

اثر لیزر (904 nm) Ga-As و (632/8 nm) He-Ne بر بهبود ویژگی‌های بیومکانیکی زخم تمام ضخامت پوستی

مهسا حسینی صنعتی^۱گیتی ترکمان^۲مهدی هدایتی^۳منیژه مختاری^۴

خلاصه

زمینه و هدف: نتایج متفاوتی از اثر لیزر کم توان بر فازهای التهابی، پرولیفراسیون و تجدید مدل بافت در حال ترمیم گزارش شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر دو لیزر (He-Ne) ۶۳۲/۸ nm و (Ga-As) ۹۰۴ nm بر تنش، کرنش، قدرت کشش، مدول الاستیک بافت، سطح زیر منحنی نیرو- تغییر طول و میزان بسته شدن سطح زخم، پس از ۲۱ روز التیام در زخم تمام ضخامت پوستی نمونه‌های موش صحرایی بود.

روش بررسی: در این مطالعه از ۳۰ موش صحرایی (Rat)، جنس نر، نژاد Sprague-dawley، با وزن ۲۰۰-۳۵۰ گرم استفاده شد. این حیوانات به طور تصادفی به سه گروه لیزر He-Ne، Ga-As و کنترل تقسیم شدند (هر گروه ۱۰ نمونه). در تمام نمونه‌ها، برش پوستی تمام ضخامت به طول ۲/۵ سانتی متر در قسمت ستون فقرات پشتی ایجاد شد. درمان از روز ۱ تا ۲۱ به صورت یک روز در میان با لیزر He-Ne و Ga-As با شدت ۲ ژول بر سانتی متر مربع انجام شد و پس از هر جلسه درمان مساحت سطح زخم ثبت گردید. در روز ۲۱ آزمون کشش یک محوری انجام شد و پس از ثبت منحنی تنش-کرنش و نیرو- تغییر طول، ویژگی‌های بیومکانیکی بافت (مقاومت کششی بافت، تنش، کرنش، میزان انرژی جذب شده، مدول الاستیک و سفتی) محاسبه شد. از تمام نمونه‌ها، جهت بررسی پارامترهای بیومکانیکال نمونه برداری شد.

یافته‌ها: هر دو نوع لیزر منجر به تسریع در بسته شدن سطح زخم شدند. افزایش درصد بهبود ویژگی‌های حداکثر انرژی جذب شده در بافت، کرنش، حداکثر مقاومت کششی بافت، تغییر طول در پوست زخم نسبت به پوست سالم به دنبال درمان با هر دو نوع لیزر دیده شد که این اختلاف در گروه Ga-As با گروه کنترل معنادار بود ($P < 0.05$). **نتیجه گیری:** به نظر می‌رسد لیزر گالیوم آرسناید به دلیل اثر گذاری بیشتر در مکانیسم‌های پرولیفراسیون سلولی، در بهبود ویژگی‌های مکانیکی بافت ترمیم شده مؤثرتر باشد.

واژه‌های کلیدی: لیزر He-Ne، لیزر Ga-As، مدول الاستیک، تنش، کرنش، زخم تمام ضخامت پوستی، ترمیم زخم

پوستی

^۱ کارشناسی ارشد فیزیوتراپی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیوتراپی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
^۲ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیوتراپی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
^۳ استادیار مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران
^۴ استاد گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

نویسنده مسئول: مهسا حسینی صنعتی، اردبیل، خیابان باکری، کوچه شهید سرینی، پلاک ۲۱، تربیت مدرس، تلفن: ۸۷۸۲۳۲۴-۰۹۱۴۳۳۰۲۹۱
 پست الکترونیک: mahsahoseinisaniati@yahoo.com

مقدمه

مجدد^۳ جهت بررسی میزان کلاژن‌ها و طرز قرارگیری آنها مورد بررسی قرار می‌گیرد [۷، ۹، ۱۵].

در سال ۲۰۰۷ Akio Yasukawa و همکاران در ژاپن اثر لیزر کم توان He-Ne در ترمیم زخم کامل پوستی را روی ۵۵ موش صحرایی در ۱۱ گروه با دو توان ۱۷ mW (۴/۲۱ J/cm²) و ۸/۵ (۲/۰۹ J/cm²) به مدت ۱۵ ثانیه مقایسه کردند، تمام نمونه‌ها در روز هفتم از لحاظ قدرت کششی بافت^۴ و مطالعات بافت شناسی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که گروه تحت درمان به صورت یک روز در میان و با توان ۱۷ mW دارای بیشترین مقاومت کششی و افزایش سنتز کلاژن و ریکاوری بافت نسبت به گروه کنترل بود و بین گروه‌های درمانی اختلاف معناداری گزارش نشد [۷].

استفاده از لیزر کم توان در ترمیم زخم پوستی یکی از شیوه‌های نوین درمانی است که مطالعات مختلفی در رابطه با اثر درمانی آن در سطح *In vitro* [۳-۱] و *In vivo* [۴-۹] انجام گرفته است. علیرغم اشاره به اثرات مثبت، برخی مقالات بی‌تأثیر بودن و تأثیر منفی لیزر بر ترمیم زخم پوستی را نیز ذکر کرده‌اند [۴-۸ و ۱۰]. یکی از دلایل اصلی این عدم توافق‌ها، نا شناخته بودن تعامل^۱ لیزر با بافت است [۴، ۶، ۷، ۱۰ و ۱۱]. در منابع مختلف مکانیسم‌های متفاوتی در این باره ذکر شده است که یکی از مهمترین آنها افزایش سنتز کلاژن است [۱، ۷، ۹ و ۱۲-۱۴]. لذا در بسیاری از مطالعات، اندازه‌گیری پارامترهای بیومکانیکال در مرحله بلوغ^۲ و سازماندهی

^۲ Remodeling^۴ Rupture strength^۱ Interaction^۲ Maturation

مواد و روش ها

در این مطالعه از ۳۰ موش صحرایی^۵، جنس نر، نژاد Sprague-dawley، با وزن ۲۰۰-۳۵۰ گرم که از انیستیتو پاستور کرج خریداری شدند استفاده شد. شرایط محیطی برای نگهداری حیوانات ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد و موش‌ها در قفس‌های فایبر گلاس نگهداری شدند. آب و غذا به صورت کاملاً یکسان و بدون محدودیت در اختیار حیوانات قرار گرفت. حیوانات به مدت یک هفته در شرایط جدید نگهداری می شدند تا با محیط جدید تطابق یافته و از لحاظ وزنی برای شروع مطالعه آماده شوند. پس از ایجاد زخم حیوانات در قفس های انفرادی نگه داری شدند و آب و غذا در الگوی کاملاً یکسان در همه گروه ها، بدون محدودیت، در اختیار آنها قرار گرفت. تمام مراحل کار براساس دستورالعمل کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد.

ایجاد زخم برشی: برای ایجاد زخم پوستی تمام ضخامت، ابتدا حیوان با استفاده از ترکیب کتامین ۱۰٪ (۱۰۰ mg/mL) و زایلازین ۲٪ (۲۰ mg/mL)، به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن حیوان ۰/۲ سی سی داروی ترکیبی، به صورت صفاقی بیهوش می شد، بعد از برداشتن موی ناحیه، در فاصله یک سانتی متری از ستون مهره‌ای، خطی به طول ۲/۵cm در سمت راست ستون فقرات ترسیم شده و سپس به وسیله اسکالپل یک شکاف تمام ضخامت پوستی بر روی خط ترسیم شده، تا جایی که فاسیای عمقی عضله آسیب نبیند، ایجاد می شد. ۲۴ ساعت بعد از ایجاد زخم، اندازه‌گیری سطح زخم به عنوان مقدار پایه انجام می‌گردید. پس از ایجاد زخم برشی، حیوانات به صورت تصادفی در سه گروه کنترل، لیزر هلیوم-نئون و لیزر گالیوم-آرسناید قرار گرفتند. در هر گروه ۱۰ حیوان قرار داده شد.

لیزر درمانی: در این مطالعه از دستگاه لیزر He-Ne (LEYBOLD DIDACTIC GMBH) ساخت کشور آلمان و از دستگاه 1mW Physiolaser Olympic (Version 1.5, 90mW, Germany) ساخت کشور آلمان برای تابش امواج لیزر Ga-As با طول موج ۹۰۴ nm استفاده شد. با توجه به این که دانسیته جریان در هر دو نوع تابش به صورت یکسان ۲J/cm² در نظر گرفته شد و همچنین با توجه به توان و Spot size متفاوت دو دستگاه، زمان تابش دستگاه لیزر He-Ne ۶۳ ثانیه و در لیزر Ga-As با توجه به پروتکل درمانی تعریف شده در برنامه Derma, Wound healing، ۹۷ ثانیه محاسبه شد. تعداد جلسات تابش ۱۰ جلسه بود که بصورت یک روز در میان انجام شد. در حیوانات گروه کنترل نیز پروب دستگاه به صورت خاموش در تماس با محل زخم قرار می گرفت.

Reddy نیز اثر دو لیزر کم توان He-Ne و Ga-As را با شدت ۱J/cm² و به مدت ۵ روز در هفته، به مدت سه هفته، بر زخم جراحی دیابتی Rat بررسی کرد، او نتیجه گرفت که هر دو نوع لیزر منجر به بهبود پارامترهای بیومکانیکال می‌گردد. Reddy در این مطالعه نتیجه گرفت که اثر لیزر هلیوم-نئون بر پارامترهای بیومکانیکال به طور مشخص بیشتر از لیزر گالیوم-آرسناید است [۹]. بسته شدن سطح زخم یکی از شاخص‌های ترمیم زخم است، اما برخی محققین اشاره کرده اند، از آنجا که سطح زخم معیار مناسبی از عمق زخم نیست، نمی‌تواند معیار مناسبی جهت بررسی ترمیم باشد [۱۷و۱۶]، ولی به دلیل غیر تهاجمی بودن آن، در بیشتر مطالعات به ویژه مطالعات انسانی معیار مناسبی برای اندازه گیری ترمیم زخم می‌باشد [۱۸و۱۹].

Bernes و همکارانش نیز در نتایج مطالعه خود، تسریع بسته شدن سطح زخم در مدل حیوانی را به دنبال ۴ روز متوالی لیزر تراپی با طول موج ۶۳۲/۸ nm ذکر کردند [۱۹]، Hopkins و همکاران [۱۸]، Simunovic و همکاران [۲۰]، Al Watban و همکاران [۲۱]، در مطالعات جداگانه ای که بر نمونه‌های انسانی انجام دادند، تسریع بسته شدن سطح زخم را به دنبال لیزر تراپی با هلیوم-نئون گزارش کردند.

به طور کلی لیزر با طول موج ۶۰۰-۱۰۰۰nm در فیزیوتراپی استفاده می‌شود [۱-۲]، ۱۴-۱۵و۲۲-۲۴] که لیزر ۶۳۲/۸nm (He-Ne) و Ga-As (۹۰۴ nm) به عنوان طول موج های متداول در ترمیم زخم ذکر شده است [۷-۹]، ۱۲-۱۴و۲۵]، اما طول موج مناسب تر بین این دو طول موج، در مطالعات به درستی بررسی نشده است. اگرچه Reddy اثر این دو طول موج را بر پارامترهای بیومکانیکال به دنبال ترمیم زخم پوستی در موش های دیابتیک مقایسه کرد و اثر لیزر کم توان (Ne-He) ۶۳۲/۸nm را بیشتر ذکر نمود [۹]، اما در این مطالعه اولاً درمان موش های دو گروه، با دو سال فاصله زمانی انجام شد و سن دو گروه یکسان نبود، ثانیاً او با ایجاد زخم دیگری در سمت مقابل درمان به عنوان گروه کنترل، عملاً اثر سیستمیک لیزر را که در منابع زیادی اشاره شده است [۲۵-۲۸]، نادیده گرفت.

همان گونه که اشاره شد در ترمیم موفق بافت زخم، علاوه بر بسته شدن سطح زخم، طبیعی شدن پارامترهای بیومکانیکال جهت مقابله با تنش های وارده ضروری است، لذا هدف اصلی این مطالعه، بررسی و مقایسه تاثیر این دو نوع لیزر متداول در ترمیم زخم، بر پارامترهای بیومکانیکال و کاهش اندازه سطح زخم، در زخم تمام ضخامت پوست موش صحرایی و بررسی همبستگی بین این دو پارامتر می باشد.

^۵Rat

به غیر از نمونه بافت زخمی، در هر حیوان یک نمونه با همان ابعاد و راستا از پوست سالم مجاور به عنوان کنترل درون حیوانی تهیه شد و تحت آزمون تنسیومتری قرار گرفت تا خطاهای محاسباتی مربوط به تفاوت‌های فردی حیوان را به حداقل برساند. سپس پارامترهای بیومکانیکی ناحیه زخم با استفاده از فرمول زیر نرمالیزه شد و در صد بازگشت پارامتر مکانیکی نسبت به بافت سالم محاسبه شد.

به عبارتی تغییر هر پارامتر نسبت به پوست سالم همان نمونه به دست آمد، پس هر چه عدد به دست آمده به ۱۰۰ نزدیک شود، نشان دهنده نزدیک شدن پارامترهای مکانیکی پوست ترمیم شده به پوست سالم همان حیوان بود.

روش تجزیه و تحلیل آماری: ابتدا توزیع طبیعی پارامترها بوسیله K-S بررسی شد که تمام داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردار بود ($P > 0.05$)، لذا از روش‌های پارامتریک برای آنالیز آماری استفاده شد. برای مقایسه بین سطح زخم و پارامترهای بیومکانیکی گروه‌های درمانی و کنترل از آزمون‌های ANOVA و Tukey استفاده گردید. حدود اطمینان در تمام تست‌ها ۹۵٪ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

هدف اول این مطالعه بررسی اثر لیزرهای کم توان He-Ne و Ga-As بر درصد کاهش هفتگی سطح زخم و پارامترهای بیومکانیکال پس از ۱۰ جلسه درمان نسبت به گروه کنترل و دومین هدف آن، مقایسه اثر این دو لیزر با یکدیگر بود. در انتهای هفته سوم تمام زخم‌ها در هر سه گروه بسته شده بود، نتایج نشان داد که در هر دو گروه لیزر Ga-As و لیزر He-Ne اندازه زخم در هفته اول و سوم در دو گروه نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری نداشت، اما در هفته دوم کاهش درصد سطح زخم در هر دو گروه درمانی نسبت به گروه کنترل معنی دار بود و کاهش بیشتری نشان داد ($P < 0.05$). میزان کاهش درصد سطح زخم بین دو گروه درمانی معنی دار نبود اما در گروه لیزر He-Ne بیشتر از گروه Ga-As بود ($P > 0.05$). روند تغییرات درصد کاهش زخم در طول هر هفته در شکل شماره ۱ نشان داده شده است. بررسی میزان افزایش قدرت مکانیکی بافت ترمیم شده، از دیگر اهداف این مطالعه بود، نتایج نشان داد در گروه Ga-As درصد بهبود Fmax، سطح زیر منحنی، تغییر طول و کرنش نسبت به گروه کنترل افزایش معنادار نشان داد که نشان دهنده نزدیک تر شدن پارامترهای مکانیکی زخم گروه Ga-As به مقادیر طبیعی پوست سالم بود (شکل شماره ۲).

از طرفی مقایسه نتایج بین دو گروه لیزر نشان داد، با اینکه اختلاف درصد بهبود Fmax، تغییر طول تا نقطه FMax، کرنش، حداکثر تنش و سطح زیر منحنی تا نقطه FMax در گروه لیزر Ga-As بیشتر از گروه لیزر He-Ne بود اما هیچ اختلاف معناداری بین

اندازه‌گیری سطح زخم: به منظور ارزیابی اثر درمانی در هر سه گروه، درصد کاهش سطح زخم به صورت هفتگی، با توجه مقدار پایه روز بعد از ایجاد زخم، به روش Tracing محاسبه شد. در این روش برای اندازه‌گیری سطح زخم تصویر محیط زخم سه بار با دقت روی ترنس پرنت ترسیم شد. سپس با استفاده از نگاتسکوپ Sigma مدل L2203، تصویر محیط زخم به میلی متر مربع اندازه‌گیری شد. در این روش درصد کاهش سطح زخم در طول هر هفته طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\frac{\text{اندازه سطح زخم در انتهای هفته} - \text{اندازه سطح زخم در ابتدای هفته}}{\text{اندازه سطح زخم در ابتدای هفته}} \times 100$$

اندازه‌گیری قدرت کششی بافت ترمیم شده: در روز ۲۱، حیوانات دو گروه درمانی لیزر و گروه کنترل با استنشاق کلروفورم در دسیکاتور، قربانی شده و نمونه برداری پوستی انجام می شد. پس از تیغ کردن و تمیز نمودن پوست موضع زخم، نمونه پوستی با طول ۶ سانتی متر (۳ سانتی متر از هر طرف زخم) و عرض ۳ سانتی متر (به طوری که خط زخم اولیه در مرکز آن قرار گیرد) جهت انجام آزمون قدرت کشش بافت تهیه شد و نمونه‌ها بلافاصله در محلول نرمال سالین ۰/۹٪ قرار گرفت تا شرایط طبیعی بافت جدا شده، حفظ گردد. نمونه‌ها حداکثر تا ۳ ساعت بعد مورد آزمایش قرار گرفتند. آزمون تنسیومتری با استفاده از دستگاه کشش مدل ZWICK 2.5 ساخت کشور آلمان انجام گردید. ابتدا نمونه‌ها به طور عمودی، به گونه‌ای که زخم در وسط واقع شود، بین دو گیره دستگاه ثابت شد. سپس ابعاد نمونه‌های پوستی (عرض، قطر و طول) به وسیله کولیس با دقت ۰/۱ میلی متر اندازه‌گیری شد و اطلاعات مربوطه در نرم افزار ثبت شد. دو انتهای نمونه پوستی، به منظور جلوگیری از لغزش نمونه در حین کشش، بین دو کاغذ سنباده قرار داده شد. تست کشش یک محوری با سرعت ۲۰ mm/min انجام شد و منحنی تنش-کرنش^۷ و نیرو-تغییر طول^۸ بدست آمد و مقادیر حداکثر تنش بر حسب N/mm² (در واقع مقدار نرمال شده FMax بوده که از رابطه نیرو/ سطح مقطع بدست می‌آید)، کرنش (درصد تغییر طول)، تغییر طول تا نقطه حداکثر نیروی مقاومتی بافت بر حسب mm، حداکثر نیروی مقاومتی بافت بر حسب N (حداکثر نیروی خالصی است که بافت می‌تواند تحمل کند)، سطح زیرمنحنی تا نقطه حداکثر نیروی مقاومتی بافت بر حسب Nmm (بیانگر انرژی جذب شده در بافت است)، مدول الاستیک^۹ بر حسب N/mm² (شیب قسمت خطی منحنی تنش-کرنش)، سفتی بر حسب N/mm (شیب قسمت خطی منحنی نیرو-تغییر طول اندازه‌گیری شد).

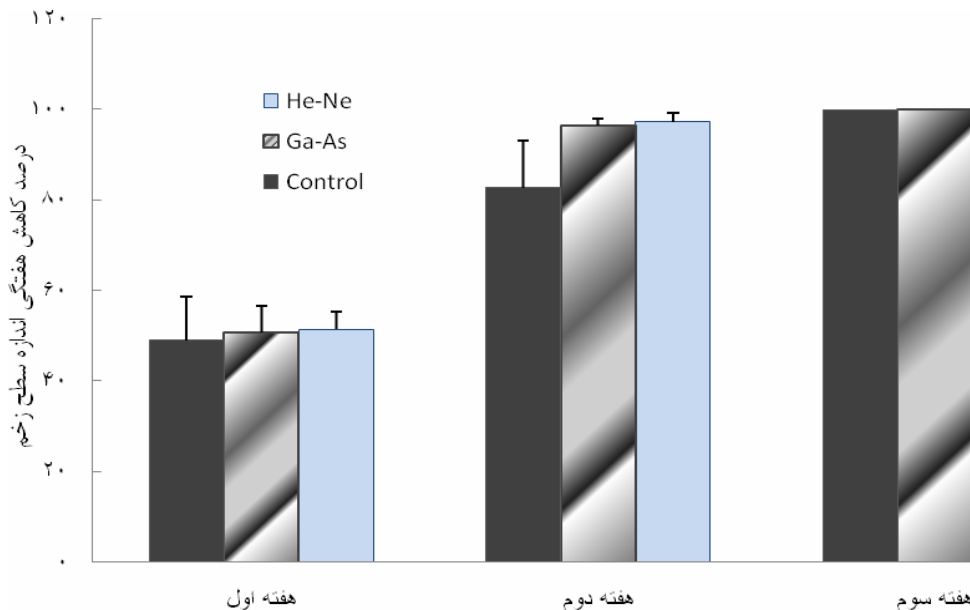
^۷Tensile testing

^۸stress-strain

^۹load-deformation

^{۱۰}F_{Max}

^{۱۱}Elastic-modulus



شکل ۱- درصد کاهش هفتگی اندازه سطح زخم در گروه‌های مختلف در طول هفته اول، دوم و سوم * درصد کاهش سطح زخم در گروه لیزر He-Ne و Ga-As نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار دارد ($P < 0.05$).

تشکیل اتصالات عرضی بین فیلامان های کلاژن، ساخت بستر و ماده زمینه ای بافت همبند و جهت گیری و سازماندهی فیبرهای کلاژن مربوط است، که عمدتاً به دنبال اعمال تنش های نرمال در بافت ایجاد می شوند [۷ و ۳۰].

در مطالعات مختلف که اثر لیزر بر ترمیم زخم را بررسی کرده اند، کاهش طول زمان فاز التهاب به دنبال لیزر درمانی نسبت به گروه کنترل گزارش شده است [۴، ۶، ۷، ۱۴ و ۲۸]. این کاهش در زمان فاز التهابی می تواند منجر به تسریع در ورود به مراحل تکثیر^{۱۱} و سازماندهی مجدد شود که از نتایج آن، می تواند بسته شدن سریعتر سطح زخم و بهبود در پارامترهای بیومکانیکال باشد. در مطالعه حاضر نیز تسریع در بسته شدن سطح زخم در طول هفته دوم و انتهای آن به دنبال لیزر درمانی با دو لیزر He-Ne و Ga-As می تواند به همین دلیل باشد، از طرفی تابش لیزر ممکن است سلول های اپی تلیال را به محل زخم کشانده و منجر به بسته شدن سریعتر سطح زخم گردد [۶]. نتایج این مطالعه با مقاله Najashima و همکاران [۷] و Gul و همکارانش [۶] که اشاره کردند لیزر He-Ne با ملایم کردن واکنش های التهابی، منجر به شروع زودتر فاز پرولیفراسیون و بهبود اپیتلیالیزاسیون می شود، همخوانی دارد اما با نتایج Braverman et al و Hunter [۶ و ۲۵] که به بی تأثیر بودن لیزر درمانی در بسته شدن سطح زخم اشاره کرده اند، متفاوت است.

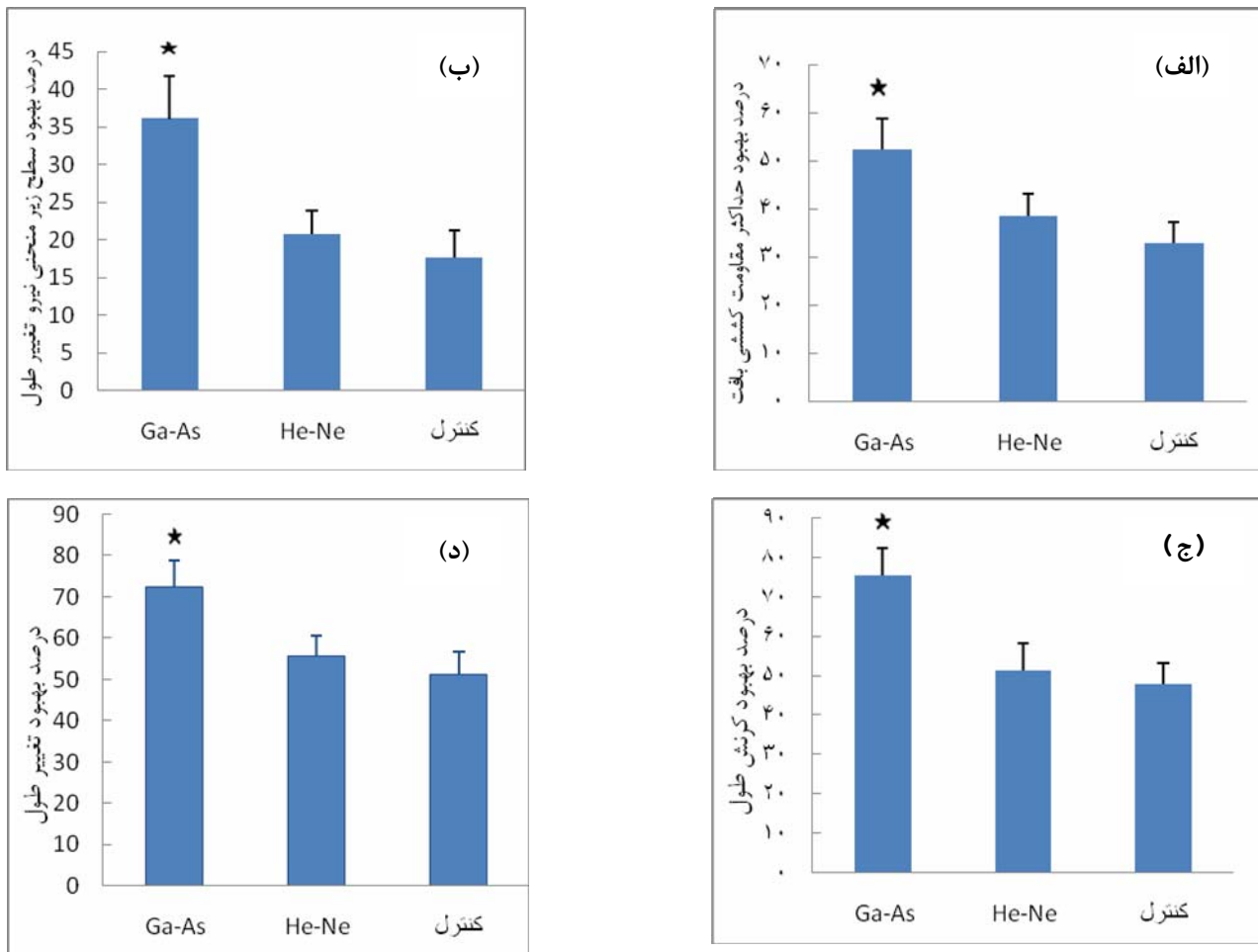
آنها مشاهده نشد. باید اشاره کرد که سه گروه هیچ اختلاف معناداری در مدول الاستیک و سفتی و حداکثر تنش با یکدیگر نداشتند ($P > 0.05$). مقادیر مربوط به درصد بهبود فاکتورهای بیومکانیکی بافت، در جدول شماره ۱ آورده شده است.

بحث

براساس نتایج به دست آمده، درصد بسته شدن سطح زخم در طول هفته دوم و انتهای آن، در هر دو گروه لیزر He-Ne و Ga-As نسبت به گروه کنترل، به طور معناداری افزایش نشان داد. از طرفی هر دو گروه لیزر درمانی بر شاخص های بیومکانیکی بافت زخم تأثیر گذار بود، اما این تأثیرات در گروه لیزر Ga-As بیشتر است. نتایج نشان داد که بسته شدن سطح زخم و ویژگی های بیومکانیکی بافت زخم ارتباط معنی داری با یکدیگر نداشتند. چنان که در پایان هفته سوم ترمیم، میانگین اندازه سطح زخم در تمام گروه ها ۱۰۰ درصد کاهش یافت اما پارامترهای بیومکانیکی بافت زخم در هیچ گروه به طور کامل به سطح بافت سالم نرسید.

باید به این نکته توجه کرد که با بسته شدن سطح زخم، نباید انتظار داشت که بافت به قدرت طبیعی خود بازگردد [۱۶ و ۲۹]. در حقیقت بسته شدن سطح زخم و ویژگی های مکانیکی زخم دو مقوله مرتبط با ترمیم زخم هستند اما با یکدیگر انطباق ندارند. به طوری که بسته شدن سطح زخم به مهاجرت و تکثیر سلول های اپیتلیال نیاز دارد [۶]. در حالی که ویژگی های مکانیکی بافت زخم، عمدتاً به پروسه های تکثیر فیبروبلاست ها، کلاژن ریزی، بلوغ فیبرهای کلاژن،

^{۱۱} Proliferation



شکل ۲- مقایسه درصد بهبود حداکثر نیروی مقاومتی بافت (الف)، سطح زیر منحنی نیرو-تغییر طول (ب)، کرنش (ج) و تغییر طول (د) در سه گروه **★** گروه لیزر Ga-As به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل است ($P < 0.05$).

همچنین این مطالعه با نتایج Pereira و همکاران که در مطالعه خود اثر لیزر کم توان Ga-As با شدت 3 J/cm^2 ، 4 و 5 را در $1-6$ روز بر سلول‌های فیبروبلاست بررسی کردند و نتیجه گرفتند که لیزر با شدت‌های 3 J/cm^2 و 4 منجر به افزایش 3 تا 6 برابر تعداد سلول‌ها نسبت به گروه کنترل گردید [۲]، همخوانی دارد. همچنین Reddy در مطالعه‌ای اثر دو لیزر کم توان He-Ne و Ga-As را با شدت 1 J/cm^2 ، به مدت 3 هفته و 5 روز در هفته بر زخم جراحی دیابتی موش صحرایی بررسی کرد، او نتیجه گرفت که هر دو نوع لیزر منجر به افزایش پارامترهای سفتی، کرنش، تنش و قدرت کششی بافت و سطح زیر منحنی می شود اما اثری بر مدول الاستیک ندارد [۹]. این نتایج با نتایج مطالعه حاضر تقریباً مشابه است، با این تفاوت که Reddy اثر لیزر He-Ne بر بهبود پارامترهای بیومکانیکال را به طور مشخص بیشتر از لیزر Ga-As گزارش نمود که شاید به دلیل متفاوت بودن شدت لیزرهای بکار رفته، دیابتی بودن نمونه‌های مورد استفاده و

همانگونه که پیشتر نیز اشاره شد، پارامترهای بیومکانیکی بافت در مرحله بلوغ^{۱۲} و سازماندهی مجدد جهت بررسی میزان کلاژن‌ها و طرز قرارگیری آنها مورد بررسی قرار می‌گیرد، همچنین کلاژن توسط سلول‌های فیبروبلاست ساخته می شود و لذا در بسیاری از مطالعات اثر لیزر بر سلول‌های فیبروبلاست مورد مطالعه قرار گرفته است [۷، ۹ و ۱۵]. ساخت کلاژن از زمان ایجاد زخم در بافت آغاز می شود و تا Remodeling کامل ادامه می یابد [۱].

نتایج مطالعه حاضر که بهبود ویژگی‌های بیومکانیکال در هر دو گروه درمانی نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد، با نتایج Abergel و همکارانش [۱۲] که اثر لیزر He-Ne و Ga-As با شدت‌های مختلف را بر فیبروبلاست‌ها کشت داده شده، بررسی کردند و افزایش میزان تولید کلاژن توسط فیبروبلاست‌ها را در هر دو گروه لیزر درمانی نسبت به گروه کنترل گزارش دادند، همخوانی دارد.

^{۱۲} Maturation

جدول ۱- درصد بهبود ویژگی های بیومکانیکی بافت ترمیم شده در گروه های لیزر و کنترل

پارامتر	گروه	انحراف معیار + میانگین گروه کنترل	انحراف معیار + میانگین گروه لیزر He-Ne	انحراف معیار + میانگین گروه لیزر Ga-As
درصد بهبود مدول الاستیک	۶۱/۱۷ + ۵/۶۹	۵۸/۴۰ + ۵/۱۵	۵۴/۱ + ۸/۸۲	
درصد بهبود سفتی	۶۸/۱ + ۵/۹۳	۶۵/۳۳ + ۷/۰۲	۶۴/۳۵ + ۳/۹۶	
درصد بهبود حداکثر قدرت کششی*	۳۲/۸۵ + ۳/۲۹	۳۸/۰۸ + ۴/۷۳	۵۲/۳۰ + ۶/۴۳	
درصد بهبود حداکثر تنش	۲۷/۴۵ + ۴/۴۹	۳۱/۹۱ + ۴/۷۵	۴۳/۰۰ + ۶/۶۴	
درصد بهبود تغییر طول تا نقطه F _{Max} *	۵۱/۱۱ + ۵/۷۷	۵۵/۶۹ + ۴/۹۶	۷۲/۴۳ + ۶/۳۲	
درصد بهبود کرنش*	۴۸/۰۴ + ۵/۱۲	۵۱/۴۸ + ۶/۷	۷۵/۵۳ + ۶/۹	
درصد بهبود سطح زیرمنحنی نیرو- تغییر طول تا نقطه F _{Max} *	۱۷/۶۳ + ۳/۶۳	۲۰/۷۸ + ۳/۱۱	۳۶/۱۰ + ۵/۷۱	

*گروه گالیوم-آرسناید به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل است (P<0.05).

گروه لیزر Ga-As نسبت به گروه کنترل و لیزر He-Ne دانست. نبود تفاوت معنادار مدول الاستیک و سفتی بین بافت زخم و سالم نیز دور از انتظار نیست زیرا آنچه در این پارامترها تأثیر گذار است، اعمال تنش های مکانیکال به کلاژن های تازه ساخته شده است تا همراستی مجدد^{۱۳} آنها اصلاح شود. طبیعتاً این پروسه طولانی است و احتمالاً در زمان بیشتری از ۳ هفته روی می دهد. این نکته باید همواره در کشیدن و افزایش طول بافت های ترمیم شده مانند عضله، تاندون، لیگامان و پوست مد نظر باشد، زیرا بافت حتی پس از سه هفته، استحکام کافی پیدا نکرده و کشیدگی نابجا سبب پارگی فیبرهای کلاژن و از هم گسیختگی پیوندهای نابالغ خواهد شد.

نتیجه گیری

نتایج نشان داد که درصد کاهش هفتگی سطح زخم در هفته دوم در هر دو نوع لیزر نسبت به گروه کنترل معنادار بود، اما به نظر می رسد لیزر گالیوم آرسناید به دلیل اثر گذاری بیشتر در مکانیسم های پرولیفراسیون سلولی، در بهبود ویژگی های مکانیکی بافت ترمیم شده موثرتر باشد.

نادیده گرفتن اثر سیستماتیک لیزر به دلیل مقایسه بافت زخم با پوست سمت مقابل به عنوان گروه کنترل باشد [۹]. Yasukava و همکاران نیز اثر لیزر He-Ne را بر زخم جراحی Rat بررسی کردند و افزایش معنی دار در قدرت کششی بافت و تشکیل فیبر کلاژن و پیوستگی بافت در گروه لیزر با توان ۱۷mW را نسبت به گروه کنترل گزارش کردند [۷].

به نظر می رسد که استحکام و قدرت کششی پوست نه تنها به میزان فیبرهای کلاژن، بلکه بیشتر به پیوستگی و سازمان بندی فیبرهای کلاژن و تشکیل اتصالات زنجیره ای عرضی بین فیلامان ها بستگی دارد. این وقایع طی مرحله ای به نام شکل گیری مجدد رخ می دهد [۹]، سه هفته پس از آسیب، بین سنتز و تجزیه کلاژن وضعیت هموستاز (تعادل) به وجود آمده و مرحله شکل گیری مجدد آغاز می شود.

در این مطالعه نیز نزدیک شدن پارامترهای بیومکانیکال بافت زخم به نمونه سالم حیوان، در هر دو گروه درمانی لیزر، می تواند به دلیل افزایش تراکم کلاژن ها و سازماندهی بهتر در این گروه ها باشد. از طرفی اشاره شده است که جذب نور لیزر در سلول منجر به حالت مشابه تحریک الکتریکی سلول می گردد که می تواند با افزایش ATP سلول، فعالیت پمپ های فعال را افزایش داده و اختلاف غلظت یون های داخل سلول از جمله Ca²⁺ را افزایش دهد. یون Ca²⁺ نقش مهمی در بدن دارد و افزایش آن در بافت منجر به افزایش پرولیفراسیون می گردد که در نتیجه آن میزان تکثیر فیبرهای کلاژن افزایش می یابد [۳۱ و ۱۰]. با توجه به نتیجه مطالعه حاضر شاید بتوان نزدیک شدن حداکثر قدرت کششی، تغییر شکل بافت، کرنش و سطح زیر منحنی نیرو- تغییر طول در گروه لیزر گالیوم-آرسناید نسبت به گروه کنترل را احتمالاً نشان دهنده افزایش تراکم و سازماندهی بهتر کلاژن ها در

^{۱۳} realignment

1. Pugliese LS, Alena PM, Reis SR, Andrade Z. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. *Pesqui Odontol Bras* 2003; 17(4):307-13.
2. Pereira AN, Eduardo CDP, Matsone E, Marques MM. Effect of low-power laser irradiation on cell growth & procollagen synthesis of cultured fibroblast. *Laser in Surgery & medicine* 2002; 31: 263-7.
3. Alexandratou E, Yova D, Handris P, Kletsas D, Loukas S. Human fibroblast alteration induced by low power laser irradiation at single cell level using confocal microscopy. *Photochem Photochem Sci* 2002; 1:547-52.
4. Papillion P, Valiulis J, Cunningham M, Simolke E, Veillon D, Mukherjee D. The effects of 10mm diode laser irradiation on healing of full thickness skin wound in Rats. *WHS* 2004; 16(12).
5. Yilmaz N, Comelekoglu U, Actas S, Coskun B, Bagis S. Effect of low-energy gallium-arsenide (Ga-As, 904 nm) laser irradiation on wound healing in rat skin. *WHS* 2006; 18(11).
6. Gul NY, Topal A, Cangul IT, Yanik K. The effects of topical tripeptide copper complex & Helium-Neon laser on wound healing. *ESVD & ACVD* 2007; 19: 7-19.
7. Yasukawa A, Ohru H, Koyama Y, Nagai M, Takakuda K. The effect of low reactive- low level laser therapy (LLLT) with Helium- Neon laser on operative wound healing in rat Model. *JVMS* 2007; 69(8): 799-806.
8. Demidova-Rice T, Salomation E, Yaroslavsky A, Herman I, Hamblin M. Low-level light stimulates excisional wound healing in Mice. *Laser in Surgery and Medicine* 2007; 39: 706-15.
9. Reddy GK. Comparison of the photostimulatory effects of visible He-Ne & infrared Ga-As laser on healing impaired diabetic rat wounds. *Laser in Surgery & Medicine* 2003; 33: 344-51.
10. Hamblin MR, Deidova TN. Mechanism of Low Level Light Therapy, *SPIE* 2006; 6140.
11. Salate A, Barbosa G, Gaspar P, Koeke P, Parizotto N, Benze B. Effect of In-Ga-Al P Diode Laser Irradiation on Angiogenesis in partial ruptures of Achilles Tendon in rats. *Photomedicine and Laser Surgery* 2005; 23(5): 470-5.
12. Abergel RP, Lyons RF, White RA, Dwyer RM, Castel JC, Uitto J. Biostimulation of wound healing in vivo by a helium-neon laser, *Ann Plast Surg* 1987; 18: 47-50.
13. Carvalho PTC, De Carvalho C, Mazzer N, Dos Reis F, Belchior ACG, Silva IS. Analysis of the influence of low-power He-Ne laser on the healing of skin wounds in diabetic & non diabetic rats. *Acta Cirurica Brasileira* 2006; 21(3): 177-83.
14. Demir H, Balay H, Kirnap M. A comparative study of the effects of electrical stimulation & laser treatment on experimental wound healing in rats. *Journal of rehabilitation Research & development* 2004; 41: 147-54.
15. Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemwka CS. Laser photostimulation accelerates wound healing in diabetic rats. *Wound Repair Regen* 2001; 9:248-55.
16. Hawkins D, Abrahamse H. Laboratory methods for evaluating the effect of low level laser therapy (LLLT) in wound healing. *African journal of biomedical research* 2005; 8: 1-14.
17. Zsebik B, Symonowicz K, Saleh Y, Ziolkowski P, Bronowicz A, Vereb G. Photodynamic therapy combined with acysteine proteinase inhibitor synergistically decrease VEGF production and promote tumor necrosis in a rat mammary carcinoma. *Il Proliferati onCe* 2007; 40: 38-49.
18. Hopkins JT, Mcloda TY, Seegmiller JG, Baxter GD. Low Level Laser Therapy facilitates superficial wound healing in human: A Tripl- Blind, Sham Controlled Study. *Journal of Athletic training* 2004; 39(3): 223-9.
19. Junior A, Vieira B, Andrade L, Aarestrup F. Effects of low-level laser therapy on progress of wound healing in human: the contribution of in vitro an in vivo experimental studies. *J Vase Bras* 2007; 6(3): 258-66.
20. Simunovic Z, Ivankovich AD, Depolo A. Wound healing of animal and human body sport and traffic accident injuries using low-level laser therapy treatment: a randomized clinical study of seventy-four patients with control group. *Journal of clinhcal laser medicine and surgery* 2000; 18(2): 67-73.
21. Al-Watban F, Bernard LA. Therapeutic photons in wound healing. *Global healthcare* 2002: 1-10.
22. Sobavko JF, Alster TS. Efficiency of Low Level Laser Therapy for chronic cutaneous ulceration in human: A review & discussion. *Dermatologic Surgery* 2008; 34: 991-1000.
23. Rocha JrAM, Vieira BJV, De Andrade LCF, Aarestrup FM. Effects of low-level Laser therapy on the progress of wound healing in humans: the

- contribution of in vitro & in vivo experimental studies. *J Vase Bras* 2007; 6(3): 258-66.
24. Hawkins D, Abrahamse H. Laboratory methods for evaluating the effect of low level laser therapy (LLLT) in wound healing. *African journal of biomedical research* 2005; 8: 1-14.
25. Braverman B, Mccarthy RJ, Ivankovich AD. Effect of helium- neon and infrared laser irradiation of wound healing in rabbits. *Lasers in surgery & medicine* 1989; 9: 50-8.
26. Rochkind S, Rousso M, Nissan M, Barr Nee L, Rees DG. Systemic effects of low-power laser irradiation on peripheral and central nervous system, cutaneous wounds and burns. *Laser Surg Med* 1989; 9:174-82.
27. Polo L, Presti F, Schindle L, Bertoloni G, Jori G. Role of ground and excited singlet state oxygen in red light induced stimulation of *Escherichia coli* cell growth. *Biochem Biophys Res Comm* 1999; 257:753-8.
28. Schindle A, Heinze G, Schindle M, Schon H, Schindle L. Systemic effects of low intensity laser irradiation on microcirculation in patients with diabetic microangiopathy. *Micro Vascular Research* 2002; 64: 240-5.
29. Enwemeka C.S. Attenuation and penetration of visible 632.8 nm and invisible infrared 904nm light in soft tissues. *Laser Therapy (WALT)* 2001; 13: 95-101.
30. Pugliese L, Mdradoe A, Reise S, Andrade Z. Influence of low level laser therapy on biomodulation collagen and elastic fibers. *pesqui odontol Bras* 2003; 17(4): 307-13.
31. Yu W, Naim JO, McGowan M, Ippolito Kand Lanzafame RJ. Photomodulation of oxidative metabolism and electron chain enzymes in rat liver mitochondria. *Photochem Photobiol* 1997; 66: 866-71.