

مروری بر مکانیسم‌های اثرگذاری لیزر کم‌توان بر ترمیم زخم پوستی

مه‌سا حسینی صنعتی^۱

گیتی ترکمان^۲

^۱ دانشجوی دکتری فیزیوتراپی، گروه فیزیوتراپی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
^۲ دانشیار گروه فیزیوتراپی، گروه فیزیوتراپی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

نویسنده مسئول: گیتی ترکمان، تلفن ۰۲۱-۸۸۰۶۵۴۴، تorkamg@modares.ac.ir، پست الکترونیک: torkamg@modares.ac.ir

مقدمه

پتانسیل غشاء سلول [۲۱، ۲۵ و ۲۶] است که نهایتاً می‌تواند سبب تسریع در بسته‌شدن زخم پوستی [۳۳-۲۵] باشد. در این مطالعه سعی شده است مهم‌ترین مکانیسم‌های احتمالی مطرح‌شده در رابطه با تعامل بافت و لیزر کم‌توان با استناد به مطالعات انجام‌شده بررسی گردد. بدیهی است که دیدگاه مقاله حاضر مرور مطالعات انجام‌شده در حیطه ترمیم زخم نیست بلکه هدف بیان مکانیسم‌های تأثیر لیزر کم‌توان در تسریع پدیده ترمیم با تمرکز بر ترمیم زخم پوستی است که بیشتر در مقالات مورد توجه بوده است. شناخت تعامل لیزر و بافت به کاربرد هدفمند و دقیق این مدالیتی پرارزش در حیطه تحقیقات پایه و بالینی کمک خواهد کرد.

مکانیسم‌های اثر لیزر کم‌توان بر ترمیم زخم پوستی

اثر لیزر کم‌توان بر التهاب

مرحله التهابی^۱ از تجمع سلول‌های التهابی مختلف (از جمله PNL^۲، ماکروفاژ، لنفوسیت) و مواد شیمیایی ترشح‌شده از آن‌ها شکل می‌گیرد، این مرحله در پاسخ به نیاز برای از بین بردن بافت‌های نکروز و عفونت‌ها تشدید می‌شود [۹]. نقطه آغازین ترمیم، مرحله التهابی است که با هجوم سلول‌های التهابی و انواع سیتوکینین‌ها به بافت آسیب‌دیده آغاز می‌شود [۳۴]. در بسیاری از مطالعات که اثر لیزر بر کاهش پدیده التهاب همواره مورد توجه آن‌ها بوده، کاهش سلول‌های التهابی و به دنبال آن کاهش طول

استفاده از لیزر کم‌توان به‌عنوان یک درمان فوتونی جهت تحریک یا تسریع ترمیم زخم از دهه ۱۹۷۰ با مقاله Mester و همکاران آغاز و پس از آن مطالعات زیادی در رابطه با آثار آن در ترمیم زخم انجام شده است. در سال‌های ابتدایی استفاده از لیزر در ترمیم زخم، لیزرهای نور قرمز He-Ne [۳-۱] و آرگون [۴، ۲] و [۵] در مطالعات مورد توجه بوده و طول موج (He-Ne) $632.8 \mu m$ نانومتر به‌عنوان مؤثرترین طول موج در ترمیم زخم پوستی معرفی و در بیشتر مطالعات به‌کار گرفته شده است [۳-۱ و ۶].

امروزه، با ورود لیزرهای با طول موج‌های بالاتر و near infrared محدوده ۱۰۰۰-۶۰۰ نانومتر و با توان $5-50 mW$ و شدت $1-4 j/cm^2$ دارای اثر درمانی مناسب ذکر می‌شود [۷، ۱]. لیزرهای کم‌توان با شدت کم، تغییرات دمایی ناچیزی، کمتر از $0.5-1.75$ سانتی‌گراد، در سطح بافت ایجاد می‌کنند. این تغییر اندک دما نمی‌تواند مبین تعامل لیزر و بافت در پروسه‌های درمانی باشد [۸].

بررسی تعامل لیزر و بافت از مباحث بسیار پراهمیت در حیطه درمان است و بسیاری از مطالعات In vitro [۱۳-۹] سعی در شناخت این تعامل داشته‌اند تا دلایل اثرگذاری لیزر در ترمیم زخم را توجیه نمایند. مهم‌ترین مکانیسم‌های مطرح‌شده در این حیطه شامل اثر لیزر کم‌توان بر کوتاه‌کردن مرحله التهاب بافت و تسریع در شروع مرحله تکثیر سلولی [۲، ۳، ۷، ۱۶-۱۴]، اثر ضد باکتریال [۱۸-۱۵]، اثر بر عملکرد میتوکندری سلول [۱۲-۹ و ۲۱-۱۹]، افزایش خون‌رسانی بافت [۳، ۲۲، ۲۴ و ۲۴] و روند تغییرات

^۱ Inflammatory phase

^۲ Polymorphonuclear leukocytes

مه‌ار شرایط عفونی بافت و کاهش التهاب می‌شود [۱۷]. Demir نیز در مطالعه خود نتیجه گرفت که لیزر منجر به افزایش تعداد گلبول‌های سفید چنددهسته‌ای (که جهت پاک‌سازی بافت ترشح می‌شود) می‌گردد [۱۵]. بیات و همکاران نیز در مطالعه خود نتیجه گرفتند که لیزر کم‌توان هلیوم- نئون دارای اثر ضدباکتریال در زخم سوختگی درجه سه می‌باشد [۲۲].

Ferreira نیز در مطالعه خود اثر لیزر کم‌توان He-Ne با شدت $3\text{J}/\text{cm}^2$ را بر زخم عفونی شده Paracoccidioidomycotic بررسی کرد. در این مطالعه لیزر درمانی در روزهای ۷، ۸ و ۹ بعد از عفونی شدن انجام گرفت و از زخم‌ها در روز دهم نمونه‌برداری شد. نتایج نشان داد که در گروه درمانی علاوه بر کاهش سطح زخم، میزان ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بود [۱۸].

۳. اثر لیزر کم‌توان بر تکثیر سلولی و افزایش سنتز کلاژن در بسیاری از مطالعات به افزایش تکثیر سلول‌های مختلف بافت پس از لیزردرمانی به عنوان مکانیسم اثر لیزر بر بافت اشاره شده است [۳، ۳۸، ۳۹]. برای بررسی میزان تکثیر سلولی ناشی از درمان، تعداد سلول‌ها با استفاده از روش شمارش سلولی بررسی می‌شوند [۲۵]. پروتئین کلاژن که به‌طور عمده از سلول‌های فیبروبلاست ساخته می‌شود، منجر به استحکام و قدرت کششی بافت می‌گردد تولید کلاژن در مرحله تکثیر سلولی^۳ صورت می‌گیرد. باید اشاره کرد که استحکام و قدرت کششی بافت نه‌تنها به میزان فیبرهای کلاژن، بلکه بیشتر به پیوستگی و سازمان‌بندی فیبرهای کلاژن و تشکیل اتصالات زنجیره‌ای عرضی بین فیلامان‌ها بستگی دارد. این وقایع طی مراحل به نام‌های شکل‌گیری مجدد^۴ و بلوغ^۵ رخ می‌دهد. در مطالعات جهت بررسی میزان شکل‌گیری و بلوغ بافت، معمولاً از روش تنسیومتری استفاده می‌شود [۳، ۲۵، ۲۸ و ۴۱].

در رابطه با اثر لیزر بر میزان تکثیر سلول‌های فیبروبلاست، میزان کلاژن آزاد شده در بافت و سازمان‌بندی فیبرهای کلاژن مطالعات زیادی صورت گرفته است. Pereira و همکاران در سال ۲۰۰۲ در برزیل، تغییرات سنتز پروکلاژن‌ها را در سلول‌های بالغ فیبروبلاست به‌دنبال تابش لیزر کم‌توان با طول موج ۹۰۴ نانومتر با دانسیته انرژی $3-5\text{ J}/\text{cm}^2$ در دوره ۶-۱ روزه بررسی کردند و نتیجه گرفتند که تابش لیزر با شدت $4\text{ J}/\text{cm}^2$ و ۳ تعداد

زمان مرحله التهاب در آن‌ها نسبت به گروه کنترل گزارش شده است [۲، ۳، ۷، ۱۴ و ۱۵]. Demir تأثیر لیزردرمانی را در فاز حاد زخم پوستی با استفاده از روش‌های بافت‌شناسی مطالعه کرد و نشان داد که لیزر منجر به کاهش تعداد ماکروفاژ گردید [۱۵]. بیات و همکاران نیز نتیجه گرفتند که لیزر درمانی با لیزر گالیوم-آلمینیوم-آرسناید منجر به کاهش تعداد مونوسیت‌ها و به‌دنبال آن کاهش التهاب در مراحل ابتدایی ترمیم می‌شود [۱۶].

گزارش‌های درمانی در رابطه با اثر لیزر در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید به‌عنوان یک نوع از بیماری‌های التهابی بیان می‌کند که لیزر منجر به تسکین درد و کاهش التهاب در بیماران می‌گردد به‌طوری‌که تابش لیزر بر سلول‌های ساینوویال بیماران RA منجر به کاهش معنادار در اینترلوکین 1β به‌دنبال لیزر درمانی شد [۱۰].

همان‌طور که قبلاً اشاره شد، مرحله التهابی جزء جدانشدنی پدیده ترمیم است و حضور سلول‌ها و سیتوکینین‌های کاتابولیک مانند اینترلوکین‌ها و سیتوکینین‌های آنابولیک مثل فاکتورهای رشد، زائیده این مرحله از ترمیم هستند که تضعیف یا مه‌ار نقش آن‌ها نه‌تنها به نفع تسریع ترمیم نیست بلکه روند ترمیم را نیز به مخاطره خواهد انداخت. اگر بر نقش لیزر در کاهش دوره التهاب اشاره شده بر شروع سریع‌تر مرحله متعاقب آن تأکید شده است [۳۴] زیرا در این صورت است که بستر زخم برای ساخت سلول‌ها و فیبرهای کلاژن آماده می‌شود و پدیده‌های انقباض زخم و رگ‌زایی و نهایتاً ترمیم رخ می‌دهد. البته باید توجه داشت که در کنار مطالعات تأییدکننده این مکانیسم احتمالی، برخی گزارش‌ها نیز بی‌تأثیر بودن لیزر بر مرحله التهاب زخم را مطرح کرده‌اند و به این مکانیسم با تردید نگریسته‌اند [۳۷-۳۵].

هرچند تفاوت در روش مطالعه، *in vivo* و *in vitro* بودن و ویژگی‌های توان، فرکانس، دانسیته انرژی و زمان تابش می‌تواند از عوامل مهم در پراکندگی نتایج باشد اما به‌رحال کوتاه‌کردن پروسه التهاب و تسریع در آغاز مرحله تکثیر سلولی از مهم‌ترین مکانیسم‌های اثر لیزر کم‌توان در ترمیم زخم پوستی است.

۲. اثر ضد باکتریال لیزر کم‌توان

این اثر لیزر یکی دیگر از مکانیسم‌های درمانی اشاره‌شده است که با اثر ضد التهابی آن هم‌خوانی دارد به‌گونه‌ای که ممکن است لیزر با از بین بردن باکتری‌ها طول مدت التهاب بافت را کوتاه نماید و به‌دنبال آن التهاب در ناحیه درمانی کاهش یابد [۱۵ و ۲۶]. گزارش شده است که لیزر کم‌توان با مه‌ار تکثیر باکتری‌ها و تحریک فعالیت فاگوسیتوزی لوکوسیت‌ها در شرایط *in vitro* منجر به

^۳Proliferation phase

^۴Remodeling Phase

^۵Maturation

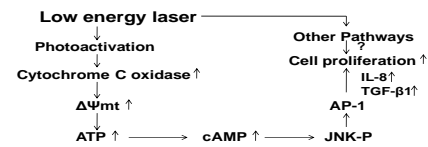
Abergel و همکاران اثر لیزر He-Ne و Ga-As با شدت های مختلف بر روی کشت فیبروبلاست ها بررسی کردند. آن ها افزایش میزان تولید کلاژن توسط فیبروبلاست ها را در هر دو گروه لیزردرمانی نسبت به گروه کنترل گزارش کردند [۴۲]. در سال ۲۰۰۷، Akio Yasukava و همکاران نیز اثر لیزر He-Ne را بر زخم جراحی Rat بررسی کردند و افزایش معنی دار در قدرت کششی بافت و تشکیل فیبر کلاژن و پیوستگی بافت در گروه لیزر با توان ۱۷ mW را نسبت به گروه کنترل گزارش کردند [۳]. حسینی و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که دو نوع لیزر He-Ne و Ga-As منجر به بهبود ویژگی های بیومکانیکال به دنبال یک دوره درمان دوازده روزه به صورت یکروز درمیان می شود و نتیجه گیری نمودند که این رویداد احتمالاً به دلیل اثر لیزر بر افزایش تولید کلاژن ها است [۲۸].

Carvalho و همکاران نیز در مطالعه ای اثر لیزر He-Ne را بر زخم ناشی از جراحی موش صحرایی بررسی کردند و افزایش میزان کلاژن در زخم دیابتی و غیر دیابتی را در نمونه های تحت درمان با لیزر نسبت به زخم سمت مقابل به عنوان گروه کنترل به دست آوردند. آن ها گزارش نمودند که این اختلاف می تواند نشان شروع زودتر مرحله بلوغ در گروه لیزردرمانی باشد [۴۳]. Ikeuchi نیز در مطالعه خود که اثر لیزر را بر روی زخم ناشی از جراحی بررسی کرد، نتیجه گرفت که در روز ۱۴ بعد از ایجاد زخم، بافت اسکار در گروه درمان نسبت به گروه کنترل بالغ تر است [۴۴].

همسو با نتیجه مطالعه Najashima و همکاران در رابطه با مکانیسم لیزردرمانی به نظر می رسد که با دلایل ذکر شده (تسریع در مرحله التهابی و آغاز تکثیر سلولی و تحریک فیبروبلاست ها) لیزر کم توان می تواند با ملایم کردن واکنش های التهابی، منجر به شروع زودتر فاز پرولیفراسیون و در نتیجه افزایش فیبرهای کلاژن شود [۳]. در بسیاری از مطالعات آزمایشگاهی و بالینی که بر تسریع ترمیم تأکید کرده اند، دلیل اثر گذاری لیزر را نقش آن در مرحله تکثیر سلولی دانسته اند که یا مستقیماً یا به صورت مطالعات بافت شناسی حضور سلول های فیبروبلاست و فیبرهای کلاژن به صورت کمی یا کیفی بررسی [۳۹، ۴۲، ۴۳] و یا به صورت عملکردی قدرت مکانیکی زخم یا اندازه گیری مقاومت کششی بافت بررسی شده است [۳۹، ۲۸، ۴۱]. اما به هر حال در مورد نقش لیزرهای کم توان در پدیده سنتز، اتفاق نظر بیشتری وجود دارد. حضور فیبروبلاست ها نه تنها در پدیده ساخت کلاژن و قدرت مکانیکی زخم مؤثر است، بلکه با شکل گیری میوفیبروبلاست ها می تواند سبب انقباض سطح زخم و تسریع در بسته شدن آن شود.

سلول ها را ۳ تا ۶ برابر گروه کنترل افزایش داد ولی در سنتز پروکلاژن ها تأثیری نداشت [۶].

Hu و همکاران در مطالعه خود اثر لیزر کم توان He-Ne بر تعداد سلول های ملانومای متاستاتیک Line A2058 را نیز بررسی نمودند و طبق شکل ۱ نتیجه گیری نمودند که تکثیر سلولی یکی از اهداف اصلی در ترمیم زخم است و ممکن است به ترتیب از طریق افزایش سیتوکروم C اکسیداز^۶، افزایش اختلاف پتانسیل غشای میتوکندری، ATP^۷، cAMP^۸ و مسیر JNK^۹، افزایش یابد [۹].



شکل ۱: یکی از مکانیسم های افزایش پرولیفراسیون در سلول های ملانومای A2058 پس از لیزردرمانی با لیزر He-Ne [۹]

Damir و همکاران در مطالعات جداگانه ای به افزایش تعداد فیبروبلاست ها در فاز تکثیر سلولی نسبت به گروه کنترل پس از لیزر درمانی اشاره نمودند [۱۵]. بیات و همکاران نیز به افزایش تعداد فیبروبلاست ها و بهبود حداکثر تنش بافت^{۱۰} پس از لیزردرمانی با لیزر کم توان ۷۸۰ نانومتر اشاره کردند [۴۰]. Reddy در سال ۲۰۰۳ اثر دو لیزر کم توان He-Ne و Ga-As را با شدت ۱J/cm² و 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 ویژگی های بیومکانیکال و میزان کلاژن تولید شده می گردند. Reddy در این مطالعه نتیجه گرفت که اثر لیزر هلیوم-نئون بر پارامترهای بیومکانیکال به طور مشخص بیشتر از لیزر گالیوم-آرسناید است [۳۹]. Stadler و همکاران نیز در مطالعه ای افزایش قدرت کششی بافت را پس از لیزردرمانی با لیزر با طول موج ۸۳۰ نانومتر در موش های ماده دیابتی گزارش نمودند [۴۱].

^۶ یکی از آنزیم های مهم آخرین مرحله زنجیره تنفسی در میتوکندری
^۷ Adenosine Three Phosphate
^۸ مولکول اقباس شده از ATP است که در بسیاری از پروسه های بیولوژیک نقش مهمی دارد و در سنتز DNA و RNA به کار می رود [۹].
^۹ Jun N-terminal kinase، پروتئینی است که باعث افزایش بیان ژن جهت پرولیفراسیون و آنژیوژنز می شود و در این مسیر TGF-β1 و IL-8 افزایش می یابد که به دنبال آن پرولیفراسیون بیشتر می شود [۹].

^{۱۰} Maximum stress

۴. اثر لیزر کم توان بر عملکرد میتوکندری سلول Karu در سال ۱۹۸۹، جذب نور تک‌رنگ قابل دید و NIR¹¹ به‌وسیله ترکیبات زنجیره تنفسی میتوکندری را مطرح کرد [۴۷]. دیواره داخلی غشاء میتوکندری از ۵ کمپلکس پروتئین سرتاسری تشکیل شده است:

(Complex1) NADH dehydrogenase
(Complex2) Succinate dehydrogenase
(Complex 3) Cytochrome c reductase (complex)
4) Cytochrome c oxidase، ATP synthase
(Complex5) و دو مولکول Ubiquinone و Cytochrome c که الکترون‌ها را از یک کمپلکس به کمپلکس بعدی هدایت می‌کنند. Oxidase
Cytochrome c در سلول‌های پستانداران به‌عنوان جذب‌کننده اصلی نور Red-NIR¹¹ ذکر شده است [۲].

Bakeeva و همکاران در سال ۱۹۹۳، در مطالعه خود مشاهده کردند که تابش لیزر He-Ne بر سلول‌های لنفوسیت خون انسان منجر به ایجاد میتوکندری‌های غول‌پیکر¹² در سلول می‌شود محققان این عامل را علت تشدید متابولیسم انرژی دانستند [۱۹]. به‌نظر می‌رسد افزایش رادیکال‌هایی مانند OH⁻ و O₂⁻ نشان‌دهنده افزایش فعالیت زنجیره تنفسی میتوکندری است به‌طوری‌که تولید این مولکول‌ها به‌دلیل از دست دادن یک الکترون از مولکول‌های O₂ و OH می‌باشد و استفاده از آن‌ها در چرخه انتقال الکترونی است [۱۱]. افزایش میزان O²⁻ در سلول که به‌دنبال آن میزان H₂O₂ نیز افزایش می‌یابد، به‌طور ثانویه منجر به افزایش Ca²⁺، افزایش PH (قلیایی شدن¹³)، افزایش فعالیت پمپ Na⁺/H⁺، افزایش آنزیم ATPase و تغییر در عبور و مرور Na⁺-Ca²⁺ در سلول می‌شود [۲۱]. Pastore و همکاران و Fedoseyeva و همکاران در مطالعات جداگانه‌ای اثر لیزر He-Ne بر آنزیم Cytochrome c oxidase را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که لیزر منجر به افزایش اکسیداسیون Cytochrome c و انتقال الکترون می‌گردد [۲۱ و ۱۲]. جذب فوتون در مولکول منجر به ایجاد حالت تحریکی در سلول می‌شود و بنابراین واکنش‌های انتقال الکترون را تسریع می‌کند، انتقال بیشتر الکترون باعث افزایش تولید ATP می‌شود که آن نیز فعالیت پمپ‌های پروتونی از جمله Na⁺/H⁺ و Ca²⁺/Na⁺ را افزایش می‌دهد [۲۱ و ۱۲، ۹].

هرچند برخی محققان بسته‌شدن سطح زخم را معیار مناسبی جهت بررسی ترمیم نمی‌دانند [۲۵ و ۲۸]، اما در مطالعات زیادی تأثیر درمان لیزر بر اندازه سطح زخم مورد بررسی قرار گرفته است [۲۷، ۲۵ و ۳۰].

Bernes و همکاران نیز در نتایج مطالعه خود تسریع بسته‌شدن سطح زخم در مدل حیوانی پس از ۴ روز متوالی لیزر درمانی با لیزر He-Ne را ذکر کردند [۳۰]. Hopkins و همکاران [۲۷]، Simunovic و همکاران [۳۱]، Al Watban و همکاران [۳۲] و Bisht [۳۳] در مطالعات جداگانه‌ای که بر روی نمونه‌های انسانی انجام دادند، تسریع بسته‌شدن سطح زخم را پس از لیزر درمانی با هلیوم-نئون گزارش کردند. حسینی و همکاران [۲۸] نیز در مطالعه خود نتیجه گرفتند که دو لیزر He-Ne و Ga-As منجر به تسریع در بسته‌شدن سطح زخم در زخم تمام ضخامت موش صحرایی می‌شود.

در مطالعات مختلفی که اثر لیزر بر ترمیم زخم را بررسی کرده‌اند، کاهش طول زمان فاز التهاب پس از لیزر درمانی نسبت به گروه کنترل گزارش شده است [۲، ۳، ۴، ۷، ۱۴ و ۱۵]. این کاهش در زمان فاز التهابی می‌تواند منجر به تسریع در ورود به فازهای تکثیر سلولی و بلوغ شود که یکی از نتایج آن می‌تواند بسته‌شدن سریع‌تر سطح زخم باشد.

Pourreau-Schneider و همکاران تغییر فیبروبلاست به میوفیبروبلاست را پس از تابش لیزر He-Ne گزارش کردند. میوفیبروبلاست علاوه بر ترشح کلاژن و فاکتورهای رشد به‌طور مستقیم دارای اثر انقباضی است که منجر به انقباض زخم و بسته شدن آن می‌گردد [۴۵]. البته Moulin و همکاران اثر پروسه انقباضی در بسته‌شدن زخم را در پوست انسان کمتر از سایر پستانداران ذکر کردند [۴۶].

توجه به این نکته ضروری است که کاهش سطح زخم نمی‌تواند یک مکانیسم مستقل در تسریع پدیده ترمیم محسوب شود زیرا تغییر سطح زخم معلول حوادث مرحله التهابی و بخصوص مرحله تکثیر سلولی است. احتمالاً کوتاه شدن مرحله التهابی پس از کاربرد لیزر [۲، ۳، ۴، ۷، ۱۴ و ۱۵] است که منجر به تسریع در ورود فاز تکثیر سلولی و بلوغ می‌شود و بسته‌شدن سطح زخم می‌تواند نتیجه این وقایع باشد. البته اندازه‌گیری سطح زخم به روش‌های ساده مانند اندازه‌گیری قطر زخم یا سطح‌سنجی آن و تصویربرداری دیجیتال و محاسبه نرم‌افزاری سطح زخم، محقق را در ارزیابی اثر درمانی یاری می‌رساند بخصوص اینکه بسته‌شدن رویه زخم، محیط در حال ترمیم را از تهاجم عوامل عفونت‌زا حفظ خواهد کرد.

¹¹Near Infra Red

¹²Giant Mitochondria

¹³Alkalinization

رشد که از سلول های اندوتلیال، فیبروبلاست، Smooth muscle cell، پلاکت ها و نوتروفیل ها ترشح می شود و با تحریک اپی تلیالیزاسیون و Deposition کلاژن ها و نقش مهم آن در مهاجرت سلول های ماکروفاژ و مونوسیت به بافت مورد ترمیم، منجر به تسریع روند ترمیم می شود و از طرفی در شکل گیری بافت گرانوله از طریق رگ زایی در موضع زخم و افزایش نفوذپذیری در دیواره عروق محل زخم و آنژیوژنز نقش اساسی دارد [۱۳ و ۱۵]. فاکتورهای دیگر از جمله $^{17}BFGF$ و $^{18}TGF-\beta$ نیز منجر به تحریک گسترش عروق جدید می شود [۲۴].

نشان داده شده است که در زخم حیوانی، ایسکمی باعث افزایش بیان mRNA VEGF به میزان ۷-۵ برابر پوست غیر ایسکمیک می گردد [۲۴]. Hu و همکاران در مطالعه خود اثر لیزر کم توان He-Ne بر سلول های ملانوما متاستاتیک A2058 Line را بررسی کرد. نتایج نشان داد که میزان $^{19}IL-8$ و $^{20}TGF-\beta 1$ به دنبال تابش لیزر افزایش می یابد [۹].

Kipshidze و همکاران در سال ۲۰۰۱، با بررسی لیزر کم توان He-Ne با شدت های $3/6-1/0 J/cm^2$ در یک جلسه بر سلول های فیبروبلاست و ^{21}SMC که از عروق کرونری انسان جدا شده بود، میزان آزاد شدن VEGF را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که میزان این افزایش بسته به شدت لیزر متفاوت است. آن ها در فیبروبلاست با دانسیته انرژی $2/1 J/cm^2$ (۲۰ دقیقه) و در S.M.C با دانسیته انرژی $0/5 J/cm^2$ (۵ دقیقه) بیشترین افزایش نسبت به گروه کنترل را گزارش کردند [۱۳].

Ferreira و همکاران در سال ۲۰۰۸، اثر لیزر He-Ne را بر زخم دچار عفونت Paracoccidomyocotic مطالعه کردند. نتایج آزمایش ها نشان داد که در گروه کنترل فاکتور VEGF فقط در قسمت کوچکی از مرکز زخم دیده شد در حالی که در گروه لیزر درمانی در اطراف عروق قسمت های مختلف زخم وجود داشت. آن ها نتیجه گرفتند که لیزر درمانی منجر به درمان این عفونت و افزایش میزان VEGF و تسریع ترمیم زخم می گردد [۱۸].

Hu و همکاران در مطالعه خود اثر لیزر کم توان He-Ne بر سلول های ملانوما متاستاتیک Line A2058 را بررسی کردند و نتیجه گیری نمودند که لیزر منجر به افزایش آنزیم سیتوکروم C اکسیداز^{۱۴}، اختلاف پتانسیل غشای میتوکندری و ATP نسبت به گروه کنترل می شود [۹].

Silveira و همکاران در سال ۲۰۰۷، در مطالعه ای که بر روی ۲۰ Wistar Rat انجام دادند، نتیجه گرفتند که لیزر کم توان Ga-As باعث افزایش معنی دار میزان فعالیت کمپلکس ۲ و ۴ زنجیره تنفسی نسبت به گروه کنترل می شود، آن ها نتیجه گرفتند که لیزر کم توان Ga-As با تحریک میتوکندری، پرولیفراسیون و فعالیت های سلولی را افزایش می دهد [۴۸]. نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه Karu در سال ۱۹۹۵ که نشان داد لیزر He-Ne با افزایش فعالیت کمپلکس ۲ و ۴ زنجیره تنفسی میتوکندری، منجر به افزایش تولید ATP می شود، مطابقت داشت [۴۹]. همان گونه که اشاره شد، مدارک و شواهد بسیاری در رابطه با تأیید اثر گذاری لیزر کم توان بر روندهای میتوکندریایی در مقالات وجود دارد، نقش میتوکندری به عنوان تأمین کننده اساسی انرژی سلول در شرایط زیستی از اهمیت بالایی برخوردار است و فیزیولوژی ترمیم بدون مشارکت فعال این جزء سلولی ناممکن خواهد بود. به همین دلیل اثر تابش لیزر بر اجزاء زنجیره تنفسی در میتوکندری در برخی مطالعات مورد توجه بوده است [۲، ۹، ۱۲، ۲۱، ۴۸ و ۴۹]. هر چند هنوز در زمینه مطالعات بالینی و بررسی ارتباط فعالیت سیتوکروم ها تغییر عملکرد پمپ های یونی و افزایش ATP و رادیکال های آزاد با پدیده ترمیم و مراحل مختلف آن سؤالات زیادی وجود دارد.

۵. اثر لیزر کم توان بر پدیده رگ زایی

گسترش عروق^{۱۵} جدید قسمت ضروری ترمیم است که با ایجاد جریان خون در محل آسیب، نکرور ایسکمیک را محدود می کند و اجازه ترمیم می دهد. نئوواسکولاریزاسیون، ذخیره اکسیژن بافت، تغذیه و رشد سلول را تأمین می کند و با افزایش میزان متابولیسم، سنتز، تقسیم و مهاجرت سلولی را افزایش می دهد [۲۳]. بیات و همکاران به افزایش متوسط عروق خونی بافت ترمیم یافته زخم سوختگی درجه سه که با لیزر هلیوم-نئون درمان شده بود، اشاره کردند [۲۲]. گسترش عروق جدید به دنبال افزایش فاکتورهای عروقی بخصوص VEGF و FGF پس از تابش لیزر کم توان اتفاق می افتد [۲۳ و ۵۰]. $^{16}VEGF$ به عنوان یکی از فاکتورهای

¹⁷Basic Fibroblast Growth Factor

¹⁸Transforming Growth Factor β

¹⁹Interleukin 8: یکی از فاکتورهای رشد اتوکراین در میتوکندری است

که اثر آن در افزایش رشد سلول های تومور گزارش شده است.

²⁰Transforming Growth Factor β

²¹Smooth Muscle Cell

¹⁴ یکی از آنزیم های مهم آخرین مرحله زنجیره تنفسی در میتوکندری

¹⁵Angiogenesis factor

¹⁶Vascular Endothelial Growth Factor

می‌دهد [۲۱]. علی‌رغم شناخت پدیده پتانسیل آسیب، مطالعات بسیار محدودی در ارتباط با اثر میدان‌های الکتریکی و الکترومغناطیسی بر این پتانسیل طبیعی انجام شده است. اندازه‌گیری پتانسیل بافت بخصوص اگر به‌صورت سطحی و غیر جراحی باشد، می‌تواند انعکاس‌دهنده حوادث سلول و بافت در حال ترمیم باشد، زیرا هرگونه تغییر پتانسیل در فضای زخم، ویژگی‌های هادی حجمی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که این در سطح زخم قابل ثبت خواهد بود. بدیهی است که رسیدن پتانسیل مثبت آسیب (پس از جراحی ایجاد شده) به میزان پایه بافت سالم، متغیر مناسبی برای پیش‌بینی ترمیم خواهد بود.

نتیجه گیری

هدف از این نوشتار بیان مکانیسم‌های مطرح‌شده در زمینه اثربخشی لیزرهای کم‌توان در ترمیم زخم بوده است. اینکه لیزر در تسریع زخم مؤثر است، در کتب علمی با استناد به مطالعات انجام شده، آمده است. اما برای تعیین مکانیسم‌های دقیق لیزر در پدیده ترمیم که ناشی از تعامل این پرتوها با بافت است و کاربرد هدفمند این مودالیتی در حیطه بالینی، باید مطالعات دقیق آزمایشگاهی به‌صورت میان‌رشته‌ای طراحی شود تا اثر فیزیکی-شیمیایی لیزر بر عملکرد سلولی و اجزای آن در پدیده ترمیم به‌صورت همزمان بررسی گردد. بدیهی است خلأ موجود در این مطالعات است که تعریف ویژگی‌های بهینه درمانی را برای متخصصان بالینی دشوار نموده است.

همانگونه که Kami و همکاران [۳] در مطالعه خود در رابطه با لیزر کم‌توان درمانی به اثر کاهندگی واکنش‌های التهابی و به‌دنبال آن افزایش آنژیوژنز اشاره نموده‌اند، شاید بتوان گفت بدین طریق ممکن است لیزر کم‌توان جریان خون ناحیه را افزایش دهد و روند ترمیم تسریع شود [۳].

۶. اثر لیزر بر پتانسیل غشاء سلول

در رابطه با مکانیسم اثر لیزر بر بافت، اشاره شده است که جذب فوتون‌ها در سلول منجر به افزایش فعالیت زنجیره تنفسی در میتوکندری می‌گردد که نتیجه آن افزایش ATP سلول است و به‌دنبال آن فعالیت پمپ‌های انتقال یونی فعال (با مصرف انرژی) از جمله Na^+/H^+ ، $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ و Na^+/K^+ افزایش می‌یابد [۲۱]. حسینی و همکاران نشان‌دادند که هر دو لیزر Ga-As و He-Ne منجر به تغییرات روند پتانسیل آسیب می‌گردد و در نهایت سبب تسریع در رسیدن پتانسیل آسیب به پتانسیل پایه می‌شود [۲۶]. چنین مطالعاتی ممکن است بتواند با این نظریه که به‌دنبال تابش لیزر، میزان آزاد شدن Ca^{2+} از میتوکندری به سیتوپلاسم افزایش می‌یابد، همسو باشد [۲۶].

تابش لیزر پرتوان مقدار Ca^{2+} سیتوپلاسم را افزایش می‌دهد به‌طوری‌که منجر به افزایش فشار اسمزی سیتوپلاسم می‌شود که در ادامه، سلول آب زیادی جذب می‌کند و منفجر می‌شود، لذا بدین طریق لیزر پرتوان منجر به تخریب سلولی می‌گردد. اشاره شده است که این روند با شدت کمتر در بافت به‌دنبال تابش لیزر کم‌توان روی می‌دهد و این افزایش میزان Ca^{2+} داخل سلولی منجر به افزایش میتوز و پرولیفراسیون سلولی می‌گردد [۲۵ و ۲۶] که در ادامه میزان ATP سلول افزایش می‌یابد و پمپ‌های انتقال یونی فعال، فعال می‌شوند و تغییرات در پتانسیل غشاء روی

References

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. Al-Watban FAH, Zhang XY. Comparison of Wound Healing Process Using Argon and Krypton Lasers. *Clinical Laser Med & Surg*. 1997, 15(5): 209-15.
5. Hutschenreiter KJG, Waidelich HD. Effect of Low—Power Density Laser Radiation on Healing of Open Skin Wounds in Rats. *Arch Surg*. 1981; 116(3): 293-6.
6. Pereira AN, Eduardo CDP, Matsone E, Marques MM. Effect of low _ power laser irradiation on cell growth & procollagen

- synthesis of cultured fibroblast. *Laser Surg & Med* 2002; 31: 263-7.
7. 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).
 8. Jeffrey R. Low energy laser therapy: Controverses and new research finding. *Laser Surg Med* 1989(9); 1: 1-5.
 9. Hu W, Wang J, Yu C, Lan CE, Chen G, Yu H. Helium-Neon laser irradiation Stimulates Cell Proliferation through Photostimulatory effects in mitochondria, *Journal of Investigative Dermatology* 2007; 127: 2048-57.
 10. Ito Y. Effect of laser irradiation on PGE2 and IL-1 β production in cultured Rheumatoid Synoval cell. *St Marianna Med J* 1990; 18: 643-5.
 11. Forman HJ, Boveris A. Superoxide radicals and Hydrogen peroxide in Mitochondria. A pryor (Ed.), *Free radicals in Biology*, Academic press, New York 1982; 5: 65-90.
 12. Pastore D, Greco M, Pssarella S. Specific helium-neon laser sensitivity of purified cytochrome c oxidase, *Int J Radiat Biol* 2000; 76: 863-70.
 13. Kipshidz N, Nikolaychic V, Keelan MH, Shankar LR, Khanna A, Kornowski R. Low power helium-neon laser irradiation enhances production of vascular endothelial growth factor & promotes growth of endothelial cells in vitro. *Laser in Surgery & Medicine* 2001; 28: 355-64.
 14. Schindle A, Heinz 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.
 15. 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.
 16. Bayat M, GolMohammadi MGH, Rezaei FAS. Effects of low-power gallium aluminium arsenide laser irradiation on the mast cells of skin wounds in rats. *Iranian J of derma*: 2006; 8(6 (34)): 475-81.
 17. Cumming J, Kloth LC, McCulloch JM, Feedar J. Role of light in wound healing. Wound healing: alternative in management. Philadelphia: FA Davis Co; 1990. 278-94.
 18. Ferreira MC, Gameiro J, Nagib PR, Bitro VN, Vasconcellos ED, Verinaud L. Effect of Low Intensity Helium-Neon(He-Ne) Laser Irradiation on Experimental Paracoccidioidomycotic wound healing dynamic. *Photochem Photo Boil* 2008.
 19. Bakeeva LE, Manteifel VM, Rodichev EB, Karu TI. Formation of giant mitochondria in human lymphocytes after He-Ne laser irradiation. *Molec. Biol(Moscow)* 1993; 27: 608-17.
 20. Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol* 1999; 49: 1-17.
 21. Hamblin MR, Deidova TN. Mechanism of Low Level Light Therapy, *SPIE* 2006; 6140.
 22. Bayat M, Vasheghani MM, Razavi N. LLLT has antibacterial and angiogenic properties in burns. *J Photochem Photobiol B*. 2006.
 23. 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.
 24. Zhang F, Lei MP, Oswald TM, Pang Y, Blain B, Cai Z.W. The effect of vascular endothelial growth factor on the healing of ischemic skin wounds. *The British Association of Plastic Surgeons* 2003; 56: 334-41.
 25. Hawkins D, Abrahamse H. Laboratory methods for evaluating the effect of low level laser therapy(LLLTL) in wound healing. *African journal of biomedical research* 2005; 8: 1-14.
 26. Hoseini Sanati M, Torkaman G, Hedayati M, Mokhtari. Effect of Ga-As (904nm) and He-Ne (632.8 nm) laser on injury potential of skin full-thickness wound. *J PHOTOCH PHOTOBIO B*; 103(2): 180-5.
 27. 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.
 28. Hoseini Sanati M, Torkaman G, Hedayati M, Mokhtari M. Effect of Ga-As (904nm) and He-Ne (632.8nm) laser on the improvement of biomechanical characteristics recovery in full thickness wound. *Lasers in Med* 2010; 7(1).
 29. 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. *Cell Proliferati on* 2007; 40: 38-49.
30. 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.
 31. 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.
 32. Al-Watban F, Bernard LA. Therapeutic photons in wound healing. *Global healthcare* 2002: 1-10.
 33. Bisht D, Gupta SC, Misra V. Effect of low intensity laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Indian J Mec Res.* 1994; 100: 43-6.
 34. Duraine G, Neu CP, Chan SM, Komovopoulos K, Jun RK, Redd AH. Regulation of the friction coefficient of articular cartilage by TGF-beta1 and IL-1beta. *J Orthop Res.* 2009; 27(2): 249-56.
 35. Anneroth G, Hall G, Ryden H, Zetterqvist L. The effect of Low-energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1988; 26(1): 12-7.
 36. Petersen SL, Botes C, Olivier A, Guthrie AJ. The effect of low level laser therapy on wound healing in horses. *Equine Vet J.* 1999; 31(3): 228-31.
 37. In de Braekt MM, van Alphen FA, Kuijpers-Jagtman AM, Maltha JC. Effect of low level laser therapy on wound healing after palatal surgery in beagle dogs. *Lasers Surg Med.* 1991; 11(5): 462-70.
 38. Reddy GK. Comparson 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.
 39. Pugliese LS, Medrado AP, Reis SRA, Andrade ZA. The influence of low level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. *Pesqui Odontol Bras.* 2003; 17(4): 307-13.
 40. Bayat M, Azari A, Golmohammadi MG. Effects of 780-nm Low-Level Laser Therapy with a Pulsed Gallium Aluminum Arsenide Laser on the Healing of a Surgically Induced Open Skin Wound of Rat. *Photomed and Laser Surg.* 2010; 28(4): 465-70.
 41. Stadler I, Lanzafame RJ, Evans R, Narayan V, Dailey B, Buehner N, Naim JO. 830-nm irradiation increases the wound tensile strength in a diabetic murine model. *Lasers Surg Med.* 2001; 28(3): 220-6.
 42. 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.
 43. 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.
 44. Ilkeuchi S, Ohsaka F, Asanami A, Nomoto T. Effects of low power He-Ne laser on the healing of full-thickness skin defects. *Laser Dent* 1989; 2; 85-9.
 45. Poureau-Schneider N, Ahmed A, Soudry M. Helium-neon laser treatment transforms fibroblasts into myofibroblast. *Am J Pathol* 1990; 137: 171-8.
 46. Moulin V, Auger F A, Garrel D, Germain L. Role of wound healing myofibroblasts on re-epithelialization of human skin. *Burns* 2000; 26: 2-12.
 47. Karu T. Photobiology of low-power laser effects. *Health Phys* 1989; 56: 691-704.
 48. Silveira P, Streck E, Pinho R. Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in wound healing by low level laser therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 2007; 86: 279-82.
 49. Karu T. Interaction of monochromatic visible light and near infrared radiation with cells: currently discussed mechanisms. *SPIE Proc* ; 1995: 387-412.
 50. Hoseini Sanati M, Torkaman G, Hedayati M. The effect of low level laser therapy with 632.8 nm (He-Ne) and 904 nm (Ga-As) on injury potential, releasing of vascular endothelial growth factor and tensile strength in full thickness wounded rat skin. *Trabiati modares university, Thesis for the Degree of Master of Sciences in Physiotherapy.* 2010.