

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 به منظور 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 پلاسما 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 به صورت تصادفی در دو گروه کنترل و درمان با پلاسما مورد مطالعه قرار گرفتند. در گروه درمان با پلاسما، زخم‌ها به مدت ۵ روز، روزانه ۳ بار و هر بار به مدت ۶۰ ثانیه تحت تابش پلاسما 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 پلاسما به صورت معنی‌دار منجر به تسریع بسته شدن سطح زخم می‌شود. علاوه بر این شواهد مطالعات بیومکانیکی در مقایسه با گروه کنترل، بیانگر تأثیر پلاسما 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

مائه‌چترایی^۱
محمدرضا خانی^۲
گیتی ترکمان^۳
بابک شکری^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، مهندسی پلاسما، پژوهشکده لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۲. استادیار، پژوهشکده لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۳. استاد، گروه فیزیوتراپی دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۴. استاد، گروه فیزیک و پژوهشکده لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

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

مقدمه

یکی از معضلات مهم پزشکی و بخصوص توان بخشی، زخم بستر یا زخم فشاری می باشد که اقدام سریع و به موقع را می طلبد زیرا سطح و عمق زخم به تدریج وسیع می گردد و احتمال عفونی شدن می باشد که این موضوع نیز بهبود را به تعویق می اندازد. زخم فشاری یا زخم بستر در اثر اعمال فشاری بیش از فشار طبیعی مویرگ ها (۳۲ میلی متر جیوه) به مدت طولانی بر سطح پوست ایجاد می شود و می تواند 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 می کنند [۲، ۳ و ۴]. اغلب افراد مسن، افراد مبتلا به فلج یا نقص ها و آسیب های نخاعی و یا بیماران بخش اعصاب و جراحی اعصاب در معرض خطر ابتلا به این نوع زخم می باشند [۵، ۶ و ۷]. از جمله عوارض زخم های فشاری می توان به ایجاد عفونت و مرگ بیمار ناشی از ورود عفونت به خون اشاره داشت که این عفونت ها معمولاً به سختی به آنتی بیوتیک پاسخ می دهند. سالانه بیش از ۲/۵ میلیون بیمار در آمریکا نیازمند درمان و مراقبت های ویژه زخم فشاری هستند و حدود ۸/۵ میلیارد دلار هزینه درمان این زخم ها می شود [۷].

عواقب حاصل از زخم های فشاری که گریبانگیر بیماران می شود و هزینه درمان مربوط به آن ها، تلاش گسترده در جهت کاهش این مشکل را توجیه می کند. لذا نیاز به روش ها و نظریه های جدید به منظور بهبود ترمیم زخم در شرایط مختلف حس می شود. در حال حاضر مطالعات بسیاری بیانگر نقش مؤثر پلاسما در تسریع ترمیم زخم های مزمن بوده است [۸-۱۷]، از این رو در این مطالعه بر آن شدیم که به عنوان یک روش درمانی نوین و ایمن، تأثیر پلاسمای 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 نام گذاری تأکید بر این مسئله بود که ویژگی های مایعات یونی موجود در زیست شناسی و پزشکی همانند مشخصات پلاسما در علم فیزیک است [۱۸]. پلاسما در بر دارنده مجموعه پیچیده ای از الکترون ها، یون های مثبت و منفی، اتم ها و مولکول های باردار و خنثی، تابش های فرابنفش و گرمایی، میدان های الکترومغناطیس و رادیکال های آزاد و ... است و معمولاً به واسطه دما، میدان های الکتریکی و انواع مختلف تابش های موجود در آن مشخصه یابی می شود. هنگامی که همه این مؤلفه ها همزمان به طور 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 آن ها را تغییر می دهند [۱۹]. پلاسماهای غیر حرارتی اثر ناچیزی بر بافت های سالم اطراف دارند با این حال از طریق غیر فعال سازی باکتری های

گرم مثبت و منفی، قارچ ها، ویروس ها و ارگانیسم ها یا پاتوژن های بیگانه، ضد عفونی و استریلیزاسیون مناسب بافت زنده امکان پذیر است. یکی از مزایای شکل گازی پلاسما امکان نفوذ آن در سطوح ناهمگن و حفره های کوچک تر از ابعاد میکرومتر است که استفاده از تکنیک های سنتی شیمیایی و سیالات در این زمینه با شکست مواجه می شود. مزیت دیگر پلاسما قابلیت استفاده بدون تماس، بدون درد، ایمن و غیر تهاجمی است که دارورسانی در سطوح مولکولی را امکان پذیر می سازد [۲۰].

جدا از اثرات ضد عفونی کننده پلاسما، وجود رادیکال نیتریک اکسید به عنوان گونه ای که فرآیندهای بسیاری را در فیزیولوژی پوست انسان تنظیم می کند، یک مؤلفه مهم و ارزشمند در اثربخشی پلاسما در درمان انواع بیماری های پوستی و زخم ها محسوب می شود [۲۱]. همچنین پلاسما دارای خاصیت ضد التهابی، ضد خارش و میکروب کشی است و از این رو برای کاربردهای پوستی در ترمیم زخم یا درمان بیماری های التهابی پوستی همچون اگزما، پسوریازیس و آکنه ایدئال و مناسب خواهد بود [۲۲ و ۲۳]. مطالعات بیشتر نشان داده است که پلاسمای سرد با تغییر بیان ژن مولکول های کلیدی در ترمیم زخم، دارای پتانسیل ارتقاء ترمیم زخم است [۲۴].

روش بررسی

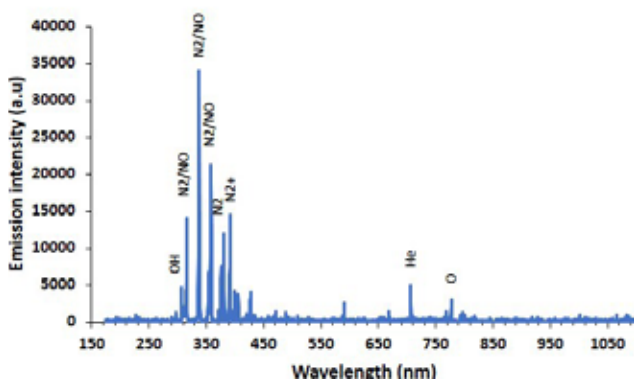
در این مطالعه از ۲۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار دارای وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم که همگی تحت شرایط استاندارد (دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی گراد و دسترسی آسان به آب و غذا) نگهداری می شدند، استفاده شده است که به طور تصادفی در سه گروه نرمال، کنترل و درمان با پلاسما قرار گرفتند. پس از بیهوشی موش ها، برای ایجاد زخم فشاری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



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

یافته‌ها

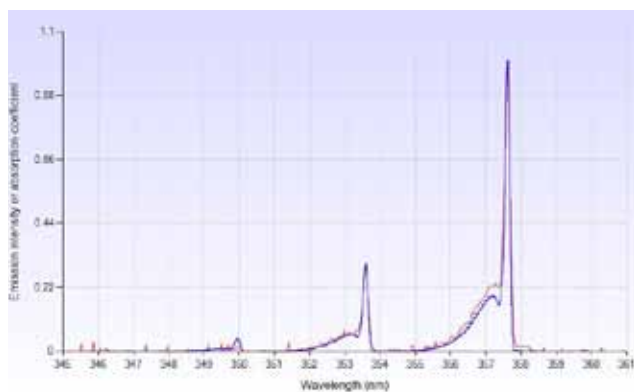
طیف‌سنجی نور گسیلی در ولتاژ ۵ kv و فاصله ۱۰ میلی‌متر از نازل جت پلاسما ثبت گردید که در شکل ۳ قابل مشاهده است. نتایج طیف‌سنجی نشان می‌دهد که جت پلاسما مورد نظر حاوی عناصر فعالی مانند O , OH , NO , N_2 , N_2^+ و ... می‌باشد. وجود چنین عناصر فعالی منجر به خواص مؤثر پلاسما در ترمیم و ضد عفونی کردن محل زخم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



شکل ۳: طیف‌سنجی نور گسیلی پلاسما هلیوم

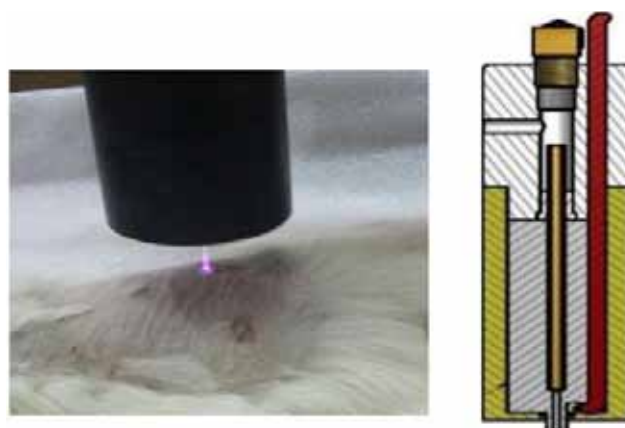
مقایسه طیف تجربی پلاسما با طیف شبیه‌سازی شده توسط نرم‌افزار Specair در شکل ۴ نشان داده شده است. با توجه به شکل می‌توان مشاهده کرد که قله‌های دو طیف با تقریب نسبتاً خوبی با یکدیگر همپوشانی دارند و می‌توان مشخصات آن‌ها را یکسان در نظر گرفت. به عبارت دیگر دمای دورانی پلاسما ۳۰۰ کلوین و دمای ارتعاشی ۳۹۰۰ کلوین خواهد بود که این امر تصدیق‌کننده این ادعاست که پلاسما مورد نظر یک پلاسما 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 پلاسما در شکل ۵ قابل مشاهده است. مقایسه تغییرات ظاهری سطح



شکل ۴: مقایسه طیف تجربی پلاسما با طیف شبیه‌سازی شده توسط نرم‌افزار

در این مطالعه از پلاسما فشار اتمسفری غیرحرارتی هلیوم تولید شده 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 پلاسما جت متشکل از یک لوله مسی به عنوان الکترود مرکزی (آند) و یک واشر مسی به عنوان کاتد است که این دو الکترود به وسیله 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 پلاسما سرد با دمایی نزدیک به دمای اتاق در هوای احاطه‌کننده دستگاه تشکیل می‌شود.



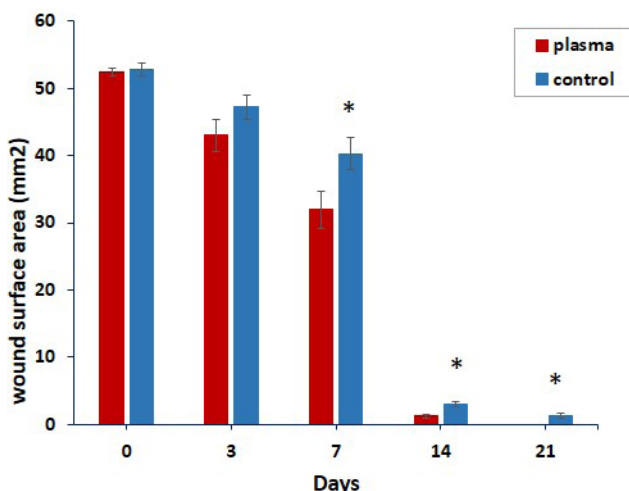
(ب)

(الف)

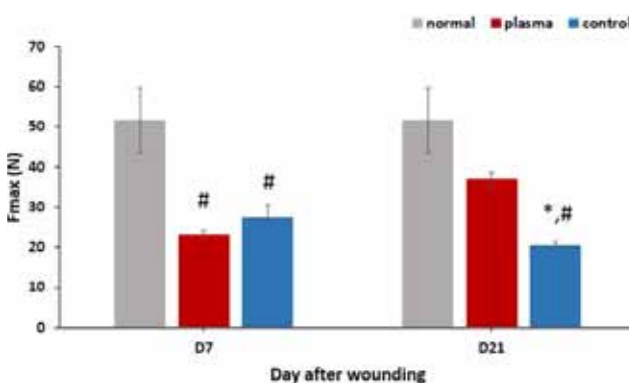
شکل ۲: (الف) شماتیک ساختار پلاسما جت و (ب) تابش پلاسما بر سطح زخم

به منظور مشخصه‌یابی پلاسما تولید شده؛ از طیف‌سنجی نور گسیلی برای شناسایی گونه‌های فعال و همچنین محاسبه دمای گاز پلاسما به طور تقریبی با کمک نرم‌افزار Specair و مقایسه طیف تجربی با طیف شبیه‌سازی شده استفاده شد. پس از به دست آوردن حالت بهینه، درمان با پلاسما به مدت ۵ روز، روزانه ۳ بار و هر بار به مدت 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. به منظور 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.

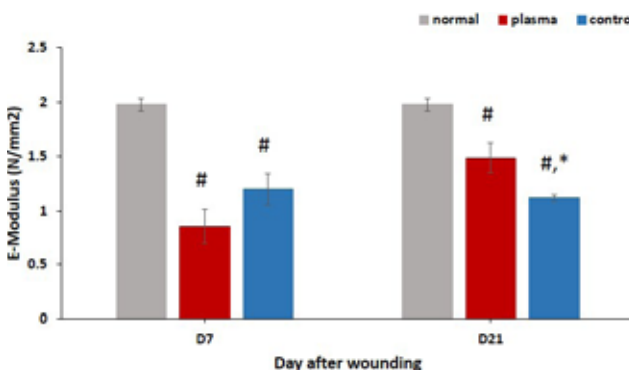
در پایان اطلاعات جمع‌آوری شده در مراحل مختلف به کمک نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) با تست تکمیلی Tukey و همچنین آنالیز independent T-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و سطح معنی‌داری در کلیه تست‌ها $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.



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 ($p < 0.05$).

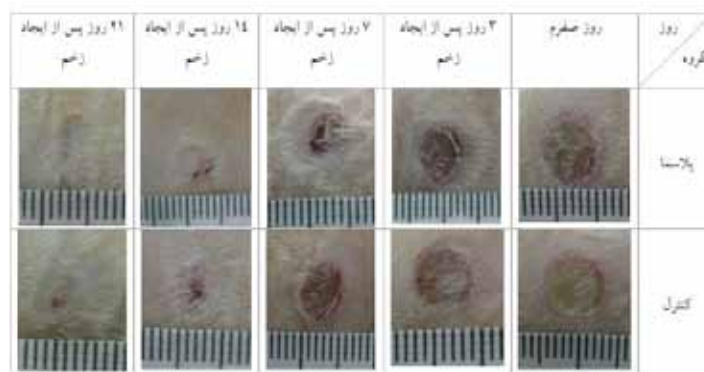
زخم در دو گروه بیانگر تسریع بسته‌شدن زخم در گروه پلاسما می‌باشد و بنابراین نتیجه می‌شود که روش درمانی پلاسما منجر به تسریع فرآیند ترمیم و بسته شدن زخم می‌شود که این امر در مطالعات بالینی می‌تواند ارزش درمانی داشته باشد.

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 تحمل‌شده 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 ینگ 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

نتیجه گیری

توسعه پالس های فوق سریع لیزری ما را قادر به استفاده از اندرکنش به طور کلی از این مطالعه نتیجه گیری می شود که درمان با پلاسمای هلیوم موجب تسریع معنی دار فرآیند التیام زخم فشاری می شود که با مطالعات قبلی انجام شده با تکنولوژی های پلاسمایی مختلف مطابقت دارد. به نحوی که این تیمار موجب افزایش استحکام و قدرت مکانیکی زخم های فشاری و همچنین تسریع فرآیند ترمیم و بسته شدن زخم می شود که این امر در مطالعات بالینی می تواند 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.