

بررسی آزمایشگاهی بستن زخم پوست با لیزر دیود و لحیم بیولوژیکی آلبومین سرم گاوی آغشته به ایندوسیانین سبز به صورت اتوماتیک

دکتر سید محمد عترتی خسروشاهی^۱

سید محمد صادق نوربخش^۲

خلاصه

^۱ دانشیار دانشکده مهندسی پزشکی، گروه بیومتریال، دانشگاه صنعتی امیرکبیر
^۲ دانشجوی دکتری بیومتریال، دانشکده مهندسی پزشکی دانشگاه امیرکبیر

نویسنده مسئول: دکتر سید محمد عترتی خسروشاهی، دانشیار فیزیک لیزر پزشکی، تهران، خیابان حافظ، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی پزشکی تلفن: ۶۴۵۴۳۹۸۱
پست الکترونیکی: khosro@aut.ac.ir

استفاده از لیزر برای لحیم کاری بافت به وسیله یک ماده حساس به نور زیست سازگار شیمیایی نظیر ایندوسیانین سبز (ICG) اجازه انتقال انتخابی نور به بافت مورد نظر را می دهد. در این تحقیق از آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان لحیم بیولوژیکی و از ICG به عنوان حساس گر نوری همراه لیزر دیود با طول موج ۸۱۰ nm به این منظور استفاده گردیده است و تاثیر چگالی توان لیزر در حالت های پرتو دهی دینامیک و استاتیک، تعداد اسکن و سرعت اسکن در حالت دینامیک بر روی استحکام کششی زخم و نیز افزایش دمای بافت در شدت های مختلف لیزر اندازه گیری شده است. نتایج نشان می دهد که با افزایش توان لیزر استحکام کششی زخم در هر دو حالت استاتیک و دینامیک افزایش می یابد ولی به علت افزایش دمای زیاد در توان های بالا نه تنها توان بلکه تعداد اسکن نیز باید بهینه گردند تا در کنار استحکام مکانیکی مناسب ایجاد شده از آسیب گرمایی به بافت جلوگیری شود.
واژه های کلیدی: ترمیم زخم، لیزر، ایندوسیانین سبز، آلبومین سرم گاوی، استحکام کششی

مقدمه

اتصال لیزری پوست یک روش جراحی برای بستن بافتها با استفاده از پرتو لیزر است و دو روش عمده عبارتند از: الف- جوش کاری لیزری (گرم کردن لبه های نزدیک شده به هم بافت با لیزر برای ایجاد اتصال بین آنها) ب- لحیم کاری لیزری (کاربرد یک لحیم بیولوژیکی مناسب مابین لبه های بافت و پرتو دهی آن با تابش لیزر) [۲۱]. در اتصال مستقیم بافت با لیزر پروتئین های موجود در بافت منعقد شده تا پیوندی بین دو لبه مجاور ایجاد شود. این روش بالقوه مفیدتر از روش های مرسوم بستن بافت مانند بخیه زدن است، زیرا این روش یک روش غیر تماسی بوده و آسیب بافتی ناشی از سوزن و بخیه و واکنش جسم خارجی را کاهش می دهد. علاوه بر این باعث کاهش خونریزی شده و قابلیت تشکیل اتصال ضد نشت فوری در حین جراحی را داشته و زمان عمل را کاهش می دهد [۴۳]. اگرچه موفقیت هایی در کاربردهای آزمایشگاهی به دست آمده است ولی روش اتصال با لیزر دو عیب عمده در کاربردهای کلینیکی دارد: استحکام اتصال انجام شده خصوصاً در مرحله التیام سریع در ۵ روز اول پس از عمل در مقایسه با بخیه بسیار پایین بوده و در ضمن، بافت در گرمایش مستقیم لیزری می تواند دچار آسیب گرمایی گردد [۶۵]. مشکلات فنی در این روش عبارتند از: تنظیم صحیح دو لبه زخم، تعریف نقطه پایان جوش کاری و

تکرار پذیری. یکی از روش های موثر که می تواند در کاهش مشکلات استحکام کم و آسیب گرمایی ناشی از جوش کاری لیزری مفید باشند، افزودن مواد با منشأ داخلی و یا خارجی مانند لحیم های پروتئینی نظیر سرم آلبومین گاوی (BSA) همراه با حساس گر نوری مناسب نظیر ICG و کاربرد طول موج لیزر مناسب است [۷ و ۹]. به طور خلاصه، انرژی لیزر طول موج ۸۱۰ nm به شدت توسط ICG جذب شده که در اثر واکنش گرمایی منجر به منقبض شدن کلاژن ها و در نتیجه بسته شدن ناحیه زخم می گردد. قبلاً ترمیم پوست با لیزر CO₂ و طول موج های دیگر مانند لیزر دیود مورد بررسی قرار گرفته است [۱۰ و ۱۱ و ۱۲]. در این تحقیق دیود ۸۱۰ nm مورد استفاده قرار گرفت که به طور قابل ملاحظه ای توسط ICG قابل جذب است. هدف از این تحقیق استفاده از لیزر دیود به منظور بستن زخم پوست و بررسی اولیه تاثیر پارامترهای مختلف از قبیل چگالی توان لیزر، تعداد اسکن و سرعت اسکن در حالت تابش دهی دینامیک بر روی استحکام مکانیکی ترمیم ایجاد شده است.

روش بررسی

ابتدا یک قطعه پوست گوسفندی با استفاده از قیچی به قطعات کوچک تر بریده شد. به منظور آماده سازی پوست و زدودن باقیمانده پشم و دستیابی به پوست صاف و بدون پشم، از کرم موبر Nair

بستن زخم پوست با لیزر دیود و لمیم بیولوژیکی BSA آغشته به ICG

گرفت. در روش دینامیک پروب لیزر به صورت عمود بر راستای زخم و با سرعت های مشخص زخم را اسکن کرد تا عمل ترمیم زخم حاصل گردد و نهایتاً زخم های ترمیم شده جهت اندازه گیری استحکام کششی آماده سازی شدند.

برای این منظور از یک ابزار بسیار ساده که شامل یک پایه و دو فک بود استفاده گردید، که یکی از این فک ها ثابت و دیگری متحرک بود. شماتیک دستگاه اندازه گیری استحکام کششی در شکل (۳) نشان داده شده است. قطعه پوست ترمیم شده بین این دو فک قرار گرفت و با آویزان کردن وزنه های کوچک (۱۰ g) از پیش آماده شده به فک متحرک، پوست کشیده می شود. وزنه ها به تدریج و تا جایی اضافه گردید که اولین نشانه پارگی در محل ترمیم مشاهده شود. مقدار وزنه به کار رفته به عنوان استحکام کششی پوست ثبت شد.

یافته ها

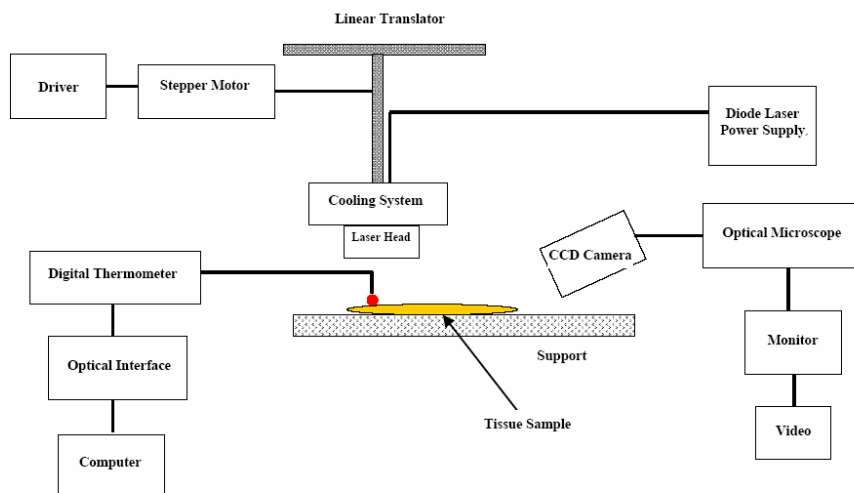
در مرحله اول اثرات چگالی توان لیزر بر روی استحکام ترمیم مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور ترمیم زخم در چگالی توان های مختلف از 24 W/cm^2 تا 94 W/cm^2 با ۸ اسکن صورت گرفت. در حالت استاتیک، پروب لیزر ساکن و پرتو لیزر در راستای زخم قرار داشت و پوست به مدت ۴ دقیقه تحت تابش دهی قرار گرفت.

نمونه ای از افزایش دما هنگام پرتو دهی با 26 W/cm^2 در حالت دینامیک در نمودار ۳ آورده شده است که دارای ۴ قله است که هر یک از این قله ها مربوط به لحظه قرار گرفتن نوک پروب لیزر بر روی نوک ترمومتر است که در رفت و برگشت های پروب بر روی بافت به دست آمده و به خوبی افزایش دمای سطح بافت را در هنگام لحیم کاری لیزری نشان می دهد. برای مقایسه افزایش دمای ناشی از

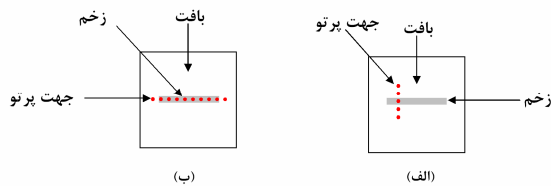
استفاده گردید نهایتاً پوست مورد شستشو قرار گرفت. پس از آماده سازی پوست، یک زخم تمام ضخامت (Full thickness) به ابعاد $20 \times 20 \text{ mm}^2$ با استفاده از چاقوی جراحی شماره ۱۱ بر روی آن ایجاد گردید. از لحظه تهیه بافت تازه تا پایان مرحله انجام هر آزمایش به طور جداگانه، بین ۲ الی ۳ ساعت به طول انجامید. به منظور آماده سازی لحیم $1/25$ میلی گرم ICG را با $1/25$ گرم BSA در داخل یک شیشه ضد نور ریخته و سپس ۵ CC آب دوبار تقطیر به آن اضافه شد. شیشه محتوی مخلوط فوق به مدت ۵ دقیقه در دستگاه همزن قرار گرفت تا یک محلول کاملاً یکنواخت به دست آید. چیدمان آزمایش در شکل (۱) آورده شده است.

نمونه بافت بر روی یک نگه دارنده در زیر نوک لیزر قرار داده شد و پروب لیزر به وسیله استپ موتور سطح بافت را با سرعت قابل تنظیم و مورد نظر اسکن نمود. سیستم خنک کننده از نوع هوا است. برای اندازه گیری دمای تولید شده هنگام لحیم کاری، یک ترمومتر دیجیتالی (CHY502A1) که از طریق پورت اپتیکی مناسب به کامپیوتر متصل شده بود در محل زخم قرار داده شد تا تغییرات دما هنگام اسکن با پروب لیزر را ثبت کند. برای مشاهده و ثبت تغییرات هنگام لحیم کاری تصاویر توسط یک دوربین (Dynamic wv- CCD (CP450) ثبت شد.

نمونه پوست در چگالی های 24 تا 94 W/cm^2 تحت پرتو دهی با لیزر دیود 810 nm قرار گرفت. آزمایش به دو صورت استاتیک و دینامیک با پروفیل خطی باریکه لیزر به ابعاد $1 \times 7 \text{ mm}^2$ انجام گرفت. در حالت استاتیک زخم به اندازه خروجی لیزر ایجاد و سپس پرتو به صورت ساکن و در راستای زخم قرار گرفت و محل زخم به مدت ۴ دقیقه با هر یک از چگالی توان های فوق الذکر مورد تابش دهی قرار

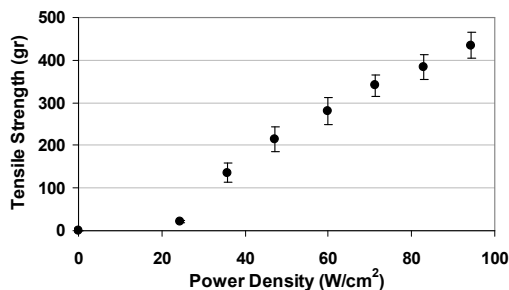


شکل ۱- چیدمان آزمایش

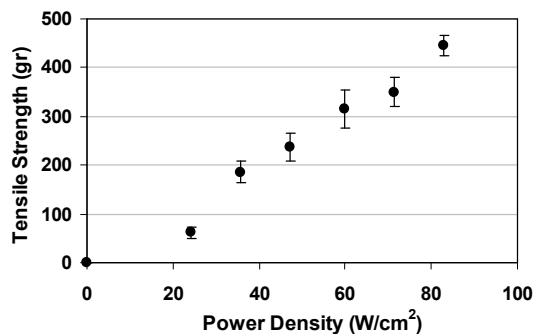


شکل ۲- هندسه پرتودهی (الف) حالت دینامیک (ب) حالت استاتیک

نمونه‌ای از افزایش دما هنگام پرتودهی با 36 W/cm^2 در حالت دینامیک در نمودار ۳ آورده شده است که دارای ۴ قله است که هر یک از این قله‌ها مربوط به لحظه قرار گرفتن نوک پروب لیزر بر روی نوک ترمومتر است که در رفت و برگشت‌های پروب بر روی بافت به دست آمده و به خوبی افزایش دمای سطح بافت را در هنگام لحیم‌کاری لیزری نشان می‌دهد. با تابش لیزر بافت گرم شده و ساختارهای کلاژنی به دمای کافی برای از هم باز شدن ساختار فیبری می‌رسند. سپس فیبرها مجدداً در فاز سرد شدن در هم فرو می‌روند. بنابراین اتصال کلاژنی عامل جوش‌کاری لیزری است. برای تغییر ماهیت پروتئین موجود باید گرمای کافی تولید شود که با نوع کلاژن و درجه پیوند عرضی (که با افزایش سن افزایش می‌یابد) تغییر می‌کند. به طور کلی دماهای لازم برای این منظور در محدوده $60-80^\circ\text{C}$ گزارش شده است.



نمودار ۱- تاثیر چگالی توان لیزر بر روی استحکام کششی زخم در حالت دینامیک



نمودار ۲- تاثیر چگالی توان لیزر بر روی استحکام کششی زخم در حالت استاتیک

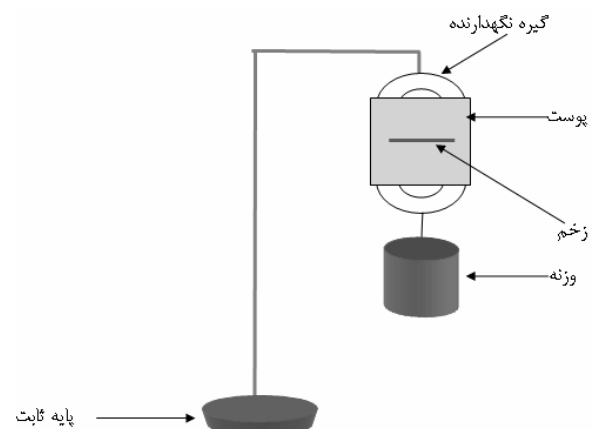
تابش پرتو در چگالی توان‌های مختلف بر روی سطح پوست در حالت دینامیک، مقادیر قله‌های ۱ و ۲ مربوط به نمودارهای افزایش دما همگی در نمودار ۴ آورده شده اثر چگالی توان لیزر بر روی استحکام کششی زخم در تعداد اسکن‌های مختلف در نمودار ۵ نشان داده شده است. با توجه به این نمودار در هر تعداد اسکن مشخص استحکام زخم ترمیم شده با شدت 83 W/cm^2 بالاتر از استحکام زخم ترمیم شده با شدت 47 W/cm^2 است.

اثر سرعت اسکن بر روی استحکام کششی زخم در شدت‌های متفاوت و تعداد اسکن ثابت ۸ در نمودار ۶ نشان داده شده است. شکل ۴ حرکت پروب لیزر با چگالی توان 60 W/cm^2 بر روی زخم را نشان می‌دهد. همان‌طور که قبلاً توضیح داده شد، در مرحله دوم آزمایش پرتودهی در حالت استاتیک صورت گرفت که به این منظور زخمی به طول ۱ سانتی‌متر بر روی پوست ایجاد شد و در موازات راستای پرتو قرار گرفت. شکل ۵ نحوه قرار گرفتن پرتو در امتداد زخم را نشان می‌دهد و این امر تفاوت اصلی بین حالت استاتیک و دینامیک است.

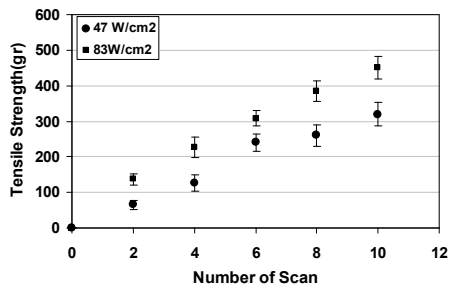
بحث

در مرحله اول اثرات چگالی توان لیزر بر روی استحکام ترمیم مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور ترمیم زخم در چگالی توان‌های مختلف از 24 W/cm^2 تا 94 W/cm^2 با ۸ اسکن صورت گرفت. همانگونه که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود با افزایش چگالی توان لیزر استحکام کششی زخم نیز افزایش می‌یابد.

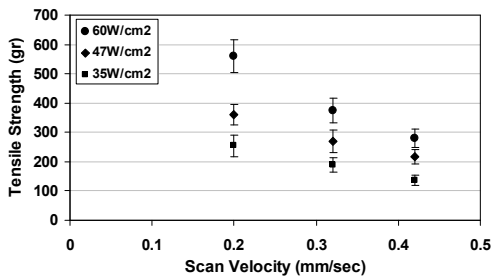
در حالت استاتیک یک زخم تمام ضخامت (Full thickness) به طول ۱ سانتی‌متر بر روی پوست ایجاد گردید در این حالت پروب لیزر ساکن و پرتو لیزر در راستای زخم قرار داشت و پوست به مدت ۴ دقیقه تحت تابش دهی قرار گرفت (نمودار ۲). نتایج این روش نزدیکی زیادی با نتایج به دست آمده در حالت دینامیک دارد.



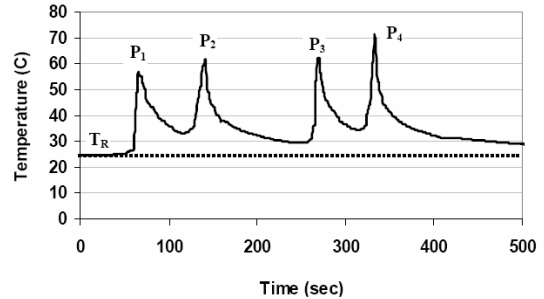
شکل ۳- شماتیک نحوه اندازه‌گیری استحکام کششی



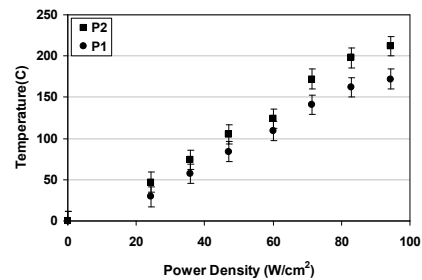
نمودار ۵- تاثیر چگالی توان لیزر و تعداد اسکن بر روی استحکام کششی زخم



نمودار ۶- تاثیر سرعت اسکن بر روی استحکام کششی زخم



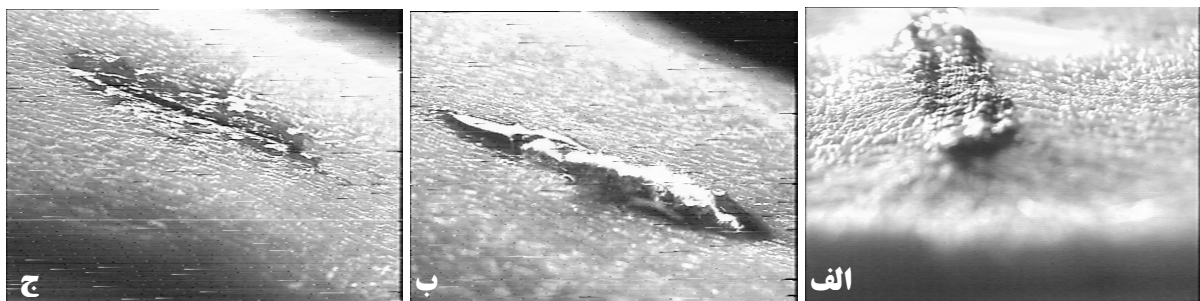
نمودار ۳- افزایش دمای سطح بافت در اثر تابش لیزر با چگالی توان ۳۶ W/cm²



نمودار ۴- مقایسه افزایش دمای سطح بافت در اثر چگالی توان‌های مختلف لیزر

متفاوت و تعداد اسکن ثابت ۸ در نمودار ۶) نشان داده شده است. همان گونه که از این نمودار مشاهده می شود با افزایش سرعت اسکن استحکام کششی زخم کاهش می یابد که این امر می تواند به گرم شدن کمتر بافت هنگام عبور سریع تر پروب لیزر نسبت داده شود. ولی در عین حال با افزایش شدت، مقدار استحکام کششی افزایش می یابد. شکل ۴-الف حرکت پروب لیزر با چگالی توان 60 W/cm^2 بر روی زخم را نشان می دهد. با عبور پروتو لیزر لحیم گرم شده و سپس منعقد می گردد و از رنگ سبز اولیه به رنگ قهوه ای تغییر می نماید. در چگالی توان های بالا در اسکن اول تقریباً لحیم منعقد شده و اثری از رنگ سبز آن بر جا نمی ماند، در حالی که در توان های پایین تر این

برای مقایسه افزایش دمای ناشی از تابش پرتو در چگالی توان های مختلف بر روی سطح پوست در حالت دینامیک، مقادیر قله های (۱ و ۲) مربوط به نمودارهای افزایش دما همگی در نمودار ۴ آورده شده است. اثر چگالی توان لیزر بر روی استحکام کششی زخم در تعداد اسکن های مختلف در نمودار ۵ نشان داده شده است. با توجه به این نمودار در هر تعداد اسکن مشخص استحکام زخم ترمیم شده با شدت 83 W/cm^2 بالاتر از استحکام زخم ترمیم شده با شدت 47 W/cm^2 است و همان گونه که انتظار می رود با افزایش تعداد اسکن استحکام کششی زخم افزایش می یابد. اثر سرعت اسکن بر روی استحکام کششی زخم در شدت های



شکل ۴- مراحل انجام بستن زخم پوست با لیزر دیود و لمیم بیولوژیکی BSA آغشته به ICG، تابش دهی سطح پوست با حرکت پروب لیزر (شکل الف)، نحوه قرارگیری پروب لیزر در امتداد زخم و لحیم در چگالی توان 24 W/cm^2 (شکل ب) و زخم ترمیم شده پس از پایان پرتو دهی در شدت 24 W/cm^2 (شکل ج)

می یابد ولی با توجه به دمای ایجاد شده در توان های بالا، که منجر به آسیب گرمایی بافت می گردد باید توان بهینه انتخاب گردد. با افزایش سرعت اسکن استحکام زخم کاهش می یابد ولی از طرفی زمان عمل را نیز کاهش می دهد که این دو پارامتر باید به صورت همزمان بهینه شوند. در مجموع به نظر می رسد که بستن زخم با لیزر دیود به همراه لایم بیولوژیکی می تواند جایگزینی امیدبخش برای بخیه باشد که برای دستیابی به نتایج دقیق تر نیاز به انجام آزمایشات *in vivo* می باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان مقاله از صنایع الکترونیک و صنایع نوین وزارت صنایع و معادن برای حمایت های مالی پروژه صمیمانه سپاسگزاری می نمایند.

اتفاق پس از ۳ یا ۴ اسکن روی می دهد.

همان طور که قبلاً توضیح داده شد، در مرحله دوم آزمایش پرتو دهی در حالت استاتیک صورت گرفت که به این منظور زخمی به طول ۱ سانتی متر بر روی پوست ایجاد شد و در موازات راستای پرتو قرار گرفت. شکل ۴-ب نحوه قرار گرفتن پرتو در امتداد زخم را نشان می دهد و این امر تفاوت اصلی بین حالت استاتیک و دینامیک است. از آن جا که در این مرحله شدت 24 W/cm^2 مورد استفاده قرار گرفته است و در پایان فرآیند مقداری از لایم به صورت منعقد نشده باقی می ماند، لذا رنگ سبز بر روی بافت مشهود است، شکل ۴-ج، انعقاد جزئی لایم منجر به استحکام ضعیف تر زخم ترمیم شده می شود که از نتایج آزمایشات کشش کاملاً مشخص است.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده نشان می دهد که استحکام زخم ترمیم شده در هر دو حالت تابش دهی استاتیک و دینامیک با افزایش توان لیزر افزایش

منابع

- McNally KM, Sorg BS, Welch AJ, Owen ER. Photothermal effects of laser tissue soldering. *Phys Med Biol* 1999; 44:983-1002.
- Bass LS. Laser tissue welding: a comprehensive review of current and future clinical applications. *Lasers Surg Med* 1995;17:315-349.
- Fried NM, Walsh JT. Laser skin welding: In vivo tensile strength and wound healing results. *Lasers Surg Med* 2000;27:554-65.
- Capon A, Souil E, Gauthier B, Sumian C, Bachelet M, Buys B, Polla BS. Laser assisted skin closure (LASC) by using a 815-nm diode-laser system accelerates and improves wound healing. *Lasers Surg Med*. 2001;28:168-75.
- Savage, Howard E.; Lee, John; Halder, Rabindra; McCormick, Steven A.; Paul, M Alfano, R.R. Near-infrared laser welding of aortic and skin tissues and microscopi investigation of welding efficacy. SPIE- The International Society for Optical Engineering, 2003: 4949: 182-185.
- Hoffman GT, Byrd BD, Soller EC, Heintzelman DL, McNally-Heintzelman KM. Effect of varying chromophores used in light-activated protein solders on tensile strength and thermal damage profile of repairs. *Biomed Sci Instrum*. 2003: 39:12-7.
- Wolf, Roman F.; Bartels, Kenneth E.; Shivakoti, Suman; Liu, Hong; Selective photothermal tissue interaction using 805-nm laser and indocyanine green in tissue welding. *Journal of X-Ray Science and Technology*, Vol 12, 2004: 117-126.
- Brosh T, Simhon D, Halpern M, Ravid A, Vasilyev T, Kariv N, Nevo Z, Katzir A. Closure of skin incisions in rabbits by laser soldering II: Tensile strength. *Lasers Surg Med*. 2004: 35:12-7.
- Simhon D, Brosh T, Halpern M, Ravid A, Vasilyev T, Kariv N, Katzir A, Nevo Z. Closure of skin incisions in rabbits by laser soldering: I: Wound healing pattern. *Lasers Surg Med*. 2004:35:1-11.
- Levanon D, Katzir A, Ravid A. A scanning electron microscopy study of CO2 laser-albumin soldering in the rabbit model. *Photomed Laser Surg*. 2004: 22: 461-9.
- Forber B, Vasilyev T, Brosh T. Repair of pig dura *in vivo* using temperature-controlled CO2 laser soldering. *Lasers Surg Med*. 2005: 37:286-92.
- Gulsoy M, Dereli Z, Tabakoglu HO, Bozkulak O. Closure of skin incisions by 980-nm diode laser welding. *Lasers Med Sci*. 2006: 21:5-10.