

پلاسمای غیر حرارتی به عنوان یک رویکرد درمانی جدید در ترمیم زخم

خلاصه

مقدمه: افراد زیادی در سراسر جهان از زخم‌های مزمن رنج می‌برند که از جمله علل اصلی ایجاد آن‌ها می‌توان به دیابت، چاقی، زخم‌های وریدی و آسیب‌های نخاعی اشاره داشت. زخم فشاری یکی از مشکلات رایج بیماران با صدمات نخاعی، افراد مسن و بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه به‌شمار می‌رود. در این مطالعه اثرهای پلاسمای سرد بر فرآیند ترمیم زخم فشاری مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: در این مطالعه به‌منظور تولید پلاسمای غیرحرارتی گاز هلیوم تحت اعمال یک ولتاژ بالا (۵ kV) و فرکانس (۲۵ kHz) قرار داده شد و سپس توان و دمای بهینه از طریق مشخصه‌یابی پلاسمای تعیین گردید. برای ایجاد زخم فشاری، پوست حیوان به مدت ۸ ساعت بین دو مگنت با قطر ۱۰ و ضخامت ۵ میلی‌متر قرار گرفت. زخم‌ها به‌صورت تصادفی در دو گروه کنترل و درمان با پلاسمای مورد مطالعه قرار گرفتند. در گروه درمان با پلاسمای، زخم‌ها به مدت ۵ روز، روزانه ۳ بار و هر بار به مدت ۶۰ ثانیه تحت تابش پلاسمای قرار گرفتند. در روزهای ۷ و ۲۱ پس از ایجاد زخم، از زخم‌ها نمونه‌برداری و آزمون بیومکانیکی از نوع کشش‌پذیری روی آن‌ها انجام شد. فرآیند بهبود زخم نیز با اندازه‌گیری مساحت سطح زخم در روزهای مختلف دوره درمان مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: بررسی تغییرات سطح زخم نشان داد که پلاسمای به‌صورت معنی‌دار منجر به تسریع بسته شدن سطح زخم می‌شود. علاوه‌براین شواهد مطالعات بیومکانیکی در مقایسه با گروه کنترل، بیانگر تأثیر پلاسمای در افزایش قدرت مکانیکی و مقاومت بافت ترمیم‌یافته در برابر پارگی می‌باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر در توافق با تحقیقات پیشین نشان داد که پلاسمای سرد با افزایش میزان انقباض زخم و قدرت مکانیکی بافت در تسریع فرآیند بهبود زخم اثرهای مثبتی خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: ترمیم زخم، زخم فشاری، پلاسمای سرد، کشش‌پذیری

مائده چترایی^۱
محمد رضا خانی^۲
گیتی ترکمان^۳
بابک شکری^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، مهندسی پلاسمای، پژوهشکده لیزر و پلاسمای، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
۲. استادیار، پژوهشکده لیزر و پلاسمای، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
۳. استاد، گروه فیزیوتراپی دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۴. استاد، گروه فیزیک و پژوهشکده لیزر و پلاسمای، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

نویسنده مسئول: بابک شکری، تلفن: ۰۹۱۳۵۵۳۹۸۶۲
پست الکترونیک: b-shokri@sbu.ac.ir

مقدمه

گرم مثبت و منفی، قارچ‌ها، ویروس‌ها و ارگانسیم‌ها یا پاتوژن‌های بیگانه، ضد عفونی و استریلیزاسیون مناسب بافت زنده امکان‌پذیر است. یکی از مزایای شکل گازی پلاسما امکان نفوذ آن در سطوح ناهمگن و حفره‌های کوچک‌تر از ابعاد میکرومتر است که استفاده از تکنیک‌های سنتی شیمیایی و سیالات در این زمینه با شکست مواجه می‌شود. مزیت دیگر پلاسما قابلیت استفاده بدون تماس، بدون درد، ایمن و غیرتهاجمی است که دارورسانی در سطوح مولکولی را امکان‌پذیر می‌سازد [۲۰].

جدا از اثرات ضد عفونی‌کننده پلاسما، وجود رادیکال نیتریک اکسید به‌عنوان گونه‌ای که فرآیندهای بسیاری را در فیزیولوژی پوست انسان تنظیم می‌کند، یک مؤلفه مهم و ارزشمند در اثربخشی پلاسما در درمان انواع بیماری‌های پوستی و زخم‌ها محسوب می‌شود [۲۱]. همچنین پلاسما دارای خاصیت ضد التهابی، ضد خارش و میکروب‌کشی است و از این‌رو برای کاربردهای پوستی در ترمیم زخم یا درمان بیماری‌های التهابی پوستی همچون اگزما، پسوریازیس و آکنه ایدئال و مناسب خواهد بود [۲۲ و ۲۳]. مطالعات بیشتر نشان داده‌است که پلاسما سرد با تغییر بیان ژن مولکول‌های کلیدی در ترمیم زخم، دارای پتانسیل ارتقاء ترمیم زخم است [۲۴].

روش بررسی

در این مطالعه از ۲۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار دارای وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم که همگی تحت شرایط استاندارد (دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و دسترسی آسان به آب و غذا) نگهداری می‌شدند، استفاده شده است که به‌طور تصادفی در سه گروه نرمال، کنترل و درمان با پلاسما قرار گرفتند. پس از بیهوشی موش‌ها، برای ایجاد زخم فشاری با تزریق داخل صفاقی داروی بیهوشی ترکیبی کتامین (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) موی پشت آن‌ها تراشیده شد و سطح پوست با اتانول ۷۰ درصد ضد عفونی گردید سپس مطابق شکل ۱ پوست به آرامی بین دو مگنت نئودیم با قطر ۱۰ و ضخامت ۵ میلی‌متر قرار گرفت.



شکل ۱: نحوه قرار دادن مگنت روی پوست حیوان به‌منظور ایجاد زخم

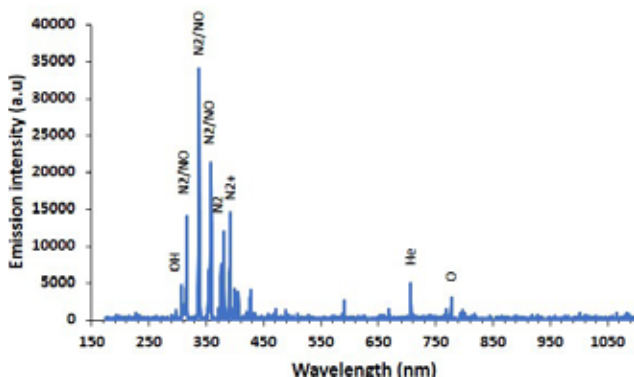
یکی از معضلات مهم پزشکی و بخصوص توان‌بخشی، زخم بستر یا زخم فشاری می‌باشد که اقدام سریع و به‌موقع را می‌طلبد زیرا سطح و عمق زخم به تدریج وسیع می‌گردد و احتمال عفونی شدن می‌باشد که این موضوع نیز بهبود را به تعویق می‌اندازد. زخم فشاری یا زخم بستر در اثر اعمال فشاری بیش از فشار طبیعی مویرگ‌ها (۳۲ میلی‌متر جیوه) به مدت طولانی بر سطح پوست ایجاد می‌شود و می‌تواند پوست، عضله، بافت نرم، غضروف و استخوان را درگیر کند [۱]. علاوه بر فشار، وجود عواملی همچون اصطکاک، نیروهای برشی و رطوبت ایجاد زخم فشاری را تسریع می‌کنند [۴ و ۲۰]. اغلب افراد مسن، افراد مبتلا به فلج یا نقص‌ها و آسیب‌های نخاعی و یا بیماران بخش اعصاب و جراحی اعصاب در معرض خطر ابتلا به این نوع زخم می‌باشند [۵، ۶ و ۱]. از جمله عوارض زخم‌های فشاری می‌توان به ایجاد عفونت و مرگ بیمار ناشی از ورود عفونت به خون اشاره داشت که این عفونت‌ها معمولاً به‌سختی به آنتی‌بیوتیک پاسخ می‌دهند. سالانه بیش از ۲/۵ میلیون بیمار در آمریکا نیازمند درمان و مراقبت‌های ویژه زخم فشاری هستند و حدود ۸/۵ میلیارد دلار هزینه درمان این زخم‌ها می‌شود [۷].

عواقب حاصل از زخم‌های فشاری که گریبانگیر بیماران می‌شود و هزینه درمان مربوط به آن‌ها، تلاش گسترده در جهت کاهش این مشکل را توجیه می‌کند. لذا نیاز به روش‌ها و نظریه‌های جدید به‌منظور بهبود ترمیم زخم در شرایط مختلف حس می‌شود. در حال حاضر مطالعات بسیاری بیانگر نقش مؤثر پلاسما در تسریع ترمیم زخم‌های مزمن بوده است [۸-۱۷]، از این‌رو در این مطالعه بر آن شدیم که به‌عنوان یک روش درمانی نوین و ایمن، تأثیر پلاسما سرد هلیوم بر درمان زخم فشاری ایجاد شده در نمونه حیوانی را مورد بررسی قرار دهیم.

در علم فیزیک "پلاسما" به حالت چهارم ماده پس از جامد، مایع و گاز اشاره دارد. اروین لانگمور در سال ۱۹۲۸ نخستین کسی بود که گاز یونیزه را "پلاسما" نامید. هدف او از این نام‌گذاری تأکید بر این مسئله بود که ویژگی‌های مایعات یونی موجود در زیست‌شناسی و پزشکی همانند مشخصات پلاسما در علم فیزیک است [۱۸]. پلاسما در بردارنده مجموعه پیچیده‌ای از الکترون‌ها، یون‌های مثبت و منفی، اتم‌ها و مولکول‌های باردار و خنثی، تابش‌های فرابنفش و گرمایی، میدان‌های الکترومغناطیس و رادیکال‌های آزاد و ... است و معمولاً به‌واسطه دما، میدان‌های الکتریکی و انواع مختلف تابش‌های موجود در آن مشخصه‌یابی می‌شود. هنگامی که همه این مؤلفه‌ها هم‌زمان به‌طور مستقیم بر روی بافت یا سلول اعمال شوند، بدون ایجاد آسیب حرارتی یا اثر تخریبی بر روی بافت یا سلول زنده، عملکردهای بیولوژیکی را تحت تأثیر قرار داده و خواص فیزیکی و شیمیایی آن‌ها را تغییر می‌دهند [۱۹]. پلاسماهای غیرحرارتی اثر ناچیزی بر بافت‌های سالم اطراف دارند با این حال از طریق غیرفعال‌سازی باکتری‌های

یافته‌ها

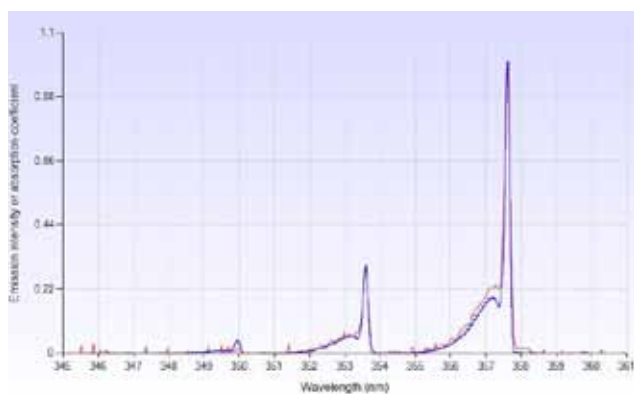
طیف‌سنجی نور گسیلی در ولتاژ ۵ kv و فاصله ۱۰ میلی‌متر از نازل جت پلازما ثبت گردید که در شکل ۳ قابل مشاهده است. نتایج طیف‌سنجی نشان می‌دهد که جت پلاسمای مورد نظر حاوی عناصر فعالی مانند O , OH , NO , N_2 , N_2^+ و ... می‌باشد. وجود چنین عناصر فعالی منجر به خواص مؤثر پلازما در ترمیم و ضد عفونی کردن محل زخم می‌شود.



شکل ۳: طیف‌سنجی نور گسیلی پلاسمای هلیوم

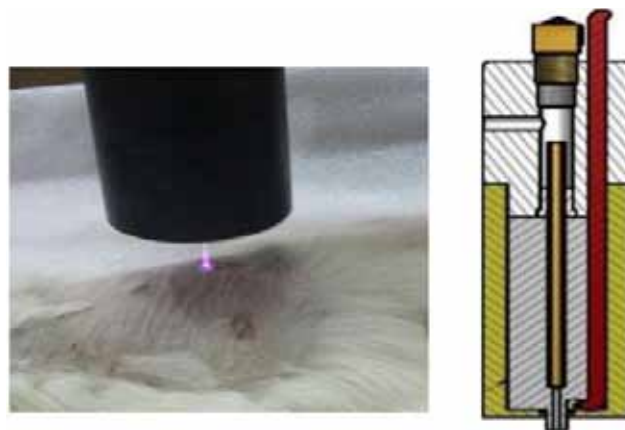
مقایسه طیف تجربی پلازما با طیف شبیه‌سازی‌شده توسط نرم‌افزار Specair در شکل ۴ نشان داده شده است. با توجه به شکل می‌توان مشاهده کرد که قله‌های دو طیف با تقریب نسبتاً خوبی با یکدیگر همپوشانی دارند و می‌توان مشخصات آن‌ها را یکسان در نظر گرفت. به‌عبارت‌دیگر دمای دورانی پلازما ۳۰۰ کلوین و دمای ارتعاشی ۳۹۰۰ کلوین خواهد بود که این امر تصدیق‌کننده این ادعاست که پلاسمای مورد نظر یک پلاسمای سرد می‌باشد و از نظر دمایی در حدود دمای اتاق ($T=300K$) است.

تصاویر ثبت‌شده از سطح زخم در روزهای مختلف در دو گروه کنترل و پلازما در شکل ۵ قابل مشاهده است. مقایسه تغییرات ظاهری سطح



شکل ۴: مقایسه طیف تجربی پلازما با طیف شبیه‌سازی‌شده توسط نرم‌افزار

در این مطالعه از پلاسمای فشار اتمسفری غیرحرارتی هلیوم تولیدشده در ولتاژ متناوب ۵ کیلوولت و فرکانس ۲۵ کیلوهرتز استفاده شد. تصویری از ساختار و پیکربندی دستگاه مورد استفاده در شکل ۲ قابل مشاهده است. ساختار اصلی پلازما جت متشکل از یک لوله مسی به‌عنوان الکترود مرکزی (آند) و یک واشر مسی به‌عنوان کاتد است که این دو الکترود به‌وسیله یک استوانه دی‌الکتریک از یکدیگر جدا شده‌اند. زمانی که گاز هلیوم در داخل لوله مسی جریان می‌یابد و منبع تغذیه ولتاژ بالا روشن می‌شود، در اثر ایجاد تخلیه الکتریکی یک پلاسمای سرد با دمایی نزدیک به دمای اتاق در هوای احاطه‌کننده دستگاه تشکیل می‌شود.



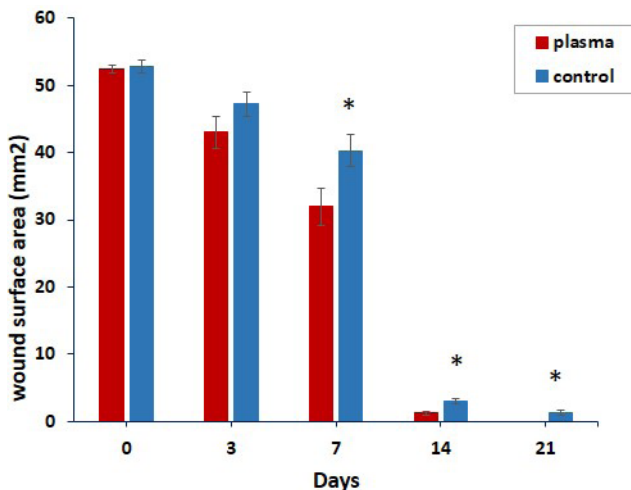
(ب)

(الف)

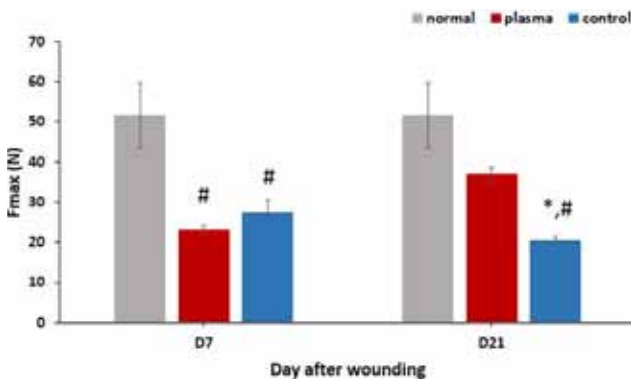
شکل ۲: (الف) شماتیک ساختار پلازما جت و (ب) تابش پلازما بر سطح زخم

به‌منظور مشخصه‌یابی پلاسمای تولید شده؛ از طیف‌سنجی نور گسیلی برای شناسایی گونه‌های فعال و همچنین محاسبه دمای گاز پلازما به‌طور تقریبی با کمک نرم‌افزار Specair و مقایسه طیف تجربی با طیف شبیه‌سازی‌شده استفاده شد. پس از به‌دست‌آوردن حالت بهینه، درمان با پلازما به‌مدت ۵ روز، روزانه ۳ بار و هر بار به‌مدت ۶۰ ثانیه انجام شد. در روزهای ۷ و ۲۱ پس از ایجاد زخم، از زخم‌ها نمونه‌برداری و آزمون بیومکانیکی از نوع کشش‌پذیری روی آن‌ها انجام شد. به‌منظور بررسی تغییرات مساحت سطح زخم نیز در روزهای مختلف طی دوره درمان از سطح زخم عکس‌برداری و مساحت سطح زخم با استفاده از نرم‌افزار پردازش تصویر [image محاسبه شد.

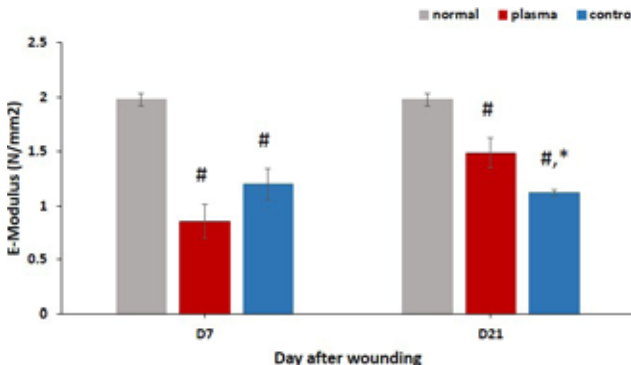
در پایان اطلاعات جمع‌آوری‌شده در مراحل مختلف به کمک نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) با تست تک‌میلی Tukey و همچنین آنالیز independent T-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و سطح معنی‌داری در کلیه تست‌ها $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.



نمودار ۱: مساحت سطح زخم در روزهای مختلف طی دوره بهبود در گروه‌های کنترل و درمان. علامت * نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه پلاسما می‌باشد ($p < 0.05$).



نمودار ۲: مقایسه حداکثر نیروی قابل تحمل برای بافت در روزهای ۷ و ۲۱ پس از ایجاد زخم بین گروه‌های مورد مطالعه. علامت * نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه پلاسما و علامت # نشان‌دهنده اختلاف با گروه نرمال می‌باشد ($p < 0.05$).



نمودار ۳: مقایسه سفتی ارتجاعی در روزهای ۷ و ۲۱ پس از ایجاد زخم بین گروه‌های مورد مطالعه. علامت * نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه پلاسما و علامت # نشان‌دهنده اختلاف با گروه نرمال می‌باشد ($p < 0.05$).

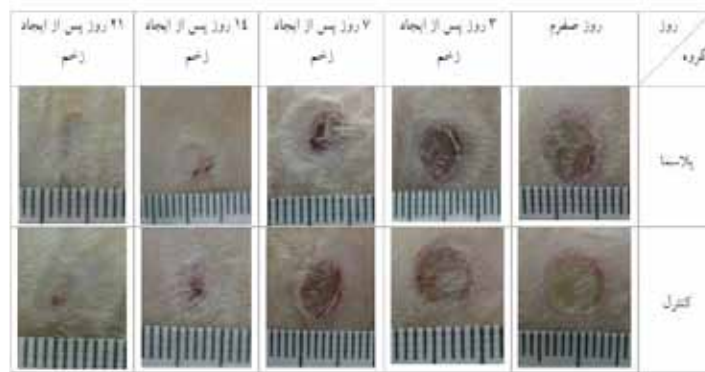
زخم در دو گروه بیانگر تسریع بسته‌شدن زخم در گروه پلاسما می‌باشد و بنابراین نتیجه می‌شود که روش درمانی پلاسما منجر به تسریع فرآیند ترمیم و بسته شدن زخم می‌شود که این امر در مطالعات بالینی می‌تواند ارزش درمانی داشته باشد.

در نمودار ۱ روند تغییرات مساحت سطح زخم (برحسب میلی‌متر مربع) در روزهای مختلف طی دوره بهبود در دو گروه کنترل و درمان با پلاسما نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که علیرغم یکسان بودن (عدم وجود تفاوت معنی‌دار) سطح زخم در روز صفر، در تمام روزهای مورد مطالعه سطح زخم در گروه درمان با پلاسما کمتر از گروه کنترل بوده و روند کاهش سطح زخم با سرعت بیشتری طی شده است. در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از ایجاد زخم، از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار بین دو گروه مشاهده شد ($p < 0.05$).

به منظور بررسی روند ترمیم زخم‌های پوستی، پارامترهای مکانیکی بافت حداکثر نیروی تحمل شده توسط بافت و میزان سفتی ارتجاعی بافت که نشان‌دهنده میزان استحکام و مقاومت کششی بافت ترمیم‌یافته هستند، بررسی و تحلیل شد که نتایج حاصل به ترتیب در نمودارهای ۲ و ۳ ارائه شده است.

در اثر ایجاد زخم و آسیب دیدن بافت‌های پوستی، میزان تحمل کشسانی پوست به شدت کاهش می‌یابد ولی برای نمونه‌های تحت تیمار با پرتوی پلاسما نتایج نشان می‌دهد که توانایی تحمل کشسانی پوست به میزان قابل توجهی بازیابی می‌شود به گونه‌ای که در روز ۲۱ پس از ایجاد زخم هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه درمان با پلاسما و نرمال مشاهده نشد.

مدول الاستیسیته یا همان مدول یانگ بیانگر میزان سفتی ارتجاعی بافت پوست و یکی از پارامترهای مهم در ارزیابی روند التیام زخم محسوب می‌شود. در اثر ایجاد زخم، سفتی ارتجاعی بافت نسبت به پوست سالم کاهش می‌یابد و به عبارتی بافت شل می‌شود. همان‌گونه که از نتایج مشاهده می‌شود، در روز ۲۱ پس از ایجاد زخم، میانگین سفتی ارتجاعی در گروه پلاسما به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل است.



شکل ۵: تغییرات ظاهری سطح زخم در روزهای مختلف طی دوره درمان در دو گروه

نتیجه‌گیری

توسعه پالس‌های فوق سریع لیزری ما را قادر به استفاده از اندرکنش به‌طور کلی از این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که درمان با پلاسمای هلیوم موجب تسریع معنی‌دار فرآیند التیام زخم فشاری می‌شود که با مطالعات قبلی انجام‌شده با تکنولوژی‌های پلاسمایی مختلف مطابقت دارد. به‌نحوی که این تیمار موجب افزایش استحکام و قدرت مکانیکی زخم‌های فشاری و همچنین تسریع فرآیند ترمیم و بسته‌شدن زخم می‌شود که این امر در مطالعات بالینی می‌تواند ارزش درمانی داشته باشد.

References:

1. Moore Z EH, Cowman S. Wound cleansing for pressure ulcers. *Cochrane Libr.*, 2013.
2. Swisher SL. Impedance sensing device enables early detection of pressure ulcers in vivo. *Nat. Commun.* 2015; 6: 6575.
3. T. Edition, *Principles of Surgery*.
4. Ayello EA, Lyder CH. A new era of pressure ulcer accountability in acute care. *Adv Ski. Wound Care*, 2008; 21(3): 132–4.
5. Strong AL. Adipose Stromal Cells Repair Pressure Ulcers in Both Young and Elderly Mice: Potential Role of Adipogenesis in Skin Repair. *Stem Cells Transl. Med.*, 2015; 4(6): 632.
6. Salcido S. Animal Models in Pressure Ulcer Research. *Animal Models in Pressure Ulcer Research*. no. February 2007, 2016.
7. Karimian M. Prevalence of Bedsore in Iran: A Systematic Review and Meta-analysis. 2016; 26(136): 202–10.
8. Nastuta AV, Topala I, Grigoras C, Pohoata V, Popa G. Stimulation of wound healing by helium atmospheric pressure plasma treatment. *J. Phys. D. Appl. Phys.*, 2011; 44(10): 105204.
9. Emmert S. Atmospheric pressure plasma in dermatology: Ulcus treatment and much more. *Clin. Plasma Med.*, 2013; 1(1): 24–9.
10. García-Alcantara E. Accelerated mice skin acute wound healing in vivo by combined treatment of argon and helium plasma needle. *Arch. Med. Res.*, 2013; 44(3): 169–77.
11. Haertel B, Woedtke T von, Weltmann KD, Lindequist U. Non-thermal atmospheric-pressure plasma possible application in wound healing. *Biomol. Ther. (Seoul)*, 2014; 22, (6): 477.

12. Schmidt A, Bekeschus S, Wende K, Vollmar B, Woedtke T von. A cold plasma jet accelerates wound healing in a murine model of full-thickness skin wounds. *Exp. Dermatol.*, 2016; 49.
13. Jo H, Jun HW, Shin J, Lee SH. Therapeutic Uses of Atmospheric Pressure Plasma: Cancer and Wound. *Biomed. Eng. Front. Res. Converging Technol.*, 2015; 9: 1–511.
14. Isbary G. Successful and safe use of 2 min cold atmospheric argon plasma in chronic wounds: Results of a randomized controlled trial. *Br. J. Dermatol.*, 2012; 167(2): 404–10.
15. Nakajima Y. Cold plasma on full-thickness cutaneous wound accelerates healing through promoting inflammation, re-epithelialization and wound contraction. *Clin. Plasma Med.*, 2014; 2(1): 28–35.
16. Jacofsky MC. Spatially resolved optical emission spectroscopy of a helium plasma jet and its effects on wound healing rate in a diabetic murine model. *Plasma Med.*, 2014; 4(1–4).
17. Nakajima Y. A simple technique to improve contractile effect of cold plasma jet on acute mouse wound by dropping water. *Plasma Process. Polym.*, 2015; 12(10): 1128–38.
18. Fridman G, Friedman G, Gutsol A, Shekhter AB, Vasilets VN, Fridman A. Applied plasma medicine. *Plasma Process. Polym.*, 2008; 5(6): 503–33.
19. Suschek CV, Opländer C. The application of cold atmospheric plasma in medicine: The potential role of nitric oxide in plasma-induced effects. *Clinical Plasma Medicine*, 2016; 4(1)Elsevier: 1–8.
20. Heinlin J. Plasma applications in medicine with a special focus on dermatology. *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol.*, 2011; 25(1): 1–11.
21. Hoffmanns MA. Acidification and nitrite/nitrate accumulation by non-thermal dielectric barrier discharge (DBD)affect human dermal fibroblasts. 2015; 5(2): 1–19.
22. Tiede R, Hirschberg J, Daeschlein G, Woedtke T von, Vioel W, Emmert S. Plasma Applications: A Dermatological View. *Contrib. to Plasma Phys.*, 2014; 54(2): 118–30.
23. Chutsirimongkol C, Boonyawan D, Polnikorn N, Techawatthanawisan W, Kundilokchai T. Non-thermal plasma for acne treatment and aesthetic skin improvement. *Plasma Med.*, 2014; 4(1–4): 79–88.
24. Arndt S. Cold atmospheric plasma (CAP) changes gene expression of key molecules of the wound healing machinery and improves wound healing in vitro and in vivo. *PLoS One*, 2013; 8(11): e79325.