

تأثیر تابش لیزر کم توان هلیوم بر التیام لیگامان طرفی داخلی قطع شده زانوی موش صحرایی

علی دلبری^{M.Sc.}، محمد بیات^{Ph.D.}، محمدعلی الماسیه^{M.Sc.}، فاطمه السادات رضایی^{**}

* گروه علوم تشریح و مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

** کارشناس پژوهشی پژوهشکده رویان

تاریخ وصول: اسفند ماه ۸۱، تاریخ پذیرش: اردیبهشت ماه ۸۲

چکیده

هدف: بررسی اثر تابش لیزر کم توان هلیوم - ثنون بر فرآیند التیام لیگامان طرفی داخلی قطع شده زانوی موش صحرایی به وسیله ارزیابی بیومکانیکی

مواد و روشها: در ۳۵ سر موش صحرایی لیگامان طرفی داخلی زانوی اندام خلفی سمت راست برش عرضی داده شد. موشها به طور تصادفی به ۴ گروه طبیعی، شاهد و تجربی ۱ و ۲ تقسیم شدند. در گروههای تجربی یک و دو به محل برش، لیزر کم توان هلیوم ثنون با طول موج ۶۳۲/۸nm و خروجی ۱۰mw و پرتوی پیوسته با دانسیته‌های انرژی ۱۰mJ/cm² و ۱/۲J/cm² به صورت روزانه تابانده شد. در گروه شاهد لیزر به صورت خاموش اعمال شد. هیچ‌گونه تیماری روی موشهای گروه طبیعی اعمال نشد. بعد از گذشت ۱۲ و ۲۱ روز، نمونه برداری در گروههای شاهد و تجربی انجام شد و همه اتصالات استخوانهای تیبیا و ران سمت راست به یکدیگر به جز لیگامان طرفی داخلی قطع شد. نمونه‌ها تحت آزمایش بیومکانیکی قرار گرفتند و قدرت کشش (N/mm²)، کار انجام شده (Nmm) و ضریب الاستیسیته (N/mm²) به دست آمد. داده‌ها به روش آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل آماری شدند.

یافته‌ها: قدرت کشش گروه تجربی دو (۱۱/۴۸±۱/۳۲) در روز دوازده بعد از جراحی نسبت به گروه شاهد (۷/۵۵±۰/۳۷)، تجربی یک (۸/۹۲±۱/۳۲) و گروه طبیعی (۲۱/۷۷±۲/۷) اختلاف معنی دار آماری (P=0.000) را نشان داد. کار انجام شده گروه طبیعی نسبت به سایر گروهها در دوازده روز (P=0.000) و ۲۱ روز بعد از جراحی (P=0.005) بیش از سایر گروهها بود.

نتیجه‌گیری: تابش لیزر کم توان هلیوم ثنون با دانسیته انرژی ۱/۲J/cm² موجب افزایش معنی دار قدرت کشش نسبت به گروه شاهد شد. هر چند با توجه به معنی دار نشدن اختلاف سایر پارامترهای مورد بررسی در گروههای شاهد و تجربی و کاهش معنی دار قدرت کشش گروههای تجربی نسبت به گروه طبیعی، انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

کلمات کلیدی: فرآیند التیام، لیگامان کولترال داخلی مفصل زانو، لیزر، بیومکانیک، موش صحرایی

مقدمه

لیگامان از انواع بافت همبندی منظم است. در این ساختمان که اغلب از بافت رشته‌ای تشکیل شده است جهت رشته‌ها دارای قاعده و نظم است [۱]. لیگامان طرفی درشت ثنی (داخلی) از اپی کوندیل داخلی استخوان ران به کوندیل داخلی و تنه استخوان درشت نی کشیده شده است و با کپسول مفصل

زانو آمیخته شده است [۱].

لیگامانهای طرفی داخلی و خارجی دو لیگامان اصلی از دسته لیگامانهای بیرون مفصلی (extraarticular) مفصل زانو را تشکیل می‌دهند [۲]. لیگامان طرفی داخلی غالباً دچار جراحت می‌شود [۳ و ۴]، از این رو عده زیادی از محققان علاقه‌مند هستند که در زمینه فرآیند التیام لیگامان به تحقیق بپردازند [۵]. اگرچه روشهای درمان جراحات لیگامان در سالهای اخیر پیشرفتهای اساسی زیادی کرده است، اما هنوز سئوالات زیادی

آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، صندوق پستی ۱۹۳۹۵-۴۷۱۹ Email: Bayat_m@yahoo.com

راجع به چگونگی تسریع بخشی میزان التیام و کیفیت فرآیند التیام لیگامان و زمان اتمام آن وجود دارد [۵]. در همین خصوص تحقیقات انجام شده نشان داده است که استحکام (قدرت کشش) اسکارنهایی حاصل از فرآیند التیام لیگامان ۳۰ الی ۴۰ درصد از حالت طبیعی آن کمتر است [۶ و ۷]. از آنجا که وظیفه عمده لیگامان پایدار کردن مفصل است پس لیگامان ضعیف می‌تواند منجر به جراحات مجدد و ناپایدار کردن و آرتریت دژنرتیو شود [۸]. بنابراین ضعف استحکام اسکار لیگامان یک مشکل جدی بالینی است. از بین اجزای بافت همبندی کلاژن مهمترین نقش را در استحکام بافت بر عهده دارد؛ بنابراین تغییرات کمی و کیفی ماتریکس کلاژنی بافت اسکار احتمالاً منشاء تغییرات ویژگیهای مکانیکی مفصل پس از جراحی است [۹].

تحقیقات قبلی نشان داده است که در بافتهای اسکار، کلاژن نوع یک، کاهش و کلاژنهای نوع سه و پنج افزایش می‌یابد و پیوندهای عرضی غیر طبیعی می‌شوند [۷ و ۱۰ و ۱۱].

از دلایل ضعف استحکام بافت اسکار و تشکیل فیبریلهای کلاژن با قطر اندک ممکن است فقدان عوامل و شرایط پیشرفت دهنده فرآیند التیام لیگامان به دلیل عدم آگاهی نسبت به آنها باشد [۹]. محققان به منظور دست یافتن به این عوامل و شرایط، روشهای مختلفی نظیر فاکتورهای رشد، سلول درمانی و تکنولوژی انتقال ژن را بررسی کرده‌اند. اما این روشها هنوز در مراحل اولیه تحقیقاتی هستند و به آسانی در دسترس نبوده و اجرای آنها هزینه بسیار بالایی دارد. یکی دیگر از روشهای پیشنهادی استفاده از لیزرهای کم توان است که محققان اثرات مثبت و تحریکی آنرا در زمینه التیام زخم پوستی و سوختگی و تاندون نشان داده‌اند [۱۷-۱۲].

هدف تحقیق حاضر بررسی اثر تابش لیزر کم توان هلیوم نئون بر فرآیند التیام لیگامان طرفی داخلی قطع شده موش صحرایی به وسیله روش ارزیابی بیومکانیکی است.

مواد و روشها

در این تحقیق از ۳۵ سر موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد Sprague Dawley با محدوده وزنی 250 ± 30 که در

انستیتو پاستور ایران تکثیر شدند استفاده گردید. موشها در طی دوره تحقیق دسترسی آزاد به آب و خوراک موش داشتند و درون قفسهای انفرادی استاندارد در حیوانخانه نگهداری شدند. موشها به‌طور تصادفی به چهار گروه طبیعی، شاهد، تجربی یک و تجربی دو تقسیم شدند. ۵ سر از موشهای هر یک از گروههای شاهد و تجربی برای دوره ۱۲ روزه و ۵ سر دیگر برای دوره ۲۱ در نظر گرفته شدند. به منظور انجام جراحی در گروههای شاهد و تجربی، ابتدا موشها به وسیله تزریق داخل عضلانی کتامین هیدروکلراید (100 mg/kg) و دیازپام (5 mg/kg) بیهوش شدند. تحت بیهوشی عمومی موی سطح داخلی ناحیه زانوی اندام خلفی راست تراشیده و با بتادین ضد عفونی شد. سپس به وسیله تیغ بیستوری شماره ۱۵ برش کوچکی در پوست و فاسیای عمقی داده شد؛ لیگامان طرفی داخلی در معرض دید قرار گرفت و قسمت میانی لیگامان کاملاً از نسوج اطراف و کپسول مفصلی آزاد شد. با تیغ بیستوری یک برش عرضی در محاذات توبرکل تیبیا به لیگامان داده شد به نحوی که لیگامان کاملاً به دو قسمت مجزا تقسیم شد. سپس دو لبه لیگامان در امتداد آناتومیک خود قرار گرفت و فاسیای عمقی و پوست دوخته شد. بعد از جراحی، موشها اجازه تحرک و فعالیت نامحدود داشتند. روز جراحی روز صفر محسوب شد و روز بعد روز یک و الی آخر ... در گروههای تجربی بلافاصله بعد از عمل، محل جراحی تحت تابش لیزر کم توان هلیوم نئون با طول موج 632.8 nm و خروجی 10 mW و پیوسته و انرژی دانسیته 10 mJ/cm^2 در گروه تجربی یک و $1/2 \text{ J/cm}^2$ در گروه تجربی دو به صورت روزانه قرار گرفت. نام دستگاه مولد لیزر IR-2000 و ساخت سازمان انرژی اتمی ایران واقع در تهران بود.

خروجی دستگاه به وسیله دستگاه توان سنج نور Power Meter (ساخت سازمان انرژی اتمی ایران) کنترل شد. از روز یک به بعد ابتدا به همه موشهای گروههای شاهد و تجربی $\frac{1}{3}$ الی $\frac{1}{3}$ دوز کامل مواد بیهوشی تزریق شد تا حالت آرامش پیدا کنند سپس به موشهای گروههای تجربی در حالی که روی میز جراحی بی حرکت شده بودند لیزر تابانده شد. در انتهای دوره‌های بررسی موشهای گروههای شاهد و تجربی و همچنین

از عمل جراحی از بین نرفتند و از روز بعد از عمل، موشها تحرک خود را باز یافتند و زخمهای برشهای جراحی در طی هفت روز بعد از عمل التیام یافتند. نتایج تجزیه و تحلیل جدولهای یک الی سه ارائه شده است قدرت کشش گروه تجربی دو ($11/48 \pm 1/48$) در روز ۱۲ در مقایسه با گروههای شاهد ($7/55 \pm 0/37$) و تجربی یک ($8/92 \pm 1/32$) افزایش معنی دار آماری را نشان داد ($P < 0.000$). قدرت کشش گروه طبیعی در روز ۲۱ بیش از سایر گروهها بود ($P < 0.000$) (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار قدرت کشش (N/mm^2) لیگامان طرفی داخلی برش خورده موشهای گروههای تحقیق در روزهای مورد بررسی و مقایسه آنها به روش آنالیز واریانس و LSD

گروه	تعداد	روز ۱۲	روز ۲۱
طبیعی	۵	$21/77 \pm 2/7$	$21/77 \pm 2/7^{****}$
شاهد	۵	$7/55 \pm 0/37^*$	$16/9 \pm 2/36^{****}$
تجربی یک	۵	$8/92 \pm 1/32^{**}$	$17/28 \pm 1/2$
تجربی دو	۵	$11/48 \pm 1/48^{***}$	$18/17 \pm 2/9$

* بین گروههای شاهد و تجربی

** بین گروه تجربی یک و گروههای طبیعی ($P = 0.000$) و تجربی دو ($P = 0.029$)

*** بین گروه تجربی دو و گروههای طبیعی ($P = 0.000$) و شاهد ($P = 0.002$) و تجربی یک ($P = 0.029$)

**** بین گروه طبیعی و گروههای تجربی یک ($P = 0.005$) و تجربی دو ($P = 0.002$)

***** بین گروههای شاهد و طبیعی ($P = 0.002$)

در کار انجام شده گروههای تجربی و شاهد در روز ۱۲ با گروه طبیعی ($P = 0.000$) و در روز ۲۱ گروه تجربی یک با گروه طبیعی ($P = 0.001$)، گروه تجربی دو با گروه طبیعی ($P = 0.005$) و گروه شاهد با طبیعی ($P = 0.001$) اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد که بیانگر فزونی کار انجام شده گروه طبیعی نسبت به سایر گروههای تحقیق در هر دو روز مورد بررسی است (جدول ۲).

ضریب الاستیسیته گروهها با یکدیگر در هر دو روز مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری نشان نداد (جدول ۳).

موشهای گروه طبیعی با استنشاق کلروفرم درون فضای بسته کشته شدند و سپس اندام خلفی سمت راست از بدن جدا شد و همه اتصالات استخوانهای ران و تیبیا به یکدیگر به جز لیگامان طرفی داخلی قطع گردید و نمونه که شامل لیگامان، استخوانهای تیبیا و ران بود برای انجام تست بیومکانیکی آماده شد. سپس نمونهها درون گاز زخم بندی آغشته به محلول نرمال سالین قرار داده شد و به فریزر منهای بیست درجه منتقل گردید تا در موعد مقرر آزمایش انجام شود. در زمان انجام آزمایش ابتدا نمونه در درجه حرارت اتاق قرار داده شد تا از حالت انجماد خارج شود سپس به وسیله دستگاه ZWICK ساخت آلمان بررسی شد. به این منظور ابتدا دو انتهای نمونه درون گیرههای دستگاه محکم شدند و گیره متحرک با سرعت 15 mm/min از گیره ثابت دور شد.

نمایشگر متصل به دستگاه و یژگیهای زیر را نشان می دهد:

۱- منحنی استرس (نیروی وارد شده به نمونه با واحد نیوتن بر میلیمتر مربع) بر استرین (تغییر طول نمونه بر حسب میلی متر)،
 ۲- حداکثر نیروی قابل تحمل به وسیله نمونه قبل از پارگی (قدرت کشش) که واحد آن نیوتن بر میلیمتر مربع است، ۳- کار انجام شده که ناحیه زیر منحنی استرس - استرین تا نقطه قدرت کشش بوده و در حقیقت انرژی ذخیره شده در لیگامان با واحد Nmm است. پارامتر دیگر که به وسیله دستگاه نشان داده می شود ضریب الاستیسیته (Elastic Modulus) است که با حرف E نشان داده می شود و معیار سختی بافت در ناحیه الاستیک منحنی استرس - استرین بوده و واحد آن N/mm^2 است [۱۸].

داده ها به روش آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل آماری شدند و $P < 0.05$ معنی دار محسوب شد. در مواردی که اختلاف معنی داری مشاهده گردید، با انجام آزمون LSD (Least Significant Difference) که یکی از روشهای مقایسه های چند گانه (Multiple Ranges) است گروههای دارای اختلاف مشخص شدند.

یافته ها

هیچ یک از موشهای مورد بررسی طی دوره نگهداری و بعد

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار کار انجام شده (Nmm) لیگامان طرفی داخلی برش خورده موشهای گروههای تحقیق در روزهای مورد بررسی و مقایسه آنها به روش آنالیز واریانس و LSD

گروه	تعداد	روز ۱۲	روز ۲۱
طبیعی	۵	۴۶/۸۸±۷/۸۴*	۴۶/۸۸±۷/۸۴
شاهد	۵	۱۱/۰۳±۶/۲۲	۲۸/۳۱±۳/۷**
تجربی یک	۵	۱۰/۴۶±۴/۵۳	۳۷/۹۶±۶/۱۹***
تجربی دو	۵	۱۹/۸۸±۱۱/۹۴	۳۱/۵۲±۹/۷****

* بین گروه طبیعی و سایر گروهها (P=0.000)

** بین گروه شاهد و طبیعی (P=0.001)

*** بین گروه تجربی یک و طبیعی (P=0.001)

**** بین گروه تجربی دو و طبیعی (P=0.005)

جدول ۳. میانگین و انحراف معیار ضریب الاستیسیته (N/mm²) لیگامان برش خورده موشهای گروههای تحقیق در روزهای مورد بررسی و مقایسه آنها به روش آنالیز واریانس

گروه	تعداد	روز ۱۲	روز ۲۱
طبیعی	۵	۵/۱۲±۱/۲۵	۵/۱۲±۱/۲۵
شاهد	۵	۴/۱۶±۰/۹۷	۶/۸۱±۱/۴۹
تجربی یک	۵	۴/۴۶±۱/۷۳	۶/۸۵±۰/۷۸
تجربی دو	۵	۴/۱۲±۲/۰۷	۴/۵±۲/۴

در روز ۱۲ (P=0.0731)، در روز ۲۱ (P=0.076) شد.

بحث

اگرچه تابش لیزر کم توان هلیوم نئون به تاندونهای برش خورده در مدل‌های حیوانی موجب تسریع بخشی فرآیند التیام آن شده است اما در خصوص تأثیر لیزر کم توان هلیوم نئون روی التیام لیگامان با ملاحظه منابع در دسترس تحقیقی انجام نشده است. تابش لیزر کم توان هلیوم نئون با طول موج ۶۳۲/۸nm و دوزهای ۵ mJ/cm² الی ۱ J/cm² موجب شد که فرآیند التیام تاندونهای برش خورده آشیل خرگوش در مقایسه با گروه شاهد تسریع یابد [۱۶ و ۱۷].

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تابش لیزر کم توان هلیوم نئون با دانسیته انرژی ۱/۲ J/cm² از روی پوست به لیگامان طرفی داخلی برش خورده موش صحرایی موجب می‌شود که قدرت کشش لیگامان در حال ترمیم در ۱۲ روز بعد از ایجاد ضایعه

به‌طور معنی‌دار بیش از گروه شاهد شود. لازم به ذکر است که اهمیت آزمایش قدرت کشش در این است که ویژگیهای ساختمانی مجموعه استخوان لیگامان استخوان را مورد ارزیابی قرار می‌دهد [۱۹]. همچنین این آزمایش اطلاعات مهمی در خصوص کیفیت التیام بافت در مقایسه با بافت سالم ارایه می‌کند [۵].

به عقیده Parry و همکاران قدرت لیگامان در حال ترمیم ارتباط مستقیم با کمیت و سطح مقطع فیبریل‌های کلاژن آن دارد [۲۰]. بنابراین افزایش قدرت کشش لیگامان که در گروه تجربی تحقیق حاضر مشاهده شد را می‌توان با انجام تحقیقات بعدی که در آنها توزیع و قطر فیبریل‌های کلاژن بررسی شود تایید نمود.

اندازه‌گیری قدرت کشش لیگامان در حال التیام گروههای شاهد و تجربی در روز ۲۱، اختلاف معنی‌داری آماری را نشان نداد که این با نتایج تحقیق دیگری که تأثیر مدالیتی فیزیکی دیگری یعنی اولتراسوند درمانی را روی التیام لیگامان طرفی داخلی در موش صحرایی بررسی کرده‌اند مطابقت دارد [۲۱]. اما دلیل احتمالی این موضوع آن است که این لیگامان در موش به سرعت التیام می‌یابد [۲۲ و ۲۳]. بنابراین تحت این شرایط فرآیند التیام طبیعی آن ممکن است موجب شود تا اثر تابش لیزر محو شود.

نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق Fung و همکاران که تأثیر مثبت تابش لیزر کم توان از نوع گالیوم آلومینیم آرسناید را روی ویژگیهای مکانیکی لیگامان طرفی داخلی برش خورده در موش گزارش کردند [۲۴] همخوانی دارد.

Fung و همکاران لیزر را در زمان جراحی، بلافاصله پس از ایجاد ضایعه، مستقیماً و بدون واسطه پوست روی لیگامان به صورت یکباره تاباندند و بعد از ۳ و ۶ هفته ویژگیهای مکانیکی لیگامان را در گروههای تحقیق آزمایش کردند. آنها مشاهده کردند که قدرت کشش گروههای لیزر و sham به‌طور معنی‌داری از نظر آماری بیش از سایر گروهها بود. Fung و همکاران نتیجه گرفتند که تابش یکباره لیزر فوق الذکر موجب احیاء سفتی (stiffness) و قدرت کشش لیگامان در سه و شش هفته بعد از جراحی می‌شود اما روی ویژگی viscoelasticity آن بی تأثیر است [۲۴].

با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که تابش لیزر کم توان هلیوم نئون با دوز $1/2 \text{ J/cm}^2$ در دوره منتهی به فاز تکثیر فرآیند التیام لیگامان طرفی داخلی موش صحرایی مفید بوده و منجر به افزایش معنی‌دار آماری قدرت کشش می‌شود. هر چند به نظر می‌رسد اگر بخواهیم نتایج سایر پارامترهای بیومکانیکی هم به سطح معنی‌دار آماری برسند انجام تحقیقات بعدی ضرورت می‌یابد. اختلاف معنی‌دار آماری بین قدرت کشش گروه تجربی دو و گروه طبیعی ضرورت انجام تحقیقات بیشتر در زمینه تسریع بخشی التیام لیگامان را ضروری می‌نماید.

تقدیر و تشکر

این مقاله نتایج طرح تحقیقاتی شماره ۳/۴۴۵۲ حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی است نویسندگان مقاله بدینوسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از آن حوزه معاونت و مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی مولکولی به دلیل ارائه تسهیلات آزمایشگاهی اعلام می‌دارند.

References

- Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Ferguson MWJ. Gray's Anatomy, 38th edn Churchill Livingstone, New York. 1995; pp 90, 698, 703
- Hart DA, Reno C, Frank CB, Shrive NG. Pregnancy affects cellular activity but not tissue mechanical properties in the healing rabbit medial collateral ligament. J Orthop Res. 2000; 18: 462-471
- Miyasaka KC, Daniel DM, Stone ML, Hirshman P. The incidence of knee ligament injuries in the general population. Am J Knee Surg. 1991; 4: 3-8
- Shelbourne KD, Patel DV. Management of combined injuries of the anterior cruciate and medial collateral ligaments. J Bone Joint Surg Am. 1995; 77: 800-806
- Woo SLY, Vargin TM, Abramowitch SD. Healing and repair of ligament injuries in the knee. J Am Acad Orthop Surg. 2000; 8: 364-372
- Franck C, Woo SL, Amiel D, Harwood F, Gomez M, Akeson W. Medial collateral ligament healing : a multidisciplinary assessment in rabbits. Am J Sports Med. 1993; 11: 379-389
- Franck CB, Bray RC, Hart DA, Shrive NG, Loitz BJ, Matras JR, Wilson JE. Soft tissue healing in : Knee Surgery. Fu FH, Harner CD, Vince KG, (eds) Williams and Wilkins, Baltimore. 1994, p 189
- Daniel DM, Stone ML, Dobson BE, Fithian DC, Rossman DJ, Kaufmann KP. Fate of the ACL-injured patienta prospective study outcome study. Am J Sports Med. 1994; 22: 632-644
- Nakamura N, Hart DA, Boorman RS, Kaneda Y, Shrive NG, Marchuk LL, Shino K, Ochi T, Cyril BC. Decorin antisense gene therapy improves functional healing of early rabbit ligament scar with enhanced collagen fibrillogenesis in vivo. J Orthop Res. 2000; 18: 517-523
- Franck C, Mc Donald D, Wilson J, Eyre D, Shrive W. Rabbit medial collateral ligament scar weakness in associated with decreased collagen pyridinoline

نتایج تحقیق حاضر تایید کرد که کسب نتایج مثبت به دنبال تیمار لیگامان با لیزر وابسته به دوز آن است. در حالی که تابش لیزر با دوز 10 mJ/cm^2 نتوانست موجب افزایش معنی‌دار قدرت کشش بافت ترمیمی لیگامان شود و افزایش معنی‌دار قدرت کشش به دنبال تابش لیزر با دوز $1/2 \text{ J/cm}^2$ مشاهده شد. به هر حال ممکن است با افزایش دوز لیزر در تحقیق حاضر میزان سایر پارامترهای مورد بررسی هم افزایش یافته و به سطح معنی‌داری برسند.

مکانیسم اثر تابش لیزر روی بافت ترمیمی لیگامان هنوز دقیقاً مشخص نیست اما تحقیقات Reddy و همکاران نشان داده است که تابش لیزر روی تاندون در حال ترمیم موجب می‌شود تا غلظت کلاژن ۲۶ درصد افزایش یابد و همچنین استخراج چند باره کلاژن از بافت ترمیمی نشان داده است که میزان کلاژن قابل حل در نمک خنثی و غیر قابل حل در تاندون‌های در حال ترمیم ۳۲ و ۳۳ درصد بیش از گروه شاهد است [۱۷]. همچنین Enwemeka تنها درون فیبروبلاستهای تاندون در حال ترمیم تحت تابش لیزر، واکوئل محتوی فیبریل مشاهده نمود [۱۶].

- crosslink density. *J Orthop Res.* 1995; 13: 157-165
11. **Kavalkovich KW, Yamaji T, Woo SL-Y, Niyibizi C.** Type V collagen levels are elevated following MCL injury and in long term healing. *Trans Orthop Res Soc.* 1997; 22: 485-502
12. **Mester E, Spiry T, Szende B, Tota JG.** Effect of laser rays on wound healing. *Am J Surg.* 1971; 122: 532-535
13. **Kana JS, Hutschenreither, Haina D, Waidelich W.** Effect of low power density laser irradiation on healing of open skin wounds in rats. *Arch Surg.* 1981; 166: 291-296
14. **Rochkind S, Rouso 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: 174-182
15. **Bisht D, Gupta SC, Mirsa VL, Mital VP Sharma P.** Effect of low-intensity laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Indian J Med Res.* 1994; 100: 43-46
16. **Enwemeka CS.** Ultrastructural morphometry of membrane bound intracytoplasmic collagen fibrils in tendon fibroblasts exposed to He: Ne laser beam. *Tissue and Cell.* 1992; 24(4): 511-523
17. **Reddy KG, Stehno-Bittel L, Enwemeka C.** Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit achilles tendons. *Lasers Surg Med.* 1998; 22: 281-287
18. **Bell F.** Principles of Mechanics Biomechanics. Stanley thornes ltd, United Kingdom. 1998; pp 92-128
19. **Woo SLY, An KN, Arnoczky SP, Wayne JS, Fithian DC, Myers BS.** Anatomy, biology, and biomechanics of tendon, ligament and meniscus in Simon RS (ed). *Orthopaedic Basic Science.* Rosemont, III: American Academy of Orthopaedic Surgeons. 1994; pp 45-87
20. **Parry DAD, Barnes GRG, Craig AS.** A comparison of the size distribution of collagen fibrils in connective tissues as a function of age and a possible relation between fibril size distribution and mechanical properties. *Proc R Soc Lond B Biol.* 1978; 203: 305-321
21. **Takakura Y, Matsui N, Yoshiyas S, Fugioka H, Morats SUH, Tsunoda M, Kurosaka M.** Low-intensity pulsed ultrasound enhances early healing of medial collateral ligament injuries in rats. *J Ultrasound Med.* 2002; 21: 283-288
22. **Litke DS, Dahners LE.** Effect of different levels of direct current on early ligament healing in a rat model. *J Orthop Res.* 1994; 12: 683-688
23. **Batten ML, Hansen JC.** Dahners, Influence of dosage and timing of application of platelet-derived growth factor on early healing of the rat model collateral ligament. *J Orthop Res.* 1996; 14: 736-741
24. **Fung DTC, Ng GYF, Leung CPL, Tay DKC.** Therapeutic low energy laser improves the mechanical strength of repairing medial collateral ligaments. *Lasers Surg Med.* 2002; 31: 91-96