

## بررسی سه لیزر کم توان بر سرعت تکثیر پلاک‌های متافازی لنفوسیت‌های خونی در شرایط (Invitro)

رضا زهدی اقدم<sup>۱</sup>، مولود رادفر<sup>۲</sup>، دکتر علی سینا<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت ۸۳/۰۲/۰۸، تاریخ پذیرش ۸۴/۰۹/۳۰

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** لیزر درمانی با استفاده از لیزرهای کم توان<sup>۴</sup> (LLL)، می‌تواند تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در سلول‌ها را موجب گردد، این تغییرات به اثر لیزر درمانی با طول موج و توان خاصی بدون افزایش دما در واکنش‌های سلولی وابسته است. با عنایت به اینکه اثرات لیزر کم توان را می‌توان در سه بخش ۱- تحریک زیستی ۲- ضد التهابی ۳- ضد درد خلاصه کرد، در این پروژه گزینه تحریک زیستی آن ملاک و مد نظر بوده است (۱).  
**مواد و روش‌ها:** در این بررسی سلول‌های خون محیطی انسان در دو گروه شاهد و آزمون قرار گرفته و گروه آزمون تحت تأثیر لیزرهای Ar, Ga-Al-As, He-Ne با چگالی  $10^{-1} / \text{cm}^2$  قرار گرفت. لیزر He-Ne مدل IR-2000 و لیزر GaALAS مدل Vitagnost لیزر Ar مدلش BO<sub>5</sub>-BO<sub>10</sub> بود.  
**یافته‌ها:** پس از بررسی لام‌های حاوی پلاک‌های کروموزومی گسترش یافته و تجربه آماری به روش مقایسه میانگین‌ها را با استفاده از آزمون LSD پلاک‌های متافازی حاصل از تابش لیزر Ga-Al-As با  $\lambda = 810 \text{ nm}$  و He-Ne با  $\lambda = 632.8 \text{ nm}$  نسبت به لام‌های حاصل از گروه شاهد یک و نیم برابر برآورد شد. نتایج حاصل از جدول داده‌ها به خوبی نشان می‌دهد که بیشترین تحریک سلولی در  $\lambda = 810 \text{ nm}$  و  $\lambda = 632.8 \text{ nm}$  بوده و نسبت طول موج لیزری  $488 \text{ nm}$  افزایش معنی‌داری نمایان می‌سازد ( $p < 0.05$ ).

**بحث و نتیجه‌گیری:** در این بررسی تکثیر پلاک‌های متافازی در انرژی دانسته  $4 / \text{cm}^2$  بیشترین تحریک را در سلول‌های لنفوسیتی خونی ایجاد کرده در حالیکه انرژی  $10 / \text{cm}^2$  پلاک‌های متافازی مهار شده، پس افزایش چگالی لیزری اثر مهاری بر گلبول‌های لنفوسیت خونی داشته در حالیکه در یک  $\lambda = 632.8 \text{ nm}$  اثر تحریکی خوبی را می‌تواند مطرح نماید. این موضوع می‌تواند جهت ترمیم زخم‌ها و بیماری‌هایی که سرعت تکثیر سلولی در آنها کم است، مورد ملاحظه قرار گیرد.

گل واژه‌گان: لیزر کم توان، لنفوسیت، طول موج

مجله پزشکی ارومیه، سال هفدهم، شماره سوم، ص ۱۹۵-۱۸۸، پاییز ۱۳۸۵

آدرس مکاتبه: دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده بهداشت و پیراپزشکی

### مقدمه

تأثیر لیزرها به واسطه جذب انرژی فوتون‌ها در ناحیه هدف بوده، و انرژی جذب شده از اشعه، باعث تحریک مولکول‌ها و اتم‌های بافت و سلول‌ها می‌شوند، بنابراین این مولکول تحریک شده به یکی از صور زیر عکس العمل نشان می‌دهد.  
الف) تمام یا مقداری از انرژی را به صورت نور باز

دانشمندان پزشکی پیوسته به دنبال یافتن راه‌های تازه‌ای برای استفاده از لیزر در درمان بیماری‌ها هستند چون ویژگی‌های لیزری و ناشناخته ماندن مکانیسم‌های آن باعث شده که لیزر همچنان به عنوان علم جوان و پویا، قابل طرح و بررسی باشد (۱).

<sup>۱</sup> مربی گروه پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

<sup>۲</sup> مربی دانشکده پرستاری و مامائی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

<sup>۳</sup> استادیار گروه رادیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

<sup>۴</sup> Low Level Laser Therapy

پس می دهد<sup>۱</sup>.

ب) همه یا قسمتی از انرژی جذب و به گرما تبدیل شده و سبب بالا بردن درجه حرارت بافت می شود.

ج) تمام یا مقداری از انرژی تبدیل به صور دیگر انرژی جهت واکنش شیمیایی می گردد(۲).

فوتون‌های امواج قابل رویت یا نور مرئی باعث پدیده نوری شیمیایی شده و مقداری از آن باعث گرم شدن بافت و همچنین انعقاد پروتئین می گردد. در لیزرهای کم توان فوتون‌های اشعه لیزری توسط رنگدانه‌های بافت جذب و حرکت اتمی و مولکولی را سبب می شود و این خود منجر به عدم گرم شدن و ازدیاد درجه حرارت سلول و بافت می گردد(۳). چون پرتو لیزر کم توانی مانند He-Ne می تواند موجب تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک فراوانی در اجزاء سلولی شود. پرتو لیزر پس از تابش به سلول توسط اجزاء میتوکندری و غشاء سلول جذب شده فرایندهای احیاء در زنجیره تنفسی را فعال می کند. لذا به دنبال تغییرات حاصل شده در غشاء سلولی، نفوذ پذیری آن تحت تأثیر قرار می گیرد و منجر به تجمع برخی یونها در درون سلول می شود که به نوبه خود نقش مهمی در تحریک تکثیر سلول دارد(۴). در ضمن این تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی لیزرهای کم توان در رابطه با کاستن التهاب و درد و میزان ادم و آزاد سازی فاکتورهای درون زائی که باعث درد می شوند، نمود بارزی داشته است(۵). از آنجائیکه این لیزرها به طور معمولی توانی کمتر از  $100 \text{ mW}$  دارند، افزایش دمائی ناچیزی در بافت هدف ایجاد می نمایند (کمتر از  $1^\circ \text{C}$ ). لذا در مطالعات گوناگون تأثیر لیزر کم توان در درمان بیماری‌ها نه به خاطر ایجاد گرما<sup>۲</sup> بلکه به علت تأثیری که نور لیزر بر مولکول‌های بیولوژیک، به ویژه آنزیم‌های زنجیره تنفسی در سلول‌ها، می گذارد<sup>۳</sup>، مورد توجه قرار گرفته و با عنایت بر اینکه نخستین و اثبات شده ترین اثر لیزر کم توان، تأثیر آن در تسریع بهبود زخم‌های پوستی بوده است(۶). در این پروژه، بیشترین هدف بررسی اثرات این لیزرها در سرعت تکثیر لنفوسیت‌ها در مواجهه با بیماری‌های بدخیم بود. چون مکانیسم اثر این لیزرها (شامل اثر لیزرها بر تکثیر DNA، نسخه برداری RNA، تولید ATP و تمایز سلول) قابل پیش بینی است که لیزر بتواند منجر به تسریع

ترمیم آسیب‌های سایر بافت‌ها از جمله عضلات و اسکلت شود. لذا گزارش‌های رسیده در رابطه با تأثیر مثبت لیزر کم توان در افزایش سرعت رژنراسیون عضله آسیب دیده و بهبود سریعتر شکستگی و جلوگیری از تغییرات بیومکانیکال ایجاد شده در اثر بی حرکتی مفصلی حکایت دارد(۷). از طرف دیگر تغییرات زنجیره تنفسی، تولید رادیکال‌های آزاد در سلول را افزایش می دهد و بسیاری از عملکردهای سلولی را متأثر می کند. اگر چه تغییرات سلولی متعددی به دنبال تابش لیزر گزارش شده است، ولی گیرنده اصلی نور لیزر در درون سلول شناخته نشده است(۸). در ضمن مدت زمان لازم برای خنک شدن بافتی که مورد هدف لیزری قرار گرفته حائز اهمیت می باشد چون بافت‌ها و سلول‌های هدف به روش‌های مختلفی از جمله تابش و هدایت خنک گردیده که در این بین، روش هدایتی، روشی غالب برای خنک شدن بافت‌های هدف در پوست را شامل می شود. این یک اصل بدیهی است که اشیاء کوچکتر سریعتر از اشیاء بزرگتر خنک می گردند. پس زمان استراحت گرمای بافت با<sup>۴</sup> مجذور اندازه بافت هدف مرتبط بوده و برای دو بافت هدف از یک جنس و شکل، هدفی که اندازه اش  $1/2$  دیگری است در  $1/4$  زمان لازم برای خنک شدن دیگری، خنک می شود. از این خصوصیت برای رسانیدن مدت زمان تب<sup>۵</sup> به حد ایده ال<sup>۶</sup> جهت مصارف بالینی استفاده می شود(۹). با مقایسه محدودده طول موج لیزرهای موثر در تحریک سلولی و محدودده طول موج جذبی اجزاء مختلف سلولی، می توان ملاحظه نمود که لیزر درمانی با طول موج و توان خاص می تواند بدون افزایش دما اثرات خود را در واکنش سلولی اعمال نماید، که به این اثرات لیزرهای کم توان، تحریک زیستی<sup>۷</sup> اطلاق می شود. در هنگام استفاده از لیزر، پارامترهای مهمی مانند چگالی توان، واگرایی پرتو، شعاع پرتو تابش، زمان هریالس و فرکانس آن را بایستی در نظر گرفت(۱۰). پس در این پروژه بیشتر اثر تحریک زیستی لیزر در رابطه با سرعت تکثیر لنفوسیت‌های خون بوده و از آنجایی که در بعضی از بیماری‌ها سرعت تکثیر لنفوسیت‌های خون کاهش می یابد این خاصیت لیزر می تواند به طور موثر کار آمد باشد یا نه این تحقیق صورت گرفت و آیا این لیزرهای کم توان با هر طول موجی می توانند فرآیند تکثیر سلولی لنفوسیت‌های خون

<sup>4</sup> TRT: Thermal Relaxation Time of Tissue

<sup>5</sup> Pulse Duration

<sup>6</sup> Optimum

<sup>7</sup> Biostimulation

<sup>1</sup> Fluorescence

<sup>2</sup> Photothermal اثر

<sup>3</sup> Photochemical اثر

را افزایش دهند یا فقط سرعت تکثیر مربوط به طول موج خاصی از لیزرهای کم توان منحصر می‌شود.

## مواد و روش‌ها

در این بررسی جهت تهیه نمونه‌های خونی ابتدا  $0/2^{\text{CC}}$  هپارین  $5000^{\text{IU}}$  به داخل سرنگ یکبار مصرف استریل کشیده و سپس از خون وریدی رگ‌های سطحی و محیطی در شرایط استریل نمونه خونی تهیه می‌شد. چون هپارین از لخته شدن خون داخل سرنگ جلوگیری می‌کرد. زمان نمونه گیری همیشه صبح بین ساعت ۸ تا ۹/۵ انجام می‌گرفت. همچنین افراد داوطلبی که برای نمونه‌گیری انتخاب شده بودند شغل آنها دانشجوی در سنین بین ۱۹ الی ۲۹ قرار داشتند. در این بررسی سلول‌های خون محیطی انسان در دو گروه شاهد و آزمون مورد ارزیابی قرار گرفت. سلول‌های خون محیطی مورد آزمون بلافاصله پس از انتقال به محیط کشت HAM تحت تأثیر لیزر پالسی Ga-Al-As با  $\lambda = 810^{\text{nm}}$  و طول پالس‌ها  $0/001$  ثانیه که هر پالس چگالی توانی در حد پرتوی پیوسته اولیه داشت قرار گرفت. همچنین سلول‌های خون محیطی انتقال یافته به محیط کشت HAM تحت تأثیر لیزرهای پیوسته Ar، با  $\lambda = 488^{\text{nm}}$  و He-Ne با  $\lambda = 632/8^{\text{nm}}$  با چگالی انرژی  $10^{\text{J/cm}^2}$  قرار گرفتند. نمونه‌های خونی شاهد بعد از انتقال به محیط کشت تحت تأثیر هیچ پرتو لیزری واقع نشده و پس از ۷۲ ساعت برداشت و گسترش پلاک‌های متافازی آن صورت گرفت. پلاک متافازی همانطوری که در شکل (۱-۱) نشان داده شده است به هر گسترش کروموزوم انسانی به تعداد ۴۶ عدد که پس از ۷۲ ساعت کشت لنفوسیت‌های خون محیطی صورت گرفته باشد اطلاق می‌شود. لازم به ذکر است که در پایان ۷۰ ساعت و چهل دقیقه،  $0/2^{\text{CC}}$  محلول کلشی سینین  $10 \mu\text{gr/ml}$  را به کشت انکوبه شده افزوده و محلول حاصل را به هم می‌زنیم (محلول کلشی سینین از تقسیم سانترومرو تشکیل دوک تقسیم جلوگیری کرده و تقسیم میتوز را در مرحله متافازی متوقف می‌کند). نمونه کشت شده را برای تکمیل زمان انکوباسیون، به مدت ۱۰۰ دقیقه دیگر در دمای  $37/5^{\text{OC}}$  قرار می‌دادیم. بعد از اتمام زمان انکوباسیون نمونه‌های خونی شاهد و لیزر تابانی شده در ظروف سانتریفوژ پلاستیکی در پوشدار ریخته و آنها جهت انجام عمل سانتریفوژ آماده می‌شدند. دستگاه سانتریفوژ مورد استفاده در این پژوهش با حداکثر دور  $1000 \times \text{RPM}$  و از مدل IEC HNS بود. عمل سانتریفوژ با رعایت

تعداد به مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۸۰۰ انجام گرفته و بعد از اتمام آن مایع رویی محیط‌ها را به استثناء  $0/5\text{ml}$  با استفاده از سمپلر  $1\text{ml}$  برداشته و بعد سلول‌ها در آن به صورت چرخشی شناور می‌شد. سپس مقدار  $5^{\text{ml}}$  محلول هیپرتونیک  $0/75$  مولار KCl را به دمای  $37/5^{\text{OC}}$  رسانیده، به آرامی به محلول سوسپانسیون سلولی ریخته و سلول‌های داخل آن را به صورت چرخشی به هم زده تا شناور شوند. محلول فوق به مدت ۱۸ دقیقه جهت ایجاد تورژانس به داخل انکوباتور منتقل می‌شد. بعد از اتمام زمان تکمیل تورژانس سلولی با به هم زدن محلول آن را به مدت ۶ دقیقه با دور  $700$  سانتریفوژ نمودیم. مایع روئی را به استثناء  $0/5^{\text{ml}}$  توسط سمپلر برداشته و سپس تمامی سلول‌های ته نشین شده را به طور کامل به صورت چرخشی شناور ساختیم. برای هر برداشت سلولی سه مرحله فیکساسیون لازم است که معمولاً بعد از ریختن  $5\text{ml}$  محلول فیکساتیو که از نسبت ۳ به ۱ متانول به اسید استیک تهیه شده، بر روی سلول‌های تورژانس یافته انجام می‌شود سپس به مدت ۶ دقیقه با دور  $700$  سانتریفوژ کردن انجام شد. بدین ترتیب جدا شدن سلول‌های لنفوسیت خون محیطی انجام گردید و در مرحله آخر پس از تخلیه مایع روئی از محیط کشت به اندازه  $1^{\text{ml}}$   $0/5$  از آن را نگه داشته و با استفاده از سمپلر  $0/2^{\text{ml}}$  دو یا سه قطره از آن را روی لام‌هایی که از قبل تمیز و منجمد نموده بودیم چکاندیم و بعد از خشک شدن لام‌ها در هوای آزاد با استفاده از گیمسا  $10\%$  رنگ آمیزی نموده و برای شمارش آماده ساختیم، و در هر لام پلاک کروموزومی گسترش یافته ۱۵-۲۵ نمای میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت. لیزرهای استفاده شده در این تحقیق هر سه لیزر کم توان متعلق به سازمان انرژی اتمی به ترتیب لیزر  $\text{GaAlAs}$  ( $P=50\text{mw}$ ) و  $\text{Ar}$  ( $P=25\text{mw}$ ) و  $\text{He-Ne}$  ( $P=25\text{mw}$ ) با زمان‌های متفاوت طبق جداول ۱ و ۲ با چگالی انرژی  $0/5 \text{ J/cm}^2$  - ۱۰ انتخاب شدند. چگالی انرژی برای لیزرهای  $\text{GaAlAs}$  و  $\text{He-Ne}$  در عرض سه روز کشت (۷۲ ساعته) از  $10^{\text{J/cm}^2}$  -  $0/5$  تعیین گردید. اندازه لکه لیزری<sup>۱</sup> برای لیزرهای  $\text{Ar}$  و  $\text{He-Ne}$   $3\text{mm}$  و  $2\text{mm}$ ،  $3\text{mm}$  تعیین گردید. و برای اینکه برای سلول‌های موجود در ظرف حاوی کشت تحت تابش لیزری قرار گیرند و در حین تابش ظرف، علاوه بر چرخش  $360^{\text{O}}$  در امتداد قائم با دامنه  $3/5 \text{ cm}$  حرکت می‌کرد. روش آماری در این پروژه به صورت مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD با

<sup>۱</sup> Spot Size

**جدول شماره ۱:** جدول تغییرات لئوسیت‌های نمونه‌های لیزرتابی

نسبت به نمونه‌های شاهد با  $LSD=150/86$

میانگین پلاک متافازی شمارشی برای گروه شاهد	پلاک شمارشی متافازی در اثر لیزر تابی با چگالی مزبور	Ar ( $\lambda=488nm$ )
		چگالی انرژی $J/cm^2$
۴۰۷	۳۹۹	$P=20mw$ و $t=20S$ (۰/۵)
	۴۵۹	$P=20mw$ و $t=40S$ (۱)
	۳۹۵	$P=20mw$ و $t=60S$ (۱/۵)
	۴۵۵	$P=20mw$ و $t=120S$ (۳)
	۴۲۰	$P=20mw$ و $t=160S$ (۴)
	۳۹۲	$P=20mw$ و $t=180S$ (۴/۵)
	۴۳۰	$P=20mw$ و $t=240S$ (۶)
	۴۳۷	$P=20mw$ و $t=300S$ (۷/۵)
	۴۳۵	$P=20mw$ و $t=360S$ (۹)
	۳۹۸	$P=20mw$ و $t=400S$ (۱۰)

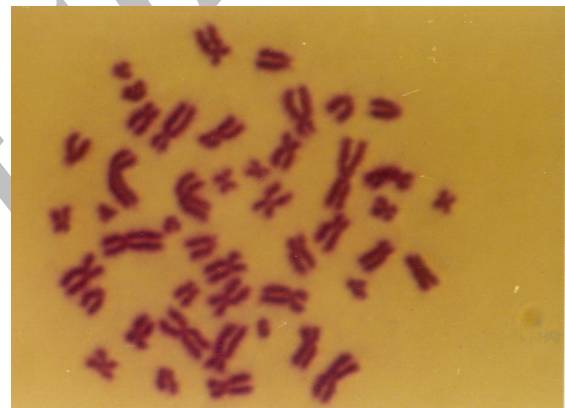
با توجه به جداول ۲ و ۳ تابش انرژی  $(0/5-1/5 J/cm^2)$  Ga-Al-As و  $(0/5-4 J/cm^2)$  He-Ne فعالیت میتوتیک سلول‌ها افزایش و با تابش‌های  $10-6 J/cm^2$  این میزان نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است. بنابراین در محدوده  $0/5-4 J/cm^2$  برای لیزر He-Ne ( $\lambda=632/8nm$ ) و در محدوده  $0/5-1/5 J/cm^2$  برای لیزر Ga-Al-As ( $\lambda=810nm$ ) اختلاف فعالیت میتوتیک با گروه شاهد معنی‌دار است.

**جدول شماره ۲:** جدول تغییرات لئوسیت‌های نمونه‌های لیزرتابی

نسبت به نمونه‌های شاهد با  $LSD=235/84$

میانگین پلاک متافازی شمارشی برای گروه شاهد	پلاک شمارشی متافازی در اثر لیزرتابی با چگالی مزبور	He-Ne ( $\lambda=632/8nm$ )
		چگالی انرژی $J/cm^2$
۴۱۶	۸۳۲	$P=20mw$ و $t=20S$ (۰/۵)
	۸۲۲	$P=20mw$ و $t=40S$ (۱)
	۸۰۱	$P=20mw$ و $t=60S$ (۱/۵)
	۶۹۰	$P=20mw$ و $t=120S$ (۳)
	۷۸۰	$P=20mw$ و $t=160S$ (۴)
	۵۲۸	$P=20mw$ و $t=180S$ (۴/۵)
	۵۵۰	$P=20mw$ و $t=240S$ (۶)
	۵۶۲	$P=20mw$ و $t=300S$ (۷/۵)
	۵۸۵	$P=20mw$ و $t=360S$ (۹)
	۵۶۷	$P=20mw$ و $t=400S$ (۱۰)

سطح ۰.۵٪ و درجه آزادی ۹ برای لیزر He-Ne و Ar و با درجه آزادی ۷ برابر لیزر Ga-Al-As استفاده گردید. چون نمونه‌های شاهد با نمونه‌های آزمون مقایسه شده بود به این دلیل از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار<sup>۱</sup> در این فرایند پژوهشی استفاده گردید. لیزر He-Ne مورد استفاده در این پژوهش کلاس دو با Beam Size (2mm) ساخت سازمان انرژی اتمی مدل IR-2000 که با ولتاژ 220 V برای آزمایشات ما مورد استفاده قرار می‌گرفت. لیزر GaALAS با Beam Size (3mm) ساخت شرکت المپوس سنگاپور و مدل آن Vitagnost بود. لیزر Ar مورد استفاده در این پژوهش که در انرژی اتمی واحد بناب نصب شده بود با قدرت بالا و برق سه فاز قادر به فعالیت بود و Beam Size 3mm مدل BO5-BO10 و ساخت همان مرکز انرژی اتمی بناب بود.



شکل شماره ۱: پلاک متافازی حاصل از گسترش کروموزومی

سلول خونی لئوسیت را نشان می‌دهد

**یافته‌ها**

همانطوری که ملاحظه می‌شود میزان پلاک‌های متافازی در لام‌های حاصل از لیزر تابی Ga-Al-As و He-Ne به ترتیب با  $\lambda=810nm$  و  $\lambda=632/8nm$  نسبت به لام‌های حاصل از سلول‌های خونی گروه شاهد یک و نیم و نزد یک به دو برابر شده است، پس افزایش سرعت تکثیر سلولی لئوسیت‌ها در یک رنج از چگالی انرژی و طول موج بخصوصی در لیزر اتفاق می‌افتد با عنایت به جدول ۱ می‌توان نتیجه‌گیری نمود که تابش لیزر با  $\lambda=488nm$  مربوط به لیزر پیوسته Ar، هیچگونه تأثیری در سرعت تکثیر سلول‌های لئوسیتی ندارد.

<sup>1</sup> Least Significant Difference

بررسی سه لیزر کم توان بر سرعت تکثیر پلاک‌های متافازی لنفوسیت‌های خونی در شرایط (Invitro)

جدول شماره ۳: جدول تغییرات لنفوسیت‌های نمونه‌های لیزرتابی نسبت به نمونه‌های شاهد با  $LSD=209/67$

میانگین پلاک متافازی شمارشی برای گروه شاهد	پلاک شمارشی متافازی در اثر لیزر تابی با چگالی مزبور	GaALA ( $\lambda=810\text{nm}$ )
		چگالی انرژی $\text{J/cm}^2$
۴۰۰	۶۱۲	$P=50\text{mw}$ و $t=10\text{S}$ (۰/۵)
	۶۱۰	$P=50\text{mw}$ و $t=20\text{S}$ (۱)
	۶۴۴	$P=50\text{mw}$ و $t=30\text{S}$ (۱/۵)
	۵۰۲	$P=50\text{mw}$ و $t=40\text{S}$ (۲)
	۵۰۰	$P=50\text{mw}$ و $t=50\text{S}$ (۲/۵)
	۵۲۷	$P=50\text{mw}$ و $t=120\text{S}$ (۶)
	۵۳۱	$P=50\text{mw}$ و $t=180\text{S}$ (۹)
	۵۲۲	$P=50\text{mw}$ و $t=200\text{S}$ (۱۰)

به سه قسمت تقسیم شده و مشتمل بر اثرات تحریک زیستی ضدالتهابی و ضد درد بود (۱۷). لذا ما در شرایط (in vitro) پژوهش، فقط می‌توانستیم اثر تحریک زیستی آن را مورد بررسی و ارزیابی قرار دهیم. اثر تحریک زیستی لیزرهای کم توان در این پژوهش مؤکد مورد بررسی قرار گرفت. از آنجایی که تأثیرات لیزر کم توانی چون Ga-Al-As بر روی استخوان‌سازی در مراحل اولیه در برزیل توسط Catolica dc و همکارانش صورت گرفت از لیزر rat Ga-Al-As یک عنوان مثبت در روند استخوان‌سازی rat ۴۰ یاد شد که معمولاً با دوز تابش  $4/8\text{J/cm}^2$  توأم با جلسات تابشی ۳ روز و به مدت یک دقیقه صورت گرفته، همواره تکثیر سلول‌های خونی لنفوسیتی با دوزاژ پائینی از پرتو لیزری با زمان کم ایجاد شده در این پروژه را تأیید می‌کند (۲۳). از طرفی تأثیر تابش لیزر کم توان بر اوستیوسیت‌ها و میزان جذب مجدد استخوان ۵ بایون با  $\lambda=690\text{nm}$  توسط دانشمندان اطریشی در دانشگاه وین صورت گرفته که افزایش اوستیوسیت‌های زنده در بافت تابش یافته را به صورت معنی‌داری نشان داده در حالیکه میزان جذب مجدد استخوان نسبت به گروه‌های کنترل افزایش معنی‌داری را نشان نداد (۲۴). از طرفی ارزیابی‌هایی که Oron و همکارانش از تأثیر لیزر کم توان بر روی سلول‌های ماهیچه‌ای، نمودند می‌توان از فعال شدن سلول‌های ماهیچه‌ای و ورود دوباره آنها به چرخه سلولی که رژنراسیون سلول‌های ماهیچه‌ای را به دنبال داشت یاد نمود (۲۵). در ضمن تحقیقی که Yucl و همکارانش با استفاده از لیزر He-Ne بر روی ملانوسیت‌های بافت

در مقایسه طول موج‌های مختلف، بیشترین تحریک تکثیر سلولی لنفوسیتی در لیزر ( $\lambda=632/8\text{nm}$ ) He-Ne مشاهده گردید. در حالیکه جدول شماره ۲ مربوط به لیزر Ar با ( $\lambda=488\text{nm}$ ) با چگالی‌های انرژی متفاوت معین می‌سازد که هیچ تغییری در فرآیندهای تکثیر سلولی لنفوسیتی ایجاد نشده است. با عنایت به اینکه در چگالی‌های انرژی و طول موج‌هایی خاص از فرآیندهای پرتوتابی اپتیکی لیزری تکثیر سلول لنفوسیتی ایجاد شده، بنابر این کم و بیش می‌توان تأثیر تابش لیزر کم توان را در افزایش سنتز ATP و DNA و RNA را در ساختار هسته و سیتوپلاسم سلول خونی، چون لنفوسیت را تأیید کرد، چون این فاکتورها جزء ملزومات فرآیند تکثیر سلولی محسوب می‌شود.

### بحث

اگر چه درمان بیماری‌های مختلف با استفاده از تابش لیزرهای کم توان به طور روز افزونی در مجامع بزرگ رواج یافته است و بسیاری از محققان تأثیرات تحریک زیستی این پرتوها را در مطالعات مختلف نشان داده‌اند، اما مکانیسم دقیق درون سلولی آنها همچنان ناشناخته است (۱) به نظر می‌رسد که پس از جذب پرتو اپتیکی لیزر، سیستم اکسیداسیون احیاء درون سلولی تحریک شده و منجر به افزایش pH درون سلولی می‌گردد که به نوبه خود تکثیر سلولی را تحریک می‌کند (۵). مطالعات نشان داده اند که سطح ATP درون میتوکندری‌ها پس از تابش طول موج مناسبی از لیزر افزایش می‌یابد (۱۷). با عنایت به اینکه تأثیرات لیزر کم توان

تحقیقات دکتر کویانی و همکارانش در سال ۱۳۸۰ رسیده تأثیر لیزر Ga-Al-As در بیماران Lymphedema مثبت ارزیابی شده است (۳۲). چون این لیزرها التهاب و درد، میزان ادم، آزادسازی فاکتورهای درون زائی را که باعث درد می شود می کاهند (۳۳). البته می توان تکثیر سلول های لنفوسیتی خون در اثر پرتو لیزر کم توان، تا حدی به تأثیر گذاری این لیزرها بر افزایش فعالیت آنزیمی این گونه از سلول ها دانست (۱۰). چون پژوهشگران روسی تأثیر چگالهای انرژی لیزرهای کم توان را  $0.3 - 1/2 \text{ J/cm}^2$  و  $\lambda = 540 \text{ nm}$  بر فعالیت کاتالاز سوپراکسید دسموتاز نوتروفیل ها را بررسی نموده و متوجه شدند که فعالیت آنزیمی این سلول ها به صورت معنی دار افزایش یافته و روند تولید متابولیت های اکسیژن را بهبود بخشیده است (۲۱). همچنین مطالعه ای که دانشمندان اطریشی بر روی تأثیرات لیزر کم توان He-Ne با  $\lambda = 632/8 \text{ nm}$  بر میزان گردش خون پوستی در بیماران دیابت انجام دادند و موفق به افزایش میزان جریان خون در این افراد گردیدند مهر تأیید دیگر بر روند پروژه ما محسوب می شود (۲۰). از آنجایی که لنفوسیت ها منابع خونی مهمی به عنوان واسطه های موثر در ترمیم زخم ها هستند لذا افزایش این سلول ها در اثر پرتوهای لیزری کم توان، نقش ویژه ای در رابطه با بهبود سریعتر زخم ها می تواند داشته باشند (۲۸). علاوه بر واکنش های لنفوسیتی، نقش ماکروفاژها در تسریع بهبود زخم با استفاده از لیزر کم توان بررسی شده و معین شده که تابش پرتو لیزری  $600 - 880 \text{ nm}$  موجب رها شدن فاکتورهای تحریک کننده تکثیر سلولی از ماکروفاژها گردید که در اثر همین موضوع، فاز تکثیر سلولی و به دنبال آن ترمیم قسمت آسیب دیده با سرعت بیشتر می تواند صورت گیرد (۲۲) (۳۰).

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از مرکز تحقیقات لیزری و آزمایشگاه رادیوبیولوژی سازمان انرژی اتمی که در این رابطه ما را صمیمانه یاری نمودند تقدیر و تشکر می نمایم.

### References:

1. Busford JR. Low intensity laser therapy: Still not an established clinical tool Lasers. Surg Med 1995. 1995(16): 331-342.
2. Flemming K, Cullum N. Laser therapy for the treatment of venous leg

ulcers/(computer /program) Oxford: 1999.Update software.

03. Lucas C. Stanborough RW, Freeman CL Haan de efficacy of low level laser therapy on wound healing in human

پوستی انجام داد از تأثیر مثبت این لیزر در افزایش تولید فاکتور رشد فیروبلاست و رشد عصبی و همچنین افزایش میزان مهاجرت ملانوسیت های پوستی در اثر پرتو لیزری He-Ne خبر داد (۲۷). اما در پژوهش Sroka و همکارانش مقایسه تأثیر لیزر بر روی سلول های سالم و سرطانی معین شده که چگالی انرژی و طول موج هایی که فعالیت میتوتیک سلول های سالم را تحریک می کنند، تکثیر سلول های سرطانی را نیز می تواند به دنبال داشته باشد (۴). Schneider همچنین در تحقیقی معین کرد که هم دوس بودن نور لیزری تأثیری در تحریک سلولی نداشته، بلکه انرژی مشخصی از یک طول موج مشخص نور جهت تحریک سلولی لازم است و لیزر در انرژی های بالاتر دارای اثرات مهاری نیز بوده، چنانکه تکثیر بیشتر رده های سلول سرطانی با هر چگالی یا توانی از تابش لیزری دچار مهار می شود، هر چند این موضوع تا حدودی به منشاء سلول مزبور نیز بستگی دارد (۱۹). این مطلب به میزان قابل توجهی روند پروژه ما را که در تلاش بودیم پاسخ سلول های لنفوسیتی خون را در چگالی انرژی های مختلف و طول موج های متفاوت لیزر کم توان ارزیابی کنیم، مورد تأیید قرار می دهد. چون بیشترین تحریک و تکثیر پلاک های متافازی در انرژی  $4 \text{ J/cm}^2$  و  $0.5 - 1/5 \text{ J/cm}^2$  در سلول های خونی لنفوسیتی ایجاد شده و در چگالی انرژی  $6 - 10 \text{ J/cm}^2$  پلاکای متافازی مهار شده که آزمون ها با طول موج مشخصی از لیزرها و با محدوده خاصی از چگالی انرژی آنها توأم بوده است، مطابقت دارد. همچنین آخرین گزارش هایی که از تحقیقات دکتر صادقی پور و همکارانش در سال ۱۳۸۰ در رابطه با تأثیرات مثبت با لیزر کم توان رسیده است حاکی است که این لیزرها افزایش سرعت رژنراسیون عضله آسیب دیده، افزایش سرعت ترمیم استخوان آسیب دیده و بهبود سریعتر شکستگی و جلوگیری از تغییرات بیومکانیکال ایجاد شده در اثر بی حرکتی مفصلی را موجب می شوند (۳۱). علاوه بر اثرات مثبت در تکثیر سلولی لنفوسیتی پرتوهای لیزری کم توان، این لیزرها در بهبود تورم و علائم عمومی بیماران مانند درد، احساس کمرختی و سوزش و سنگینی می تواند موثر واقع شوند چون شواهدی که از

- subjects. *Lasers Med Sci* 2000;15: 84-93.
04. Sroka S, Weiss RA, Karu T, Barash I. Effects on the Mitosis of normal and tumor cells induced by light treatment of different wavelengths. *Lasers in Surgery and Medicine* 1999; 25: 263-271.
05. Chino Chung – Chin. Cytogenic effects of low level laser irradiation of human leukocytes. *Laser Therapy*. 1990; 2: 111.
06. Henderson AR. Laser radiation hazards. *Optics and Laser Technology* 1984;2:75.
07. Carruters J, Anderson R, Goldberg D. Laser world – am LLLT Guide Available from URL: <http://www.Laser.world.org> [cited May 9]
۰۸. عترتی خسرو شاهی م: دومین دوره آموزش کاربردهای لیزر در پزشکی، تهران: دانشگاه صنعتی امیر کبیر. خرداد ۱۳۷۵. صفحات ۳۲-۳۵
۰۹. عترتی خسرو شاهی م: نخستین کنفرانس ملی کاربردهای لیزر در پزشکی و مهندسی پزشکی، اردیبهشت ۱۳۸۱ دانشگاه صنعتی امیر کبیر. صفحات ۴۰-۵۲.
10. Kendall CA, Fitzpatrick D. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Euro J obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* 2003 May; 108 (1): 75-9.
11. Mackety C. The Biomedical Laser. Cornell University. Available from URL: [www.cornell.edu](http://www.cornell.edu). [cited 2003 June 2]
12. Navarro L, Min RJ, Bone C. Endovenous Laser: A new minimally invasive method of treatment for varicose veins preliminary observations using an 810nm diode laser. *Dermatol Surg* 2001; 27: 117-122. 262 CHANG AND CHUA.
13. Ashley S, Kester RC. Laser angioplasty. *J Surg* 1993; 80: 550-551.
14. Babapoure R, Glassberg E, Lask GP. Low energy laser systems clinics in dermatology 1995; 13: 87-90.
15. Braverman B, Mc Carthy RJ, Invankovich AD. Effects of He-Ne an infrared laser irradiation on wound healing in rabbits. *Laser Surg Med* 1989; 9: 50-8.
۱۶. آذر فام پ: ارزیابی تأثیرات لیزر آرگون سبز بر کروموزوم‌های لنفوسیت‌های خون محیطی انسان در شرایط (Invitro). پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه علوم پزشکی تبریز سال ۱۳۷۴. صفحات ۳۳-۳۴
17. Goldman MP, Morton CA, Ready JF. Cutaneous laser surgery. 2nd ed. New York: Mosby; 1999. pp 661-5.
18. Sakihama H. Effect of a He-Ne laser on calcaneus in inflammation. *Kurume Med J* 1995; 42: 299-305.
19. Schneider WL, Hailey D. LLLT for wound healing: A health technology report. Alberta Heritage Foundation for Medical Research 2001. [cited June 2] Available from URL: <http://www.ahfmr.ab.ca>
20. Bihari I, Mester Ar. The biostimulative effect of low level laser therapy on longstanding crural ulcers using He-Ne pulse infrared lasers. *Laser Therapy* 1989; 1:75-80.
21. Ohta A, Erf RK, Daiy JM. Laser modulation of human immune system: Inhibition of lymphocyte proliferation by a Ga-Al-As laser at low energy. *Lasers Surg Med* 1987;7:199-201.
22. Young S, Bolton P, Dyson M. Macrophage responsiveness to light therapy. *Lasers Surg Med* 1989;9:497-505.
23. Catolica DS, Bertolucci LE, Gray T, Hallmark C. Effects L.L.L Ga-Al-As on the osteogenic. *J Clin Laser Med Surg* 2002; 20(2): 83-7.
24. Bradley PF, Reblini Z. Effects L.L.L on the osteocytes and bone resorption, *Clin Oral Implants Res* 2002; 13(3): 288-92.
25. Oron U, Barash I, Ribari O, Hanssont T, Bezuur NJ, Effects L.L.L on the increasing synthesis protein rate in

- myteblasts. *Biochim Biophys Acta* 2003 Feb; 17(2-3): 131-9.
۲۶. اسماعیلی جاوید غ: درمان لیزرهای کم توان. بولتن علمی لیزر پزشکی مهر ۱۳۸۱- شماره ۲ صفحات ۶-۷.
27. Yucl WU, Mishenkin N , Begomilskii MR, Effects L.L.L He-Ne on the increasing melanocytes. *J Investigational Dermatology*. 2003; 120(1): 56-64.
28. Walker J. Relief from chronic pain by low power laser Irradiation. *Neuro Science Letters*. 1983; 43 : 339.
29. Snyder FN-Makler L, Barry AJ, Percins AI, Soucek MD. Johnson J. Effect of He – Ne laser irradiation on skin resistance and pain in patients with trigger points in the neck or back. *Physical Therapy* 1989; 69(5): 336-341.
30. Kana Js , Bertolucci LE , Gray T , Fuller TE , Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Arch Surg* 1981; 116:223.
۳۱. صادقی پور غ، عطائی ل، زند ن، شباهنگفر مر، صابری ه: LLLT در درمان بیماریهای موسکولواسکلتال. بولتن علمی لیزر پزشکی، تهران شهریور ۸۱ شماره ۲، ص ۵.
۳۲. کاویانی، الف، عزیزی ف، لاریجانی ب، پروفیسور لونگو ل، عطائی ل، افشاری م (و دیگران): بررسی اثرات Ga-Al-As, L.L.L در درمان Lymphedema ایجاد شده پس از درمان سرطان پستان در زنان مراجعه کننده به مرکز بیماری های پستان بولتن علمی لیزر پزشکی شماره ۷ تیرماه ۱۳۸۱ ص ۲.
۳۳. مرتضوی م ج، بصیرنیا الف، شریفی ر، صادقی پور غ، زرین دست مر، جمالی زواره م: بررسی اثر بخش L.L.L در درمان اپی کند یلیت خارجی. بولتن علمی لیزر پزشکی شماره ۲ شهریور ۸۱ ص ۲.