

مقاله علمی (تحقیقی)

بررسی میکروسکوپی تأثیر پرتوهای لیزر کم توان هلیوم - نئون بر روند ترمیم ضایعه عصب فاسیال

نسرین تک زارع*

دکتر کامران یار محمدی***

دکتر علیرضا تک زارع***

دکتر برزو رشیدی***

دکتر بهرام منتظری***

چکیده

بافت عصبی نقش کلیدی در اعمال حیاتی بدن دارد و در هنگام آسیب دیدن بسیار دیر التیام پیدا می‌کند. جامعه پزشکی همواره کوشیده است روشهای مؤثری را جهت ترمیم اعصاب آسیب دیده بیابد. استفاده از لیزرهای کم توان مانند هلیوم - نئون در پیچه جدیدی را به رفع این معضل بزرگ، گشوده است در این مطالعه بیست سر موش صحرایی به طور تصادفی در گروههای شاهد و مورد قرار گرفتند. در روز جراحی تحت بیهوشی عمومی و با رعایت شرایط استریل، عصب فاسیال تحت فشار و آسیب قرار گرفت. روز جراحی روز صفر محسوب گردید. از روز اول به صورت یک بار نمونه‌های گروه مورد تحت تابش لیزر کم توان هلیوم - نئون قرار گرفتند. در روز بیست و هفتم در طی اعمال جراحی اعصاب فاسیال کلیه نمونه‌ها خارج شد و پس از تهیه مقاطع میکروسکوپی، مورد مطالعه بافت‌شناسی قرار گرفتند در گروه تجربی قدرت و سرعت ترمیم عصب نسبت به گروه شاهد بیشتر

* عضو هیأت علمی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

** پاتولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

*** پزشک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

**** متخصص پزشکی هسته‌ای، دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران

***** متخصص پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران

بود و اختلافات بین دو گروه معنی دار بود. در پایان نتایج حاصل نشان داد که تابش روزانه لیزر کم توان هلیوم - نئون بر عصب فاسیال موجب تسریع فرآیند ترمیم عصب می‌گردد. کلید واژه‌ها: لیزر هلیوم - نئون، عصب فاسیال آسیب دیده، موش صحرایی، لیزر کم توان.

مقدمه

بافت عصبی یکی از مهمترین بافتهای بدن است که نقش کلیدی در اعمال حیاتی بدن دارد. بافتهای عصبی همواره در معرض آسیب می‌باشند و در چنین مواردی بسیار دیر التیام پیدا می‌کنند. بافت عصبی آسیب دیده در ابتدا دژنره می‌شود که این پدیده به نام دژنرسانس والریان موسوم است (۱) در مورد بافتهایی که در ارتباط با آن عصب بوده‌اند، زمانی عملکرد مجدد خود را بدست می‌آورند که فیبرهای عصبی آسیب دیده و دژنره شده، رژنره شوند و مجدداً با بافت هدف تماس پیدا کنند (۲، ۳، ۴، ۵). جامعه پزشکی همواره کوشیده است روشهای مؤثری جهت تسریع ترمیم اعصاب پیدا کند درمان نماید و تدریجاً ترمیم اعصاب سبب گردید سیر معالجات طولانی و میزان موفقیت روشهای موجود همواره زیر سؤال باشد و از طرفی به ندرت توانایی و عملکرد اعصاب آسیب دیده به حد نرمال و قابل قبول باز می‌گردد. با توجه به درصد بالای آسیب دیدگی اعصاب محیطی در اثر حوادث و تصادفات و یا جراحیهای مختلف هر ساله در ایران و سایر کشورهای جهان، برای ترمیم این صدمات هزینه، زمان و تخصص بسیاری صرف می‌شود بنابراین اگر بتوان به وسیله عوامل تحریک کننده سرعت ترمیم را افزایش داد، علاوه بر تسریع زمان بهبودی، شانس بازگرداندن اعمال طبیعی به اندامهای هدف مربوطه بیشتر خواهد شد (۶، ۷) استفاده از این لیزرهای کم توان خصوصاً لیزر He - Ne در چجه جدیدی به رفع این معضل گشوده است. استفاده از لیزر روش کاملاً غیر تهاجمی می‌باشد، که با توجه به خصوصیات ویژه‌ای که دارد عملکرد نسبتاً منحصر به فردی یافته است (۸، ۹، ۱۰) لیزرها را بر اساس جنس محیط فعال نامگذاری می‌کنند (مانند لیزرهای هلیوم - نئون، آرگن، یاقوت، CO₂ و...) خصوصیات ویژه پرتولیزر موجب شده است که این باریکه نورانی با نور معمولی متفاوت گشته و اثرات ویژه‌ای را بر جای بگذارد. (۸) لیزرها به دو گروه لیزرهای گرم و سرد تقسیم می‌شوند: لیزرهای گرم اصطلاحاً لیزر پرتوان (High Power) گفته می‌شود و باعث تغییرات سریع و آنی قابل ملاحظه‌ای در درمان بافت می‌گردد و بیشتر در جراحی بکار برده می‌شود. لیزرهای سرد یا کم توان (Low Power) موجب تغییرات آنی و قابل ملاحظه نمی‌گردد. لیزرهای سرد یا کم توان با فعال کردن واکنشهای بیولوژیکی در بافتها اثر می‌کنند (۱۱) اثرات لیزر کم توان روی سیستم عصبی به طور عمده از تغییراتی در ساختمانها و واکنشهای بیوشیمیایی خبر می‌دهد. عوامل مهم مؤثر بر ترمیم اعصاب آسیب دیده عامل رشد عصبی NGF, Nerve growth factor می‌باشد. (۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵)

در این میان لیزر He - Ne از اهمیت خاصی برخوردار است نخستین بار پروفیسور Mester و همکاران اثرات قابل ملاحظه لیزرهای کم توان را بر محیطهای بیولوژیکی مطرح ساختند (۱۱، ۱۶، ۱۷، ۱۸). امروزه پژوهشگران متعددی فعالیت خود را بر این امر متمرکز کرده‌اند و کاربردهای درمانی لیزرهای کم توان جایگاهی مناسب یافته است. در این تحقیق سعی شده تا اثرات لیزرهای کم توان افزایش قابلیت ترمیم عصب فاسیال ضایعه دیده بررسی شود.

مواد و روشها

این تحقیق به روش شاهد - موردی (Case - Control) بر روی بیست سر موش صحرائی بالغ با نژاد ویستار و محدوده وزنی دویست و پنجاه تا سیصد گرم به سن تقریبی سه ماه صورت گرفت. موشها در طی دوره آزمایش، ۱۲ ساعت در روشنایی و ۱۲ ساعت در تاریکی قرار می‌گرفتند و به غذای آماده موش دسترسی داشتند و در قفسهای استاندارد نگهداری می‌شدند. شرایط حیوان خانه در حد استاندارد با محدود دمای ۲۵ تا سی درجه سانتی گراد بود. صبح روز جراحی ابتدا موهای محل جراحی به طور کامل زوده شد و با پویدون - آیودین ضد عفونی گردید. آنگاه با کمک داروهای (Ketamine, Promazine, Atropin) حیوانات بیهوش شدند. تحت شرایط استریل منطبق بر خطی که بریدگی لاله گوش را به گوشه لب و صل می‌کند برش کوتاهی به طول یک سانتی متر در پوست سمت راست صورت ایجاد شد. عصب فاسیال موش پس از اینکه در معرض دید قرار گرفت، به وسیله یک پنس ثابت نگه داشته شد و با کمک هموستات (پنس مخصوص) ناحیه میانی عصب به مدت شصت ثانیه و با شدت یکسان تحت فشار قرار گرفت، سپس عصب آسیب دیده در محل خود قرار داده شد و محل جراحی بخیه گردید. این سلسله اعمال بر روی کلیه نمونه‌ها صورت گرفت. بعد از عمل جراحی نمونه‌ها به طور کاملاً تصادفی به دو گروه شاهد و مورد تقسیم گردیدند. در طی یک دوره ۲۷ روزه به صورت روزانه، یک بار نمونه‌های گروه مورد، تحت تابش لیزر کم توان هلیوم - نئون با طول موج $\lambda = 65 \text{ nm}$ به مدت سه دقیقه قرار گرفتند. در پایان روز بیست و هفتم نمونه‌های گروههای شاهد و مورد تحت عمل جراحی واقع شدند. در طی این عمل پوست ناحیه سمت راست صورت را کنار زده و از محل ضایعه عصب فاسیال به طول پنج میلی متر نمونه برداری شد و پس از شماره گذاری، در محلول فرمالین ۱۰٪ تثبیت شدند. پس از عمل فیکساسیون، مراحل آماده سازی بافتی، قالب‌گیری (مقاطع طولی و عرضی اعصاب) و انجام مراحل رنگ آمیزی H&E، نمونه آماده گردید. همه نمونه‌های آماده شده تحت مطالعه میکروسکوپی قرار گرفتند.

نتایج

بررسیهای میکروسکوپی در روی نمونه‌های شاهد و مورد صورت گرفت. پس از انجام این مراحل بر روی کلیه نمونه‌های عصب فاسیال، میزان ترمیم اعصاب به طور نسبی سنجیده شد و نتایج حاصل از آن در جدول شماره ۱ وارد گردید.

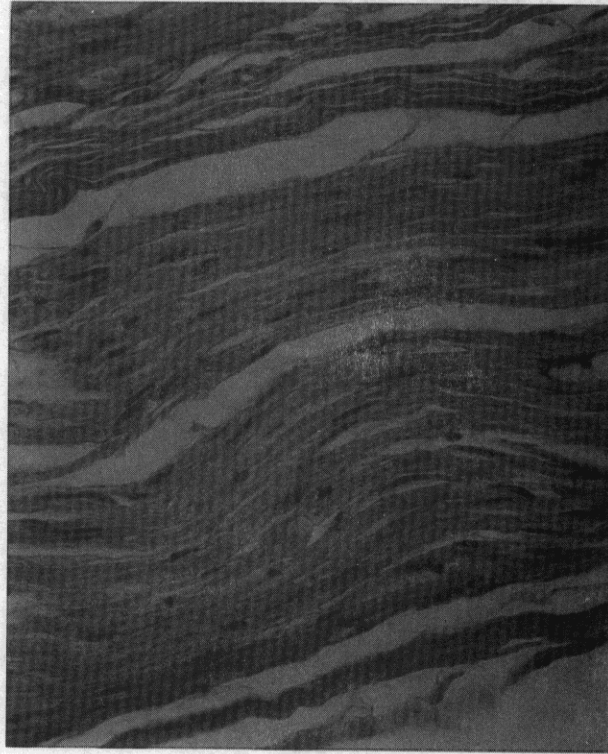
جدول شماره ۱ - نتایج حاصل از بررسی میکروسکوپی روند ترمیم عصب فاسیال

در گروههای شاهد و مورد

عروق خونی	غلاف میلین خرد شده	تعداد سلول‌های شوآن	تعداد ماکروفاژها	شاخصها
				گروهها
+	+	+	+	گروه شاهد
	+	+	+	
±	+	+	+	گروه مورد

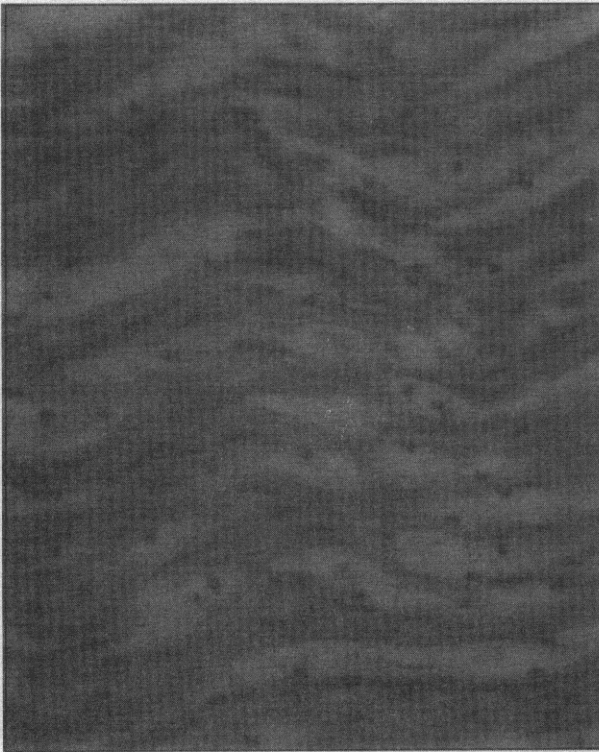
+ خیلی زیاد ± زیاد، + کمی، - وجود ندارد

در بررسی مقاطع میکروسکوپی مربوط به گروه مورد که بعد از عمل جراحی تحت تأثیر تابش لیزر کم توان هلیوم - نئون بوده‌اند، رشته‌های عصبی قطر طبیعی خود را حفظ کرده‌اند و در اطراف آکسون غلاف میلین به طور طبیعی قرار دارند و خرد و قطعه قطعه نشده‌اند و غلاف شوآن نیز به حالت طبیعی غلاف میلین را احاطه کرده است (شکل ۱) و تعداد ماکروفاژها در مقایسه با نمونه‌های میکروسکوپی گروه شاهد بسیار کم است و عروق خونی در حد معمول و طبیعی خود در فواصل رشته‌های عصبی طولی و عرضی قرار دارند.



(شکل ۱)

بررسی مقاطع تهیه شده از منطقه ضایعه دیده عصب فاسیال در نمونه‌های گروه شاهد که تحت تابش لیزر نبوده‌اند بیانگر این مطلب است که غلاف میلین اطراف عصب دچار ضایعات بیشتری شده است. از نظر مقایسه با مقاطع مشابه در نمونه‌های گروه مورد، غلاف میلین کاملاً قطعه قطعه شده و ماکروفاژهای بسیار زیادی وجود دارند که قطعات میلین را بلعیده‌اند و فضاهای خالی در فواصل ماکروفاژها دیده می‌شود. علاوه بر این، غلاف شوان نیز دچار تغییراتی گردیده است. تعداد سلول‌های شوان نسبت به گروه مورد بسیار بیشتر شده‌اند و عروق خونی در اطراف این غلافها نیز افزایش پیدا کرده است.



(شکل ۲)

بحث

بافت عصبی با وجود نقش کلیدی که در اعمال حیاتی بدن دارد، همواره در معرض آسیبهایی مختلف می‌باشد. سوانح و حوادث گوناگون یکی از عمده‌ترین عوامل بروی آسیبهای عصبی و در پی آن معلولیت‌های جسمی می‌باشند جامعه پزشکی همواره کوشیده است روش‌های مؤثری را جهت ترمیم اعصاب آسیب دیده بیابد. استفاده از لیزرهای کم توان و سبک مانند لیزر هلیوم - نئون در پیچه جدیدی را به رفع این معضل بزرگ گشوده است. مطالعات به عمل آمده نشان می‌دهند که در پدیده ترمیم اعصاب محیطی، عوامل گوناگونی مؤثرند (۱۲، ۱۳، ۱۴)، لیزر کم توان به عنوان یک مجموعه منظم و متمرکز انرژی عمل کرده و موجب تغییر و تحریک اعصاب و سلول‌های اطراف آن می‌گردند. (۱۷، ۱۸) Mester و همکاران در طی تحقیقات خود اثرات قابل ملاحظه لیزرهای کم توان را بر محیط‌های بیولوژیکی مطرح کرده‌اند (۱۱).

Nordian (۱۹) و Basford (۱۰) نیز طی پژوهش‌های خود نشان دادند که پرتوهای لیزر باعث



تنظیم پاسخ التهابی اولیه، تسریع و ترمیم سلول‌ها و بافت‌های آسیب دیده عصبی می‌گردند. مطالعات و تحقیقات دانشمندان نشان می‌دهد که طول موجها و چگالی انرژی خاص در تابش لیزرهای کم توان فعالیت اعصاب محیطی له شده را ایجاد می‌کند و تغییرات دژنراتیو در نورون‌های حسی و حرکتی را کاسته و سبب تسریع ترمیم بافت‌های عصبی آسیب دیده می‌گردد. در مطالعه تجربی حاضر در گروه مورد پس از آسیب وارد کردن به عصب فاسیال نمونه‌ها به طور منظم تحت تابش لیزر قرار گرفتند. در بررسی نمونه‌های میکروسکوپی به دست آمده از گروه مورد که تحت تابش بودند، به وضوح دیده شد که تابش لیزر باعث به تعویق افتادن فرآیند رژنراسیون و سرعت بخشیدن به فرآیند دژنراسیون در جراحی عصب گردیده بود (شکل ۱) حفظ شدن قطر طبیعی غلاف میلین و عدم حضور ماکروفاژها دلیل محکمی برای این فرآیند بود. نتایج این تحقیق در راستای نتایج تحقیقات Mester و همکارانش بوده است.

هنگامی که به یک رشته عصبی آسیب وارد می‌گردد عصب کم کم دژنره می‌شود. در ابتدا غلاف میلین شکسته و به قطعات کوچکی تبدیل می‌گردد، سپس ماکروفاژها این قطعات را بلعیده و فاگوسیته می‌کنند به این ترتیب برای ترمیم اعصاب ضایعه دیده فعالیت طبیعی ماکروفاژها، به منظور انهدام ضروری است (۲۰) و در پی آن سلول‌های غلاف شوان فعال می‌شوند، تکثیر می‌یابند تا بتوانند غلاف‌های از بین رفته و منهدم شده را دوباره بازسازی کنند (۲۱)

در گروه شاهد که عصب فاسیال آسیب دیده تحت تابش لیزر نبوده است دقیقاً این مراحل قابل بررسی هستند. در گروه شاهد بعد از وارد شدن آسیب مراحل دژنراسیون آغاز می‌گردد به طوری که در بررسی میکروسکوپی نمونه‌های گروه شاهد تعداد بسیار زیادی ماکروفاژ دیده می‌شود که در حال بلعیدن قطعات غلاف میلین هستند و در کنار فاگوسیته شدن غلاف میلین توسط ماکروفاژها تعداد سلول‌های شوان بسیار زیاد می‌شود تا در پی این مرحله شروع به ساخت غلاف میلین جدید بنماید. (شکل ۲)

نتایج

یافته‌های حاصل از تحقیق حاضر بیانگر آن است که سرعت ترمیم عصب در گروه‌های مورد و شاهد دارای اختلاف معنی داری هستند. نتیجه بسیار مهم دیگری که در طی این تحقیق بدست آمد این بود که لیزرهای کم توان و بکارگیری آن در محل و میدانهای جراحی سبب ضد عفونی کردن ناحیه جراحی، کاهش تورم بافتی و در نتیجه کاهش دردهای بعد از عمل می‌شود. لیزر کم توان به عنوان یک مجموعه متمرکز انرژی عمل می‌کند و موجب تغییر و تحریک متابولیسم‌ها می‌گردد. لیزر به عنوان یک محرک حیاتی بافتی عمل می‌نماید و هیچ گونه آسیبی به بافت‌های مختلف بدن نمی‌زند.

REFERENCES

- 1 - Tham S, Dowshing B, Finkdelstein D, Donato R, Cheema SS, Bartlett PL. Leukaemia inhibitory factor enhances the regeneration of transected rat sciatic nerve and the function of reinnervated muscle. *J Neurosci Res* 1997 ; 47 : 208-215.
- 2 - Houle JD. Regeneration of dorsal root axons is related specific non-neuronal cells lining NGF-treated intraspinal nitrocellulose implants. *Exp Neurol* 1992; 188: 133-142.
- 3 - Sunderlans S. Nerve axon reaction : A Review of the principal features of perikary on responses to axon injury. *Inter Rev of Neurobio* 1971 ; 14:49-124.
- 4 - Seckel BR, Ryan SE, Gagne RG, Chiu TH, Watkins E. Target-specific nerve regeneration through a nerve guide in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1986 ; 78:793-800.
- 5 - Terenghi G : Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors. *J Anatomy* 1999 ; 194 ; 1-14.
- 6 - Rush AR, Mayo R, Zettler C. The Regulation of nerve growth factor synthesis and delivery to peripheral neurons. *Pharmacol Ther* 1995; 65: 93-126.
- 7 - Dannely K, winh TK, Sweet DE. Skeletal and extraskelatal angiomas. *Am J Bone Joint Surg* 1994; 76: 878-891.
- 8 - Babupour R, Classbory E. Low-energy laser systems. *Clinical Derma* 1998; 13: 87-90.
- 9 - Busford JR. Low instensity laser therapy: Still not an established clinical tool. *laser surg Med* 1995; 16:331-342.
- 10 - Basford JR. Low-energy laser therapy: Controversies and new research finding. *Laser Surg Med* 1989; 9: 1-5.
- 11 - Mester E, Mester AF. The Bimedical effects of laser application. *Laser Surg Med* 1996;5: 31-39.
- 12 - Liberman AR. The Axon reaction: A Review of the principal features of perikaryal responses to axon injury. *Inter Rev of Neurobio* 1971; 14: 49-124.
- 13 - Otto D, Unsicker K, Grothe C. Pharmacological effects of nerve growgh factor and fibroblast growth factor applied to the transected seiatic nerve on neuron death in adult dorsal root ganglia. *Neurosci Lett* 1987; 83: 156-160.



- 14- Calamandrel G Alleva E. Neuronal growth factors, neurotrophins and memory deficiency. *Behav Brain Res.* 1995; 66: 129-132.
- 15 - Yip HK, Rich KM, Lampe PA, Johnson DM. The Effects of nerve growth factor or and its antiserum on the postnatal development and survival after injury of sensory neurons in the rat dorsal root ganglia. *Neurosci* 1984; 4: 2986-92.
- 16 - Rockindw S, Barboa. L, Rason N. Stimulatory effect of He- Ne low does laser on Injured sciatic nerves of Rats. *Neuro surgery* 1987; 20:55-61.
- 17 - Kerto J, Rosa L. Clinical lasertherapy low level laser therapy. *Scand Med Laser Technol* 1989; 8: 57-63.
- 18 - Danie W, Cynthiaw R, In Vitro frog sciatic nerve as a pipheral nerve model for studies of the mechanism of action of low Energy lasers. *Lasers in surgery and medicine* 1997; 21: 29-41.
- 19 - Nordian M, Frank VH. *Basic biomechanics of the Musculoskeletal system.* 2nd ed. Philadelphia: [S.n];1998.
- 20 - Tananka K, Zang QL, Webster HD. Myelinated fiber regeneration after sciatic nerve crush: morphometric suppressions and conditioning lesions. *Exp Neurol* 1992; 118: 53-61.
- 21 - Guenrad V, Kleitman N, Morrissey TK, Bunge RP, Aebischer P. Syngeneic schwann cells driven from adult nerves seeded in semipermeable guidance channels enhance peripheral nerve regeneration. *J Neurosci* 1992; 12 : 3310-3320.

