

ترمیم عصب سیاتیک آسیب دیده با استفاده از لیزر کم توان هلیوم-نئون در یک مدل تجربی

دکتر پژمان جمیلی^۱دکتر پروین تاجیک^۲

دکتر امیر کاشفی

دکتر پریسا آیریا

دکتر میترا بابازاده

دکتر مسلم بهادری

^۱ گروه پژوهشی لیزر پزشکی، مرکز پژوهش‌های علمی دانشجویان، دانشگاه علوم پزشکی تهران
^۲ استاد گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

خلاصه

زمینه و هدف: بررسی‌های اولیه نشان داده‌اند که لیزرهای کم توان (low level lasers) می‌توانند با تحریک زیستی سلول‌های بافت هدف، درژنراسیون آنان را کاهش و ترمیم را سرعت دهند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر تابش لیزر کم‌توان هلیوم-نئون بر ترمیم عصب سیاتیک آسیب‌دیده در یک مدل تجربی و کنترل شده بود.

روش بررسی: تعداد ۳۴ موش صحرایی از نژاد Sprague-Dawley بعد از کراش شدن عصب سیاتیک هر دو پا به مدت ۲۴ روز تحت تابش با لیزر کم‌توان هلیوم-نئون (He-Ne) با دوز ۶ mJ/cm² قرار گرفتند. حیوانات در سه گروه (اثر موضعی، اثر سیستمیک و شاهد) تقسیم شدند. برای سنجش کارایی عصب سیاتیک از معیاری به عنوان آزمون Angleboard استفاده شد.

یافته‌ها: در انتهای روز ۲۴ نشان نتایج بدست آمده از آزمون Angleboard اختلاف معنی‌داری بین دو گروهی که لیزر سیستمیک و موضعی دریافت داشته‌اند بدست نیامد. با این وجود، نتایج آزمون مذکور در هر دو گروهی که لیزر دریافت داشتند، نسبت به گروه شاهد، بهبود قابل ملاحظه‌ای داشتند (p=0.000).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده مشخص می‌شود که لیزر کم‌توان He-Ne در طیف قرمز می‌تواند تاثیر مثبتی روی ترمیم اعصاب محیطی بگذارد و این تاثیر تنها به دلیل اثرات موضعی آن نیست و می‌تواند به صورت سیستمیک و از طریق افزایش میزان مدیا‌تورها باشد. با این وجود برای شناسایی مکانیسم اثر سیستمیک آن نیاز به مطالعات تکمیلی است.

واژه‌های کلیدی: لیزر کم توان، لیزر هلیوم-نئون، عصب سیاتیک، آزمون Angleboard، موش صحرایی.

مقدمه

یکی از مشکلات شایع در تخصص اعصاب، آسیب‌دیدگی اعصاب محیطی است. معمولاً به دلیل سرعت کم ترمیم (Regeneration)، ماه‌ها طول می‌کشد تا در صورت امکان، عصب به وضعیت طبیعی خود برگردد و در این مدت عضلات ناحیه دچار آتروفی می‌شوند و عضو مربوطه به طور کامل یا ناقص عمل کرد طبیعی خود را از دست می‌دهد. تاکنون برای حل این مشکل روش‌های متعددی از جمله جراحی، فیزیوتراپی و ... مطرح شده‌اند؛ از جمله یکی از روش‌هایی که از سال ۱۹۷۸ مورد توجه واقع شده‌است، استفاده از روش غیرتهاجمی تابش لیزرهای کم‌توان به محل آسیب‌دیدگی می‌باشد.^[۱] عقیده‌ی گروهی از دانشمندان بر این است که لیزرهای کم‌توان اگر از روزهای اول (و به ویژه بلافاصله بعد از آسیب عصب) به محل آسیب‌دیدگی تابیده‌شوند،^[۲] باعث کاهش درژنراسیون و تسریع روند رژنراسیون عصب می‌شوند. مطالعات متعددی که برای مشخص کردن مکانیسم تأثیر لیزر روی

عصب انجام شده‌است، نشان می‌دهد که لیزر در مراحل مختلف روند ترمیم عصب دخیل است؛ در درجه‌ی اول، از طریق کاهش ترشح PGE₂ و LTb₄ و کاهش تجمع ماکروفاژها در محل آسیب‌دیدگی مانع تخریب عصب آسیب‌دیده توسط پروسه‌های التهابی می‌شود.^[۳-۴] در مرحله بعد، تکثیر نوروگلیاها (هم آستروسیت‌ها و هم اولیگودندروسیت‌ها) را تحریک می‌کند^[۵] و در کل رشد عصب را افزایش داده،^[۶-۷] باعث می‌شود عصب با سرعت بیشتری عملکرد خود را بدست آورد. این تأثیر از طریق اندازه‌گیری پتانسیل عمل عصب آسیب‌دیده مشخص می‌شود.^[۸-۱۴] هم‌چنین لیزر با ایجاد تغییرات آنزیمی در عضلات منطقه، از آتروفی آن‌ها می‌کاهد.^[۱۰]

اکنون با وجود تحقیقاتی که در طول ۲۰ سال در مورد ترمیم عصب با لیزر انجام شده‌است، هم‌چنان این روش در مراحل آزمایشگاهی به سر می‌برد و گزارش‌هایی ضد و نقیض از آثار لیزر بر روی ترمیم اعصاب محیطی در مجلات چاپ می‌شود؛ از جمله این که لیزر هلیوم-نئون (He-Ne) روی رشد فیبرهای میلینه مؤثر نبوده^[۱۵] یا تابش لیزر He-

سیاتیک حیوانات در گروه Case-Local در حین عمل (بعد از آسیب و قبل از بخیه زدن)، مورد تابش مستقیم نور با همان دوز قرار گرفت. در مورد گروه Case-Systemic، لیزر به کف پای رت تابانده شد. تابش لیزر طی ۲۰ روز و بصورت روزانه انجام شد. این محل به سه دلیل انتخاب گردید؛ سهل الوصول بودن، بدون مو بودن و میزان زیاد عروق ناحیه. در مورد گروه Case-Local با این فرض که لیزر به صورت موضعی در محل آسیب روی عصب سیاتیک اثر می‌کند، تابش در این ناحیه انجام گرفت. به منظور خنثی کردن اثر ثابت نگه داشتن موش‌های صحرایی حین انجام لیزر در گروه شاهد که لیزر دریافت نمی‌کردند، حیوانات این گروه طی ۳۰۰ ثانیه بدون تابش ثابت نگه داشته شدند.

آزمون Angleboard

قدرت ماهیچه‌های پای هر موش صحرایی را می‌توان به عنوان معیاری برای فعالیت عصب سیاتیک در نظر گرفت. بر همین اساس از آزمون Rivilin-Tator Angleboard استفاده شد.^[۱۱] در این روش حیوانات روی سطح شیب‌داری که زاویه‌ی آن قابل تغییر و اندازه‌گیری است قرار می‌گیرد و باید با استفاده از عضلات پا (که نشان‌دهنده‌ی عملکرد عصب سیاتیک است) و نیروی دست (که در این آزمایش برای همه رت‌ها مقدار ثابتی در نظر گرفته‌شد) روی سطح شیب‌دار تعادل خود را حفظ کند. زاویه‌ای که هر موش صحرایی در آن می‌تواند دست کم به مدت ۵ ثانیه تعادل خود را حفظ کند، به عنوان زاویه سطح شیب‌دار برای آن حیوان در نظر گرفته می‌شود. از مزایای این روش می‌توان به سادگی، غیرتهاجمی بودن و پایداری اشاره کرد. این زاویه در مورد هر موش صحرایی بلافاصله قبل از عمل و بعد از آن در روزهای ۳، ۷، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۴ اندازه‌گیری شد. در کل مطالعه اندازه‌گیری‌ها توسط فردی انجام گرفت که از گروه‌بندی حیوانات اطلاعی نداشت (Blind) انجام شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های بدست آمده توسط نرم افزار آماری SPSS 10.0.5 تجزیه و تحلیل شد. نتایج بدست آمده بصورت میانگین و انحراف معیار نمایش داده شده است. برای مقایسه نتایج بین گروه‌ها از روش‌های آماری آنالیز واریانس یکطرفه و Post Hoc Tukey استفاده شد. سطح معنی‌داری در این مطالعه در حد ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ($\alpha=0/05$)

نتایج

نتایج آزمون سطح شیب‌دار در روزهای اندازه‌گیری در جدول ۱ ارائه شده‌اند. همان‌طور که مشاهده می‌شود، اختلاف بین گروه‌ها در روزهای ۲۰ و ۲۴ معنی‌دار شده‌است. در نمودار ۱ نتایج آزمون سطح شیب‌دار هر سه گروه را ملاحظه می‌کنید. در مقایسه‌ی دیگری که انجام شد، نتایج آزمون سطح شیب‌دار در روزهای ۲۰ و ۲۴ بعد از عمل با روز قبل از عمل (روز صفر) سنجیده‌شد (جدول ۲). این نتایج نشان می‌دهد که در روز

فصلنامه لیزر پزشکی، دوره ۴، شماره ۳

Ne بر عصب مدیان، تأثیری بر پتانسیل عمل و تأخیر (Latency) نداشته‌است.^[۱۶] لذا بر آن شدیم که خود در یک مطالعه‌ی تجربی، اثرات لیزر کم‌توان He-Ne را بر روی ترمیم عصب سیاتیک آسیب‌دیده‌ی در یک مدل تجربی بر روی موش صحرایی بررسی کنیم.

روش بررسی

حیوانات آزمایشگاهی

در این آزمایش از موش صحرایی نر آلبینوی نژاد Sprague-Dawley استفاده شد که بین ۱۵۰ تا ۲۵۰ گرم وزن داشتند. حیوانات فوق از انستیتو پاستور تهیه گردیدند و در طول مدت آزمایش دسترسی آزاد به غذای موش و آب لوله‌کشی شهر داشتند.

آماده سازی

برای بیهوشی در حیوانات مورد مطالعه، از داروی استیل پرومازین (Acetylpromazine) با دوز ۲ mg/kg و سپس کتامین (Ketamine) با دوز ۸۰ mg/kg استفاده شد. سپس برای آماده سازی موضع جراحی، موهای نواحی مورد نیاز تراشیده و پوست منطقه ضدعفونی شد.

آسیب عصب سیاتیک

با ابتداء در محل لمس سر استخوان فمور در هر طرف یک شکاف عرضی ایجاد شد و با کمک قیچی جراحی با پاره کردن فاسیای بین دو عضله سیاتیک در دسترس قرار گرفته سپس با کمک پنس هر عصب به مدت ۹۰ ثانیه تحت فشار قرار می‌گرفت. در این مرحله دقت می‌شد که آسیب در تمام نمونه‌ها یکسان انجام گیرد. عمل فوق در مورد تمام رت‌ها انجام گرفت.

گروه‌بندی

۳۴ موش صحرایی که با روش فوق تحت عمل جراحی و آسیب عصب سیاتیک قرار گرفتند بطور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند:

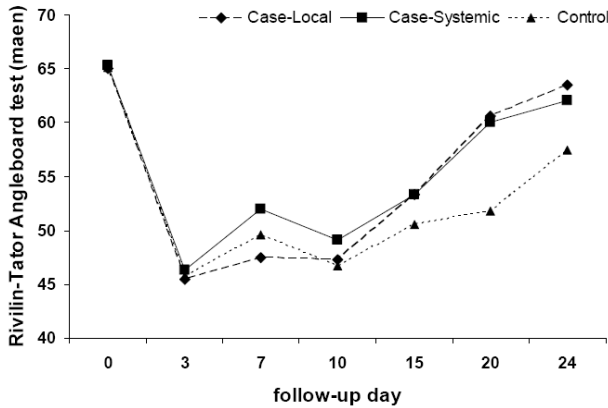
- گروه اول (Case-Local): تحت تابش لیزر He-Ne بصورت موضعی در ناحیه تحت عمل جراحی و محل عبور عصب سیاتیک آسیب دیده ($n=14$)

- گروه دوم (Case-Systemic): تحت تابش لیزر He-Ne به کف پا برای تعیین اثر سیستمیک ($n=14$)

- گروه شاهد: تحت تابش لیزر قرار نگرفتند.

تابش لیزر

در این مطالعه از دستگاه لیزر کم‌توان He-Ne با طول موج nm ۶۳۲/۸ (ساخت سازمان انرژی اتمی ایران، مرکز تحقیقات لیزر) با توان ۲۰ mW که در سطحی به مساحت ۱ cm² تابانده می‌شد مورد استفاده قرار گرفت. تابش لیزر با دوز ۶ J/cm² انجام شد. عصب



نمودار ۱- میانگین زاویه سطح شیب دار هر سه گروه در روزهای مختلف

دسترس بودن عصب و قبل از بخیه شدن محل عمل دریافت کردند) ما میزان زاویه‌ی حیوانات بعد از عمل و قبل از شروع درمان را نداریم و به دلیل اینکه بی‌هوشی عمومی حیوانات تا ۴۸ ساعت روی عملکرد اعصاب و عضلاتشان مؤثر بود، شروع اندازه‌گیری آزمون سطح شیب‌دار از روز سوم شروع شد و بنابراین تنها زاویه‌ای که تا حدودی نشان‌دهنده‌ی وضعیت اولیه آسیب قبل از شروع درمان بوده‌است زاویه روز ۳ می‌باشد. در این روز نتایج آزمون در سه گروه از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشت ($p=0/247$). در جدول ۴ میزان اختلاف آزمون سطح شیب‌دار در بین حیوانات سه گروه نشان داده شده است.

بحث

با توجه به نتایج به دست آمده در این طرح، مشخص شد که علی‌رغم وجود مطالعاتی که اثرات لیزر کم‌توان He-Ne را روی عصب تک‌ذیب کردند، تابش لیزر بر بهبود عصب آسیب دیده سیاتیک در مدل تجربی مؤثر بوده، باعث تسریع روند ترمیم عصب می‌شود. به طوری که از روز ۲۰ به بعد اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار شده‌است. در مقاله‌ی دیگری نیز از روز ۲۰ به بعد، میزان پتانسیل عمل ثبت‌شده در عضله‌ی

جدول ۳- اختلاف زاویه هر رت در روز ۰ و روز ۲۴ بعد از عمل

گروه	گروه شاهد	گروه Case-Systemic	گروه Case-Local
کمتر از زاویه روز صفر	۱۰*	۲	۶
مساوی با روز صفر	۱	۲	۳
بهبتر از زاویه روز صفر	۳	۱	۵
تعداد کل	۱۴	۵	۱۴
	۰/۰۰۰	۰/۵۰۱	۰/۱۳۸
			p

* داده‌ها بر اساس فراوانی نمایش داده شده است

جدول ۱- نتایج میانگین زاویه‌های سطح شیب‌دار سه گروه

روز	گروه Case-Local	گروه Case-Systemic	گروه شاهد	P**
۰	۶۵±۱/۸۲*	۶۵/۳۳±۳/۴۳	۶۷/۱۴±۲/۰۶	۰/۹۱۰
۳	۴۵/۴۶±۲/۰۵	۴۶/۲۹±۲/۹۱	۴۵/۸۷±۲/۰۵	۰/۲۷۴
۷	۴۷/۵±۲/۰۴	۵۲±۴/۵۷	۴۹/۶±۲/۱۸	۰/۶۶۸
۱۰	۴۷/۲۵±۱/۴	۴۹/۱±۴/۱۱	۴۶/۶۷±۱/۳۷	۰/۰۷۶
۱۵	۵۳/۳۳±۳/۱	۵۳/۳۳±۳/۴۳	۵۰/۵۷/۷۲	۰/۱۳۹
۲۰	۶۰/۵۷±۱/۷۸	۶۰±۲/۶۵	۵۱/۷۷±۲/۶۴	۰/۰۰۱
۲۴	۶۳/۴۷±۱/۱۴	۶۲±۴/۴	۵۷/۴۳±۲/۳۳	۰/۰۱۶

* داده‌ها بصورت میانگین±انحراف معیار نمایش داده شده است

** نوع آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One Way ANOVA)

۲۰، اختلاف معنی‌داری بین زاویه‌ی روز ۲۰ و روز صفر در گروه Case-Systemic وجود ندارد. به عبارت دیگر، حیوانات گروه ذکر شده توانستند به توانایی‌های قبل از انجام مطالعه برسند. نتایج آزمون سطح شیب‌دار حیوانات گروه‌های Case-Local و شاهد در مقایسه با نتایج قبل از آسیب به عصب سیاتیک، بطور معنی‌داری کمتر بوده است. در روز ۲۰، تمام حیوانات گروه شاهد، تحمل زاویه‌ای کم‌تر از روز قبل از عمل داشته‌اند، در حالی که بعضی از نمونه‌های گروه Case-Local به زاویه قبلی‌شان رسیده‌اند و حتی بهتر شده‌اند.

همانگونه که در جدول ۳ نشان داده شده است در روز ۲۴ بعد از عمل میانگین نتایج آزمون سطح شیب‌دار در گروه Case-Systemic مشابه نتایج قبل از عمل بود ($p=0/501$). همچنین زاویه‌ی گروه Case-Local هم با مقدار قبل از عمل تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ($p=0/138$) به عبارت دیگر حیوانات این گروه نیز سلامت عملکرد عصب را باز یافته بودند، در حالی که در گروه شاهد همچنان با روز قبل از عمل‌شان اختلاف معنی‌داری داشتند ($p=0/001$).

از طرفی با توجه به این که در حین عمل جراحی، درمان گروه Case-Local شروع شد (زیرا این گروه اولین دوز لیزر را در زمان در

جدول ۲- اختلاف زاویه هر رت در روز ۰ و روز ۲۰ بعد از عمل

گروه	گروه شاهد	گروه Case-Systemic	گروه Case-Local
کمتر از زاویه روز صفر	۱۴*	۳	۱۰
مساوی با روز صفر	۰	۰	۱
بهبتر از زاویه روز صفر	۰	۲	۳
تعداد کل	۱۴	۵	۱۴
	۰/۰۰۰	۰/۱۰۹	۰/۰۰۲
			p

* داده‌ها بر اساس فراوانی نمایش داده شده است

مکانیسم‌های این اثر مشخص شود. شاید تابش لیزر به نسوج طبیعی باعث رها شدن مدیاتورها و عوامل التهابی می‌شود که می‌توانند از طریق خون منتقل شده به محل ضایعه آسیب برسند. در هر صورت این نتیجه می‌تواند کمک بزرگی به ما بکند؛ برای مثال ممکن است به دلیل دور از دسترس بودن محل ضایعه، استفاده از روش‌های تهاجمی برای تاباندن لیزر به محل آسیب ضروری باشد؛ اما با این روش نقطه‌ای مناسب‌تر و سهل‌الوصول‌تر برای تابش انتخاب می‌گردد تا نتایج درمانی مورد نظر حاصل شود.

برای انجام طرح‌های بعدی بهتر است که تا حد امکان از دستگاه‌های اندازه‌گیری دقیق‌تر و حجم نمونه بیشتری استفاده شود؛ چرا که ممکن است به دلیل حجم نمونه‌ی کم و ضعف احتمالی دقت دستگاه اندازه‌گیری، اثر درمانی لیزر در روزهای قبل از ۲۰ تشخیص داده نشده باشد. همچنین در مطالعات بعدی باید پیگیری درمان در دوره‌ی طولانی‌تری انجام شود تا الگوی کامل اختلاف ترمیم عصب در دو گروه کاملاً مشخص شود. در نهایت انجام طرح‌های تکمیلی در مورد نتایج این پروژه بسیار ضروری به نظر می‌رسد؛ تا بتوان از اثرات درمانی لیزرهای کم‌توان بر آسیب‌های عصبی در بیماران استفاده کرد.

گاستروکنمیوس در بین گروه‌ها اختلاف معنی‌دار داشته و تقریباً به حد موش نرمال رسیده بوده که این نتایج با داده‌های به دست آمده از طرح ما انطباق کامل دارد.^[۱۴]

در مورد علت این مشاهدات، باید گفت که برای تأثیر لیزر کم‌توان بر نسوج زنده، مکانیسم‌های مختلفی متصور است؛ از جمله فعال کردن واکنش‌های فتوشیمیایی، افزایش فسفوریلاسیون اکسیداتیو و در نتیجه بهتر شدن وضعیت تنفسی سلولی، افزایش متابولیسم پایه، تأثیر بر روی پمپ‌های غشاء^[۱۶] و افزایش سنتز RNA پروتئین‌ها و پرولیفراسیون سلول‌ها،^[۱۴] به علاوه، لیزر باعث انبساط عروقی خونی و لنفاوی می‌شود و کلاً کلیرانس مواد را در محل آسیب بالایی برد.^[۱۴]

مسأله‌ی دیگری که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت، اثرات غیر موضعی لیزر است که در گروه Case-Systemic خلاصه شده‌بود. همان‌طور که ذکر شد، در این گروه تابش لیزر به محل دیگری غیر از محل آسیب صورت گرفته بود، ولی با این حال در تمام طول دوره درمان اختلاف معنی‌داری بین این گروه و گروه Case-Local دیده نشد و حتی در ۱۵ روز اول درمان گروه Case-Systemic نتایج بهتری داشتند. با توجه به این موضوع می‌توان امیدوار بود که در تحقیقات بعدی این مسأله به طور عملی‌تری بررسی شود و تا حد ممکن

منابع

1. Rochkind S. Regeneration of peripheral nerves following laser radiation. Presented at the 11th Union Conference of Young Neurosurgeons. Moscow USSR 1978: 100-1
2. Assia E, Rosner M, Belkin M, Solomon A, Schwartz M. Temporal parameters of low energy laser irradiation for optimal delay of post-traumatic degeneration of rat optic nerve. Brain Res 1989; 476:205-12.
3. Naveh N, Bar-Ilan A, Rosner M, Schwartz M, Weissman C, Belkin M. Low-energy laser irradiation--a new measure for suppression of arachidonic acid metabolism in the optic nerve. J Neurosci Res 1990; 26:386-9.
4. Rochkind S, Barrnea L, Razon N, Bartal A, Schwartz M. Stimulatory effect of He-Ne low dose laser on injured sciatic nerves of rats. Neurosurgery 1987; 20:843-7.
5. Rochkind S, Vogler I, Barr-Nea L. Spinal cord response to laser treatment of injured peripheral nerve. Spine 1990; 15:6-10.
6. Rakhishev AR, Usupbekova BS. [Effect of laser radiation on the posttraumatic recovery of the interneuronal connections in the sympathetic trunk]. Arkh Anat Gistol Embriol 1987; 93:58-63.
7. Anders JJ, Borke RC, Woolery SK, Van de Merwe WP. Low power laser irradiation alters the rate of regeneration of the rat facial nerve. Lasers Surg Med 1993; 13:72-82.
8. Nissan M, Rochkind S, Razon N, Bartal A. HeNe laser irradiation delivered transcutaneously: its effect on the sciatic nerve of rats. Lasers Surg Med 1986; 6:435-8.
9. Rochkind S, Nissan M, Barr-Nea L, Razon N, Schwartz M, Bartal A. Response of peripheral nerve to He-Ne laser: experimental studies. Lasers Surg Med 1987; 7:441-3.
10. Rosner M, Caplan M, Cohen S, Duvdevani R, Solomon A, Assia E, et al. Dose and temporal parameters in delaying injured optic nerve degeneration by low-energy laser irradiation. Lasers Surg Med 1993; 13:611-7.
11. Rochkind S. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat. J Neurosurg. 1977; 47:577-81.
12. Ebert DW, Roberts C. In vitro frog sciatic nerve as a peripheral nerve model for studies of the mechanism of action of low energy lasers: Part one. Lasers Surg Med 1997; 21:32-41.
13. Rochkind S, Rousso M, Nissan M, Villarreal M, Barr-Nea L, Rees DG. Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns. Lasers Surg Med 1989; 9:174-82.
14. Rochkind S, Nissan M, Lubart R, Avram J, Bartal A. The in-vivo-nerve response to direct low-energy-laser irradiation. Acta Neurochir (Wien) 1988; 94:74-7.
15. Basford JR, Daube JR, Hallman HO, Millard TL, Moyer SK. Does low-intensity helium-neon laser irradiation alter sensory nerve active potentials or distal latencies? Lasers Surg Med 1990; 10:35-9.
16. Karu T. Photobiological fundamentals of low-power laser therapy. 2nd International Conference of Laser and its Applications. Atomic Energy Institute of Iran Publications, Tehran, 1993.