآیند بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری با استفاده از یکی از روش‌های تجزیه و تحلیل آماری چندمتغیره به نام آنالیز تفکیکی حداقل مربعات جزئی^۲ انجام می‌شود. روش PLS-DA یک روش طبقه‌بندی نظارت شده^۳ است. منظور از طبقه‌بندی مدلی است که ابتدا آن را با نمونه‌هایی که ماهیت آن‌ها مشخص است، آموزش داده و سپس با استفاده از مدل طراحی شده تشخیص داده می‌شود که نمونه ناشناس مو متعلق به یک فرد دیابتی و یا یک فرد سالم است.

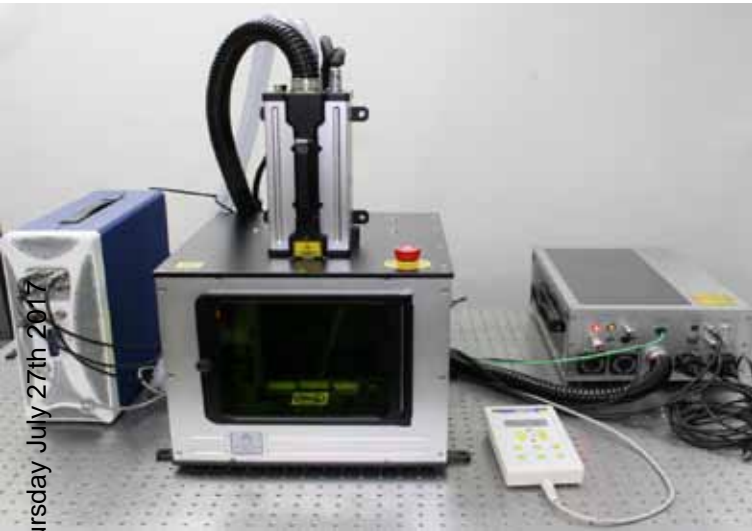
روش بررسی

نمونه‌های مورد آنالیز

برای انجام آزمایش ۵۰ نمونه مو از افراد سالم و ۵۰ نمونه از افراد دیابتی که همگی مرد بودند، جمع‌آوری گردید. نمونه موی افراد دیابتی از بیماران دیابتی مراجعه‌کننده به بیمارستان صدیقه طاهره مخصوص بیماران دیابتی در اصفهان تهیه شد و نمونه موی افراد سالم نیز از بستگان درجه یک ایشان که به دلیل ارثی بودن بیماری دیابت آزمایش دیابت داده بودند و جواب آزمایش آن‌ها منفی بود (مبتلا به دیابت نبودند)، جمع‌آوری گردید. به‌منظور کاهش اثرات محیطی در پاسخ‌های آزمایش و برطرف کردن هرگونه آلودگی سطحی، نمونه‌های مورد نظر با استون و الکل شست‌وشو و سپس در دمای اتاق خشک شدند. نمونه‌ها با استفاده از سیستم فشار هیدرولیکی به ۱۰۰ قرص هم‌شکل و هم‌اندازه با سطحی کاملاً صاف با قطر ۱۳ میلی‌متر و ضخامت ۷ میلی‌متر تبدیل گردید تا همه نمونه‌ها در شرایط کاملاً مشابه آنالیز شوند و تنها عامل تفاوت در بیناب ثبت‌شده از نمونه‌های مختلف، تفاوت ساختاری آن‌ها باشد و عواملی مانند ناهمواری سطح نمونه بر بیناب ثبت‌شده اثر نگذارد، به منظور کاهش اثرات محیطی و همچنین خطاهای اندازه‌گیری ناشی از ناپایداری انرژی لیزری و ناهماهنگی‌های احتمالی در سطح اندازه‌گیری‌ها به تعداد ۵ بار برای هر نمونه تکرار و در مجموع ۵۰۰ بیناب ثبت شد و از میانگین داده‌ها برای تحلیل نتایج استفاده گردید. شکل ۱ قرص‌های موی مورد استفاده را نشان می‌دهد.

چیدمان آزمایش

برای آنالیز نمونه‌ها در این تحقیق از سامانه LIBSCAN100 ساخت شرکت Applied Photonics استفاده شده است. این سامانه مجهز به لیزر Nd:YAG با انرژی خروجی متغیر تا ۱۰۰ mJ، پهنای تپ ۲ ns ±



شکل ۲: سامانه LIBSCAN ۱۰۰



شکل ۱: نمایی از قرص‌های تهیه شده از نمونه‌های مو

یافته‌ها و بحث

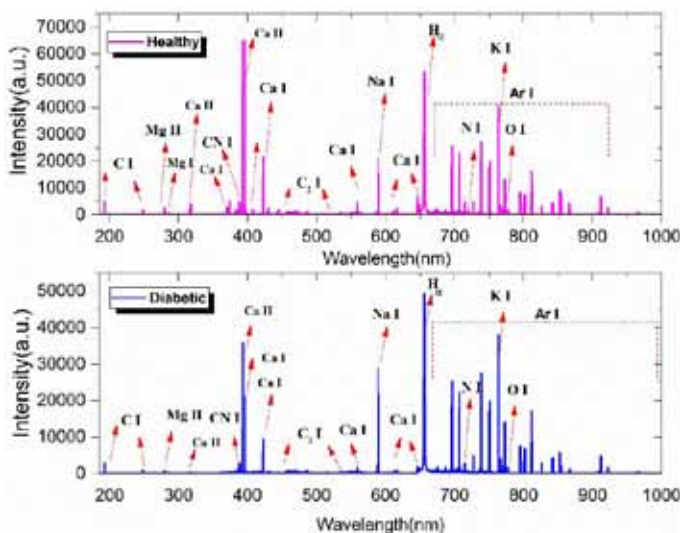
بیناب LIBS موی فرد سالم و دیابتی در شکل ۳ مشاهده می‌شود. شکل ۴ بیناب‌های LIBS نمونه‌هایی از موهای مورد آنالیز را در بازه طول موجی ۱۰۰۰-۱۹۰ نانومتر نشان می‌دهد با شناسایی خطوط اتمی، یونی و باندهای مولکولی که در جدول ۱ خلاصه شده است، مشخص شد که نسبت شدت بهتر از خودت شدت‌ها می‌توانند بین موی افراد سالم و دیابتی تمایز قائل شوند، پس ۱۷ نسبت شدت مرتبط با نمونه‌های مورد آنالیز به عنوان ورودی روش PLS-DA استفاده شد.

همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، شدت منیزیم و کلسیم در فرد

۷، فرکانس تکرار ۱ تا ۲۰ HZ می‌باشد که بیناب پلاسما تولیدی توسط آشکارساز مدل A-۱۳-۰۱-۲۰ شرکت Avantes ثبت می‌گردد. توانایی تفکیک پذیری دستگاه از ۰/۰۴ نانومتر تا ۰/۱۵ نانومتر در نواحی مختلف طول موجی متغیر است و قابلیت بیناب‌نگاری در ناحیه طول موجی ۱۸۰ تا ۱۰۵۷ نانومتر را دارا می‌باشد. نمایی از سامانه LIBS مورد استفاده در این پژوهش در شکل ۲ نشان داده شده است.

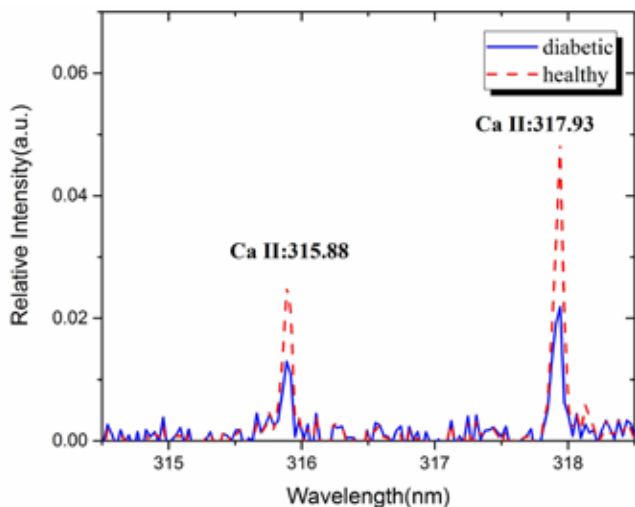
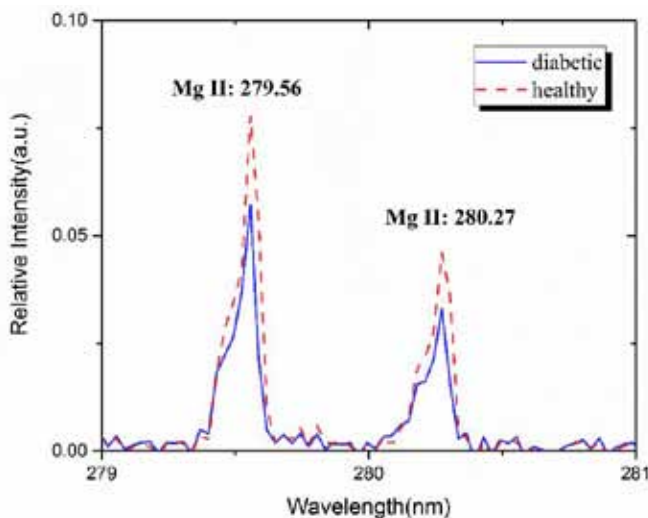
روش آنالیز تفکیکی حداقل مربعات جزئی (PLS-DA)

روش‌های طبقه‌بندی چندمتغیره از جمله PLS-DA، تکنیک‌های کمومتریکسی^۴ هستند که هدف آن‌ها یافتن مدل‌های ریاضی است که قادر به تشخیص گروهی است که هر یک از نمونه‌ها با توجه به متغیرهای اندازه‌گیری شده (در این پژوهش شدت‌های گسیلی) باید در آن‌ها قرار گیرند. روش PLS-DA یک روش طبقه‌بندی^۵ خطی است که براساس رگرسیون کمترین مربعات جزئی بنا نهاده شده است، این روش به دنبال متغیرهای پنهانی^۶ است که بیشترین کوواریانس^۷ را با متغیرهایی دارند که عضویت نمونه‌ها در گروه‌های مختلف (افراد دیابتی یا سالم) را نشان می‌دهد، به زبان ساده روش PLS-DA به دنبال یافتن ترکیب خطی از متغیرهای اصلی (شدت‌های گسیلی) است که بهتر می‌توانند گروهی را که هر یک از نمونه‌ها باید در آن قرار گیرند، پیش‌بینی کنند. در ضمن این مدل از این طریق می‌تواند به کاهش ابعاد داده‌ها و همچنین یافتن یک الگو در داده‌ها کمک کند [۱۳ و ۱۴].

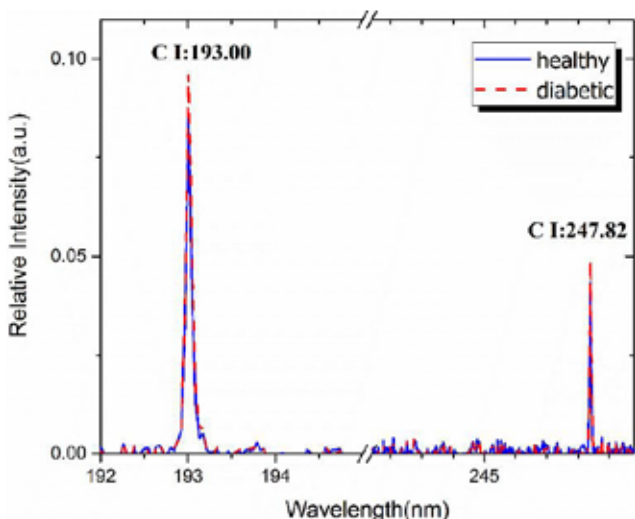


شکل ۳: نمونه‌ای از بیناب نوعی موی شخص سالم و دیابتی به همراه شناسایی عناصر موجود در آن

- ۴. chemometric techniques.
- ۵. linear classification method.
- ۶. latent variables.
- ۷. covariance.



شکل ۴: مقایسه خطوط یونی کلسیم و منیزیم بیناب LIBS نمونه‌های موی فرد سالم با فرد دیابتی



شکل ۵: مقایسه خطوط اتمی کربن بیناب LIBS نمونه‌های موی فرد سالم با فرد دیابتی

دیابتی پایین‌تر از فرد سالم است. علی‌رغم اینکه منیزیم در فعالیت‌های غدد آدرنال (فوق کلیوی) و ترشح هرمون‌های مولد انرژی نقش مهمی ایفا می‌کند، افراد مبتلا به دیابت دارای سطح کمتری از این عنصر در خون می‌باشند [۱۵] از طرفی کمبود منیزیم باعث تغییر متابولیسم کلسیم می‌شود. همچنین تغییرات مقدار کلسیم به مقدار گلوکز موجود در خون وابسته است، به طوری که ارتباط مستقیمی بین غلظت یون یک‌بار یونیده کلسیم و خطر ابتلا به انواع بیماری‌ها وجود دارد [۱۶ و ۱]. کمبود منیزیم باعث کاهش کاذب پتاسیم و در نهایت سبب افزایش نسبت سدیم به پتاسیم خواهد شد و پیامد آن افزایش فشار خون و افزایش غلظت سدیم خون است [۱۷]. نتایج به دست آمده از بیناب موی فرد دیابتی با نتایج به دست آمده از خون افراد دیابتی تطابق خوبی را نشان می‌دهد.

برهمکنش پالس لیزر با سطح موی قرص شده و تشکیل پلاسما لیزری سبب ایجاد گونه‌های کربن، هیدروژن و اکسیژن می‌شود که با توجه به بالا بودن میزان گلوکز (قند، $C_6H_{12}O_6$) در خون فرد دیابتی به مدت طولانی، در موی فرد نیز بایستی مقادیر بالاتری از این عناصر موجود باشد، شدت خطوط نشری این گونه‌ها در نمونه دیابتی دارای مقادیر بالاتری نسبت به نمونه فرد سالم می‌باشد که با نتایج به دست آمده از شدت بیناب LIBS به دست آمده تطابق خوبی دارد. همان‌گونه که در شکل ۵ نشان داده شده است، شدت کربن در فرد دیابتی بیشتر از فرد سالم می‌باشد.

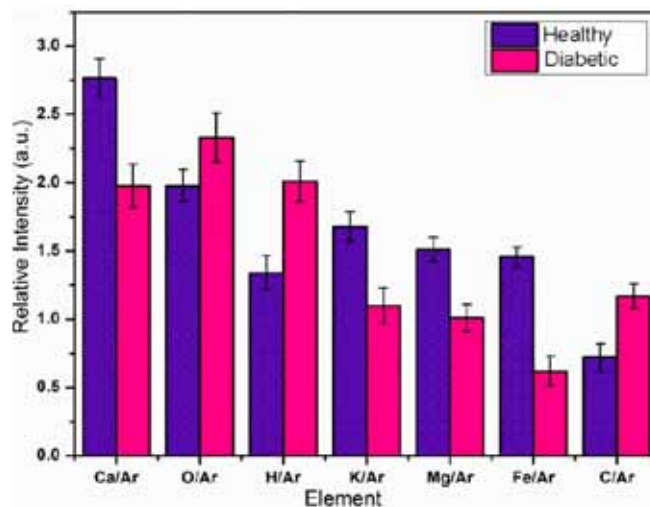
لازم به ذکر است که بیناب LIBS موی فرد سالم و فرد دیابتی که در گروه سنی ۳۰-۴۰ و از گروه جنسی مرد بودند، در گاز آرگون ثبت شده است، زیرا با توجه به وجود نیتروژن در هوا، وجود گاز آرگون باعث می‌شود که اثرات نیتروژن محیطی حذف و کربن موجود در ترکیب با حساسیت بیشتری بررسی شود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر گاز محیطی اعمال شده بر آن ناچیز است. از دلایل مهم استفاده از گاز آرگون این است که سبب بهبود فرآیند آشکارسازی قله‌های طیفی می‌شود، همچنین می‌توان به کاهش فرآیند باز ترکیبی بین اتم‌های نمونه (C) و ذرات موجود در هوا (N)، افزایش طول عمر بقای پلاسما و در نتیجه امکان جمع‌آوری تابش‌های گسیلی بیشتر نیز اشاره نمود. ضمن اینکه قله بینابی اتم کربن در طول موج ۲۴۷/۸۳ و ۱۹۳/۰۹ نانومتر با حضور گاز آرگون افزایش یافته است. در شکل ۶ تفاوت در شدت عناصر موجود در نمونه‌های موی افراد سالم و دیابتی نشان داده شده است، عناصر O، C، H، N و O در بیناب افراد دیابتی نسبت به افراد سالم بیشتر و در بیناب LIBS فرد سالم عناصر Ca، Fe و Mg در فرد سالم نسبت به فرد دیابتی بیشتر است.

در این پژوهش برای آموزش مدل برای تفکیک افراد دیابتی و ارزیابی آن بر روی داده‌های آزمایش از نرم‌افزار MATLAB استفاده شده است. برای ایجاد مدل PLS-DA، داده‌ها به دو دسته آموزش و آزمون تقسیم بندی شدند. در این پژوهش از مجموع داده ثبت شده از نمونه‌های مختلف

همان طور که در جدول ۲ و شکل ۷ مشخص است از ۳۰ نمونه ناشناس که از مدل خواسته شده دیابتی بودن یا سالم بودن آن‌ها را پیش‌بینی کند، هر ۳۰ نمونه به درستی پیش‌بینی شده‌اند و مدل طراحی شده با دقت ۱۰۰ درصد نمونه‌ها را به درستی تشخیص می‌دهد.

نتیجه‌گیری

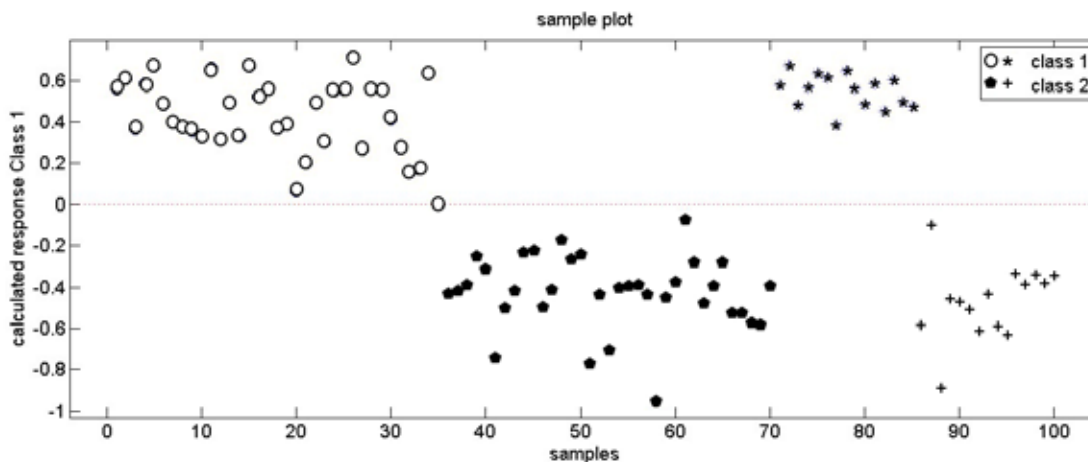
در این پژوهش روش بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری و روش آنالیز تفکیکی حداقل مربعات جزئی به منظور تفکیک و شناسایی فرد دیابتی و سالم به وسیله آنالیز موی سر این افراد مورد بررسی قرار گرفت. خطوط بینایی متعلق به عناصر Ca, Mg, C, Fe, K, Na, Sr, Ti, O, H و N در بیناب هر دو گروه مشاهده شد. با مقایسه طیف فرد سالم و دیابتی مشاهده شد که شدت خطوط Ca, Fe, Mg در نمونه افراد سالم و خط اتمی C در نمونه افراد دیابتی بیشتر بودند و شدت سایر خطوط بینایی تفاوت چشمگیری نداشت. روش بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری در کنار روش آنالیز تفکیکی حداقل مربعات جزئی به منظور تفکیک و شناسایی فرد دیابتی از غیردیابتی به وسیله آنالیز موی سر این افراد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج پژوهش نشان داد با استفاده از روش LIBS - PLS DA می‌توان این دو گروه را به خوبی از هم تفکیک کرد و در نتیجه روش مورد بررسی در این پژوهش با ویژگی‌هایی همچون آنالیز سریع و قابلیت سیار بودن می‌تواند به عنوان یک روش جدید در کنار روش‌های مرسوم موجود برای تشخیص دیابت مورد استفاده قرار گیرد. همچنین استفاده از روش LIBS و آنالیز موی سر به جای آنالیز خون این امکان را در اختیار ما می‌گذارد که در هر ساعتی از شبانه‌روز فرد دیابتی را از فرد سالم شناسایی کنیم. در روش‌های مرسوم فعلی باتوجه به اینکه میزان قند خون در ساعات مختلف شبانه‌روز متغیر است، باید آزمایش تشخیص



شکل ۶: مقایسه عناصر موجود در بیناب LIBS نمونه‌های موی فرد سالم با فرد دیابتی

مورد مطالعه ۷۰ درصد برای آموزش و ۳۰ درصد برای آزمون کارایی مدل، مورد استفاده قرار گرفتند. نمودار مربوط به تفکیک دو گروه دیابتی (کلاس ۱) و سالم (کلاس ۲) در شکل نشان داده شده است. همچنین در این نمودار می‌توان تفکیک کامل و بدون هم‌پوشانی بین گروه سالم و دیابتی را مشاهده کرد.

شکل ۷ نمونه‌هایی را که برای آموزش مدل مورد استفاده قرار گرفتند، نشان می‌دهد. نتایج مربوط به افراد سالم با پنج ضلعی‌های سیاه رنگ و برای افراد دیابتی با دایره‌های سفید مشخص شده‌اند. همچنین علامت‌های "+" و "□" نمونه‌های ناشناسی است که از مدل خواسته شده دیابتی یا سالم بودن آن‌ها را مشخص کند. نتایج مربوط به آموزش^۸ و آزمایش^۹ مدل در جدول ۲ خلاصه شده است.



شکل ۷: نمودار PLS-DA مربوط به تفکیک نمونه‌های مو مربوط به افراد سالم و دیابتی و پیشگویی نمونه‌های ناشناس

جدول ۱: طول موج‌های مورد استفاده برای آشکارسازی عناصر و باندهای مولکولی مختلف

عنصر(یا مولکول) مورد تحلیل	طول موج مورد استفاده برای آشکارسازی عنصر و مولکول مورد تحلیل (nm)
Ca II	۳۱۵/۸۸; ۳۱۷/۹۳; ۳۹۳/۳۶; ۳۹۶/۸۴
Ca I	۴۲۲/۶۷; ۴۳۰/۲۵; ۴۴۲/۵۴; ۴۴۳/۴۹; ۴۴۵/۴۷; ۵۵۸/۸۷; ۶۱۰/۲۷; ۶۱۲/۲۲; ۶۱۶/۲۱; ۶۴۶/۲۵; ۶۴۹/۳۷
Al I	۳۹۴/۴۰; ۳۹۶/۱۵
Mg II	۲۷۹/۵۵; ۲۸۰/۲۷
Mg I	۲۸۵/۲۱
Na I	۵۸۸/۹۹; ۵۸۹/۵۹
K I	۷۶۶/۴۹; ۷۶۹/۸۹
C I	۱۹۳/۰۹; ۲۴۷/۸۵
H	۴۸۶/۱۵; ۶۵۶/۲۸
Si I	۲۸۸/۱۵
Sr II	۴۰۷/۷۷
Sr I	۴۶۰/۷۳
N I	۷۴۲/۳۶; ۷۴۴/۲۲; ۷۴۶/۸۳
O I	۷۷۷/۱۹
C ₂	۴۶۷-۴۷۴; ۵۱۶/۲۳; ۵۵۰-۵۶۴
CN	۳۸۵-۳۸۹

باشد و بدیهی است که برای توسعه این روش جامعه آماری بزرگ‌تری مورد آزمایش قرار گیرد.

فرد دیابتی از فرد سالم در ساعت مشخصی از روز و در شرایط جسمانی خاصی انجام شود. نتایج به‌دست‌آمده برای گروه آزمایش مورد نظر می

جدول ۲: نتایج مربوط به طبقه‌بندی نمونه‌ها با استفاده از مدل PLS-DA

Classification Results					
	Group	Predicted Group Membership		Total	
		Class 1	Class 2		
Train	Count	Class 1	35	0	35
		Class 2	0	35	35
	%	Class 1	100.0	.0	100.0
		Class 2	.0	100.0	100.0
Test	Count	Class 1	15	0	15
		Class 2	0	15	15
	%	Class 1	100	0	100.0
		Class 2	0	100	100.0

References:

1. Nsonwu AC. Glycemic control and serum and urine levels of zinc and magnesium in diabetics in Calabar, Nigeria, Pakistan J Nutr 2006; 5(1): 75-8.
2. Barbagallo M. Effects of Aging on Serum Ionized and Cytosolic Free Calcium Relation to Hypertension and Diabetes, Hypertension 1999; 34(4): 902-6.
3. David M. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes, Diabetes care 2009; 32(1): 193-203.
4. Guyton A, Hall J, Gay F. Medical Physiology, the second volume of insulin, glucagon and diabetes mellitus, publishing four, 10th revision.
5. Mehrabian S, Milani A. Nutrition, Required fuel tissues, Mir books, 2004.
6. Musazzi S, Perini U. Laser-induced breakdown spectroscopy, Springer Series in Optical Sciences, Volume 182. ISBN 978-3-642-45084-6. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2014.
7. Munson CA, Gottfried JL, McNesby KL, Miziolek AW. Laser-based detection methods for explosives, No. ARL-TR-4279, Army research lab Aberdeen proving ground md weapons and materials research directorate 2007.
8. Karachi M, Parvin P, Madani K, Shorshini Z. LIBS spectrometer use as a diagnostic rock textures, 15th Conference of Optics and Photonics, 2003.
9. Ghasemi F, Shorshini P, Sjjad B. Determine the the elements natural teeth and dentures using Laser Induced Breakdown spectroscopy, 15th Conference of Optics and Photonics, 2003.
10. Mattley Y, Kearton B. Laser induced breakdown spectroscopy: sparking new applications, Nat. photonics, 2008; (2): 537-40.
11. Bahreini M, Tavassoli SH. Journal of Lasers in Medical Sciences 2012; 3: 127.
12. Gazmeh M. Applied optics 2015; 54: 123-31.
13. Melikechi N. Laser-induced breakdown spectroscopy of whole blood and liquid organic compounds, Biomedical Optics, International Society for Optics and Photonics, 2008.
14. Schröder S, Pavlov S, Rauschenbach I, Jessberger E, Hübers HW. Detection and identification of salts and frozen salt solutions combining laser-induced breakdown spectroscopy and multivariate analysis methods: A study for future martian exploration, Icarus 2013; 223: 61-73.
15. Rosipal R, Krämer N. Overview and recent advances in partial least squares, in Subspace, latent structure and feature selection, Springer, 2006: 34-51.
16. Barbagallo M. Effects of Aging on Serum Ionized and Cytosolic Free Calcium Relation to Hypertension and Diabetes, Hypertension 1999; 34(4): 902-6.
17. Omrani R, Savid G. Diabetes complications, Iranian journal of Diabetes and Metabolism, 2004: 34-127.