

Effect of Low – Level He – Ne Laser Irradiation on Biomechanical Property of Wound Healing Process In Healthy And Streptozotocin Induced Diabetic Rats

Gazor R., Ph.D. *, Bayat M., Ph.D., Kazemi B., Ph.D., Bandepour M., Ph.D., Norouzian M., Ph.D.

**P.O.Box:198571- 7443, Biological and Anatomical Sciences Department, Medical School of Shahid Beheshti University M C, Tehran, Iran*

Abstract

Purpose: The aim of present investigation was to determine the effects of low- level He-Ne laser therapy on biomechanical property of skin wound of healthy and streptozotocin induced diabetic (STZ-D) rats.

Materials and Methods: The study was performed by experimental method. 36 male adult Wistar rats weighing above 250 gr. were used. Rats were divided equally into control and experimental groups, each group (n=18) were equally divided into 3 subgroups in order to radiate 3 different energy densities of laser. Weight of healthy and diabetic rats were recorded in the beginning and at the end of study. Blood glucose of rats in the beginning of study was recorded and rats with more than 120 mg/dl were excluded from study. Diabetes was induced by one time intra peritoneal injection of 55 mg/kg STZ. After one month, hyperglycemia was established in experimental group. Two 15-mm, vertical incision wounds were made on the dorsum of rats. Three groups of healthy and diabetic rats were received $22.4\text{J}/\text{cm}^2$, $1.2\text{J}/\text{cm}^2$ and $4\text{J}/\text{cm}^2$ energy densities He-Ne laser for two weeks. At the end of study, rats were killed and skin sample were extracted and were submitted to a biomechanical evaluation (maximum force) examination. Data was analyzed by paired student t test methods.

Results: Mean value of blood glucose of diabetic rats was 518.37 ± 23.3 . Laser-treated healthy rats with $1.2\text{J}/\text{cm}^2$ energy density showed significant increase of maximum force ($p=0.05$). Laser-treated diabetic rats with $4\text{J}/\text{cm}^2$ energy density showed significant increase of maximum force ($p=0.05$).

Conclusion: It seems ideal parameters for effectiveness of Low- Level He-Ne laser in healthy and diabetic rats are different. Wounds of diabetic rats should be radiated with more energy density of low- level laser for accelerating wound healing process in comparison with healthy rats.

Keywords: Low- Level Helium-Neon Laser Therapy, Diabetes, Skin, Wound Healing Process

بررسی آثار تابش لیزر کم توان هلیوم- نئون بر ویژگی بیومکانیکی فرآیند التیام زخم باز پوستی در موش‌های سالم و دیابتی شده به وسیله استرپتوزوتوسین

روح اله گازر Ph.D.*، محمد بیات Ph.D.*، بهرام کاظمی Ph.D.**،

مژگان بنده پور Ph.D.**، محسن نوروزیان Ph.D.*

* گروه علوم تشریحی و بیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

** مرکز تحقیقات بیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ وصول: اسفند ماه ۸۸، تاریخ پذیرش: اردیبهشت ماه ۸۹

چکیده

هدف: تعیین اثر تابش لیزر کم توان هلیوم- نئون بر ویژگی بیومکانیکی زخم پوستی موش‌های سالم و دیابتی شده به وسیله استرپتوزوتوسین

مواد و روش‌ها: در این تحقیق که به روش تجربی انجام شد، ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد Wistar با وزن بالای ۲۵۰ گرم به کار گرفته شد. موش‌ها به دو گروه سالم و دیابتی و هر گروه که دارای ۱۸ سر موش است به سه زیر گروه مساوی برای سه دوز مختلف برای تابش لیزر تقسیم شدند. وزن موش‌های گروه سالم و دیابتی در شروع تحقیق و موعد نمونه برداری ثبت شد. قند موش‌ها نیز در زمان ورود به تحقیق ثبت شد و موش‌هایی که در بدو ورود به تحقیق، قند خون بالای ۱۲۰ mg/dl داشته باشند از برنامه تحقیق حذف شدند. موش‌های گروه دیابتی به وسیله یکبار تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین و به نسبت وزن‌شان (هر موش ۵۵ mg/kg) دیابتی شدند. بعد از گذشت یک ماه و تثبیت شرایط هیپرگلیسمی، ۲ زخم برشی پوستی کرانیال-کودال به طول ۱۵ میلی متر (یکی شاهد و دیگری تجربی) بر پشت هر موش ایجاد شد. زخم‌های تجربی هر سه زیر گروه موش‌های سالم و دیابتی تحت تابش لیزر به مدت ۲ هفته و در سه دوز $۱/۲ \text{ J/cm}^2$ ، $۲/۲ \text{ J/cm}^2$ ، ۴ J/cm^2 قرار گرفتند. سپس موش‌ها کشته شدند و نمونه پوستی جدا شد و تحت آزمایش بیومکانیکی نیروی حداکثر قرار گرفت. داده‌های گروه‌ها به روش Paired student t test تجزیه و تحلیل آماری شد.

یافته‌ها: میانگین قند خون موش‌های دیابتی $۵۱۸/۳۷ \pm ۲۳/۳$ شده بود. تابش لیزر به زخم‌های تجربی موش‌های سالم با دوز $۱/۲ \text{ J/cm}^2$ موجب افزایش معنی دار نیروی حداکثر ($p=0.05$) شد. تابش لیزر به زخم‌های تجربی موش‌های دیابتی با دوز ۴ J/cm^2 موجب افزایش معنی دار نیروی حداکثر ($p=0.05$) شد.

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد پارامترهای ایده آل تأثیر بخشی لیزر کم توان هلیوم نئون برای زخم‌های پوستی موش‌های سالم و دیابتی متفاوت است و زخم‌های دیابتی به دوز بیشتری از نظر پرتو لیزر کم توان برای تسریع بخشی فرآیند التیام زخم نیاز دارد.

کلیدواژه‌ها: لیزر کم توان هلیوم-نئون درمانی، دیابت، پوست، فرآیند التیام زخم

آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه علوم تشریحی و بیولوژی

سلولی، صندوق پستی: ۱۹۸۵۷۱-۷۴۴۳

Email bayat_m@yahoo.com, ramsar_gaz@yahoo.com

مقدمه

دیابت شیرین یا مرض قند (Diabetes Mellitus)، یک بیماری متابولیک مزمن است که با هایپر گلیسمی و اختلال در متابولیسم کربو هیدرات، چربی و پروتئین مشخص شده و به دنبال یک نقصان (deficiency) مطلق یا وابسته به هورمون انسولین بروز می نماید [۱]. دیابت نوع یک (Type 1 Diabete Mellitus)، بیماری است که در آن سلول های بتا تولید کننده انسولین در جزایر لانگرهانس پانکراس به دنبال مکانیسم های وابسته به سیستم ایمنی بدن (Immune_Mediated Mechanism) یا بیماری اتو ایمنی تخریب می شوند [۲] در حالی که، دیابت نوع دو (T2DM)، با نقایصی در ترشح و عملکرد انسولین همراه است [۴]. شیوع دیابت به طور شگفت انگیزی در سرتا سر جهان رو به افزایش است و عوارض ناشی از آن به صورت یک بحث جدی و مهم برای سلامت عمومی تبدیل شده است [۶ و ۵]، به طوری که هم اکنون حدس زده می شود ۱۹۰ میلیون نفر در جهان از دیابت رنج می برند و گفته می شود تا سال ۲۰۲۵ این رقم به ۳۳۰ میلیون نفر و تا سال ۲۰۳۰ به ۳۶۶ میلیون نفر برسد. برآوردها نشانگر آنست که از کل تعداد بیماران دیابتی در جهان تا سال ۲۰۳۰، ۷۰/۶ درصد مربوط به کشورهای در حال توسعه باشد [۷ و ۸]. این بیماری متابولیک که یکی از شایع ترین اختلالات اندوکراین است تقریباً ۶ درصد از جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار داده است [۹]. دامنه شیوع دیابت نوع دو (T2DM)، از ۱/۲ تا ۱۴/۶ درصد در آسیا، ۴/۶ تا ۴۰ درصد در خاورمیانه و ۱/۳ تا ۱۴/۵ درصد در ایران است [۷ و ۱۰]. بنا به تحقیق انجام شده، در ایران حدود ۸ درصد از جمعیت کشور، یعنی معادل پنج و نیم میلیون نفر مبتلا به دیابت هستند و بیش از نیمی از آن ها از بیماری خود اطلاع ندارند [۱۱]. بر اساس همین گزارش، در حال حاضر ابتلای به دیابت در خانم های ایرانی بیشتر از آقایان است. بر اساس گزارش سازمان بهداشت آمریکا، جمعیت مبتلایان به دیابت در آمریکا در سال ۲۰۰۰ به

۳۵ میلیون نفر رسید و انتظار می رود این روند افزایشی تا سال ۲۰۲۵ به ۶۴ میلیون برسد [۱۰ و ۱۱].

یکی از مشکلات جدی در بیماران دیابتی معیوب شدن فرآیند مراحل التیام زخم (impaired-wound healing) در آن ها است [۵]. در این بیماران، فقدان سیگنال های مولکولی سبب می شود که مراحل روند التیام زخم نظیر رگزایی (angiogenesis)، ساخت بافت گرانولیشن (granulation tissue formation)، تشکیل اپیتلیوم جدید (epithelialization) و تجدید ساختار (remodeling) با تأخیر مواجه شود که این ممکن است فاکتور مهم و بزرگ درگیر در التیام ضعیف و ناچیز در زخم دیابتی باشد [۱۵ و ۱۲]. به هر حال نتایج سایر تحقیقات هم به خوبی نشان داده است که دیابت باعث وقفه در فرآیند التیام زخم می شود [۱۶ و ۱۷] و این موضوع به صورت یک چالش جدی در پزشکی بالینی درآمده است.

تحقیقات اولیه روی لیزرهای کم توان (Low_Level Lasers) نشان دهنده تسریع بخشی فرآیند التیام زخم به وسیله تابش لیزر کم توان بود [۱۸ و ۱۹]. این نتایج موجب شد دانشمندان به درک لیزر و تکامل آن علاقه بیشتری نشان دهند [۲۰]. لیزرهای کم توان ابزارهای فیزیکی و غیر تهاجمی است که به عنوان درمان کننده برخی عوارض پوستی و اختلال های اسکلتی مطرح شده اند. کاربرد بالینی لیزرهای کم توان در بین ابزارهای درمانی مورد استفاده برای درمان التیام زخم، ترمیم استخوان و لیگامان و عصب به رسمیت شناخته شده و اهمیت پیدا کرده است [۲۵-۲۱]. در همین راستا، تحقیقات بالینی نشان داده است که تابش لیزرهای کم توان موجب کاهش دردهای مزمن از نوع عضلانی-اسکلتی شده است [۲۸-۲۶]. علاوه بر این، تابش لیزرهای کم توان موجب تنظیم برخی فرآیندهای بیولوژیک نظیر افزایش تولید ATP [۲۹]، افزایش پتانسیل غشای میتوکندری و افزایش فعالیت آن می شود [۲۹ و ۳۰]. تابش لیزرهای کم توان همچنین موجب تسریع بخشی فرآیند التیام

دستگاه مولد لیزر استفاده شود تا پارامترهای تابش لیزر برای گروه‌های تحت تابش سالم و دیابتی یکسان بوده و بتوان نتیجه‌گیری‌های قابل تعمیمی برای هر دو گروه انجام داد.

مواد و روش‌ها

حیوان مورد بررسی

۳۶ سر موش‌های صحرایی (Rat) نر بالغ نژاد Wistar با وزن بالای ۲۵۰ گرم از انستیتو پاستور ایران تهیه شد. موش‌ها به صورت تصادفی به دو گروه به تعداد مساوی تقسیم شدند. هر گروه دارای ۱۸ سر موش صحرایی است و به سه زیر گروه (دسته) مساوی برای سه دوز مختلف برای تابش لیزر تقسیم شدند. وزن موش‌های گروه سالم و دیابتی در زمان جراحی و موعد نمونه‌برداری ثبت شد. قند موش‌ها نیز در زمان ورود به تحقیق ثبت و موش‌هایی که در بدو ورود به تحقیق، قند خون بالای ۱۲۰ mg/dl داشتند از برنامه تحقیق حذف شدند.

روش القای دیابت

استرپتوزوتوسین (streptozotocin) با نام تجاری zanosar محصول شرکت (Enzo life Sciences, America) در آب مقطر استاندارد حل و به صورت تازه و به نسبت وزن هر موش (۵۵ mg/kg) به صورت داخل صفاقی به موش‌های گروه دیابتی تزریق شد. از طریق ایجاد زخم کوچکی در انتهای دم از موش‌های گروه دیابتی خون گرفته و قند خون آن‌ها به وسیله دستگاه پرتابل اندازه‌گیری قند (Biomine, Rightesttm GM300 (Biomine Corporation, Switzerland) ثبت شد. بعد از گذشت یک هفته، مجدداً از دم آن‌ها خون گرفته شد و قند خون آن‌ها ثبت و در صورتیکه بالای ۲۵۰ mg/dl بود، دیابتی محسوب شدند [۴۹]. سپس به مدت یک ماه تأمل شد تا شرایط هیپرگلیسمی در آن‌ها تثبیت شود. در زمان جراحی و زمان نمونه‌برداری مجدداً وزن و قند خون آن‌ها ثبت شد در

زخم‌های پوستی موش‌های سالم [۳۱، ۲۲، ۱۹]، افزایش تعداد میو فیبروبلاست‌ها، افزایش رسوب کلاژن [۳۲]، افزایش قدرت کشش [۲۲] و موجب افزایش mRNA پروکلاژن نوع یک و سه در این زخم‌ها شده است [۳۳]. همچنین، در تحقیقی تابش لیزرهای کم توان هلیوم نئون روی لثه در موش صحرایی موجب کاهش مقدار التهاب و تسریع بخشی فرآیند التیام زخم بدنال تغییر در بیان ژن‌های درگیر مثل PDGF (Transforming Growth Factor- β) Platelet- و (Derived Growth Factor) شده است [۳۴].

تحقیقات مختلفی راجع به آثار تابش لیزر کم توان روی فرآیند التیام زخم مدل‌های حیوان دیابتی انجام شده است [۳۵-۴۳]. نتایج این تحقیقات نشانگر تأثیرات مثبت لیزر بر فرآیند التیام زخم بوده است. اما بررسی دقیقتر نشان می‌دهد که در این تحقیقات از دوزهای (Energy density) مختلف لیزر از 1 J/cm^2 ، 5 J/cm^2 و $[43, 36, 38, 35, 42]$ الی 18 J/cm^2 و 36 J/cm^2 [۴۳] و گروه‌های شاهد ناکافی [۴۱، ۴۲، ۴۰، ۳۸، ۳۵، ۴۳]، استفاده شده است. از این‌رو در تحقیق حاضر تمهیدات زیر اندیشیده شد تا تأثیر لیزر کم توان هلیوم- نئون بر التیام زخم موش‌های صحرایی دیابتی شده به وسیله استرپتوزوتوسین به طور دقیق بررسی شود.

۱. از سه دوز مختلف لیزر استفاده شد که این دوزها در تحقیقات مختلف باعث بهبودی روند التیام زخم شده است.
۲. از روش ارزیابی بیومکانیکی از نوع تنسیومتری استفاده شد. در این روش ارزیابی، احتمال هر نوع سونگری در داده‌های این تحقیق از سوی مؤلفان این کار به دلیل اینکه استخراج داده‌ها به وسیله ابزارهای ساخته شده استاندارد، ماشین سنجش استحکام مواد و کامپیوتر مرتبط با آن انجام می‌شود، از بین می‌رود.

۳. از گروه‌های شاهد سالم و دیابتی به طور همزمان استفاده شد. با توجه به تنوع دستگاه‌های مولد پرتو لیزر که در تحقیقات انجام شده قبلی به کار رفته‌اند، در تحقیق حاضر از یک نوع

شروع جراحی) لیزر کم توان هلیوم نئون تابیده شد. دستگاه مولد لیزر 2005 THORLABS ساخت کشور آمریکا استفاده شد که طول موج آن 632.8 nm ، قدرت خروجی آن به میزان $7/2 \text{ mw}$ ، قطر پرتو لیزر خروجی آن 0.85 mm میلی متر بود و در سه دانسیته انرژی:

(۱) $22/4 \text{ J/cm}^2$ (مدت زمان تابش لیزر ۱۶ ثانیه بر هر نقطه در محل لبه زخم، ۶ بار در هر هفته)،
(۲) $1/2 \text{ J/cm}^2$ (مدت زمان تابش لیزر ۲ ثانیه در سه نوبت در هفته)،

(۳) 4 J/cm^2 (مدت زمان تابش لیزر ۳ ثانیه بر هر نقطه در محل لبه زخم، در ۶ نوبت هفته)،

برای تابش انتخاب شد. سعی شد که تقریباً کل ناحیه زخم و پوست سالم لبه آن به وسیله تابش های نقطه ای (به فاصله یک میلی متر بین دو نقطه، ۱۵ نقطه در لبه راست زخم، ۱۵ نقطه در لبه چپ زخم و ۱۵ نقطه در فاصله دو لبه خود زخم) به طور پیوسته تحت پوشش تابش مستقیم لیزر قرار گیرد. در زمان تابش لیزر، موش ها با تزریق داروی بیهوشی طبق آنچه برای در زمان جراحی ذکر شد، آرام شده و در حین بیحرکتی پرتو لیزر را دریافت کردند.

نمونه برداری

بعد از گذشت ۱۵ روز از زمان جراحی (هم در دسته های شاهد و تجربی گروه سالم و هم در دسته های شاهد و تجربی گروه دیابتی)، مجدداً وزن و قند خون موش ها ثبت شد و سپس موش ها به وسیله استنشاق کلروفورم در یک ظرف بسته شیشه ای بیهوش و با تداوم بیهوشی کشته شدند. پس از قرار دادن حیوان روی میز جراحی، از مرکز دو زخم هر موش (یکی شاهد و دیگری تجربی) به وسیله دو دسته اسکالپل نمره ۱۵ که به وسیله یک گیره به هم ثابت شده و فاصله آن دو نسبت به هم ۴ میلی متر است، یک نمونه پوستی به طول ۵ سانتیمتر و عرض ۴ میلی متر تهیه شد. نمونه ها در درون گاز

صورتی که قند خون آن ها کمتر از 250 mg/dl بود، موش ها از برنامه تحقیق حذف شدند.

نحوه ایجاد زخم پوستی

ابتدا در سه گروه از موش های سالم و در هر موش ۲ زخم پوستی برشی (incision) با ضخامت کامل پوست ایجاد شد. بعد از گذشت یک ماه از زمان دیابتی شدن موش ها در یک سرنگ انسولین ۳۰ واحد کتامین (ketamin hydrochloride) محصول Rotex Medical آلمان و ۷۰ واحد دیازپام محصول شرکت گسترش و سرمایه گذاری دارویی رشت- ایران کشیده شد، سپس با در نظر گرفتن وزن موش های دیابتی که حدوداً به ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم رسیده بود، به میزان ۳۰ الی ۳۵ واحد از این کوکتل به آن ها تزریق عضلانی شد. موش های سالم با دوز 50 mg/kg کتامین و 5 mg/kg دیازپام به صورت داخل عضلانی بیهوش شدند.

پس از بیهوشی، موی پشت هر موش از فاصله زاویه تحتانی استخوان کتف تا لبه ستیغ استخوان خاصره تراشیده و به وسیله بتادین محل برش ها ضد عفونی شد. به فاصله ۲ سانتیمتر در طرفین ستون فقرات و توسط یک خط کش محل برش پوستی که ۲ زخم در جهت کرانیال-کودال به طول ۱۵ میلی متر است و نسبت به هم ۴ سانتیمتر فاصله دارند، علامت گذاری و با استفاده از اسکالپل نمره ۱۵ یک برش پوستی با ضخامت کامل پوست در هر طرف ستون فقرات داده شد. پس از برش، دو لبه برش با رعایت فاصله بین آن دو (حدود ۲ میلی متر فاصله حفظ شد تا بافت ترمیمی جای کافی برای شکل گرفتن داشته باشد) به وسیله نخ نایلونی جراحی شماره ۳ محصول شرکت سوپا (SUPABON) ساخت ایران بخیه شد (عکس ۱). لازم به ذکر است که روز عمل جراحی روز صفر و روز بعد روز یک و الی آخر محسوب شد.

برنامه تابش لیزر

به زخم تجربی موش های صحرایی از روز صفر (زمان

یافته‌ها

در بدو تحقیق قند موش‌های گروه سالم $107/2 \pm 8/4$ و وزن آن‌ها $317/8 \pm 16/2$ بود و در انتهای دوره وزنشان $16/2 \pm 290/4$ بود. اختلاف وزن موش‌ها از نظر آماری با روش Paired student t test معنی‌دار بود ($p=0.000$). قند موش‌های گروه دیابتی در بدو تحقیق $110/1 \pm 9/5$ و بعد از القای دیابت $517/4 \pm 93/3$ بود و اختلاف آن‌ها با روش Paired student t test از نظر آماری معنی‌دار بود ($p=0.000$). وزن موش‌های گروه دیابتی در بدو تحقیق $317/8 \pm 16/2$ و در انتهای دوره $16/2 \pm 290/4$ بود و اختلاف آن‌ها با روش Paired student t test از نظر آماری معنی‌دار بود ($p=0.000$).

یافته‌های آزمایش بیومکانیک

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایش بیومکانیکی در جدول‌های ۱ و ۲ درج شده است. تابش لیزر با دوز $1/2 \text{ J/cm}^2$ به موش‌های سالم موجب بروز اختلاف معنی‌دار آماری نیروی حداکثر در مقایسه با گروه شاهد شد ($p=0.053$). همچنین تابش لیزر با دوز 4 J/cm^2 به موش‌های دیابتی موجب بروز اختلاف معنی‌دار آماری نیروی حداکثر در مقایسه با گروه شاهد شد ($p=0.054$).

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار نیروی حداکثر (N) زخم موش‌های سالم تیمار شده با لیزر و مقایسه آن‌ها به روش Paired student t test در سه دانسیته انرژی مختلف

دانیسته انرژی	گروه	تعداد موش	میانگین	انحراف معیار	سطح معنی‌دار (p value)
$22/4 \text{ J/cm}^2$	شاهد ۱	۶	۵/۴	۲/۲	p=0.253
	تجربی ۱	۶	۸/۶	۵/۳	
$1/2 \text{ J/cm}^2$	شاهد ۲	۵	۶/۱	۱/۴	*p=0.053
	تجربی ۲	۵	۶/۸	۱/۴	
4 J/cm^2	شاهد ۳	۴	۴/۳	۱/۸	p=0.1
	تجربی ۳	۴	۱۰/۵	۱۰/۵	

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که نیروی حداکثر زخم‌های تیمار شده با لیزر با دوز $1/2 \text{ J/cm}^2$ به طور معنی‌داری بیش از گروه شاهد آن گروه بود.

زخم‌بندی آغشته به محلول سدیم کلراید ۹٪ در صد پیچیده و در داخل ظرف دردار گذاشته شد و بلافاصله به فریزر منهای ۲۰ درجه منتقل شد.

آزمایش بیومکانیک

برای انجام آزمایش بیومکانیکی، نمونه‌ها به آرامی در دمای اتاق ذوب و از انجماد خارج شد و تحت آزمایش تنسیومتری قرار گرفت. با توجه به اینکه ابعاد نمونه در هنگام نمونه‌گیری به‌طور استاندارد رعایت شده بود، اطلاعات آن به رایانه داده شد، سپس نمونه بین دو بازوی ثابت و متحرک دستگاه سنجش استحکام مواد (Zwick Z2.5H 15WN) محصول کشور آلمان قرار گرفت و فاصله بین دو بازو در شروع آزمایش، ۳cm تنظیم شد. پس از اطمینان از قرارگیری مناسب نمونه، نیرو به وسیله بازوی متحرک با سرعت ۱۵ mm/min از بازوی ثابت اعمال و بازوی متحرک از بازوی ثابت دور می‌شود تا پارگی در محل زخم ترمیم شده رخ دهد. داده‌ها به صورت خودکار به وسیله رایانه متصل به دستگاه محاسبه شد و منحنی load-deformation نمونه چاپ شد و نیروی حداکثر Maximum force (N) نمونه استخراج شد. نیروی حداکثر، بیشترین نیرویی است که بافت قبل از پارگی ماکروسکوپی تحمل می‌کند.

روش آماری

توزیع طبیعی داده‌ها آزمون شد و سپس در صورتی که توزیع آن‌ها طبیعی بود، داده‌های گروه‌های شاهد و تجربی به روش Paired student t test و در غیر این صورت Mann whitney u test با هم مقایسه و تجزیه و تحلیل شد و $p \leq 0.05$ معنی‌دار محسوب شد. داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ ارائه شد.

تحقیقات انجام شده در این خصوص می‌توان به تحقیقات اشنیدر (Schneider) و همکاران [۴۴] اشاره نمود.

اشنیدر و همکاران با آگاهی از آنژیوپاتی بیماران دیابتی که منجر به کاهش میکروسیرکولیشن پوست می‌شود، لیزر کم توان هلیوم نئون با دوز 30 J/cm^2 را به پوست ناحیه پشت پا (fore foot) تاباندند. آن‌ها افزایش معنی‌دار درجه حرارت پوست را مشاهده کردند و نتیجه گرفتند که افزایش معنی‌دار جریان خون میکرو پوست به دلیل آثار غیر حرارتی تابش لیزر است [۴۴]. با توجه به اینکه دوز لیزر کم توان برای تابش به زخم‌های پوستی معمولاً بین $1-4 \text{ J/cm}^2$ است [۴۴، ۳۴]؛ احتمالاً می‌توان گفت با توجه به دوز 34 J/cm^2 که برای پوست بیماران دیابتی مؤثر بوده است، دوز 4 J/cm^2 که در تحقیق حاضر برای التیام زخم دیابتی مؤثر بوده است، از توجیه منطقی بیشتری برخوردار است و با تحقیقات کاروالهو [۳۷] و بیرن (Byrnes) [۳۸] همخوانی دارد.

میرلس (Meireles) [۳۵] و همکاران اعلام کردند که به نظر نمی‌رسد اختلال متابولیک کنش متقابل لیزر با بافت‌ها را مشخصاً مختل کند [۳۵]، اما بر اساس یافته‌های تحقیق حاضر که از یک طرف تابش لیزر با دوز 1 J/cm^2 موجب تسریع بخشی معنی‌دار التیام زخم باز پوستی در حیوانات سالم شد و از طرف دیگر این دوز از لیزر نتوانست موجب تسریع بخشی فرآیند التیام زخم در مدل حیوانات دیابتی شود می‌توان نتیجه گرفت که دیابت تا حدودی بر کنش متقابل لیزر با بافت‌های در حال ترمیم اثر منفی گذاشته است.

کاروالهو (Carvalho) اعلام کرد که در حیوانات زخمی شده دیابتی، بافت گرانولاسیون کمتری نسبت به گروه شاهد تشکیل شده است [۳۷]. ردی [۴۰] اعلام کرد که در بافت زخمی دیابتی شده تام کلاژن، کلاژن محلول در نمک خنثی، کلاژن محلول در اسید، کلاژن محلول در پپسین و کلاژن غیر قابل حل کاهش می‌یابد. مشاهدات فوق با نتایج حاضر که نشان دهنده کاهش ویژگی‌های بیومکانیکی بافت زخمی

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار نیروی حداکثر (N) زخم موش‌های دیابتی تیمار شده با لیزر و مقایسه آن‌ها به روش Paired student t test در سه دانسیته انرژی مختلف

دانشیه انرژی	گروه	تعداد موش	میانگین	انحراف معیار	سطح معنی‌دار (p value)
$22/4 \text{ J/cm}^2$	شاهد ۱	۵	$12/8$	$8/8$	$p=0.6$
	تجربی ۱	۵	$7/3$	$3/1$	
$1/2 \text{ J/cm}^2$	شاهد ۲	۵	$8/2$	$4/8$	$p=0.15$
	تجربی ۲	۵	$23/9$	$23/6$	
4 J/cm^2	شاهد ۳	۶	$6/8$	$3/1$	$*p=0.05$
	تجربی ۳	۶	$14/8$	$10/3$	

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که نیروی حداکثر زخم‌های تیمار شده با لیزر با دوز 4 J/cm^2 به‌طور معنی‌داری بیش از گروه شاهد آن گروه بود.



شکل ۱. نمایش ایجاد دوز زخم کرایال - کودال (یکی شاهد و دیگری تجربی روی پشت یک موش) به طول ۱۵ میلی‌متر که نسبت به هم ۴ سانتی‌متر فاصله دارند. لبه‌های راست و چپ هر زخم قابل توجه است.

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که برای تسریع بخشی معنی‌دار فرآیند التیام زخم حاد دیابتی (Diabetic incisional acute wound healing process) که به‌وسیله تجویز استرپتوزوتوسین در مدل حیوانی موش صحرایی ایجاد شده است، نیاز به انرژی بیشتری از لیزر کم توان در مقایسه با گروه شاهد است. با توجه به تعداد اندک

و آثار مشاهده شده بعد از تابش لیزر را ایجاد می‌کند [۴۵ و ۴۶]. اجزای زنجیره میتوکندریای انتقال الکترون و تعدادی از آنزیم‌ها کاندیداهای عمل کننده به عنوان فتواکسپتور است. بر اساس حضور چندین ماگزیم در طیف عمل این مکانیسم‌ها به نظر می‌رسد که بیش از یک مکانیسم طی مکانیسم‌های اثر بخشی لیزرهای کم توان نقش دارد [۴۷ و ۴۸]. به نظر می‌رسد پارامترهای ایده‌آل اثربخشی لیزر کم توان هلیوم نئون برای زخم‌های پوستی موش‌های سالم و دیابتی متفاوت است و زخم‌های دیابتی به دوز بیشتری از لحاظ پرتو لیزر کم توان برای تسریع بخشی فرآیند التیام زخم نیاز دارد.

تقدیر و تشکر

این مقاله بخشی از نتایج پایان نامه دکتری تخصصی نویسنده اول است. نویسندگان این تحقیق مراتب تقدیر و تشکر خود را از سرکار خانم دکتر ترکمان و سرکار خانم غیاثی بابت همکاری در انجام آزمایش‌های تنسومتری که در دانشگاه تربیت مدرس انجام شد و همچنین از دکتر رحمتی رودسری معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و نیز دکتر دباغ معاونت محترم پژوهشی دانشکده پزشکی شهید بهشتی و همکاران بابت پرداخت بخشی از هزینه انجام این تحقیق اعلام می‌دارند.

References

1. **Robertson RP.** Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes. *J Biol Chem* 2004; 279: 42351-4.
2. **Alberti G, Zimmet P, Shaw J, Bloomgarden Z, Kaufman F, Silink M.** Type 2 diabetes in the young: the evolving epidemic. The International diabetes federation consensus workshop. *Diabetes Care* 2004; 27: 1798-811.
3. **De Fronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E.** (1992) Pathogenesis of NIDDM: a balanced

دیابتی شده در مقایسه با بافت سالم است، همخوانی دارد. نتایج بخش حیوانات سالم تحقیق حاضر با تحقیق لیون (Lyons) و همکاران [۳۴] مطابقت دارد. لیونو همکاران اعلام کردند که زخم‌های پوستی موش‌های سالم تیمار شده با لیزر هلیوم نئون با دوز $1/2 \text{ J/cm}^2$ بعد از گذشت ۱۴ روز نیروی حداکثر بیشتری را در مقایسه با گروه شاهد داشت. آن‌ها اعلام کردند که تابش لیزر باعث تسریع بخشی تشکیل بافت اسکار کاربردی در مدل حیوانی التیام زخم مورد بررسی آنان شده است. نتایج بخش حیوانات دیابتی تحقیق حاضر با نتایج تحقیق کاروالهو و همکاران [۳۷] همخوانی دارد. کاروالهو و همکاران اعلام کردند که ۱۴ روز بعد از ایجاد زخم در حیوانات سالم و دیابتی تیمار شده با لیزر هلیوم نئون میانگین، کلاژن بیشتری نسبت به گروه‌های شاهد مشاهده شد و این نشانگر قدرت لیزر در افزایش مقدار رشته‌های کلاژن در نمونه‌های سالم و دیابتی است.

مکانیسم دقیق نحوه تأثیر لیزر بر روند التیام زخم چندان مشخص نیست. چندین تئوری در این باره مطرح شده است و تحقیقاتی هم در این ارتباط انجام شده است اما همچنان نکات مبهم فراوانی وجود دارد [۳۸]. از نظر تئوری اعلام شده است که تعدادی فتورسپتور فتواکسپتور (photoacceptor) وجود دارد که فتون‌ها را جذب کرده و در نتیجه تحریک شده

overview. *Diabetes Care* 1992; 15: 318-368.

4. **Groop LC, Wid'en E, Ferrannini E.** (1993) Insulin resistance and insulin deficiency in the pathogenesis of type 2 (non - insulin dependent) diabetes mellitus: errors of metabolism or of methods? *Diabetologia* 1993; 36: 1326-1331.
5. **Brem H, Tomic-Canic M.** Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *The Journal of Clinical Investigation*. 2007; 117 (5): 1219-22.
6. **Pavlovic MD, Milenkovic T, Dinic M, Misovic M, Dakovic D, Todorovic S, et al.** The prevalence of

- cutaneous manifestations in young patients with IDDM. *Diabetes Care* 2007; 30(8): 1964–1967.
7. **Azizi F, Guoya MM, Vazirian P, Dolatshahi P, Habibian S.** Screening for type 2 diabetes in the Iranian national programmed: a preliminary report. *East Mediterr Health J* 2003; 9: 1122-7.
 8. **Hussain A, Vaaler S, Sayeed MA, Hajera M, Keramat Ali SM, Azad Khan AK.** diabetes and impaired fasting blood glucose in rural Bangladesh: a population based study. *Eur J Public Health* 2007; 17: 291-6.
 9. **Adeghate E, Schattner P, Dunn E.** An update on the etiology and epidemiology of diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1084: 1-29.
 10. **Azizi F, Gouya MM, Vazirian P, Dolatshahi P, Habibian S.** The diabetes prevention and control programmed of the Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J* 2003; 9: 1114-21.
 11. **Azimi-Nezhad M, Ghayour-Mobarhan M, Parizadeh MR, Safarian M, Esmaeili H, Parizade S M J, et al.** Prevalence of type 2 diabetes mellitus in Iran and its relationship with gender, urbanisation, education, marital status and occupation.
 12. **KERN P, MOCZAR M, ROBERT L.** Biosynthesis of Skin Collagens in Normal and Diabetic Mice. *Biochem. J.* 1979; 182: 337_45.
 13. **Loots MAM, Lamme EN, Mekkes JR, Bos JD, Middelkoop E.** Cultured fibroblasts from chronic diabetic wounds on the lower extremity (non-dependent diabetes mellitus) show disturbed proliferation. *Arch Dermatol Res* 1999; 291: 93-9.
 14. **Blakytyn R., Jude EB, Martin Gibson J, Boulton, A.J., Ferguson, M.W.** Lack of insulin-like growth factor 1 (IGF1) in the basal keratinocyte layer of diabetic skin and diabetic foot ulcers. *Journal of Pathology* 2000; 190(5): 589–94.
 15. **Jude EB, Blakytyn R, Bulmer J, Boulton AJ, Ferguson MW.** Transforming growth factor-beta 1, 2, 3 and receptor type I and II in diabetic foot ulcers. *Diabetic Medicine* 2002; 19(6): 440–7.
 16. **Goodson WHd, Hunt TK.** Wound healing and the diabetic patient. *Surg Gynecol Obstet* 1979; 149: 600-8.
 17. **Greenhalgh DG.** Wound healing and the diabetes mellitus. *Clin Plast Surg* 2003; 30: 37-45
 18. **Mester E, Jaszsa – Nagy E.** The effect of laser radiation on Wound healing and collagen synthesis. *Studia Biophysica* 1973; 35: 231- 6.
 19. **Mester E, Spiry T, Szende B, Tota JG.** Effect of laser rays on Wound healing. *Am J Surg* 1971; 122: 532-5.
 20. **Posten W, Wrone DA, Dover JS, Arndt KA, Silapunt S, Alam M.** Low-level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy. *Dermatol Surg* 2005; 31: 334-40.
 21. **Kana JS, Hutschenreiter G, Haina D, Waidelich W.** Effect of low- power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Arch Surg* 1981; 116: 293-96.
 22. **Lyons RF, Abergel RP, Dwyer RM, Castel JC, Uitto J.** Biostimulation of Wound healing in vivo by a helium- neon laser. *Ann Plast Surg* 1987; 18: 47-50.
 23. **Trelles MA, Mayayo E.** Bone fracture consolidates faster with low – power laser. *Lasers Surg Med* 1987; 7: 36-45.
 24. **Enwemeka CS, Rodriguez O, Gall NG, Walsh NE.** Morphometric of collagen fibril population in He Ne laser photostimulated tendon. *J Clin laser Med Surg* 1990; 8: 151-8.
 25. **Rochkind S, Rousso M, Nissan M, Villarreal M, Barronea 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: 174-9.
 26. **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.
27. **Walker J.** Relieve from chronic pain by low power laser irradiation , *Neurosci. Lett* 1983; 43: 339-44.
 28. **Synder – Mackler L, Bork C, Bourbon B, Ttumbore D.** Effect of helium -neon laser on musculoskeletal trigger points. *Phys Ther* 1986; 66: 1087-90.
 29. **Wilden L, Kartheim R .** Import of radiation phenomena of electrons and therapeutic low – level laser in regard to mitochondrial energy transfer. *Clin Laser Med Surg* 1999; 16: 159-65.
 30. **Greco M, Vacca RA, Moro L, Perlino E, Petraglio VA, Marra E, Passarella S.** Helium-neon laser radiation to hepatocyte can trigger increase of mitochondrial membrane potential and can stimulate c-fos expression in a ca+2 dependent manner . *Laser Surg Med* 2001; 29: 433-41.
 31. **Bisht D, Gupta SC, misra U, Mital VP, Sharma P.** Effect of low – intensity laser radiation on healing of skin wounds in rats. *Indian J Med Res* 1994; 100: 43-60.
 32. **Medra AR, Pugliese LS, Reis SR. Andrade ZA.** Influence of low – level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibrobla . *Lases Surg Med* 2003; 32: 239-40.
 33. **Saperia D, Glassberg E, Lyons RF, Abergel RP , Baneux P, Castel JC, Dwyer RM.** Demonstration of elevated type I and type III procollagen mRNA. Levels in cutaneous wounds treated with helium – neon laser – proposed mechanism for enhance wound healing . *Biochem Biophys Res Commun* 1986; 138: 1123-8.
 34. **Safavi SM, Kazemi B, Esmaeili M, Fallah A, Modarresi A, Mir M.** Effects of low-level He–Ne laser irradiation on the gene expression of IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , TGF- β , bFGF, and PDGF in rat's gingival. *Lasers Med Sci* 2008; 23: 331-5.
 35. **Meireles GCS , Santos JN, Chagas PO, Moura AP, Pinheiro ALB.** Effectiveness of laser photostimulation at 660 or 780 nanometers on the repair of third- degree burns in diabetic rats. *Photomed Laser Surg* 2008; 26: 47-54.
 36. **Killik R, Bober. J, Gal P, Vidinsky B, Mokry M, Longauer F, Sobo J.** The influence of laser irradiation with different power densities on incisional wound healing in healthy and diabetic rats. *Rozhi chir* 2007; 86: 384-7.
 37. **de carvalho PTC, Mazzer N, dos Reis FA, Belchior ACG Silva IS.** Analysis of the influence of low-power He Ne laser on the healing of skin wounds in diabetic and non- diabetic rats. *Acta Cirurgica Brasileira* 2006; 21: 177-83.
 38. **Byrnes KR, Barna LBS , Chenault M, et al.** Photobiomodulation improves cutaneous wound healing in an animal model of Type II diabetes. *Photo med Laser Surg* 2004; 22: 281-90.
 39. **Kawalec JS, Hethering ton VJ, Pfennigwerth TC, Dockery DS, Dolce M.** Effect of diode laser on wound healing by using diabetic and nondiabetic mice. *The Journal of Foot and Ankle Surg* 2004; 43: 214-20.
 40. **Reddy GK.** Comparison of the photostimulatory effects of visible He- Ne and infrared Ga- As Lasers on healing impaired diabetic rat wounds. *Lsers Surg Med* 2003; 344-51.
 41. **Reddy GK, Stehno- Bittel L, Enwemeka CS.** Laser photo- Stimulation accelerates wound healing in diabetic rats. *Wound Rep Reg* 2001; 9: 248-55.
 42. **Stadler I, Lanzafame RJ, Evans R, Narayan V, Dailey B, Buehner N, Naim JO.** 830-nm irradiation increases the wound tensile strength in a diabetic murine model. *Lasers Surg Med* 2001; 28 :220-6.
 43. **Yu W, Naim JO, Lanza fame RJ.** Effects of photostimulation on wound healing in diabetic mice. *Lasers Surg Med* 1997; 20: 56-63.
 44. **Schinde A, Heinze G, Schindl M, Pernstorfer- Schon L, Schnidl L.** Systemic effects of low-

- intensity laser irradiation on skin microvasculature on patients with diabetic microangiopathy. *Microvascular Research* 2002; 64: 240-64.
45. **Webb C, Dyson M, Lewis WH.** Stimulatory effect of 660 nm low level laser energy on hypertrophic scar-derived fibroblasts: possible mechanisms for increase in cell counts. *Lasers Surg med* 1998; 22: 294-301.
 46. **Karu T, Andreichuk T, Ryabykh T.** Changes in oxidative mechanism of murine spleen following laser and superluminescent diode (660-950 nm) irradiation: effects of cellular composition and radiation parameters. *Lasers Surg Med* 1993; 13: Nonmonotonic behavior of dose dependence of the 453-62.
 47. **Karu TI, Pyatibrat LV, Ryabykh TP.** radiation effect on cells in vitro exposed to pulsed laser irradiation at $\lambda = 820$ nm. *Lasers Surg Med*. 1997; 21: 485-92.
 48. **Karu T, Tiphlova Q, Esenaliev R.** Two different mechanisms of low- intensity laser photobiological effects on *Escherichia coli*. *J Photochem photobiol* 1994; 1324: 55-161.
 49. **Kawalec JS, Hetherington VJ, Pfennigwerth TC, Dockery DS, Dolce M.** Effect of diode laser on wound healing by using diabetic and non diabetic mice. *J Foot Ankle surg* 2004; 43: 214-20