

اثر لیزر کم توان بر میزان قند خون و ترمیم زخم در رت‌های مبتلا به دیابت

هادی مرشدی^۱، دکتر نعمت‌اله غیبی^۲، دکتر علی صفری واریانی^۳، دکتر امیر ضیایی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بر اساس گزارش‌های سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization یا WHO) تعداد بیماران مبتلا به دیابت تا سال ۲۰۵۰ دو برابر خواهد شد و به ۲۵۰ میلیون نفر خواهد رسید. هدف از انجام این طرح، تعیین اثر لیزر با توان ۵ میلی‌وات و طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر و انرژی ۴ ژول بر مجذور سانتی‌متر، بر میزان قند خون و ترمیم زخم‌های پوستی ایجاد شده در موش‌های سفید صحرایی نر سالم و مبتلا به دیابت بود.

روش‌ها: موش‌های سفید صحرایی نر به تعداد ۳۶ سر در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم به ۴ گروه ۹ تایی تقسیم شدند. گروه‌های اول و دوم دو گروه شاهد بودند؛ گروه شاهد بدون ایجاد زخم (شاهد سالم) و گروه شاهد با ایجاد زخم (شاهد زخم) و تیمار با لیزر، گروه سوم مبتلا به دیابت بود که در آن‌ها زخم ایجاد شده بود و گروه چهارم مبتلا به دیابت تحت تیمار با لیزر بود که پس از ایجاد زخم، تحت تأثیر ترمیمی لیزر به میزان ۵ جلسه (متوالی یک روز در میان) با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر و توان ۵ میلی‌وات قرار گرفتند. در روزهای ۴، ۷ و ۱۰ پس از جراحی، میزان سطح زخم اندازه‌گیری شد و درصد بهبودی زخم محاسبه گردید. مقدار قند خون سرم به روش کالریمتریک و مقدار هیدروکسی پرولین در ادرار در روز دهم به روش بیوشیمیایی بررسی شد.

یافته‌ها: اندازه‌گیری سطح زخم و محاسبه‌ی درصد بهبودی چهار گروه تحت مطالعه شامل درصد بهبودی زخم در روز هفتم هم در گروه دوم (لیزر زخم حیوان سالم) و هم در گروه چهارم (لیزر زخم حیوان مبتلا به دیابت) با گروه شاهد به ترتیب با $P < 0/050$ و $P < 0/010$ تفاوت معنی‌دار نشان دادند. در روز دهم نیز بهبود زخم در دو گروه ذکر شده (هر دو با $P < 0/050$) و گروه سوم ($P < 0/010$) در مقایسه با شاهد تفاوت آماری معنی‌داری نشان داد.

نتیجه‌گیری: لیزر با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر، توان ۵ میلی‌وات و انرژی ۴ ژول بر مجذور سانتی‌متر در هر دو گروه سالم و مبتلا به دیابت، اثر معنی‌داری در بهبودی زخم نشان داد و تیمار با لیزر، میزان قند خون را به صورت وابسته به تعداد زمان‌های تیمار کاهش داد. اثرات ترمیم زخم لیزر هم در مطالعات بافت‌شناسی و هم بررسی بیوشیمیایی افزایش غلظت هیدروکسی پرولین در گروه‌های تحت تیمار تأیید گردید.

واژگان کلیدی: موش سفید صحرایی، دیابت، لیزر کم توان، ترمیم زخم

ارجاع: هادی مرشدی، نعمت‌اله غیبی، صفری واریانی علی، ضیایی امیر. اثر لیزر کم توان بر میزان قند خون و ترمیم زخم در رت‌های

مبتلا به دیابت. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۷): ۷۶۷-۷۵۶

- ۱- مری، گروه بهداشت عمومی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
- ۲- دانشیار، گروه بیوفیزیک و بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
- ۳- دانشیار، گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
- ۴- استاد، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات متابولیک دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

Email: safary2400@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر علی صفری واریانی

مقدمه

کاربرد لیزر در پزشکی در یک سیر پیش رونده، به ابزاری مؤثر در درمان آسیب بافت نرم، درد، آرتريت، ترمیم زخم، جراحی شبکیه، درمان نزدیک بینی، بیماری‌های رنگدانه‌ای، جراحی‌های مغز و اعصاب، جراحی گوش و حلق و بینی، بیماری زنان، نازایی، درمان پوسیدگی دندان و شکستن سنگ کلیه تبدیل شده است (۱-۲). لیزر درمانی کم توان، به روش‌های گوناگونی مثل لیزر طب سوزنی، از روی پوست، از روی ارگان، از روی حفرات بدن، از درون رگ و سایر روش‌ها می‌تواند انجام شود.

در همین زمینه، el Sayed و Dyson این فرضیه را مطرح کردند که به دنبال تابش لیزر کم توان، ماست سل‌ها گرانول‌های خود را آزاد می‌کنند و به همراه آن‌ها میانجی‌های شیمیایی هم آزاد می‌شوند و این یکی از مکانیسم‌هایی است که به وسیله آن، تابش لیزر کم توان موجب تسریع فرایند التیام زخم می‌شود (۳). بررسی‌های مختلف نشان داده است که لیزرهای کم توان در طول موج‌های مختلف و شوک‌های مختلف می‌تواند در مواردی همچون ترمیم زخم‌های مزمن، بیماری‌های التهابی و دژنراتیو (مانند استئوآرتريت) و درد، مؤثر واقع شوند و نیز در تعیین نتایج لیزر درمانی با لیزرهای کم توان، پارامترهای معینی اهمیت دارند و عدم رعایت آن‌ها می‌تواند منجر به بی‌اثر شدن این روش درمانی گردد (۴-۶).

محققان اثر مثبت تابش لیزر کم توان هلیوم-نئون (He-Ne) را در درمان آرتريت روماتوئید، درد مزمن، تحریک فرایند سلولی و تغییر عملکرد اعصاب گزارش کرده‌اند (۷-۸).

لیزر He-Ne نور مرئی قرمز رنگ با طول موج ۶۳۲ نانومتر تولید می‌کند؛ اما در این لیزر، امکان تولید نور با طول موج‌های ۵۴۴، ۵۹۴، ۶۰۴ و ۶۱۱ نانومتر در ناحیه‌ی بینایی با رنگ زرد نارنجی و سبز نیز وجود دارد. همچنین می‌توان در ناحیه‌ی مادون قرمز با طول موج‌های ۱۱۵۲-۱۵۲۳ و ۳۳۹۲ نانومتر هم لیزر داشت. عمق نفوذ این لیزر حدود ۸-۶ میلی‌متر با توان خروجی ۵/۳ میلی‌وات و در حالت تماس با پوست ۱۰-۸ میلی‌متر با توان خروجی ۷ میلی‌وات است (۹). پرتو لیزر کم توان پاسخ التهابی اولیه را تنظیم می‌کند و سنتز ATP (Adenosine triphosphate) را تسریع و تقویت و یا وقایع پس از نسخه‌برداری را تسهیل می‌کند و باعث سنتز پروکلاژن می‌شود (۱۰-۱۳).

بیماران مبتلا به دیابت ۲۲ مرتبه بیشتر در معرض خطر آمپوتاسیون هستند و بر اساس گزارش‌های سازمان بهداشت جهانی (WHO یا World Health Organization) تعداد بیماران مبتلا به دیابت تا سال ۲۰۵۰ دو برابر خواهد شد و به ۲۵۰ میلیون نفر خواهد رسید. هر ساله، ۸۲۰۰۰ عضو در بیماران مبتلا به دیابت قطع می‌شود و می‌تواند در ۶۸-۳۹ درصد مبتلایان طی ۵ سال مرگ و میر ایجاد کند. در سال ۲۰۰۲ در آمریکا تخمین زده شده است که هزینه‌ی وابسته به بیماران مبتلا به دیابت بالغ بر ۱۳۲ بیلیون دلار است. با توجه به این نکات، به نظر می‌رسد علاوه بر اقدامات مهم در پیشگیری از ایجاد زخم پا در افراد مبتلا به دیابت، باید سعی شود که با انتخاب مؤثرترین روش درمان و ترمیم زخم پا، از ایجاد عوارض آن جلوگیری کرد؛ زیرا ترمیم زخم یک پدیده‌ی پیچیده‌ی بیولوژیک است و در بیماران مبتلا به دیابت، فرایند ترمیم زخم به دلیل کاهش

درمانی آن در زخم‌های مزمن و مقاوم در رت‌های مبتلا به دیابت به وسیله‌ی استرپتوزوسین (STZ) یا Streptozotocin) استفاده شد.

در خصوص اثرات لیزر بر میزان قند خون پژوهش‌های محدودی انجام گرفته است؛ اما از آن جا که امروزه شیوه‌های درمانی غیر دارویی (طب جایگزین) در حال توسعه است و مطابق آخرین اطلاعات مرکز علمی درمان‌های جایگزین و مکمل NCCAM یا National Center for Complementary and Alternative Medicine) روش‌های استفاده از تحریک نوری و الکترومغناطیسی در رده‌ی طب‌های جایگزین به شمار آمده‌اند، از این رو، در این پژوهش اثر نوری و بیولوژیک لیزر کم توان بر میزان قند خون بررسی گردید. امروزه با استفاده از امواج الکترومغناطیسی، موفق به درمان اختلالاتی از قبیل دیابت و فشار خون شده‌اند (۱۵).

روش‌ها

سنجش درصد بهبودی زخم

موش‌های سفید صحرایی نر به تعداد ۳۶ سر در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم به ۴ گروه ۹ تایی تقسیم شدند. گروه‌های اول و دوم دو گروه شاهد بودند؛ گروه اول شاهد بدون ایجاد زخم (شاهد سالم) و گروه دوم شاهد با ایجاد زخم و تیمار لیزر (شاهد زخم). گروه سوم گروه مبتلا به دیابت بود که در آن‌ها زخم ایجاد شده بود و گروه چهارم گروه تحت تیمار با لیزر بودند. در گروه‌های دوم، سوم و چهارم زخم به اندازه‌ی یک سکه به قطر حدود ۱/۹۶ سانتی‌متر (مساحت ۳ سانتی‌متر مربع) پس از بیهوشی با کتامین و زایلازین، توسط قیچی جراحی پوست به

پرفیوژن، کاهش پرولیفراسیون و کاهش عملکرد لکوسیت‌ها، ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها، مشکل‌تر است. جهت ترمیم زخم، مراحل تشکیل لخته، التهاب، گرانولاسیون، اپیتلیزاسیون، تولید کلاژن و شکل‌سازی مجدد نقش دارند. در بیمار مبتلا به دیابت، به دلیل کاهش واکنش‌های التهاب در ترمیم زخم، عروق‌سازی مجدد، فیروپلازی و اختلال در تولید کلاژن و چندین عامل خارج سلولی در ترمیم زخم دچار مشکل می‌شود (۱۴).

عواملی که بتوانند منجر به انتقال از مرحله‌ی هماتوم به فیبروزیس با گسترش فرایندهای عروق‌سازی مجدد، تولید کلاژن یا شکل‌سازی مجدد تسریع نمایند؛ می‌توانند منجر به تسریع زمان ترمیم زخم شوند. از روش‌هایی که برای زخم در افراد مبتلا به دیابت استفاده می‌شود، می‌توان به دبریدمان و پانسمان زخم اشاره کرد. البته بر اساس مطالعات، مصرف موضعی عامل رشد، استفاده از اکسیژن با فشار بالا و میدان‌های الکترومغناطیسی از روش‌های درمانی دیگر، گزارش شده‌اند؛ اما در سال‌های اخیر، استفاده از لیزرهای کم توان (Low level laser therapy یا LLLT) جهت درمان بیماری‌های عضلانی-اسکلتی، کنترل درد و ترمیم زخم مطالعات متعددی انجام شده است. طی این مطالعات، مشخص شده است که لیزر کم توان می‌تواند منجر به تسریع پرولیفراسیون، افزایش تولید ATP و اسید نوکلئیک، افزایش کلاژن و فیروپلاست‌ها شود. لازم به ذکر است تمامی این مطالعات به وسیله‌ی لیزر هیلوم-نئون انجام شده است.

در این پژوهش اثر لیزر گالیوم-آلومینیوم-فسفامید (GA-AL-Ph) -که نسبت به سایر لیزرها ارزان‌تر و قابل حمل است- جهت امتحان اثرات

زایلازین بیهوش شدند. سپس نمونه‌ی بافتی از زخم و پوست سالم مجاورش با قیچی تیز برداشته شد. سپس با نرمال سالین شستشو داده و درون فرمالین ۱۰ درصد به منظور ثبوت به مدت یک هفته قرار داده شد. بعد از انجام تثبیت کامل، از نمونه‌ها مقاطع بافتی تهیه شد و با رنگ‌آمیزی معمولی بافت (هماتوکسیلین-انئوزین) رنگ شدند (۱۷-۱۸).

انجام مطالعات آسیب‌شناسی بافتی با بررسی پارامترهایی مانند درگیری عضله، میزان ماست سل‌ها، تشکیل بافت گرانوله و میزان ترمیم ناحیه‌ی درم مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان بهبودی بر اساس امتیازدهی به پارامترهای آسیب‌شناسی تعیین گردید که با توجه به مطالعات پژوهشگران مختلف انجام گرفته است. آسیب‌شناسی شاخص‌ها به صورت نیمه کمی مورد بررسی قرار گرفتند. برای ارزیابی نیمه کمی، شاخص‌ها و وزن هر شاخص آسیب‌شناسی در اسلایدها کدگذاری شدند. درگیری عضله با زخم با امتیازات صفر یعنی عدم درگیری، ۰، ۱ و ۲ که افزایش سطح درگیری عضله را نشان می‌دهد، تعیین شد. میزان ماست سل‌ها نیز با امتیازات ۰، ۱ و ۲ بر اساس جمعیت سلولی مشخص شدند و میزان ضخامت لایه‌ی گرانوله نیز بر حسب میلی‌متر در هر اسلاید به کمک نرم‌افزار محاسبه و ثبت گردید.

نمونه‌گیری بافتی

مطالعات هیستولوژیک در آخرین روز ترمیم ساختار و زمان بسته شدن زخم انجام شد. هر کدام از گروه‌های شاهد و تجربی، با استنشاق کلروفورم در محیط بسته کشته شدند و از بافت زخم و پوست سالم مجاورش نمونه تهیه شد و بدون شستشو، به منظور ثبوت به مدت یک هفته در فرمالین ۱۰ درصد

طور کامل تمام ضخامت (Full thickness) در شرایط غیر عفونی (استریل) ایجاد شد؛ به طوری که عمق زخم شامل درم و اپی‌درم باشد. گروه چهارم گروه تیمار با لیزر بود که پس از ایجاد زخم تحت تأثیر ترمیمی لیزر به میزان ۵ جلسه (متوالی یک روز در میان) با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر، توان ۵ میلی‌وات و انرژی ۴ ژول بر سانتی‌متر مربع بر روی زخم‌های پوستی قرار گرفتند. حیوانات گروه‌های مبتلا به دیابت، به وسیله‌ی تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین (STZ) با دوز ۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، مبتلا به دیابت می‌شدند. مطابق همه‌ی مطالعاتی که بر روی مدل‌های حیوان مبتلا به دیابت انجام شده است، مبنای ابتلای حیوان به دیابت، رسیدن به غلظت قند خون بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر می‌باشد (۱۶).

در روزهای ۴، ۷ و ۱۰ پس از ایجاد زخم، درصد بهبودی زخم بر اساس سنجش مساحت زخم بر حسب میلی‌متر مربع محاسبه شد. این اندازه‌گیری در ساعات معینی از روز به وسیله‌ی فرد خاصی انجام شد. به منظور اندازه‌گیری سطح زخم، حیوان در وضعیت کروچینگ قرار گرفت و حد و مرز زخم پوستی بر روی یک ورقه‌ی شفاف ترانسپارنت ترسیم گردید، سپس برای تعیین سطح دقیق زخم‌ها، از نرم‌افزار اتوکد استفاده شد. جهت تعیین درصد بهبودی زخم از فرمول زیر استفاده گردید:

$$100 \times \frac{\text{سطح زخم در روز } x \times \text{سطح زخم در روز اول}}{\text{سطح زخم در روز اول}} = \text{درصد بهبودی}$$

مطالعات آسیب‌شناسی بافتی

در روز دهم که زخم به طور تقریبی بسته و جمع شده بود، موش‌ها دوباره با استفاده از کتامین و

آن با $P < 0/001$ معنی دار مشخص شد (شکل ۱).
سنجش غلظت گلوکز و تجزیه و تحلیل آماری
چهار گروه تحت مطالعه در شکل ۲ ترسیم شده
است. پس از تزریق استریتوزوسین غلظت‌های
گروه‌های مبتلا به دیابت به بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم بر
دسی‌لیتر مشاهده شد و در این جا جهت مقایسه‌ی
غلظت گلوکز بین گروه‌های تحت تأثیر لیزر، دو گروه
مبتلا به دیابت (گروه سوم) و گروه چهارم (مبتلا به
دیابت تحت تیمار با لیزر) با گروه شاهد سالم در هر
سه بازه‌ی زمانی تیمار یعنی روز ۴ ($P < 0/001$)، ۷
($P < 0/001$) و ۱۰ ($P < 0/001$) تفاوت آماری
معنی‌داری نشان دادند. همچنین مقایسه‌ی مقادیر
غلظت در دو گروه شاهد مبتلا به دیابت (گروه سوم)
و مبتلا به دیابت تحت تیمار با لیزر (گروه چهارم) در
هر سه بازه‌ی زمانی تیمار یعنی روز ۴ ($P < 0/050$)،
۷ ($P < 0/001$) و ۱۰ ($P < 0/001$) تفاوت آماری
معنی‌داری نشان دادند. در همین شکل، بین دو گروه
اول یعنی شاهد سالم و شاهد سالم تحت تیمار با لیزر
(گروه دوم) تفاوت آماری در روز ۴ و ۷ غیر معنی‌دار
و در روز ۱۰ با $P < 0/010$ معنی‌دار بود.

سنجش هیدروکسی پرولین به عنوان شاخص
کلاژن‌سازی در چهار گروه تحت مطالعه مقادیر را
برای گروه اول $0/15 \pm 7/40$ ، گروه دوم
 $0/40 \pm 8/90$ ، گروه سوم $0/19 \pm 4/40$ و گروه
چهارم $0/23 \pm 5/20$ میکروگرم بر میلی‌لیتر را نشان
دادند. آنالیز آماری این مقادیر نشان داد که میزان
هیدروکسی پرولین در گروه‌های دوم، سوم و چهارم
با گروه اول با $P < 0/001$ ، بین گروه‌های دوم و سوم
با $P < 0/001$ و بین دو گروه سوم و چهارم با
 $P < 0/001$ معنی‌دار می‌باشد.

قرار گرفت. بعد از طی مراحل آماده‌سازی، نمونه‌های
بافتی در برش‌های عرضی Leitz قالب پارافینی قرار
گرفتند. توسط میکروتوم شامل پوست سالم و بافت
زخم مجاورش با ضخامت ۶ میکرون به صورت سریال
تهیه شد و با هماتوکسیلین-ائوزین جهت مشاهده‌ی
رگ، سلول‌های التهابی و فیبروبلاست رنگ‌آمیزی
شدند. در روز دهم بعد از تیمار لیزر برای اندازه‌گیری
عمق بافت گرانوله، دو طرف زخم با فاصله‌ی x افزار
موتیک با بزرگ‌نمایی ۴۰ اندازه‌گیری شد و میانگین با
استفاده از نرم عمق زخم محاسبه شد (۲۱-۱۹).

روش انجام مطالعات بیوشیمیایی

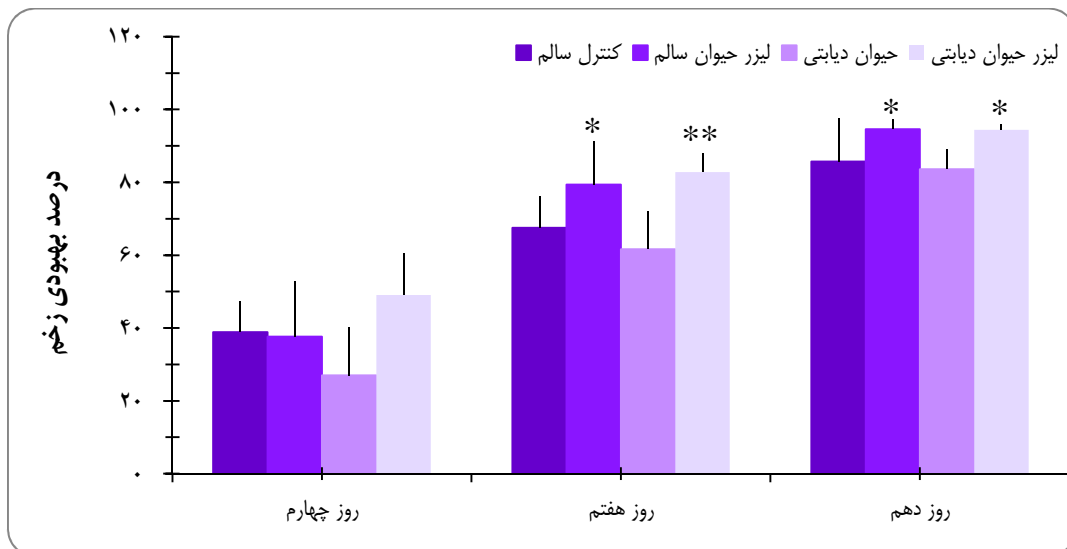
هیدروکسی پرولین سال‌ها است که به عنوان یک
شاخص برای وجود کلاژن در بافت مطرح می‌باشد.
بنابراین اندازه‌گیری آن به روش بیوشیمیایی انجام شد
و میزان این اسید آمینه با کیت مخصوص و از ادرار
حیوانات تحت بررسی و کنترل در آخرین روز
بررسی‌ها مورد سنجش و ارزیابی قرار گرفت (۲۲).

یافته‌ها

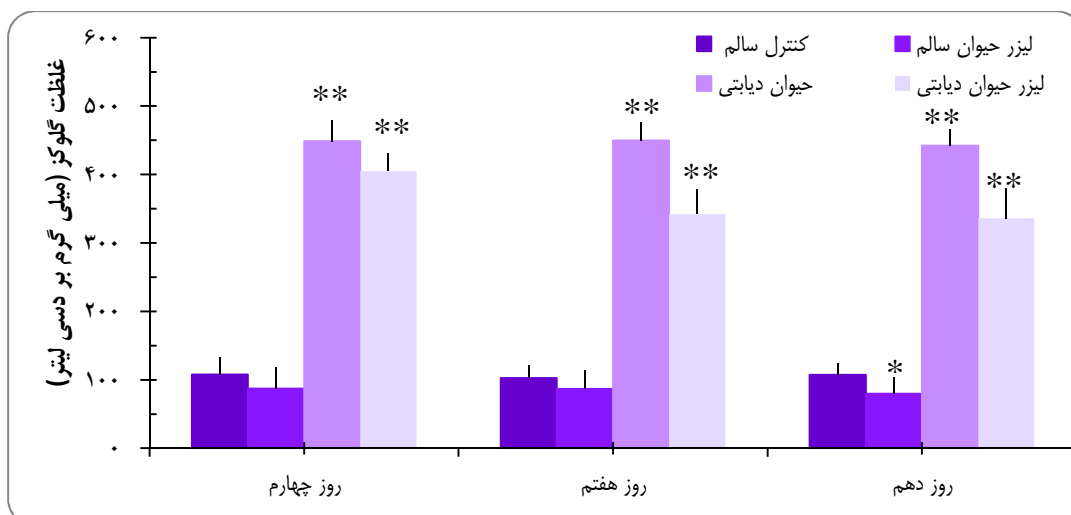
چنانچه در شکل ۱ آمده است، در آزمایش‌های
مربوط به اندازه‌گیری سطح زخم و محاسبه‌ی درصد
بهبودی در روز ۴ بین گروه دوم با گروه چهارم
اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. اما بین دو گروه سوم
(شاهد مبتلا به دیابت) و چهارم (گروه مبتلا به دیابت
تحت تیمار با لیزر) با $P < 0/010$ اختلاف معنی‌دار
به دست آمد. همچنین درصد بهبودی زخم در روز ۷
بین گروه دوم (لیزر حیوان سالم) و گروه چهارم (لیزر
حیوان مبتلا به دیابت) با $P < 0/001$ تفاوت معنی‌دار
نشان داده شد. در روز ۱۰ نیز میزان معنی‌داری دو
گروه ذکر شده، تحت تیمار با لیزر در مقایسه با شاهد

با آزمون‌های آماری غیر پارامتریک Kruskal-Wallis و Mann-Whitney امتیازبندی و بررسی شدند و نتایج حاصل نشان داد که در جمعیت ماست سل، گروه لیزر مبتلا به دیابت با گروه شاهد سالم با $P < 0/050$ اختلاف معنی‌دار نشان می‌دهد.

از مهم‌ترین پارامترهایی که در برش‌های بافتی قابل مقایسه و بررسی بودند، سه پارامتر درگیری عضله، جمعیت ماست سل‌ها و ضخامت بافت گرانوله (ضخامت ۶-۱ میلی‌متر) بودند که دو پارامتر اول به خاطر امتیازات داده شده، به طریق غیر پارامتریک و



شکل ۱. مقایسه‌ی درصد بهبودی زخم در گروه اول (شاهد سالم)، گروه دوم (حیوانات سالم تحت تیمار لیزر)، گروه سوم (شاهد مبتلا به دیابت) و گروه چهارم (گروه مبتلا به دیابت تحت تیمار با لیزر) در سه بازه‌ی زمانی ۴، ۷ و ۱۰ روز $P < 0/050^*$; $P < 0/010^{**}$



شکل ۲. مقایسه‌ی غلظت گلوکز در گروه اول (شاهد سالم)، گروه دوم (حیوانات سالم تحت تیمار لیزر)، گروه سوم (شاهد مبتلا به دیابت) و گروه چهارم (گروه مبتلا به دیابت تحت تیمار با لیزر) در سه بازه‌ی زمانی ۴، ۷ و ۱۰ روز $P < 0/010^{**}$; $P < 0/010^*$

در بررسی مقاطع بافتی با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، ضخامت اسکار از گروه شاهد کمتر است و دارای سلول کمی می باشد که اکثر سلول های آن را سلول های فیبروبلاست دوکی شکل تشکیل می دهند. در بعضی از نمونه ها، بافت گرانوله به صورت یک لایه ی نازک زیر اپیتلیال دیده می شود. در زیر بافت گرانوله، بافت اسکار در حال تشکیل می باشد. در ناحیه ی زخم، سلول های فیبروبلاست دوکی شکل و سلول های التهابی دیده می شود.

از طرفی، بررسی ضخامت بافت گرانوله با آزمون آماری پارامتری یک ANOVA One-way (One-way analysis of variance) و با آزمون تعقیبی Tukey و Dunnett انجام شد. نتایج حاصل بین گروه ها تفاوت آماری معنی داری را نشان نداد.

بحث

نتایج ارایه شده در این مطالعه، به خوبی اثر مثبت لیزر با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر، توان ۵ میلی وات و انرژی ۴ ژول بر سانتی متر مربع را در بهبودی زخم نشان می دهند. چنانچه شکل ۱ نشان می دهد، در دو بازه ی زمانی روز ۷ و ۱۰ در دو گروه دوم و چهارم، افزایش بهبودی زخم ایجاد شده در حیوانات، نسبت به گروه شاهد معنی دار بود. اثرات تابشی لیزر مرئی پولاریزه ی کم توان بر زخم های پوستی و بررسی آن با میکروسکوپ نوری در سال ۲۰۰۴ توسط Ribeiro و همکاران مورد مطالعه قرار گرفت. این بررسی ها نشان داد که وقتی از لیزر هلیوم- نئون همگرا استفاده می شود، جهت نسبی پلاریزاسیون لیزر، نقش مهمی در فرایند ترمیم زخم دارد (۲۳).

تحقیقات اولیه روی لیزرهای کم توان (Lasers low_level) نشان دهنده ی تسریع بخشی فرایند التیام زخم به وسیله ی تابش لیزر کم توان بود (۵-۶). تابش لیزرهای کم توان همچنین موجب تسریع بخشی فرایند التیام زخم های پوستی موش های سالم (۲۵-۲۴، ۵)، افزایش تعداد میوفیبروبلاست ها و افزایش رسوب کلاژن می شود (۲۶). نتایج حاصل از بررسی بافت شناسی در این مطالعه نیز نشان داد که از مهم ترین پارامترهایی که در برش های بافتی قابل مقایسه و بررسی بودند، جمعیت ماست سل گروه لیزر مبتلا به دیابت با گروه شاهد با $P < 0/050$ اختلاف معنی دار نشان می دهد. کاربردهای لیزر در پدیده های بیولوژی، استفاده از آن در ترمیم زخم است. ترمیم زخم دارای سه فاز اصلی التهاب زودرس، فاز تکثیری و فاز دوباره سازی است که لیزرهای کم توان در اکثر این بخش ها می توانند تأثیرگذار باشند و ترمیم زخم را فعال نمایند (۲۷). از این رو، انتخاب سه بازه ی زمانی ۴، ۷ و ۱۰ روز جهت بررسی ترمیم زخم با در نظر گرفتن این سه فاز اصلی انجام گرفت؛ البته در روز ۱۲، زخم همه ی گروه های تحت تیمار با لیزر به طور کامل بسته شد.

با توجه به اثرات فیزیولوژیک لیزر در بازسازی و افزایش خون رسانی بافتی و تقویت فعالیت سلول ها در پیشبرد روند ترمیم و تکثیر سلولی نه تنها لیزر موجب درمان سریع تر زخم می شود، بلکه در ماندگاری اثر درمان نیز می تواند به طور کامل مؤثر واقع شود (۲۸). کاربرد لیزر اغلب تلاش برای تسریع بهبودی زخم و نیز افزایش قدرت کشش محل زخم پس از بهبودی بوده است (۲۹).

Lucas و همکاران ۱۶ بیمار را که دارای زخم فشاری درجه ی III بودند، به طور تصادفی به دو گروه

زخم، درمان متداول شستشو، پانسمان و درمان عفونت را دریافت کرده بودند، وارد مطالعه کردند. بیماران یک روز در میان تا هفته‌ی چهارم و از آن به بعد هر هفته تا ماه چهارم برای ارزیابی زخم مراجعه کردند. لیزر درمانی نیز در هر جلسه تا هفته‌ی چهارم (۱۲ جلسه) از نوع گالیوم-آلومینیوم-آرسناید با طول موج ۶۸۵ نانومتر، توان ۴۰ میلی‌وات و انرژی ۵ ژول بر سانتی‌متر مربع به روش شطرنجی انجام شد. مدت زمان لیزر درمانی در این پژوهش برای هر سطح ۱ × ۱ سانتی‌متر زخم ۲ دقیقه و ۳۰ ثانیه بود. ارزیابی تا ماه اول بعد از شروع درمان هر هفته و سپس تا ماه چهارم هر یک ماه یک بار انجام شد. جهت ارزیابی از زخم، اندازه‌گیری عمق زخم و استفاده از سیستم بولتون (جهت اندازه‌گیری نوروپاتی) انجام شد (۳۱).

Reddy و همکاران تحقیقی را با اثرات نوری لیزر بر ترمیم دیابتی در رت تحت لیزر درمانی از نوع هیلوم-نئون به میزان ۱ ژول بر سانتی‌متر مربع با طول موج ۶۳۲ نانومتر به مدت ۵ روز در هر هفته تا ۳ هفته انجام دادند و نتایج نشان داد که در رت‌های مبتلا به دیابت، میزان ترمیم زخم از لحاظ آنالیز بیوشیمیایی و تولید کلاژن، اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری در مقایسه با گروه شاهد وجود داشت و میزان توتال کلاژن در گروهی که لیزر درمانی می‌شوند، $230/0 \pm 8/7$ بود؛ اما همین میزان در گروه شاهد $230/0 \pm 8/7$ بود (۳۲).

در مطالعه‌ی مشابهی توسط Carvalho و همکاران، رت‌های نر مبتلا به دیابت تحت درمان با لیزر به میزان ۴ ژول بر سانتی‌متر مربع باتوان ۵ میلی‌وات با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر به مدت ۶۰

تقسیم نمودند (هر گروه ۸ بیمار). گروه اول پنج بار در هفته به مدت ۶ هفته به وسیله‌ی لیزر کم توان از نوع گالیوم-آرسناید مادون قرمز با طول موج ۹۰۴ نانومتر با توان متوسط ۸ میلی‌وات به میزان ۱ ژول بر سانتی‌متر مربع با فرکانس پالس ۸۳۰ هرتز به مساحت ۳۰ سانتی‌متر مربع از زخم به مدت ۱۲۵ ثانیه به وسیله‌ی دستگاه Class ۳-d ساخت آمریکا با استاندارد IEC (International Electrotechnical Commission) ۶۰۱۰۱۰ لیزر درمانی شدند. همچنین این گروه تحت درمان معمول زخم بستر قرار گرفتند. گروه دوم نیز فقط تحت درمان معمول قرار گرفتند. ارزیابی یک بار در هفته از لحاظ ظاهر زخم به وسیله‌ی Norton score انجام شد. سیستم ارزیابی Norton score، یک سیستم امتیازگذاری معمول جهت ارزیابی زخم‌های مقاوم و مزمن است. پاسخ به درمان ۶ هفته بعد از شروع درمان به عنوان کاهش در سطح هر زخم محاسبه شد و در صورتی که زخم هیچ‌گونه ماده‌ی مترشحه‌ی رسوبی یا التهابی و تورم نداشته باشد، به عنوان بهبودی تلقی می‌شد (۳۰).

در مطالعه‌ای که عطایی و همکاران در مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم و جهاد دانشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که میانگین درصد کاهش سطح زخم در هفته‌ی چهارم بعد از درمان در گروهی که تحت لیزر درمانی قرار گرفتند، نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P = 0/030$). این پژوهشگران ۲۳ بیمار را که از سال‌های ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۴ به درمانگاه غدد بیمارستان شریعتی مراجعه کردند و طی ۱۲ هفته‌ی گذشته مبتلا به زخم پای ناشی از دیابت بودند و دیابت آن‌ها تحت کنترل بود و در طول مدت بروز

Stadler و همکاران بیان می‌کنند که LLLT با طول موج ۸۳۰ نانومتر به طور واضح در موش‌ها منجر به افزایش قدرت کشش پوست زخم‌ها می‌شود (۲۸). کاظمی‌خو مطالعه‌ای را بر روی زخم پای افراد مبتلا به دیابت درجه‌ی ۲ و ۳ با استفاده از لیزر کم توان بر روی ۷ بیمار با میانگین ابتلای به دیابت ۱۰/۵ سال و متوسط ابتلا به زخم ۶/۵ ماه و در بیمارستان میلاد تهران انجام داد. نتایج نشان دادند که متوسط میزان گلیسکوسیلیات هموگلوبین (HBAIC یا Glycohemoglobin) در بیماران ۸/۱۴ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود و سونوگرافی داپلر جریان خون پای آنان را طبیعی گزارش کرده بود. او این بیماران را تحت لیزر درمانی کم توان با نور قرمز ۶۶۰ نانومتر، قدرت ۲۵ میلی‌وات، با انرژی ۵-۱ ژول بر سانتی‌متر مربع قرار داد. حاشیه‌ی زخم را با لیزر مادون قرمز ۹۸۰ نانومتر، توان ۲۰۰ میلی‌وات و با انرژی ژول بر سانتی‌متر مربع ۶-۴ قرار داد. وی همچنین از لیزر وریدی با نور قرمز با طول موج ۶۵۰ نانومتر، توان ۱/۵ میلی‌وات به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه استفاده کرد. وی بعد از ارزیابی مجدد به این نتیجه رسید که لیزر کم توان در بهبود زخم پای افراد مبتلا به دیابت و کاهش قند خون مؤثر است. هر چند که او پیشنهاد نموده است که جهت نتیجه‌گیری قابل اعتمادتر، نیاز به انجام پژوهش‌های بیشتری می‌باشد (۳۶).

مشابه این پژوهش، نتایج حاصل از سنجش قند خون نیز چنانچه در شکل ۲ ترسیم شده است، تغییرات غلظت آن را به خصوص در نمونه‌های تحت تابش لیزر در گروه مبتلا به دیابت (گروه چهارم) در هر سه بازه‌ی زمانی نسبت به گروه مبتلا به دیابت بدون تیمار با لیزر (گروه سوم) معنی‌دار نشان می‌دهد

ثانیه از نوع هلیم-نئون قرار گرفتند. در گروه‌های تحت درمان و گروه‌های شاهد در روزهای ۳، ۷ و ۱۴ بعد از ایجاد زخم، نمونه‌برداری بافتی از منطقه‌ی زخم انجام شد (Morphometric). از لحاظ میزان فیبرین زخم، نتایج این پژوهش مشخص کرد در گروهی که تحت درمان زخم به وسیله‌ی لیزر نئون-هلیم قرار داشتند، میزان فیبرهای کلاژن اختلاف معنی‌اری با سایر گروه‌ها داشت و آنان نتیجه گرفتند لیزر کم توان با طول موج ۶۳۲/۲ نانومتر میزان فیبرهای کلاژن را افزایش می‌دهد (۳۳).

Rabelo و همکاران در پژوهشی به این نتیجه رسیدند که لیزر کم توان قادر است التهاب را در زخم کاهش دهد. گروه درمانی به وسیله‌ی لیزر هیلوم-نئون با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر با توان ۱۵ میلی‌وات، زمان تابش ۱۷ ثانیه به ازای هر ۰/۲۵ سانتی‌متر مربع از محل زخم تحت درمان قرار گرفتند. سپس در روزهای ۴ و ۷ و ۱۵ بعد از درمان با لیزر و ایجاد دیابت به اندازه‌ی ۱۸ میلی‌متر نمونه‌ی پوستی از محل زخم و حتی از محلی که زخم ایجاد نشده بود، تهیه شد و از لحاظ بافت‌شناسی مورد ارزیابی قرار گرفت (۳۴).

در پژوهش دیگری، Maiya و همکاران پس از ایجاد زخم در پشت رت، آن‌ها را به وسیله‌ی لیزر He-Me با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر و دوز ۴/۸ ژول بر سانتی‌متر مربع به مدت ۵ روز در یک هفته تحت لیزر درمانی قرار دادند. جهت ارزیابی میزان ترمیم زخم از بررسی بیوشیمیایی و بافت‌شناسی استفاده نمودند. آنان گزارش کردند در گروهی که تحت درمان با لیزر قرار گرفتند، میزان ترمیم زخم زودتر بود (۱۸ روز)؛ اما در گروه شاهد میانگین ترمیم زخم ۹۵ روز بود ($P < ۰/۰۰۰۱$) (۳۵).

تحقیقات متابولیک دانشگاه علوم پزشکی قزوین می‌باشد؛ نویسندگان از تمامی کارکنان محترم این مرکز و گروه بیوفیزیک و نیز آزمایشگاه حیوانات دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین نهایت تشکر و قدردانی را دارند.

و نکته‌ی مهم این است که با افزایش تعداد مراحل تیمار با لیزر در زمان‌های ۴، ۷ و ۱۰ روز بعد از ایجاد زخم، قند خون به تدریج کاهش می‌یابد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل انجام طرح پژوهشی مصوب مرکز

References

1. Sadaghipour GhR. The Effect of low-level laser therapy in musculoskeletal disorder. *Laser Med* 2002; 25: 1-26.[In Persian].
2. Baxter GD, Bell AJ, Allen JM, Ravey J. Low Level Laser Therapy: Current Clinical Practice in Northern Ireland. *Physiotherapy* 1991; 77(3): 171-8.
3. el Sayed SO, Dyson M. Effect of laser pulse repetition rate and pulse duration on mast cell number and degranulation. *Lasers Surg Med* 1996; 19(4): 433-7.
4. Mester E, Spiry T, Szende B, Tota JG. Effect of laser rays on wound healing. *Am J Surg* 1971; 122(4): 532-5.
5. Mester E, Jaszage-Nagy E. The effect of laser radiation on wound healing and collagen synthesis. *Studia Biophysica* 1973; 35(3): 227-30.
6. Mester E, Mester AF, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Lasers Surg Med* 1985; 5(1): 31-9.
7. Smith RJ, Birndorf M, Gluck G, Hammond D, Moore WD. The effect of low-energy laser on skin-flap survival in the rat and porcine animal models. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89(2): 306-10.
8. Basford JR, Hallman HO, Sheffield CG, Mackey GL. Comparison of cold-quartz ultraviolet, low-energy laser, and occlusion in wound healing in a swine model. *Arch Phys Med Rehabil* 1986; 67(3): 151-4.
9. Ribeiro MS, Da Silva DF, De Araujo CE, De Oliveira SF, Pelegrini CM, Zorn TM, et al. Effects of low-intensity polarized visible laser radiation on skin burns: a light microscopy study. *J Clin Laser Med Surg* 2004; 22(1): 59-66.
10. Passarella S, Casamassima E, Molinari S, Pastore D, Quagliariello E, Catalano IM, et al. Increase of proton electrochemical potential and ATP synthesis in rat liver mitochondria irradiated in vitro by helium-neon laser. *FEBS Lett* 1984; 175(1): 95-9.
11. Saperia D, Glassberg E, Lyons RF, Abergel RP, Baneux P, Castel JC, et al. Demonstration of elevated type I and type III procollagen mRNA levels in cutaneous wounds treated with helium-neon laser. Proposed mechanism for enhanced wound healing. *Biochem Biophys Res Commun* 1986; 138(3): 1123-8.
12. Noyes FR, DeLucas JL, Torvik PJ. Biomechanics of anterior cruciate ligament failure: an analysis of strain-rate sensitivity and mechanisms of failure in primates. *J Bone Joint Surg Am* 1974; 56(2): 236-53.
13. Nordin M, Frankel VH. Basic biomechanics of the musculoskeletal system. 2nd ed. Philadelphia, PA: Lea & Febiger; 1989. p. 232-50.
14. Hawkins D, Hourel N, Abrahamse H. Low level laser therapy (LLLT) as an effective therapeutic modality for delayed wound healing. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1056: 486-93.
15. Thuery J. Microwaves and matter. In: *Microwaves: industrial, scientific, and medical applications*. Grant EH, editor. London, UK: King's College London, (Artech House); 1992. p. 102-6.
16. Qiu Z, Kwon AH, Kamiyama Y. Effects of plasma fibronectin on the healing of full-thickness skin wounds in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Surg Res* 2007; 138(1): 64-70.
17. Velander P, Theopold C, Bleiziffer O, Bergmann J, Svensson H, Feng Y, et al. Cell suspensions of autologous keratinocytes or autologous fibroblasts accelerate the healing of full thickness skin wounds in a diabetic porcine wound healing model. *J Surg Res* 2009; 157(1): 14-20.
18. Khaksari M, Sajadi M, Hajizadeh S. Effect of dietary fish oil on wound healing in diabetic rats. *Physiol Pharmacol* 1999, 3(2): 181-91.
19. Mustoe TA, Pierce GF, Thomason A, Gramates P, Sporn MB, Deuel TF. Accelerated healing of incisional wounds in rats induced by transforming growth factor-beta. *Science* 1987; 237(4820): 1333-6.
20. Whitby DJ, Ferguson MW. Immunohistochemical localization of growth

- factors in fetal wound healing. *Dev Biol* 1991; 147(1): 207-15.
21. Most D, Hoyt J, Sibley RK, Press BH. Parenchymal cytokine expression precedes clinically observed ischemia in dorsal flaps in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1996; 98(5): 856-61.
 22. Reddy GK, Enwemeka CS. A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues. *Clin Biochem* 1996; 29(3): 225-9.
 23. Ribeiro MS, Da Silva Dde F, De Araújo CE, De Oliveira SF, Pelegrini CM, Zorn TM, et al. Effects of low-intensity polarized visible laser radiation on skin burns: a light microscopy study. *J Clin Laser Med Surg* 2004; 22(1): 59-66.
 24. Lyons RF, Abergel RP, White RA, Dwyer RM, Castel JC, Uitto J. Biostimulation of wound healing in vivo by a helium-neon laser. *Ann Plast Surg* 1987; 18(1): 47-50.
 25. Bisht D, Gupta SC, Misra V, Mital VP, Sharma P. Effect of low intensity laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Indian J Med Res* 1994; 100: 43-6.
 26. Medrado AR, Pugliese LS, Reis SR, Andrade ZA. Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts. *Lasers Surg Med* 2003; 32(3): 239-44.
 27. Moyer KE, Davis A, Sagggers GC, Mackay DR, Ehrlich HP. Wound healing: the role of gap junctional communication in rat granulation tissue maturation. *Exp Mol Pathol* 2002; 72(1): 10-6.
 28. Stadler I, Lanzafame RJ, Evans R, Narayan V, Dailey B, Buehner N, et al. 830-nm irradiation increases the wound tensile strength in a diabetic murine model. *Lasers Surg Med* 2001; 28(3): 220-6.
 29. White RA, Abergel RP, Lyons R, Kopchok G, Klein SR, Dwyer R, et al. Laser welding: an alternative method of venous repair. *J Surg Res* 1986; 41(3): 260-3.
 30. Lucas C, Coenen CHM, De Haan RJ. The Effect of Low Level Laser Therapy (LLLT) on Stage III Decubitus Ulcers (Pressure Sores); a Prospective Randomised Single Blind, Multicentre Pilot Study. *Lasers Med Sci* 2000; 15(2): 94-100.
 31. Ataei L, Esmaeil Javaid Gh, Kaviani A, Larijani B, Rzavi L, Salami M, et al. Low level laser therapy in treatment of diabetic foot ulcers: double blind controlled clinical trial. *Lasers in Medicine* 2008; 5(3): 6-11. [In Persian].
 32. Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS. Laser photostimulation accelerates wound healing in diabetic rats. *Wound Repair Regen* 2001; 9(3): 248-55.
 33. Carvalho PT, Mazzer N, dos Reis FA, Belchior AC, Silva IS. Analysis of the influence of low-power HeNe laser on the healing of skin wounds in diabetic and non-diabetic rats. *Acta Cir Bras* 2006; 21(3): 177-83.
 34. Rabelo SB, Villaverde AB, Nicolau R, Salgado MC, Melo MS, Pacheco MT. Comparison between wound healing in induced diabetic and nondiabetic rats after low-level laser therapy. *Photomed Laser Surg* 2006; 24(4): 474-9.
 35. Maiya GA, Kumar P, Rao L. Effect of low intensity helium-neon (He-Ne) laser irradiation on diabetic wound healing dynamics. *Photomed Laser Surg* 2005; 23(2): 187-90.
 36. Kazemi-Khoo N. Successful treatment of diabetic foot ulcers with low-level laser therapy. *The Foot* 2006; 16(4): 184-7.

Effect of Low-Power Laser on Wound Healing and Blood Sugar in Diabetic Rats

Hadi Morshedi MSc¹, Nematollah Gheibi PhD², Ali Safari-Variani PhD³, Amir Ziaee MD⁴

Original Article

Abstract

Background: According to the World Health Organization (WHO) reports, the number of patients with diabetes will be doubled by 2050 to reach 250 million. This study aimed to assess the effect of low-power laser, with power of 5 mW, wavelength of 632.8 nm and energy of 4 j/cm², on wound healing and blood sugar of normal and diabetic rats.

Methods: 36 male rats, weighing 200 to 250 g, were divided into 4 groups including 9 animals in each group. Groups I and II were considered as two control groups. Group I was the control group without skin wound (normal control) and group II with skin wound (sham operated) treated using laser. Group III was considered as diabetic with skin wound, and group IV with skin wound treated by low-power laser with a wavelength of 632.8 nm and a power of 5 mW. In the time scales of 4, 7 and 10 days after surgery, the wound area was measured to calculate wound healing. Blood sugar levels and urine hydroxyproline were measured via colorimeter.

Findings: The wound healing in the 7th day of treatment in both second (healthy laser) and fourth (diabetic laser) group was significant in comparison with the control group ($P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively). On the 10th day, wound healing showed significant difference in the mentioned two groups ($P < .0.05$ for both) and third group ($P < 0.01$) in comparison with the control group.

Conclusion: The laser treatment in the wavelength of 632.8 nm, power of 5 mW and energy of 4 j/cm² showed significant effect on blood sugar levels and wound healing in a time-dependent manner in both normal and diabetic rats. Laser healing effects was confirmed using both histological and biochemical studies on hydroxyproline concentration in the treated groups.

Keywords: Rat, Diabetes, Low power laser, Wound healing

Citation: Morshedi H, Gheibi N, Safary-Variani A, Ziaee A. **Effect of Low-Power Laser on Wound Healing and Blood Sugar in Diabetic Rats.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(287): 756-67

1- Instructor, Department of Public Health, School of Health, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

2- Associate Professor, Department of Biophysics and Biotechnology, School of Paramedical Sciences, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

3- Associate Professor, Department of Occupational Health, School of Public Health, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

4- Professor, Department of Metabolic Disease, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Corresponding Author: Ali Safary-Variani PhD, Email: safary2400@yahoo.com