

مطالعه هیستولوژیکی تأثیر روش لیزر درمانی ۳۰ میلی وات در ترمیم استخوان

علی اصغر یوسفی دیبا *M.Sc.، منیژه مختاری دیزجی *Ph.D.، باقر لاریجانی **M.D.، مزده صالح نیا ***Ph.D.

گیتی ترکمان ****Ph.D.

* دانش آموخته گروه فیزیک پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

** مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران

*** گروه بافت شناسی دانشگاه تربیت مدرس

**** گروه فیزیوتراپی دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ وصول: اردیبهشت ماه ۸۴، تاریخ پذیرش: خرداد ماه ۸۴

چکیده

هدف: بررسی هیستولوژیکی تأثیر لیزر کم توان گالیوم - آلومینیوم - آرسناید (GaAlAs) با توان اسمی ۳۰ میلی وات و طول موج ۸۳۰ نانومتر در فرآیند ترمیم استخوان تیبای خرگوش.

مواد و روشها: تحقیق روی ۲۴ راس خرگوش نر بالغ از نژاد نیوزیلند صورت گرفت. پس از بیهوشی عمومی و برش پوستی، قسمت میانی استخوان تیبیا به قطر ۳ میلیمتر سوراخ شد. حیوانات به طور تصادفی به سه گروه کنترل، شام و آزمون تقسیم شدند. ۲۴ ساعت پس از ایجاد ضایعه، گروه آزمون تحت تابش نور لیزر عمود بر محور طولی تیبیا، روزانه در ۵ نقطه بافت با چگالی انرژی ۱۲۶ ژول بر سانتیمتر مربع به مدت ۷ و ۱۴ روز صورت گرفت. برای ارزیابی روند ترمیم و مقایسه هیستولوژیکی بین گروههای مورد مطالعه، از محل ضایعه در روزهای هفتم و چهاردهم نمونه برداری انجام شد.

یافته‌ها: نتایج مطالعات بافت شناسی نشان داد که در گروه تیمار ۷ روزه هیچ تمایزی از لحاظ استخوان سازی بین گروه آزمون با گروه شام و کنترل مشاهده نمی شود؛ اما وسعت استخوان سازی در گروه آزمون در تمام قسمتهای اطراف ضایعه فعال تر از گروه کنترل و شام بود. نتایج گروه آزمون با ۱۴ روز تابش دهی نشان داد که ناحیه آسیب دیده توسط بافت استخوان اسفنجی کاملاً پر شده و به طور مشخص نسبت به دو گروه شام و کنترل قابل تمایز است.

نتیجه گیری: بنابراین بر همکنش فوتوشیمیایی لیزر روند استخوان سازی را به طور مشخصی تسریع کرده و به ویژه در گروه آزمون ۱۴ روزه به طور موثرتری قابل مشاهده است.

کلید واژه‌ها: لیزر درمانی کم توان، ترمیم استخوان، بافت شناسی

مقدمه

شده و مشکلات زیادی را برای بیمار و جامعه به وجود می آورد. طی چند سال اخیر استفاده از منابع مصنوعی از قبیل میدانهای الکترومغناطیسی [۱-۳]، تحریکات مکانیکی [۴-۶] و امواج فراصوت [۷ و ۸] در ترمیم و بهبود شکستگی مطرح شده است. پس از اختراع لیزر، مطالعات زیادی در زمینه آثار برهمکنش میان لیزر و بافت انجام شد. با وجود پارامترهای زیاد، از قبیل طول موج، زمان تابش دهی، چگالی انرژی، نوع بافت و ... تنها

ترمیم شکستگی استخوان روند پیچیده و اساسی است که بدون آن زنده ماندن محتمل نیست. به دنبال وقوع شکستگی، مراحل متوالی التهاب، ترمیم و تجدید ساختار صورت می گیرد تا استخوان آسیب دیده به وضعیت اصلی خود بازگردد. سرعت روند ترمیم استخوان آهسته بوده و این امر موجب ناتوانی بیمار

✉ آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، گروه فیزیک پزشکی، صندوق پستی ۴۸۳۸-۱۴۱۵۵
Email: mokhtarm@modares.ac.ir

پنج نوع برهم‌کنش میان لیزر و بافت دسته‌بندی شده است که [۹] عبارتند از: برهم‌کنشهای فوتوشیمیایی، گرمایی، انعقاد فوتونی (Photoablation)، انعقاد القایی پلاسما (Plasma-Induced Ablation) و گسیختگی فوتونی (Photodisruption). برهم‌کنش فوتوشیمیایی در توانهای پایین لیزر (۱-۵۰۰ میلی وات) بر بافتهای بیولوژیک یکی از موضوعات مورد بحث جوامع علمی است به‌طوری‌که در سالهای اخیر باعث به‌جود آمدن شاخه جدیدی از درمان با لیزر موسوم به درمان لیزری با سطح توان کم (Low Level Laser Therapy) شده است. آثار بیولوژیک ناشی از این برهم‌کنش بر اهداف درمانی مانند رشد مو، التیام زخم، سنتز و برانگیزش کلاژن، فرآیند رگ‌سازی و تسکین درد مورد توجه محققین قرار گرفته است.

تاثیرات بیولوژیکی لیزر در استخوان‌سازی به‌صورت سه زمینه مورد تحقیق قرار گرفته است: ۱- مطالعات سلولی با استفاده از رده‌های سلولی مناسب در محیط کشت؛ در این مطالعات برای ارزیابی تاثیرات فوتوبیولوژیکی تابش لیزر از برخی شاخصهای قابل قبول از جمله تکثیر سلولی [۱۰]، ارزیابی هیستوشیمیایی [۱۰ و ۱۱] و تغییرات مشاهده شده با میکروسکوپ الکترونی [۱۰] استفاده شده است. ۲- مطالعه در انواع گونه‌های حیوانات آزمایشگاهی: آسیبهای متفاوتی از جمله آسیب با مته [۱۲-۱۵] و آسیب مکانیکی [۱۶] در استخوان حیوانات مانند موش سوری، رات و خرگوش در نواحی مختلف ایجاد شده است و آثار فوتوشیمیایی تابش لیزر بر فرآیند استخوان‌سازی در حیوانات آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفته است و در نهایت تحقیق در ۳- داوطلبان انسانی که به دلیل اختلاف در ویژگیهای فردی داوطلبان و نیز تنوع شکستگی به نتایج قطعی ختم نشد.

در مطالعات حیوانی شواهد ضد و نقیضی از آثار سودمند تابش لیزر در ترمیم استخوان آسیب‌دیده مشاهده شد، به‌طوری‌که تحقیقات زیادی در پیرامون نقش لیزر هلیوم-نئون (He-Ne) در ترمیم تیبیا استخوان حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته است [۱۴]، اما با توجه به عمق نفوذ پایین این لیزر و عمقی بودن بافت استخوان به نظر نمی‌رسد بتوان استفاده

کلینیکی از آن به عمل آورد. تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که عمق نفوذ به پارامترهای زیادی از جمله طول موج، شدت، پالسی یا پیوسته بودن امواج لیزر وابسته است به‌طوری‌که طول موجهای بین ۸۲۰ تا ۸۴۰ نانومتر کمتر توسط پوست جذب شده و بیشترین عمق نفوذ را دارند [۱۷]. بنابراین اخیراً در بررسیهای مربوط به روند ترمیم استخوان، طول موجهای ۸۲۰-۸۴۰ نانومتر ارزیابی شدند. با توجه به مطالعات بافت‌شناسی که اخیراً خادرا (Khadra) و همکارانش پیرامون تأثیر لیزر کم‌توان روی استخوان کالواریال (Calvarial) صورت گرفت، نشان داد که روش LLLT (۷۵ میلی وات و ۸۳۰ نانومتر) در ترمیم استخوان موثر است [۱۵]. مطالعات پیرامون برهم‌کنش لیزر با استخوان کاشته شده در رت (۴۰ میلی وات) و خرگوش (۱۵۰ میلی وات) نشان داد که از لحاظ بافت‌شناسی طول موجهای محدوده مادون قرمز می‌تواند در ترمیمی موثر باشد [۱۶]. از طرف دیگر در برخی مطالعات ملاحظه شد که روش درمانی LLLT اثرهای مشابهی را در همه بافتها نمی‌گذارد، به‌طوری‌که در دوزهای پایین بدون اثر بوده و در دوزهای بالا نیز می‌توانند نتایج کم یا حتی بدون اثر داشته باشند و در دوزهای بسیار بالا نیز می‌توانند منجر به آثار مهایری در ترمیم شوند لذا با توجه به مطالعات متنوع در زمینه تأثیر فوتوشیمیایی لیزر با توان، طول موج و نحوه تابش‌دهی متفاوت در ترمیم استخوان، هنوز توصیف کاملی از مشخصات فیزیکی-اپتیکی موثر در ترمیم استخوان ارائه نشده است، به عبارت دیگر آیا همدوسی، پهنای فرکانسی و قطبش اهمیت بیشتری در تحریکات سلولی نقش دارند و اینکه کدام مشخصات لیزر از لحاظ طول موج، شدت و چگالی انرژی می‌تواند به‌طور موثری در ترمیم وارد شود.

در مطالعه حاضر با توجه به عمق نفوذ نسبتاً بالای طول موج نور لیزر تأثیر فوتوشیمیایی لیزر کم‌توان گالیوم-آلومینیوم-آرسناید (GaAlAs) با طول موج پیوسته ۸۳۰ نانومتر، توان ۳۰ میلی وات و چگالی انرژی ۲۰ ژول بر سانتیمتر مربع در ترمیم تیبیای آسیب‌دیده خرگوش بررسی شد. برای ارزیابی روند ترمیم، استخوان حیوانات پس از ۷ روز و ۱۴ روز تابش‌دهی روزانه، تحت مطالعه بافت‌شناسی قرار گرفتند و

دقت ± 1 میلی وات بررسی شد، به طوری که با انتخاب توان نامی ۳۰ میلی وات، سیستم کالیراتور خروجی ۲۷ میلی وات را اندازه گیری نمود. ۲۴ ساعت پس از جراحی و ایجاد ضایعه، گروه آزمون تحت تابش لیزر GaAlAs با طول موج ۸۳۰ نانومتر و توان ۲۷ میلی وات، عمود بر محور طولی تیپیا، از روی پوست و روزانه به مدت ۱۷۵ ثانیه با چگالی انرژی ۲۰ ژول بر سانتیمتر مربع صورت گرفت. در پروسه تابش دهی موثر، ۵ نقطه بافت (۴ نقطه به فاصله ۲ میلی متر از مرکز ضایعه و یک نقطه روی مرکز ضایعه) با چگالی انرژی ۴ ژول بر سانتیمتر مربع تحت تابش لیزر قرار گرفتند. پروتکل تابش دهی، روزانه به مدت ۷ و ۱۴ روز به صورت همزمان و پریودیک با انرژی یکسان انجام گرفت. براساس مطالعات هیستولوژیکی، روند ترمیم استخوان تابش دیده با ترمیم استخوان در گروه شم و کنترل مقایسه شد.

آماده سازی نمونه و بررسی های هیستولوژیکی

به منظور ارزیابی روند ترمیم و مقایسه بین گروه های مورد مطالعه، نیمی از حیوانات در روز هفتم پروتکل تابش دهی با تزریق دوز بالای داروی بیهوشی کتامین/زایلازین، کشته شدند و بقیه تا روز چهاردهم تحت تابش روزانه قرار گرفته، سپس کشته شدند و از محل ضایعه نمونه برداری انجام شد. نمونه ها به مدت ۳ روز در داخل محلول فرمال سالین ۱۰ درصد تثبیت شدند و بعد به مدت 3 ± 60 روز در محلول EDTA (Ethylenediaminetetraacetic Acid, Merck, Germany) قرار داده شدند تا دکلسیفیه شوند. پس از آبگیری و قالب گیری با پارافین، برشهای طولی به ضخامت ۱۰ میکرون تهیه و با هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) (Merck, Germany) رنگ آمیزی و مقاطع توسط میکروسکوپ نوری (Olympus) بررسی شد. مشاهدات هیستولوژیکی به طور نامشخص (blind) و بدون آگاهی از انواع گروه تحت درمان مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها

در کلیه نمونه های حیوانی مورد مطالعه، هیچ گونه علائم

در نهایت تأثیر تابش لیزر در تغییرات بافتی استخوان مقایسه شد.

مواد و روشها

حیوانات و فرآیند جراحی

در این مطالعه از ۲۴ راس خرگوش سفید ۳-۴ ماهه نر نیوزیلندی (NZW) تهیه شده از انیستو پاستور با وزن میانگین 158 ± 180 گرم استفاده شد. برای سازش حیوان با شرایط جدید، یک هفته پیش از جراحی حیوانات به حیوانخانه منتقل و مواد غذایی و آب به مقدار کافی در اختیار آنها قرار داده شد. لوازم جراحی اتوکلاو (دمای ۱۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه) استریل شد. پس از تثبیت حیوان، موهای پای راست از زیر زانو تا مچ پا تراشیده و ناحیه ضد عفونی شد. حیوانات با تزریق داروی کتامین/زایلازین به نسبت ۱ به ۷ میلی گرم بر کیلوگرم وزن حیوان به صورت داخل عضلانی و تحت شرایط استریل بیهوش شدند. با استفاده از تیغ جراحی، برشی به طول ۲ سانتیمتر بر سطح داخلی پوست در قسمت میانی تیپیا ایجاد شد. سپس با کنار زدن فاشیای عمقی، پریوست موجود بر روی سطح قدامی داخلی استخوان کنار زده شد و توسط مته استریل، سوراخی به قطر ۳ میلی متر در وسط تیپیا ایجاد شد. میزان آسیب در حدی بود که قسمت قشری استخوان را سوراخ نموده و باعث تخریب کانال مرکزی شد، اما به لایه قشری مقابل آسیبی نمی رساند. محل جراحی با استفاده از محلول سرم نمکی شستشو و به وسیله نخ جراحی بخیه زده شد. به منظور جلوگیری از آثار سیستماتیک، فقط پای راست حیوان جراحی شد. حیوانات پس از جراحی به سه گروه کنترل (بدون استرس و تابش لیزری)، شم (با استرس و بدون تابش لیزری) و آزمون (تابش لیزری روزانه) تقسیم شدند. ارزیابی هیستولوژیکی تأثیر تابش لیزر بر روند ترمیم استخوان، در روزهای هفتم و چهاردهم پس از جراحی صورت گرفت.

پروتکل تابش دهی

لیزر GaAlAs (MedArt, uni-laserTM, Denmark) با طول موج ۸۳۰ نانومتر، توان نامی ۳۰ میلی وات و قطر باریکه ۵ میلی متر استفاده شد. ابتدا توان خروجی توسط کالیراتور با

استخوانی تعداد استئوبلاست‌ها در روز چهاردهم نسبت به روز هفتم کمتر شده است و کانال ضایعه کاملاً پر شده است. یافته‌های فوق نشان داد که میزان تکثیر در مرحله رشد در هفته دوم پس از آسیب در گروه تابش دیده بیشتر از گروه‌های شم و کنترل به ویژه گروه شم است و لیزر بیشترین تأثیر را در این مرحله از ترمیم برعهده دارد.

بحث

مقایسه نتایج مطالعات هیستولوژیکی روند استخوان‌سازی در دو دوره بررسی ۷ روزه و ۱۴ روزه نشان داد که میزان تکثیر سلولی در مرحله رشد روز چهاردهم در هر سه گروه کنترل، شم و آزمون بیش از دوره تیمار ۷ روزه است. تمایز مشخصی میان گروه تابش دیده نسبت به گروه شم پس از ۱۴ روز درمان مشاهده می‌شود و ملاحظه شد که فرآیند رشد و تکثیر سلولهای استخوانی با سرعت بیشتری در گروه آزمون نسبت به گروه شم و نیز کنترل صورت گرفته است. در مقایسه، مطالعه فعالیت استخوان‌سازی در روز هفتم پس از درمان، نشان داد که گروه تابش دیده تفاوت جزئی با گروه کنترل و شم است. این یافته، نتایج مطالعه محققین دیگر در بررسی فرآیند ترمیم در روز چهاردهم پس از آسیب را تأیید می‌کند. در کلیه نمونه‌های مورد بررسی میان گروه شم و کنترل پس از ۱۴ روز تیمار نیز تمایز نسبتاً کمی ظاهر شده است که می‌تواند به دلیل بی‌حرکت بودن حیوانات گروه کنترل نسبت به گروه شم باشد ولی در گروه شم پس از ۷ روز استرس تیمار نسبت به گروه کنترل خود، روند رشد مشخص‌تری داشتند. مطالعه ویژگیهای رفتاری حیوانات نیز نشان داد که سیکل التهابی در گروه درمان در روزهای سوم و چهارم ظاهر شد ولی در گروه شم و کنترل با حدود دو روز تاخیر ظاهر شد. به عبارت دیگر؛ لیزر ۳۰ میلی‌وات، ۸۳۰ نانومتر موجب تحریک بیشتر و خارش شده و در نتیجه سیکل التهابی جلو می‌افتد.

نتایج مطالعات اخیر با تابش لیزر ۶۳۳ نانومتر و ۱ میلی‌وات He-Ne به عنوان پروتکل تحقیقاتی LLLT در ترمیم استخوان، نتایج متناقضی را نشان داد. فریتاسی (Feritas) و همکارانش طی دو بررسی تأثیر لیزر He-Ne را در ترمیم

جانبی از قبیل تغییرات رفتاری و پارالیز (Paralysis) به جز در روزهای اول پس از جراحی مشاهده نشد. مطالعات هیستولوژیکی گروه‌های ۷ روزه نشان داد که در گروه کنترل کانال ضایعه فاقد بافت استخوانی است و سلولهای خونی جمع شده‌اند (شکل ۱-۱). در حاشیه خارجی ضایعه (Lateral) فیبروز داخل ضایعه را پوشانده است و در برخی از قسمتهای حواشی تراکم استخوانی دیده می‌شود (شکل ۱-۲). در محل ضایعه گروه ۷ روزه، تراکولار استخوانی جدید شکل می‌گیرند و سلولهای استئوبلاست دیده می‌شود. روند استخوان‌سازی به طرف مرکز در حال رشد است و قسمت میانی کاملاً پوشیده از بافت همبندی همراه با پیدایش استئوبلاست‌های فعال و مشخص است. در حاشیه میانی روند استخوان‌سازی بسیار کند است و استئوبلاست فعال دیده نمی‌شود (شکل ۱-۳). در گروه شم ۷ روزه نیز استخوان‌سازی شروع شده، بافت تراکولار استخوانی دیده نمی‌شود به طوری که بافت همبندی مشابه گروه کنترل دارند (شکل ۲-۱، ۲-۲، ۲-۳). در گروه تابش لیزر ۷ روزه، تراکم بافت استخوانی در حاشیه‌ها نسبت به گروه کنترل و شم بیشتر است (شکل ۳-۱) به طوری که در ناحیه خارجی استخوانهای جدید ساخته شده‌اند و استئوبلاست‌ها فعال‌ترند ولی نسبت به کنترل و شم تفاوت زیادی ندارند (شکل ۳-۲). در حد فاصل میانی و لترال ضمن شروع فعالیت استئوبلاست‌ها، استخوانهای جدید نیز شکل می‌گیرند (شکل ۳-۳).

بررسی بافت‌شناسی گروه ۱۴ روزه در سه گروه کنترل، شم و آزمون با ۱۴ روز تابش‌دهی روزانه در ناحیه ضایعه استخوان تیبیا نشان داد که در گروه کنترل و شم، تراکم بافت استخوانی کم است. فضای تراکولار بیشتر مشهود است. کانال ضایعه کاملاً پر نشده و در لایه‌های سطحی، استخوان متراکم شکل گرفته و سیستم هاورسی کاملاً مشخص است (شکل ۴-۱ و ۴-۲). بررسی گروه آزمون با ۱۴ روز تابش‌دهی نشان می‌دهد که بافت استخوان اسفنجی تمام ناحیه میانی ضایعه را پر کرده است، بافت استخوانی جدید شکل گرفته (شکل ۵) و محتوی مقداری مواد آهکی است. البته به نظر می‌رسد به دلیل رنگ‌آمیزی اسید فولیک، مقدار مواد آهکی کمتر است. به دلیل تشکیل بافت

را بررسی نمودند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تابش لیزر در تشکیل بافت فیبروز و شکل‌گیری عروق خونی جدید در روز چهاردهم درمان موثر است [۱۵].

در مطالعه حاضر برای دستیابی به یک پروتکل بهینه ترمیم، از طول موج ۸۳۰ نانومتر با عمق نفوذ بالا و در حد ۴۰-۵۵ میلی‌متر دیودی استفاده شده است. مشاهدات میکروسکوپی نشان داد که پروسه (LLLT روی ماتریکس خارج سلولی اثر مثبتی دارد و با یافته خادرا (Khadra) توافق دارد. در مجموع مشاهده شد که نانومتر LLLT با لیزر GaAlAs طول موج ۸۳۰ و توان خارجی ۳۰ میلی‌وات تأثیر مثبتی بر روند استخوان‌سازی در گروه آزمون ۷ روزه و ۱۴ روزه داشته است. با توجه به روند ترمیم استخوان در گروهی که تحت تابش لیزر قرار دارند، به نظر می‌رسد که نور لیزر باعث افزایش پروفینه‌ها و سایتوکرومهای داخل سلولی شده و باعث بالا رفتن فعالیت سلولی می‌شود [۱۹-۲۰] اظهار نظر دیگر در این زمینه جذب پرتوهای لیزر توسط کروموفرمهای داخل سلولی است که باعث افزایش متابولیسم سلولها می‌شود. مطالعات نشان داد که لیزر باعث افزایش رگزایی در محل آسیب شده و امکان فراهم مواد غذایی در محل آسیب را می‌نماید [۲۱].

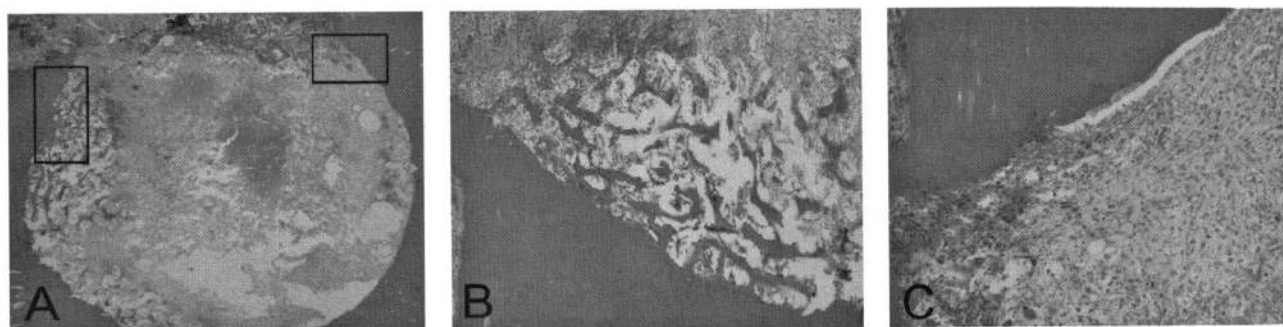
با توجه به تأثیر پارامترهای مختلف لیزر بر محیط بیولوژیک، نگارندگان قصد دارند در ادامه تحقیق، پارامترهای بهینه از قبیل فاصله زمانی میان تابشها، دوز انرژی و پروتکل مناسب تابش‌دهی را بررسی نمایند.

استخوان تیپای رت که با مته دندانپزشکی آسیب دیده بود، ارزیابی کردند. در بررسی نخست، ابتدا از چگالی انرژی‌های بالا استفاده نمود. مطالعات هیستولوژیکی را در روزهای هفتم و چهاردهم پس از ایجاد ضایعه انجام دادند. نتایج مشاهده در پروتکل اول تابش‌دهی با چگالی انرژی بالا نشان داد که انرژیهای ۳/۱۵، ۳۱/۵، ۹۴/۷ ژول بر سانتیمتر مربع در هر دو گروه تیمار ۷ روزه و ۱۴ روزه تفاوت قابل توجهی در روند ترمیم استخوان تابش دیده نسبت به گروه کنترل وجود دارد ولی در سطح چگالی انرژی ۳/۱۵ ژول بر سانتیمتر مربع این تمایز مشهود نیست. در این تحقیق مطالعه شم صورت نگرفت [۱۸]. چون روش لیزر درمانی کم‌توان از نوع تماسی است، مطالعه گروه شم ضروری به نظر می‌رسد. در ادامه همین افراد تأثیر سطوح انرژی ۰/۳، ۰/۳، ۰/۹ ژول لیزر He-Ne در سنتز کلاژن و تجمع تراکم آن در ناحیه آسیب دیده را مورد بررسی قرار دادند. نتایج تحقیق نشان داد که تنها انرژی ۰/۳ ژول تأثیری بر افزایش سطح سنتز کلاژن ندارد [۱۲]. باروشکا (Barushka) و همکارانش نیز افزایش سطح استخوان‌سازی تحت تابش لیزر He-Ne را در روز پانزدهم تأیید کردند [۱۴]. با وجود اینکه بیشتر مطالعات مربوط به تأثیر لیزر هلیوم-نئون بر فرآیند ترمیم استخوان است، ولی به نظر می‌رسد به دلیل محدوده طول موج، امکان تابش به مناطق عمقی مقدور نیست و به گزارشهای ضد و نقیض در زمینه ترمیم با لیزر منتهی می‌شود. بر این اساس، خادرا (Khadra) و همکارانش تأثیر لیزر GaAlAs با توان ۷۵ میلی‌وات در ترمیم استخوان کالواریال رت

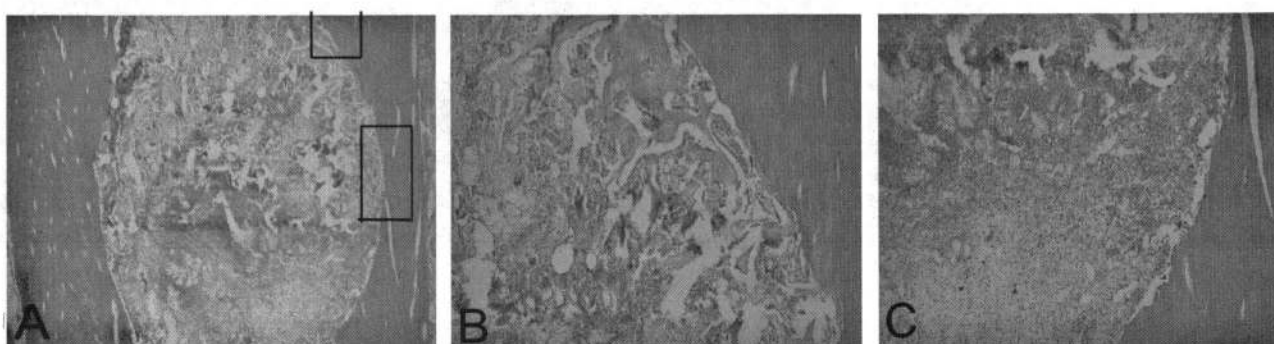
References

1. Otter MW, McLeod KJ, Rubin CT. Effects of electromagnetic fields in experimental fracture repair. Clin Orthop Relat Res 1998; 355 Suppl: 90-104.
2. Ryaby JT. Clinical effects of electromagnetic and electric fields on fracture healing. Clin Orthop Relat Res 1998; 355 Suppl: 205-15.
3. Guan Z, Long Y, Cai G, Yang B. The research progress of using electromagnetic technology in treatment of bone diseases. Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi 2000; 17: 226-30.
4. Perren SM, Rahn BA. Biomechanics of fracture healing. Can J Surg 1980; 3: 228-32.
5. Nelson FR, Brighton CT, Ryaby J, Simon BJ, Nielson JH, Lorich DG, Bolander M, Seelig J. Use of physical forces in bone healing. J Am Acad Orthop Surg 2003; 11: 344-54.
6. Edmond YS, Inoue C, Inoue N. Biophysical stimulation of bone fracture repair, regeneration and re-modeling. Eur cell materials J 2003; 6: 72-85.
7. Tanzer M, Harvey E, Kay A, Morton P, Bobyn JD. Effect of noninvasive low intensity ultrasound on bone growth into porous-coated implants. J Orthop Res 1996; 14: 901-6.

8. **Spadaro JA, Albanese SA.** Application of low-intensity ultrasound to growing bone in rats. *Ultrasound Med Biol* 1998; 24: 567-73.
9. **HYPERLINK**
"http://www.watsonchiropractic.us/wci.html"
10. **Yamada SL.** Bone resorption by osteoclasts. *Sci* 2000; 289: 1504-8.
11. **Guzzardella GA, Fini M, Torricelli P, Giavaresi G, Giardino R.** Laser stimulation on bone defect Healing. *Laser Med Sci* 2002; 17: 216-20.
12. **Freitas IG.F, Baranauskas V, Cruz-Hofling MA.** Laser effects on osteogenesis. *Appli Sur Sci* 2000; 154&155: 548-54.
13. **Yaakobi T, Maltz L, Oron U.** Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (He-Ne) irradiation. *Calcified Tissue Int*, 1996; 59: 297-300.
14. **Barushka O, Yaakobi T, Oron U.** Effect of low-energy Laser (He-Ne) irradiation on the process of bone repair in the rat tibia. *Bone* 1995; 16: 47-55.
15. **Khadra M, Nesrin K, Hans HR, Ellingsen JE, Lyngstadaas SP.** Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97: 693-700.
16. **Khadra M, Nold Hans JR, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE, Haanaes HR.** Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. *Clin Oral Implants Res* 2004; 15: 325-9.
17. **Trelles MA, Mayayo E.** Bone fracture consolidates faster with low power laser. *Laser Surg Med* 1991; 1: 36-42.
18. **Freitas G, Baranauskas V, Joazeiro PP, Padovani CR, Dal Pai-Silva M.** Low-power laser irradiation improves histomorphometrical parameters and bone matrix organization during tibia wound healing in rats. *J Photochem Photobiol B: Biology* 2003; 70: 81-9.
19. **Pinheiro ALB, De Assis Limeira F, Marleny EMM, Ramalhoa MP, Marzolac C, Elizabeth ACP et al.** Assessment of bone repair following the use of inorganic bone graft Gen-ox Inorganic and membrane associated or not with 830-nm laser light. *Int Congress Series* 2003; 1248: 445-7.
20. **Junior AN, Pinheiro AL, Oliveira MG, Weismann R, Ramalho LM, Nicolau RA.** Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. *J Clin Laser Med Surg* 2002; 20: 83-7.
21. **Tang XM, Chai BP.** Effect of CO2 laser irradiation on experimental fracture healing: a transmission electron microscopic study. *Lasers Surg Med* 1986; 6: 346-52.



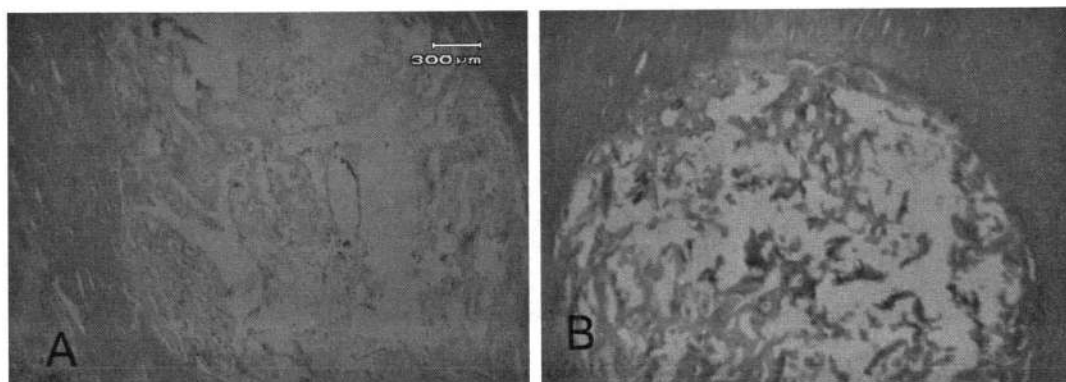
▲ شکل ۱. A) نمای هیستولوژیکی محل ضایعه در گروه کنترل ۷ روزه، B) ناحیه خارجی و C) ناحیه میانی



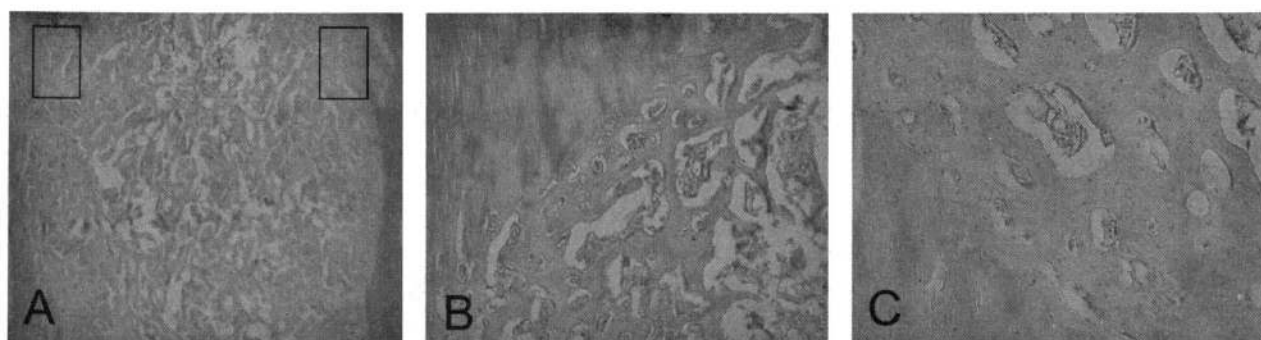
▲ شکل ۲. A) نمای هیستولوژیکی محل ضایعه در گروه شام ۷ روزه، B) ناحیه خارجی و C) ناحیه میانی



▲ شکل ۳. A) نمای هیستولوژیکی محل ضایعه در گروه تابش لیزری ۷ روزه، B) ناحیه خارجی، C) ناحیه میانی



▲ شکل ۴. نمای هیستولوژیکی محل ضایعه در (A) گروه کنترل و (B) گروه شش ۱۴ روزه



▲ شکل ۵. نمای هیستولوژیکی محل ضایعه در گروه تحت تابش ۱۴ روزه، (B) ناحیه خارجی و (C) ناحیه میانی