

تأثيرات نسجية لضوء الليزر بطولين موجيين مرئيين على التئام جروح الجلد السطحية في الفئران المختبرية | c Balb

جاسب عبد الحسين مشاري¹ كاظم قاسم الربيعي² اسراء طالب عبد علي¹

قسم الفيزياء / كلية التربية ، كلية الطب

جامعة البصرة/ البصرة / العراق

ISSN -1817-2695

((الاستلام 30/5/2011، القبول 7/4/2011))

الخلاصة

يتميز الليزر بمواصفات تفوق مواصفات الضوء الناتج من المصادر التقليدية لذا أصبح استعماله في المجالات العلمية المختلفة أساسياً . أكدت الدراسة الحالية امكانية تسريع عملية شفاء جروح الجلد باستعمال الليزر منخفض الطاقة بطولين موجيين مرئيين هما الاحمر 632.8 نانومتر والاخضر 532 نانومتر . تضمنت الدراسة استخدام (90) فأراً مختبرياً بغض النظر عن الجنس قسمت الى ثلاث مجاميع،المجموعة الاولى مجموعة سيطرة وضمت (10 فئران) تم استخدام جروح لها في منطقة الفخذ واما المجموعتين الثانية والثالثة (مجموعتنا المعالجة) فقد استخدم في كل منها(40) فأراً وجرحت في منطقة الفخذ بالطريقة نفسها لمجموعة السيطرة. عرضت المجموعة الثانية للليزر الاحمر بشدتين وزمني تعرض مختلفين وقسمت على اربع مجاميع فرعية (10 فئران) لكل مجموعة ، اما المجموعة الثالثة وزعت بالطريقة ذاتها وعرضت للأشعاع الاخضر بشدتين وزمني تعرض مختلفين .

أخذت خزع نسيجي من الجروح لمجاميع السيطرة والمعالجة لغرض الفحص النسجي المرضي Histopathological في الايام الاول والثالث والخامس والسابع على التوالي .

أظهرت الدراسة أن شعاع الليزر عجل المرحلة الالتهابية Inflammatory Phase والمرحلة التكاثرية Proliferative وتبين ان أفضل عملية لشفاء الجروح عند الطول الموجي 632.8 نانو ميتر بكثافة طاقة 0.708 جول/سم² بينما افضل النتائج عند الطول الموجي 532 نانومتر بكثافة طاقة 0.271 جول/سم² .

- المقدمة :-

الجرح قطع أو تهتك بالأنسجة سواء كان النسيج خلويًا أو غشاء مخاطيًا أو عضلات أو أوتار أو اربطة أو حتى أوعية دموية [2] وتقسم الجروح إلى نوعين رئيسيين هما الجروح المغلقة [3] والجروح المفتوحة [4].

إن عملية شفاء جروح الجلد عملية معقدة طبيعية تحدث لتجديد البشرة أو الأدمة وتتم بعدة مراحل أو أطوار هي الطور الالتهابي Inflammatory phase والطور التحطمي Debridement phase و الطور الاصلاحي (الالتامي Repair phase) والطور الناضج

أن العلاج بالليزر المنخفض الطاقة Low Level Laser Therapy (LLLT) والذي يسمى أحياناً بالعلاج الضوئي أو العلاج بالليزر البارد Cold laser أو التحفيز الحيوي Biostimulation هو تقنية طبية وبيطرية متقدمة ، فأي تعرض لضوء هذا الليزر أو الثنائيات الباعثة للضوء [1] قد تحفز أو تمنع وظيفة خلوية ما . ومن المحتمل ان تقود إلى تأثيرات سريرية مفيدة كما تعرف هذه التقنية بمصطلحات Photo therapy أو المعالجة بالليzer therapy .

الجروح هي عملية دفاعية للجسم وتمر بمراحل عديدة [2] تحدث فيها سلسلة من التغيرات والاحاديث الكيميائية والخلوية وتحدث في الحال لاصلاحضرر وهذه الاحداث تتدخل في الوقت . ينظر البعض الى ان عملية شفاء الجروح تمر بأربع مراحل او اكثر عن طريق تقسيم الاجزاء المختلفة الى خطوات منفصلة [6] .

ان الهدف الاساس من هذا البحث هو معرفة تأثير حزمتي ليزر مرتبتين على التئام الجروح ومعرفة مدى كفاءة الليزرات في عملية الالتئام بأسعمال كثافات طاقة مختلفة .

إن الطور الاصلاحي يقسم إلى Maturation phase اربع مراحل هي المرحلة الطلائية Epithelization ومرحلة هجرة الارومات الليفي Fibroblast migration ومرحلة تكوين النسيج الحبيبي Formation of tissue ومرحلة الانقباضية granulation للجرح [2]Wound contraction .

خلال العقد الماضي أتيق الاهتمام بالعلاج الضوئي Photomedication ومنها العلاج بالليزر المنخفض الطاقة الذي طور واصبح أكثر استعمالا لعلاج حالات متعددة تتضمن شفاء الجروح وتخفيض الالم [5] . شفاء

مواد العمل وطريقه :-

استعملت في التجربة (90) من الفئران المختبرية نوع c \ Balb A اختيرت عشوائياً بعمر (5) اشهر وبأوزان تتراوح بين (25) و (20) غرام تم قياس اوزانها بأسعمال ميزان نوع Dahongying وقسمت الى ثلاث مجاميع ، مجموعة سيطرة وت تكون من عشر حيوانات (ومجموعتي معالجة) التي تضمنت المجموعة الثانية حيث قسمت الى اربع مجاميع ثانوية (D,C,B,A) والمجموعة الثالثة حيث قسمت الى اربع مجاميع ثانوية (H,G,F,E) وفي كل مجموعة ثانوية هناك عشر حيوانات . عرضت المجموعة الثانية للطول الموجي 632.8 نانومتر والثالثة للطول الموجي 532 نانومتر . تم تخدير الحيوانات بأسعمال الكيتامين Ketamine بجرعة قدرها mg/kg 100 في العضلة[7] . عمل شق طولي في الفخذ بطول (1 سم) تحت

جدول (1) الشدات المستعملة عند الطولين الموجيين المستعملين في التجربة و زمن التعرض وكثافة الطاقة

$t \ sec$	$\lambda_1=632.8nm$ $I (W/cm^2)$	$ED \ J/cm^2$	$\lambda_2=532nm$ $I (W/cm^2)$	$ED \ J/cm^2$
60	0.0059	0.354	0.009	0.542
120	0.0059	0.708	0.009	1.08
60	0.00295	0.177	0.0045	0.271
120	0.00295	0.334	0.0045	0.542

التواли بعد العملية الجراحية وحفظت العينات بالفورمالين بنسبة (10%). أعتمدت الدراسة الحالية على ما ذكره Luna [10] في تقنية التحضير للفحص النسجي وصبغت الشرائح النسجية.

تمت عملية التشيعي بالطولين الموجيين 632.8 نانومتر و 532 نانومتر والحيوان على ابعد محدودة عن مصدر الليزر مع تثبيت الحيوان بطريقة تمنع الحركة في أثناء فترة التعرض .

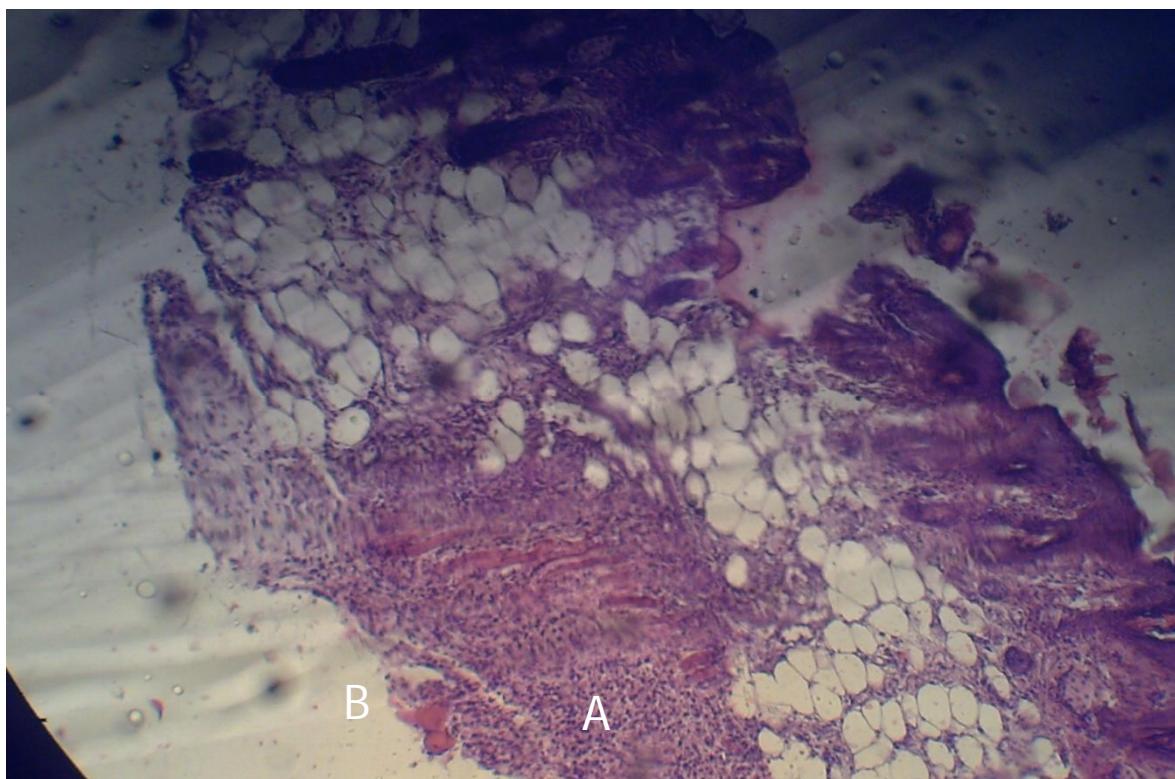
اخذت عينات خزع جلدية Skin biopsy من الجرح لكل حيوان لغرض الفحص النسجي للايام (7,5,3,1) على

النتائج :-

كانت علامات شفاء الجروح بطيئة في مجموعة السيطرة في اليوم الخامس ظهرت بداية ارتشاح الخلايا الالتهابية وأحقان الاوعية الدموية كما هو موضح في الصورة رقم (1).

إن المجموعة الثانية التي تعرضت للليزر 632.8nm بكثافة طاقة قدرها 0.708 J/cm^2 كانت التغيرات النسيجية الدالة لعملية الشفاء سريعة مقارنة مع المجاميع الأخرى التي تعرضت لنوع الليزر نفسه وبكثافات طاقة مختلفة .

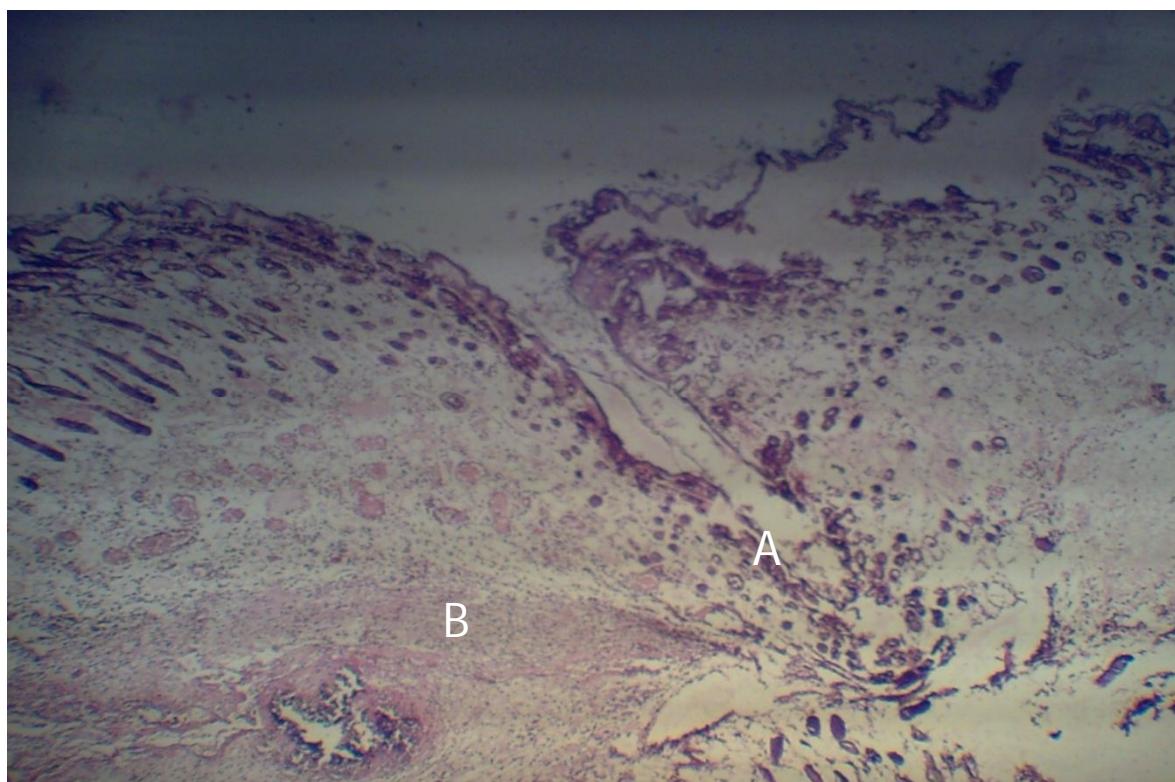
تبينت نتائج الفحص النسجي المرضي Histopathological بين مجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة بالليزرات (632.8 و 532) نانومتر متباعدة وقد أعتمد سلوك واعداد الخلايا الالتهابية (Inflammatory cells) والأرومات الليفية (Fibroblast) وخلايا الظهارة (Epithelial cells) وتكون الندبة (Scar) كدالة لمعلمات (الطول الموجي وكثافة الطاقة وזמן التعرض) للليزر المستخدم .



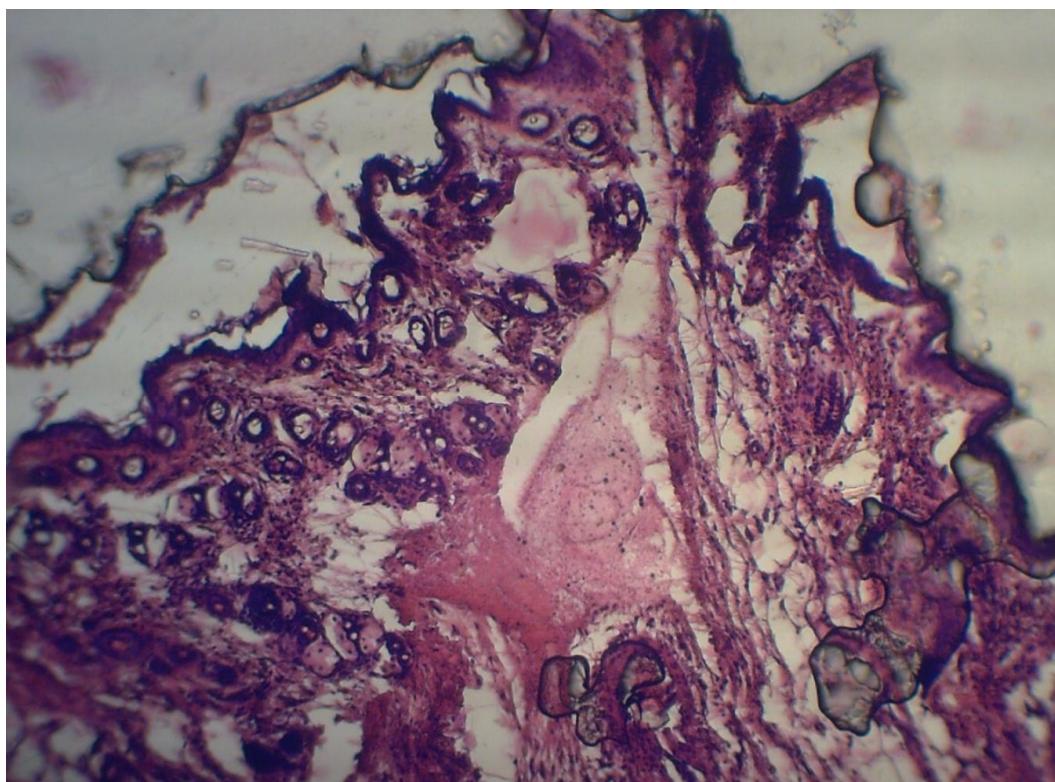
الصورة (1) مقطع عرضي للجلد لمجموعة السيطرة اليوم الخامس ، A الخلايا الالتهابية B احتقان الاوعية الدموية (X100 , H&E)

اسرع بين المجموعة التي تعرضت لكثافة طاقة قدرها 0.271 J/cm^2 مقارنة مع المجاميع الأخرى التي تعرضت للليزر نفسه ولكن بكثافات طاقة مختلفة. لوحظ في اليوم الثالث بداية تكون الندبة وامتلائها بالألياف المرنة فضلاً عن ارتشاح الخلايا الالتهابية . (الصورة 4) ، في حين تم في اليوم السابع اكمال طبقات الاダメة والبشرة مع وجود ندبة مكونة من الالياف المرنة (الصورة 5) .

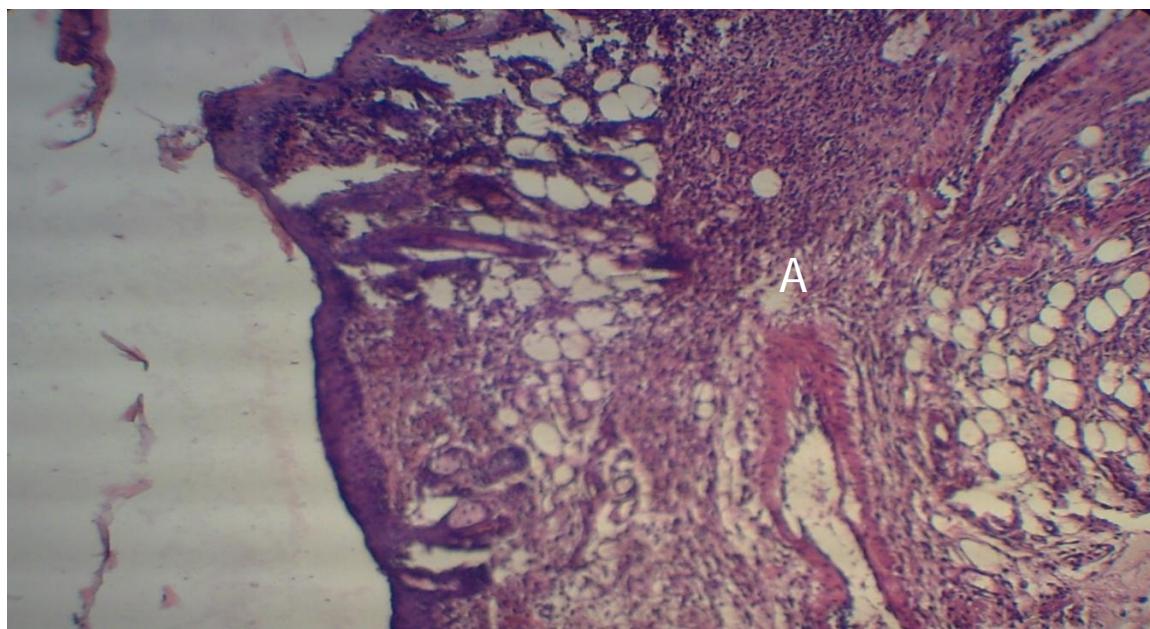
في اليوم الثالث لوحظ ارتشاح الأرومات الليفية بأعداد معتدلة مع وجود الخلايا الالتهابية وظهور الندبة الحاوية على حزم الالياف الكولاجينية كما هو موضح في الصورة رقم (2) بينما في اليوم السابع لوحظ التئام وأكمال عملية الشفاء وطبقات البشرة والاダメة واخفاء الخلايا الالتهابية (الصورة 3) . إن نتائج الدراسة النسجية المرضية لجروح الجلد للمجاميع المعاملة بالشعاع 532nm تبين أن التغيرات التي تدل على عملية شفاء الجروح كانت



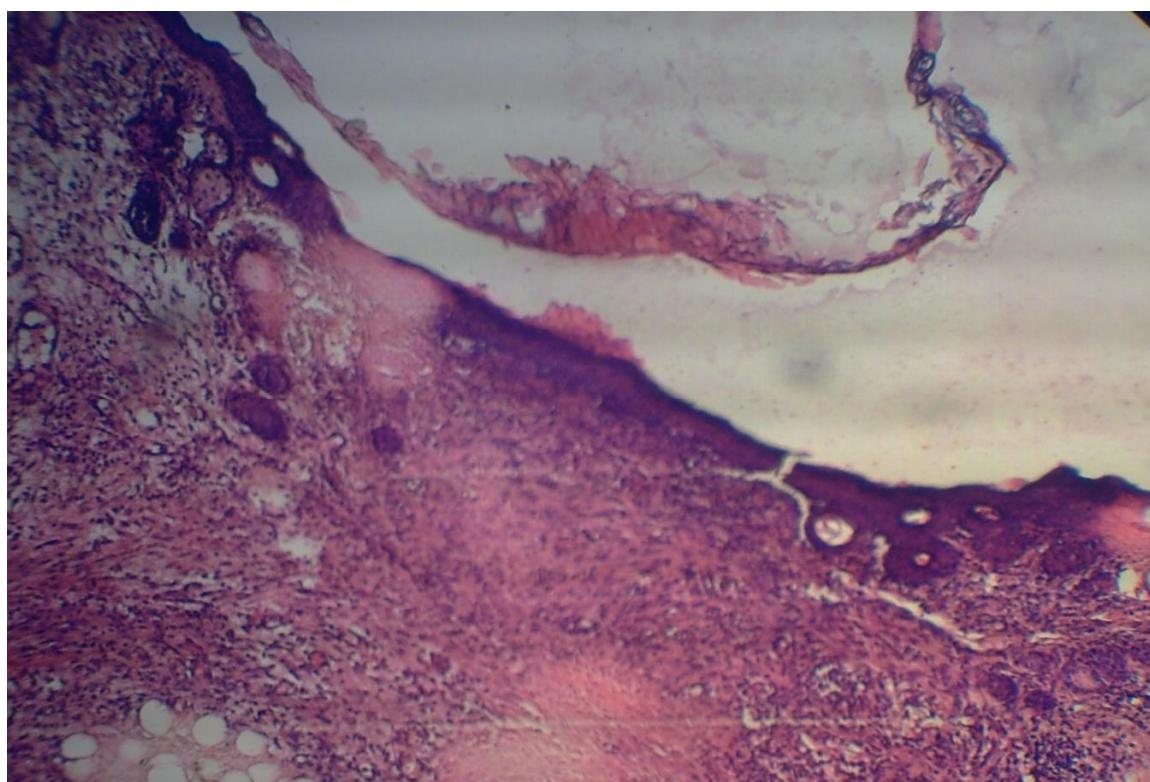
الصورة (2) مقطع عرضي للجلد في اليوم الثالث ليزر (0.708 J/cm^2 ، 632.8 nm) وجود التدببة A الحاوية على الالياف الكولاجينية B تكاثر الخلايا الالتهابية، المجموعة الثانية (المجموعة الثانوية (B)، (X40 ، H&E)



الصورة (3) مقطع عرضي للجلد اليوم السابع ليزر (0.708 J/cm^2 ، 632.8 nm) التئام تام للجرح ، المجموعة الثانية . (X40 ، H&E)،(B) المجموعة الثانوية (B)



الصورة (4) مقطع عرضي للجلد اليوم الثالث ليزر (0.271 J/cm², 532nm) زيادة ارتشاح الخلايا الالتهابية A وبداية تكوين الندبة وامتلاها بالالياف المرنة المجموعة الثالثة (المجموعة الثانوية G) ، (X40,H&E)



الصورة (5) مقطع عرضي للجلد اليوم السابع ليزر(0.271 J/cm², 532nm) تكوين طبقات البشرة والأدمة ، المجموعة الثالثة (المجموعة الثانوية G) ، (X40,H&E)

وتبيّن الجداول (2) و (3) و (4) التغييرات النسجية نانومتر) والمجموعة الثالثة (532 نانومتر) وكما يلي للمجموعة الأولى (السيطرة) والمجموعة الثانية (632.8)

الجدول (2) التغييرات النسجية المرضية للمجموعة الأولى (السيطرة)

Clo	Fib	Inf	اليوم
-	-	+	الأول
+	+	+	الثالث
+	+	++	الخامس
-	++	+	السابع

الجدول (3) التغييرات النسجية المرضية للمجموعة الثانية (632.8) نانومتر

المجموعة H			المجموعة G			المجموعة F			المجموعة E			اليوم
Clo	Fib	Inf										
+	+	++	+	+	+	+	++	++	+	+	+	الأول
+	++	+++	+	++	+++	+	++	+	+	++	++	الثالث
-	+++	++	-	+++	++	-	++	+	-	++	+	الخامس
-	++	++	-	+	+	-	+	-	-	+	+	السابع

الجدول (4) التغييرات النسجية المرضية للمجموعة الثالثة (532) نانومتر

المجموعة H			المجموعة G			المجموعة F			المجموعة E			اليوم
Clo	Fib	Inf										
+	+	+	+	+	++	+	-	++	+	+	+	الأول
+	+	+++	+	+	+++	+	+	++	+	++	++	الثالث
-	++	++	-	++	+++	+	++	++	-	++	+	الخامس
-	+	+	-	+	++	-	+	+	-	+	+	السابع

- = Absent

+ = Mild

++ = Moderate

+++ = Sever

Fib = Fibroblast

Inf = Inflammatory cell

Clo = Clot

المناقشة :-

كبيرة من الارومات الليفية وتكون الندبة في اليوم الثالث وزيادة في الخلايا الالتهابية وакتمال تكوين طبقات البشرة في اليوم الخامس وهذا متفق مع [11].

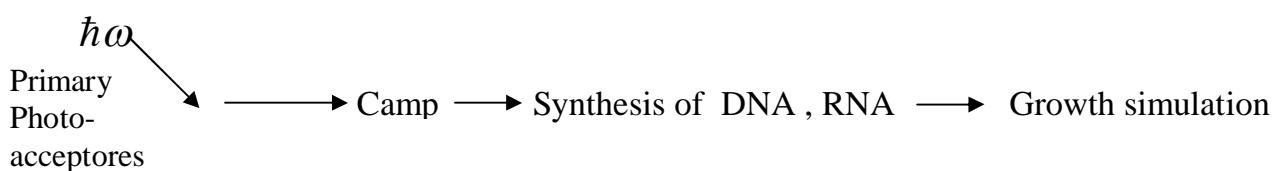
مع نتائج الآخرين [12,13] وان الليزر يخفف الالم وهذا ما لوحظ سريرياً باتفاق مع الباحث Moore [14] وذلك بسبب اطلاق مادة مسكنة للالم بواسطة الكورتيزول داخلي المنشأ . يرى Murnane [15] ان العلاج بفوتونات الليزر

عند مقارنة نتائج المجاميع المعاملة بالطول الموجي 632.8 نانومتر مع مجموعة السيطرة يلاحظ ارتفاع الخلايا الالتهابية بأعداد كبيرة منذ اليوم الاول وبكميات إن شعاع الليزر يزيد من هجرة الارومات الليفية التي تكون الالياف الكولاجينية وهذا يتفق مع [12] وإن افضل نتائج ظهرت عند المعاملة بكثافة الطاقة J/cm^2 0.708 اذ ان هناك زيادة في تكاثر الخلايا من اليوم الثالث وهذا يتفق

Phagocytes . ويظهر الليزر أمكانية تعديل الغشاء لجمع عنصر البوتاسيوم وزيادة توسيع الاوعية الدموية وهذا يقال الوذمة Edema عن طريق زيادة انتاج الاوعية الدموية الشعرية وتعجيل جريان المف Lymph وتحسين استهلاك الاوكسجين في الانسجة وإن الليزر يحسن من جريان الدم للمناطق التي بها الوذمة وكذلك الخلايا التي بها كمية الاوكسجين قليلة [15] .

إن استعمال الليزر المنخفض الطاقة يزيد أو لاً من مستويات البروتين mRNA الناقل و Keratinocytes IL - 1α و IL - 8 في الخلايا المتقرنة [22] . هذه السايتوكينات Cytokines مسؤولة عن الطور الالتهابي الابتدائي وإنها مسؤولة عن تكاثر الارومات الليفية والهجرة مثل عوامل النمو β FGF و HGF و SGF وثنالث فأن الـ (LLLT) يزيد من معاملات النمو مثل VEGF المسؤولة عن تلوين اوعية جديدة Neovasularization والضرورية في عملية شفاء الجروح ورابعاً العامل B - TGF [23] المسؤول عن حد انتاج Fibroblast collagen ينمو بواسطة (LLLT) . خامساً فأن الـ (LLLT) يمكن أن يحفز الارومات الليفية لكي تتحول إلى الارومات الليفية العضلية Myofibroblast وهي مولدة لخلايا لها القابلية على التقلص وبالتالي تساعد في تقلص الجروح [24] . ويمكن ايجاز مساعدة ضوء الليزر في تعجيل الجروح من وجهاً نظر Karu [25] كما في سلسلة التفاعل التالي

المخفف القدرة يكبح المرحلة الالتهابية ، ويثبت وفرة الفعالية المتبعة Exuberant immune reacting Mast cell توسيع الاوعية ويثبت نقص تنظيم الخلية البدنية [5] ويقل احتمالية تكون الجذور الحرة وهذا يمنع اطلاق الاوساط التحريرية المحطمة التي تتضمن حوامض هستامين Histamine وبروستا كلاردين Prostaglandins [16] وعديدات السكرية المخاطية Mucopolysaccharides، يضاف الى ذلك تثبيط الانجداب Leukocyte الكيميائي لكريات الدم البيضاء واطلاق مادة شحمية لكل اكسدة عن طريق تكون الجذور الحرة . كذلك فإنه يكون أو ينتج مادة مسكنة للالم بواسطة اطلاق الكورتيزول [17] اذ يصل مستوى المادة الاخيرة أعلى قيمة له بعد 4 ساعات ويبقى مرتفعاً خلال الايام الاربعة التالية . أن التعرض الاشعاعي على المستوى الخلوي يسبب تأثيراً مباشراً على الخلايا الحمراء Erythrocytes والبيضاء [18] والارومات الليفية والخلايا القرنية Keratinocytes . إن الزيادة في تكاثر الخلايا الرابطة يحدث خلال امتصاص الطاقة من قبل الاحماس الامينية والنوية او عن طريق التحفيز الحيوي لحملات الصبغة الخلوية Cellular chromophors [19] التي تتضمن الهيموغلوبين والميلاتين والسايتوكروم وبالنتيجة زيادة في تشكيل الكولاجين وزيادة انتاج الماليتوكوندريا للطاقة ATP وكريات الدم البيضاء [20] وزيادة تخلق الـ RNA وانتاج DNA [21] وتحسين اقسام الخلايا البعلمية



الاستنتاجات

الطاقة المستعملة 0.708 J/cm^2 هي الأفضل بين المجاميع الأخرى .

ولقد أثر استعمال الضوء الاخضر بالطول الموجي 532 نانومتر ايجابياً في عملية تسريع الشفاء عندما تكون كثافة الطاقة المستعملة 0.271 J/cm^2 .

يمكن إن نستنتج من هذه الدراسة ان استعمال الليزر منخفض الشدة أثبت تعجيل هجرة الارومات الليفية Fibroblast وتشريع عملية تكاثر الخلايا الطلائية Epithelial cells . إن عملية شفاء الجروح السطحية بإستعمال الضوء الاحمر 632.8 نانومتر عندما تكون كثافة

للمساعدة في الدراسة النسجية المرضية وأ . د. عبد الباري عباس الفارس / كلية الطب البيطري / جامعة البصرة لما قدمه من مشورات علمية قيمة .

شكرا وتقدير : يشكر الباحثون عمادة كلية الطب البيطري / جامعة البصرة لتعاونها البناء وأ . د . علاء عبد الخالق / كلية الطب البيطري / جامعة البصرة

References

- 1- H . T . Whelan etal , Effect of NASA light emitting diode irradiation on wound healing , J . Cli . Las . Med . Sur , 19 , 305 – 314 (2001)
- 2- The epidermis in wound healing , eds , S . D . Rovee and H . I . Maibach , CRC press , New York (2004)
- 3- Z . B . Abdul – karem , Clinical and histopathologiacl study of the effect of magnetic field on the healing in open wound in rabbits , MSc thesis , Basrah University (2009)
- 4- N . M . Abed , Histological assessment of laser effect on the skin wound incision , MSc thesis , Baghdad University (2004)
- 5- D . Hawkins and H . Abrahamse , phototherapy a treatment modality for wound healing and pain relief , AF . Bio , 10 , 99 – 109 (2007)
- 6- " wound healing : methods and protocol" , eds , L . A . Dipietro and A . L . Burns , Human press , Newyork (2000)
- 7- I . W . Hall and K . W. Clarke (Veterinary anaesthesia , 9th ed , L . and L . comp . LTD North yorkshire (1991) .
- 8- E . Hecht , Optics , Addison wisely pub . comp . Canada (1987) .
- 9- I.T Abed – Ali , Study the effect of two low energy laser beams (632.8 , 532) nanometers on the healing of superficial wound of Laboratory mice Balb/C histopathological , MSc thesis , Basrah University (2009)
- 10- L . G . Luna , Manual of histological staining method of the armed forces institute of pathology , 3rd – ed , McGarow – Hill book comp . New York (1986)
- 11- M . A. Mohammad , An evaluation of low inteusity helium – neon laser in facial skin wound healing by primary intention : an experimental study , 87 , 530 – 530 abst . 13th Em 19 congress (2001)
- 12- M . pariokh , S . Dabiri , A . R . Bahram pour , M . H . Zadeh and M .J . Eghbal , Effect of low power laser on incisional wound healing , Ir . End . J , 2 , 157 – 166 (2007)
- 13- D . H . Hawkins and A . Abrahamse , The role of laser flounce in cell viability , proliferation and membrane integrity of wounded human skin fibroblasts following helium – neon laser irradiation Las .Sur . Med , 38 , 74 -83 (2006)
- 14- K .Moore , Lasers and pain treatment editor @ Laser pa – r . ther . CZ .
- 15- J . M . Murnane , the role of lasers in wound healing , Laser , 4It jjjj , 1 – 3 (2004)
- 16- G . Wang , Low level laser therapy (LLLT) , technology assessment , May , 3 , (2004)
- 17- M . Koutna , R . Janisch and R .Veselska , Effect of low power laser radiation on cell prolife ration , SCR . Med (13 RNO) , 76 , 163 – 172 (2003)
- 18- M . Wasik , E . Gorka , M . Modzelewska , K . Nowicki , B . Jakub – Czak , and W .Demkow , The influence of Low power helium – neon Laser irradiation on function of selected peripheral blood cells , J . phs . phar , 58 , 729 – 737 (2007)
- 19- F . A . H . AL – Watban and B . L . Andres , Theapeutic photons in wound healing , Bus . Bri : Calo . Hea , 1 – 6 (2002) .
- 20- N . Yilmaz , S . Aktas , B . Caskm and S .U. Comelekoglu , Effect of low –

- energy gallium arsenide (GaAS 904 nm) Laser irradiation on wound healing in rat skin , Exp . Bio , Med . 18 , 1 – 7 (2005)
- 21- G . E . Fedoseyeva , etal , Effect and protein synthesis of the yeast , Las . Chem. 5 , 27 – 33 (1984)
- 22- P . Gal , etal , Effect of equal daily doses achieved by different power densities of low laser therapy at 635 nm on open skin wound healing in normal corticosteroid , treated rats , Las . Med . Sur , Springer – Verlag , London (2008)
- 23- S . M . Safavi , B . Kazemi , O.M. Esmaeili , A . Fallah , A . Modarresi , and M . Mir , Effects of low level He-Ne Laser irradiation on the gene expression of IL – 1 β , TNF - α , IFN - γ , YGF – β , β Fgf , and pdgf in rats gingival , Las . Med . Sci , 23 , 331 – 335 (2008)
- 24- D . Hawkins and H . Abrahamse , the release of interleukin – 6 after low level Laser therapy (LLLT) and the effect on migration and proliferation of human skin fibroblasts : An invitro study , Med . Tech . SA , 18 , 9 – 15 (2004)
- 25- I . Karu‘ Biological action of low intensity visible monochromatic light and some of its medical applications , Int . cong . Las. Med . Sur , Bologna , 26 , 25 -29 (1985) .

Histopathological effect of two different wavelengths of visible laser light on healing of superficial skin of laboratory mice Balb / C

Abstract :

Laser light has special characteristics features compared to conventional light sources made it the prime source in different scientific disciplines . The present study confirmed that low level laser therapy (LLLT) can accelerate the wound healing process of skin by using two visible (red 632.8 nm and green 532 nm) light . The study included (90) mice regardless of sex divided into control (10 mice) and study groups (80 mice). Injury to skin was done for both groups . The control group was left for healing without any interventions at usual conditions . The study (treated) group consisted of 80 mice divided into two groups (40 mice) each . The first group subdivided to four small groups (10) mice each and were exposed to the wavelength 632.8 nm at two different energy densities . The second group was subdivided too by the same manner and exposed to the wavelength 532 nm at two different energy densities . Skin biopsy from the wounds was taken from all mice for histopathological study at (1,3,5,7) days of injury . The study revealed that laser accelerated inflammatory proliferative phases. The best results for healing wound at laser 632.8 nm at energy density of 0.708 J/cm² while for the laser 532 nm was of 0.271 J/cm² .