

بررسی هیستولوژیک ترمیم زخم باز با استفاده از نور آبی هالوژنه با طول موج ۵۰۰-۴۲۰ نانومتر

وحید چنگیزی^{۱*}، محمد علی نیلروش زاده^۲، پرینا کاکانژادیان^۳، حمیرا مردانی^۴

۱- استادیار گروه تکنولوژی رادیولوژی و رادیوتراپی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- دانشیار گروه پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- کارشناس ارشد بیوفیزیک، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

۴- استادیار گروه پوست، مرکز تحقیقات پرفسور ترابی نژاد اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۳/۳۱

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۱۰

چکیده

مقدمه: ترمیم زخم عبارت است از پاسخ های ترمیمی هماهنگ سلول های خونی ماتریکس خارج سلولی و سلول های پارانشیمال که پس از اعمال جراحی و یا آسیب های حاصل از ضربه (که منجر به پارگی بافت گردند) در بدن انجام می شود. گاهی به علت اختلال در روند التیام زخم، اسکار حاصله از زخم بزرگ شده و سرانجام کلونید یا اسکار هیپرتروفیک ایجاد می شود. از آنجا که در حال حاضر روشی مطرح در کلینیک ها برای تسریع در ترمیم زخم وجود ندارد، در تحقیق حاضر اثرات نور آبی هالوژنه (نور دستگاه لایت کیور با طول موج ۵۰۰-۴۲۰ نانومتر) بر ترمیم زخم باز پوست موش بررسی گردید.

مواد و روشها: ۴۰ موش نر نژاد NMRI به طور تصادفی در گروه های شاهد و تجربی یک و دو قرار گرفتند. بارعایت شرایط استریل و تحت بیهوشی یک زخم مدور به قطر ۶ میلی متر و با ضخامت کامل پوست در پشت هر موش ایجاد شد. روز جراحی روز صفر محسوب گردید. از روز یک بطور روزانه به همه موشها نور آبی هالوژنه با طول موج ۵۰۰-۴۲۰ نانومتر تابیده شد. در روزهای ۳، ۷، ۱۰، ۱۵ و ۲۱ بعد از انجام پرتو دهی روزانه، موشها بوسیله اتر کشته شدند و دو نمونه از بستر زخم و پوست سالم مجاور از هر موش برداشته شدند. نمونه های مربوط به مطالعات بافت شناختی ثابت شدند و مراحل کار عملی بافت شناختی عمومی بر روی آنها به عمل آمد. برشهایی به ضخامت ۵ میکرون از آنها تهیه و با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین آئوزین رنگ شدند. میزان بهبودی زخم با استفاده از میزان فیبروبلاست، میزان التهاب، میزان اپیتلیزاسیون و میزان آندوتلیوم عروق بررسی گردید.

نتایج: بافت فیبروز در روزهای ۳، ۷، ۱۰، ۱۵ و ۲۱ از میانگین های به ترتیب ۴/۷، ۱/۷، ۲/۲، ۲/۷ و ۳/۵ در گروه کنترل به میانگین های ۴/۲، ۱، ۱/۸، ۲/۴ و ۳/۲ در گروه تیمار رسید. امتیازهای نزدیکتر به یک کاملتر شدن تشکیل بافت فیبروتیک را می رساند. کاهش التهاب گروه تجربی نسبت به گروه شاهد نیز در روزهای ۳، ۷، ۱۰، ۱۵ و ۲۱ از میانگین های ۴/۸، ۳/۷، ۳، ۱/۷ و ۱ به میانگین های ۴/۲، ۳/۲، ۲/۵، ۱/۲ و ۰/۹ انجام گردید. اختلافات مقادیر ذکر شده معنی دار ارزیابی گردیدند ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری: تابش روزانه نور آبی هالوژنه (نور دستگاه لایت کیور) با طول موج ۵۰۰-۴۲۰ نانومتر بر زخم باز پوستی با ضخامت کامل موجب تسریع معنی دار روند التیام زخم گردید. (مجله فیزیکی پزشکی ایران، دوره ۷، شماره ۳، پیاپی (۲۸)، پاییز ۸۹-۱۴۰۹)

واژگان کلیدی: التیام زخم، موش نر، لایت کیور

* نویسنده مسؤول: وحید چنگیزی

آدرس: گروه تکنولوژی رادیولوژی و رادیوتراپی، دانشکده پیراپزشکی،
دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران changizi@sina.tums.ac.ir

تلفن: ۸۸۹۵۶۰۵۷ (۲۱) ۹۸+

۱- مقدمه

ترمیم زخم عبارت است از پاسخ های ترمیمی هماهنگ سلول های خونی ماتریکس خارج سلولی و سلول های پارانشیمال که پس از اعمال جراحی و یا آسیب های حاصل از ضربه (که منجر به پارگی بافت گردند) در بدن انجام می شود. این پاسخها بصورت اساسی با مراقبتهای قبل و بعد از جراحی و مراقبتهای پس از ضربه مرتبط است. به این صورت ترمیم زخم مشکلی دائمی در جراحیها است و تمام جراحان باید در مورد مسائلی که باعث عدم ترمیم زخم و یا تاخیر در آن می شود آگاه باشند [۲ و ۱]. تمامی عرصه های جراحی و بسیاری از زمینه های غیر جراحی در طب بر عملکرد صحیح روند ترمیم زخم تکیه دارند. همه زخمها در نهایت با تشکیل اسکار بهبود می یابند. اسکار نسج سفیدی است که در پایان التیام زخم بصورت خط ظریفی روی پوست برجای می ماند. گاهی به علت اختلال در روند التیام زخم، اسکار حاصله از زخم بزرگ شده و سرانجام کلوتید یا اسکار هیپر تروفیک ایجاد می شود. سن، نژاد، محل زخم، خطوط فشار بدن، بیماریهای همراه، داروها و تکنیکهای جراحی همگی بر روی تشکیل اسکار تاثیر می گذارند [۱].

عوامل فیزیکی مانند اشعه ماوراء بنفش [۳]، تحریکات الکتریکی [۴] امواج اولتراسوند [۵] در ترمیم زخم مطرح می باشند.

مستر و همکارانش در سال ۱۹۷۳ اثر مثبت لیزر کم توان هلیوم-نئون بر التیام زخم باز پوست را نشان دادند. آنها اعلام نمودند که تابش این نوع لیزر بر زخم باز پوست موجب افزایش ۳۰ الی ۵۰ درصدی سنتز کلاژن می شود [۶]. مالم و همکاران در سال ۱۹۹۱ لیزر کم توان هلیوم-نئون را بی اثر روی زخم های وریدی دانسته اند [۷]. ال سید و همکاران در سال ۱۹۹۶ و پوگرل و همکاران در سال ۱۹۹۷ اثر بخشی لیزر کم توان گالیوم را بررسی نمودند [۸ و ۹]. آنها نشان دادند لیزر کم توان گالیوم سبب افزایش سنتز پروکلاژن توسط فیبروبلاست ها و افزایش

ماست سل ها می گردد و این تغییرات باعث سرعت ترمیم زخم می گردد.

پاپاجورجیو و همکارانش در سال ۲۰۰۰ گزارش کردند که زخمهای التهابی با استفاده از نور آبی تا ۶۳ درصد درمان می شوند. آنها اعلام نمودند که نور آبی به علت خاصیت ضد باکتری و ضد التهابی در درمان آکنه موثر می باشد. پاپاجورجیو و همکارانش نشان دادند افزایش تعداد فیبروبلاستهای گروه کنترل در مقایسه با گروه شاهد از نظر آماری معنی دار است [۱۰].

لونار و همکاران در سال ۲۰۰۲ ضمن بررسی منحنی جذب نشان دادند بیشترین میزان جذب نور در طول موج ۴۷۰ نانومتر رخ می دهد [۱۱]. توکلی و همکاران نیز در سال ۲۰۰۴ پدیده اتساع عروق در اثر گرما را دارای اثر مثبت در ترمیم زخم ارزیابی نمودند [۱۲].

با توجه به اینکه تاکنون روش مؤثری برای التیام زخم معرفی نشده است، این مطالعه به منظور دسترسی به یک روش فیزیکی با قابلیت ترمیم مناسب، آسان و کم هزینه به اثر نور آبی هالوژنه حاصل از دستگاه لایت کیور روی روند ترمیم زخم جلدی باز موش نر نژاد NMRI پرداخت.

۲- مواد و روشها

تحقیق به روش تجربی صورت گرفت. در این مطالعه ۴۰ عدد موش نر نژاد NMRI بالغ با وزن بین ۲۵-۲۰ گرم که دو به دو مشابه و به یک نسل تعلق داشتند در دو گروه تحت آزمون و کنترل قرار گرفتند. در اتاق حیوانات نور اتاق به طور خودکار هر ۱۲ ساعت قطع و وصل می گشت. تهویه هوای آن نیز به صورت خودکار صورت می پذیرفت. دمای اتاق بین ۲۵-۲۰ درجه سلسیوس ثابت بود و در این مدت آب و غذای کافی در اختیار موش ها قرار داشت.

پس از اینکه موش ها به مدت یک هفته جهت سازگاری در محیط جدید قرار گرفتند، حیوان را با اتر بیهوش کرده و موهای پشت گردن حیوان در سطح ۲×۲ سانتی متر مربع

رنگ آمیزی به عمل می آمد. در این زمان نمونه‌ها مورد بررسی دقیق میکروسکوپی قرار می گرفتند. موارد بررسی شده شامل میزان التهاب، میزان فیبروز در محل جراحی، میزان آندوتلیوم عروق و میزان اپیتلیزاسیون نمونه‌ها بودند.

میزان بهبودی بر اساس امتیاز دهی به پارامترهای آسیب شناسی به شرح زیر تعیین گردید که با توجه به مطالعات مختلف توسط پژوهشگران تهیه شده بود:

امتیاز یک- اپیتلیزاسیون کامل، تشکیل بافت فیبروتیک کامل، تعداد عروق زیاد و آماس وجود ندارد.

امتیاز دو- آماس وجود ندارد، تعداد عروق، اپیتلیزاسیون و فیبروبلاست متوسط می باشد.

امتیاز سه - اپیتلیزاسیون و فیبروبلاست در حد کم و همینطور تعداد عروق و آماس نیز خفیف می باشد. امتیاز چهار- به مواردی تعلق گرفت که اپیتلیزاسیون مجدد (تکثیر و مهاجرت سلولهای اپیتلیال) و بافت فیبروتیک در حد کم وجود داشته تعداد عروق کم و آماس حاد می باشد.

امتیاز پنج - اپیتلیزاسیون مجدد و بافت فیبروتیک وجود نداشته و تعداد عروق کم و آماس حاد می باشد.

نتایج به دست آمده از گروههای ذکر شده به کمک نرم افزار SPSS (نسخه ۱-۱۰) و انجام آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) مورد بررسی قرار می گرفتند. سطح معنی دار در این حالت $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

۳- نتایج

نتایج نشان می دهد در روزهای سوم، هفتم، دهم، پانزده و بیست و یکم بررسی، میزان التهاب گروه تیمار در مقایسه با کنترل معنی دار بوده ($p \leq 0.05$) که در جدول (۱) مشخص می باشد.

تراشیده و بوسیله بتادین (محصول شرکت سهامی تولید داروی ایران) ضد عفونی شد.

روز بعد از تراشیدن مو موش ها با اتر بیهوش می شدند و سپس یک زخم پوستی دایره‌ای شکل به قطر ۶ میلی متر بوسیله پانچ پوستی در ناحیه تراشیده شده ایجاد می گشت. عمق زخم شامل درم و هیپودرم (تمام ضخامت) بود. برای جلوگیری از عفونت، به تمام نمونه‌ها ویال حیوانی پنی سیلین و جنتامایسین (محصول کارخانه جابرحیان، ایران) (۰/۲ میلی لیتر) به صورت داخل عضلانی تزریق گردید. سپس برای ثابت نگه داشتن حیوان در هنگام تیمار از یک سرنگ گاوی استفاده شد.

روز جراحی در این مطالعه روز صفر محسوب می گشت. از روز بعد از عمل در گروه تیمار، زخم‌ها در طی ۷ روز با استفاده از نور دستگاه لایت کیور (Colten، ساخت آلمان) با طول موج ۴۲۰-۵۰۰ نانومتر و یکبار در روز و به مدت ۵ دقیقه مورد تابش قرار می گرفتند. فاصله تقریبی سرپررب دستگاه از پوست حداکثر ۱ سانتی متر بود. زاویه تابش طبق قانون فرنل عمود انتخاب گردید تا حداکثر جذب و نفوذ اشعه وجود داشته باشد. در طی این مدت بررسی روند ترمیم زخم به صورت میکروسکوپی صورت می گرفت.

در بررسی میکروسکوپی از هر گروه (تحت آزمون و کنترل) در روزهای ۳، ۷، ۱۰، ۱۵، ۲۱ چهار نمونه بطور تصادفی با در نظر گرفتن اینکه موشهای انتخابی در گروههای مورد نظر مربوط به یک نسل انتخاب شده و با دوز بالای بیهوشی کشته می شدند و نمونه برداری از محل زخم جهت مطالعه بافت شناسی انجام می گرفت. سپس نمونه‌ها در فرمالین ۱۰٪ قرار داده می شدند و پس از پایان کار از کلیه نمونه‌ها مقطع بافت شناسی تهیه و با روش هماتوکسیلین و اتوزین (H&E)

جدول ۱- میزان التهاب در گروههای کنترل و تیمار در روزهای ۳، ۷، ۱۰، ۱۵، ۲۱

| عامل ارزیابی | گروه | روز | | | | |
|--------------|-------|-----------|----------|----------|----------|---------|
| | | ۳ | ۷ | ۱۰ | ۱۵ | ۲۱ |
| التهاب | کنترل | ۴/۸۰±۰/۰۷ | ۳/۷±۰/۰۵ | ۳±۰/۱۰ | ۱/۷±۰/۰۱ | ۱±۰/۰۱ |
| | تیمار | ۴/۲±۰/۲ | ۳/۲±۰/۰۹ | ۲/۵±۰/۰۲ | ۱/۲±۰/۰۱ | ۱±۰/۰۰۱ |

جدول ۲- میزان فیبروز در گروههای کنترل و تیمار در روزهای ۳، ۷، ۱۰، ۱۵، ۲۱

| عامل ارزیابی | گروه | روز | | | | |
|--------------|-------|----------|----------|----------|----------|-------|
| | | ۳ | ۷ | ۱۰ | ۱۵ | ۲۱ |
| فیبروز | کنترل | ۴/۷±۱/۰۱ | ۱/۷±۰/۰۸ | ۲/۲±۰/۰۹ | ۲/۷±۰/۰۵ | ۳/۵±۱ |
| | تیمار | ۴/۲±۱/۰۱ | ۱±۰/۰۲ | ۱/۸±۰/۰۵ | ۲/۴±۰/۰۷ | ۳/۲±۱ |

میزان اپیتلیزاسیون (تکثیر و مهاجرت سلولهای اپیتلیال) اختلاف معنی داری ($p > 0.05$) بین دو گروه کنترل و تیمار دیده نشد (جدول ۳ و ۴).

در روزهای ۳، ۷، ۱۰، ۱۵ و ۲۱ بررسی، فزونی بافت فیبروتیک در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل معنی دار مشاهده گردید ($p \leq 0.05$). مقادیر در جدول (۲) نشان داده شده اند. در سایر موارد که عبارتند از تعداد عروق و

جدول ۳- میزان اپیتلیزاسیون در دو گروه کنترل و تیمار در روزهای ۳، ۷، ۱۰، ۱۵، ۲۱

| عامل ارزیابی | گروه | روز | | | | |
|--------------------|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | ۳ | ۷ | ۱۰ | ۱۵ | ۲۱ |
| میزان اپیتلیزاسیون | کنترل | ۵±۱/۱۰ | ۴/۵±۱/۰۳ | ۳/۶±۱/۰۱ | ۳/۱±۱ | ۲±۰/۰۹ |
| | تیمار | ۴/۹۸±۱/۲۰ | ۴/۴۲±۱/۰۱ | ۳/۵۲±۱/۰۱ | ۳/۹۹±۱/۰۱ | ۱/۹۵±۰/۰۲ |

جدول ۴- میزان آندوتلیوم عروق در دو گروه کنترل و تیمار در روزهای ۳، ۷، ۱۰، ۱۵، ۲۱

| عامل ارزیابی | گروه | روز | | | | |
|----------------------|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | ۳ | ۷ | ۱۰ | ۱۵ | ۲۱ |
| میزان آندوتلیوم عروق | کنترل | ۵±۱/۱۳ | ۴/۵±۱/۱۰ | ۴/۲۵±۱/۰۱ | ۳/۵±۱/۰۱ | ۲/۵±۰/۰۹ |
| | تیمار | ۴/۹۲±۱/۱۰ | ۴/۲۵±۱/۱۲ | ۴±۱/۱ | ۳/۲۵±۱/۰۱ | ۲/۴۷±۰/۰۵ |

افزایش میزان بافت فیبروتیک و متعاقب آن کلاژن را تأیید می کند. اگرچه در این مطالعه از نورآبی هالوژنه استفاده شد اما از لحاظ مکانیسم ترمیم زخم نتایج مشابه لیزر کم توان هلیوم - نئون به دست آمد. از سوی دیگر ال سید و همکاران در سال ۱۹۹۶ و پوگرل و همکاران در سال ۱۹۹۷ نیز ترمیم زخم با لیزر کم توان گالیوم را در نتیجه افزایش سنتز کلاژن حاصل از فیبروبلاستها دانستند [۸،۹]. بنابراین می توان نتیجه گرفت نورآبی هالوژنه مکانیسمی مشابه لیزرهای کم توان در افزایش سنتز کلاژن

۴- بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر بیانگر این است که تابش نور آبی هالوژنه با طول موج ۴۲۰-۵۰۰ نانومتر حاصل از دستگاه لایت کیور روی زخم باز پوست موش نر نژاد NMRI موجب تسریع روند بهبودی زخم می شود. مستر و همکارانش نیز در سال ۱۹۷۳ ترمیم زخم را با لیزر کم توان هلیوم - نئون گزارش نمودند [۶]. آنها افزایش ترمیم را به افزایش کلاژن نسبت دادند. مطالعه حاضر نیز

زخمهای سطحی و عفونتهای پوستی موثر است چرا که مقدار کافی خون به ناحیه مورد نظر می رسد و در صورت وجود عفونت نیز افزایش گردش خون سبب افزایش تعداد گلبولهای سفید و کمک به نابودی باکتریها می کند. البته یکی از مزایای استفاده از نور دستگاه لایت کیور ارزان بودن آن نسبت به لیزر و دستگاه LED می باشد که بیماران می توانند آن را خریداری و در منزل استفاده کنند. در مجموع بررسی حاضر برای اولین بار نشان داد که نور آبی هالوژنه دستگاه لایت کیور ترمیم زخم باز پوستی را در موش نر نژاد NMRI تسریع می کند. البته قبل از استفاده از آن در انسان، کارآزمایی بالینی ضروری است و همچنین شناخت دقیق همه ساز و کارهای مطرح شده در فوق از قبیل اثر آن روی سنتز کلاژن، روی کاهش التهاب، روی افزایش جریان خون در موضع زخم را می طلبد.

۵- تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل کار تحقیقاتی مشترک دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، مرکز تحقیقات پروفیسور ترابی نژاد اصفهان می باشد. مراکز فوق حمایت مالی این مطالعه را به عهده داشته اند.

و متعاقب آن ترمیم زخم دارد. البته مالم و همکاران در سال ۱۹۹۱ لیزر کم توان هلیوم - نئون را بی اثر روی زخم های وریدی دانسته اند [۷].

همانطور که پاپاجورجیو و همکاران در سال ۲۰۰۰ اثر ضد باکتری و ضد التهابی نور آبی هالوژنه را نشان دادند، این مطالعه نیز نشان داد نور آبی هالوژنه با افزایش معنی دار فیروبلاست ها به طور معنی داری اثر ضد التهابی دارد [۱۰]. به عبارت دیگر می توان نتیجه گرفت این نور با تعدیل در مرحله التهاب باعث تسریع در ترمیم زخم می شود. همچنین توکلی و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش نمودند امواج مادون قرمز موجب گرم شدن موضعی، افزایش خون رسانی و اکیسژن رسانی به محل زخم می شود و این پدیده ها به ترمیم زخم کمک می نمایند [۱۲]. مطالعه حاضر نیز گرم شدن محل را تأیید می کند. بنابراین سازوکار احتمالی دیگر برای تسریع بهبودی زخم توسط نور آبی هالوژنه افزایش خون رسانی در اثر اتساع عروق و تاثیر بر ظرفیت عملی فیروبلاست ها می باشد. مطالعه حاضر نشان می دهد که نور آبی هالوژنه سنتز کلاژن را افزایش می دهد البته همانطور که ذکر گردید تابش نور آبی دمای محل زخم را افزایش داده و در نتیجه جریان موضعی افزایش می یابد. افزایش خون رسانی بخصوص در درمان

منابع

1. Cohen K, Peacock EE. Keloid and hypertrophic scars in MC carthy plastic surgery :Philadelphia.saunders.1990:732
2. Bugajski A, Nowogrodzka-Zagórska M, Leńko J, Miodoński AJ. Angiomorphology of the human renal clear cell carcinoma. A light and scanning electron microscopic study. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol. 1989;415(2):103-13.
3. Nordback I, Kulmala R, Järvinen M. Effect of ultraviolet therapy on rat skin. J Surg Res. 1990 Jan;48(1):68-71.
4. Brown M, McDonnell MK, Menton DN. Electrical stimulation effect on coetaneous wound healing in rabbits. Phys Ther. 1988 Jun;68(6):955-60.
5. Byl NN, McKenzie AL, West JM, Whitney JD, Hunt TK, Scheuenstuhl HA. Low-dose ultrasound effects on wound healing: A coutrolled study with yucatan pigs. Arch Phys Med Rehabil. 1992 Jul;73(7):656-64.

6. Mester E, Ja szsagi-Nagy E. The effect of laser radiation on wound healing and collagen synthesis. *Studia Biophysica*, 1973, 35(3):227-230.
7. Malm M, Lundeberg T. Effect of low power gallium arsenide laser on healing of venous ulcers. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 1991;25(3):249-51.
8. EL Sayed So, Dyson M. Effect of laser pulse and repetition rate and pulse duration on mast cell number and degranulation. *Lasers Surg Med*. 1996;19(4):433-7.
9. Pogrel MA, Chen JW, Zhang K. Effects of low energy Gallium aluminum Arsenide laser irradiation on cultured fibroblasts and keratinocytes. *Lasers Surg Med*. 1997;20(4):426-32.
10. Papageorgiou P, Katsambas A, Chu A. Phototherapy with blue (415nm) and red (660nm) light in the treatment of acne vulgaris. *Br J Dermatol*. 2000 May;142(5):973-8.
11. Leonard DL, Charlton DG, Roberts HW, Cohen ME. Polymerization efficiency of LED curing lights. *J Esthet Restor Dent*. 2002;14(5):286-95.
12. Tavakoli R, Najafipour H, Hadian M. Comparison between IR rays and Phenylthoein on skin scar healing. *Babol University of Medical Sciences*. 2004;6(2):7-11.