

بررسی اثر تابش لیزر کم توان هلیوم- نئون بر التیام تاندون آشیل قطع شده به روش جراحی در موش‌های صحرایی دیابتی شده به وسیله استرپتوزوتوسین به روش ارزیابی بیومکانیکی

مرغی علیدوست *M.Sc.، محمد بیات Ph.D.، محسن نوروزیان Ph.D.، فاطمه فدایی Ph.D.، زین‌العابدین شریفیان *M.Sc.،

فاطمه‌السادات رضایی *M.Sc.

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

تاریخ دریافت: فروردین ماه ۹۰، تاریخ پذیرش: تیر ماه ۹۰

چکیده

هدف: بررسی اثر تابش لیزر کم توان هلیوم- نئون بر التیام تاندون آشیل قطع شده به روش جراحی در موش‌های صحرایی سالم و دیابتی شده به وسیله استرپتوزوتوسین به روش ارزیابی بیومکانیکی

مواد و روش‌ها: ۳۳ سر موش صحرایی نر بالغ استفاده شدند. موش‌ها به دو گروه سالم و دیابتی تقسیم شدند. موش‌های گروه دیابتی به وسیله تزریق استرپتوزوتوسین دیابتی شدند. بعد از گذشت یکماه برش عرضی به تاندون آشیل اندام حرکتی عقبی سمت راست همه موش‌ها داده شد. سپس برای آزمایش تنسیومتری در گروه‌های سالم و دیابتی موش‌ها به سه زیر گروه مساوی شامل دو گروه تجربی برای دو دوز مختلف لیزر و یک گروه شاهد تقسیم شدند. دو زیر گروه تجربی موش‌های سالم تحت تابش لیزر هلیوم نیون با خروجی ۷/۲ میلی ولت به مدت ۱۰ روز با دو دوز ۲/۹ ژول بر سانتی‌متر مربع و ۱۱/۵ ژول بر سانتی‌متر مربع و دو زیر گروه موش‌های دیابتی تجربی تحت تابش لیزر به مدت ۱۰ روز با دو دوز ۲/۹ ژول بر سانتی‌متر مربع، ۴/۳ ژول بر سانتی‌متر مربع قرار گرفتند. سپس همه موش‌ها نمونه برداری شدند و قند خون و وزن آن‌ها ثبت شد. نمونه‌ها تحت آزمایش تنسیومتری کشش قرار گرفتند. داده‌ها به روش student t test تجزیه و تحلیل آماری شد.

یافته‌ها: نه سر موش در جریان تحقیق از بین رفتند. استرس حداکثر (نیوتن بر میلی‌متر مربع) در گروه‌های تجربی سالم با دوزهای ۲/۹ ژول بر سانتی‌متر مربع و ۱۱/۵ ژول بر سانتی‌متر مربع به ترتیب $4/7 \pm 1/1$ و $6/1 \pm 0/2$ بود و در گروه شاهد سالم برابر $2/4 \pm 1/6$ بود و میزان p value به ترتیب برابر با $p=0.018$ ، $p=0.137$ بود. استرس حداکثر (نیوتن بر میلی‌متر مربع) در گروه‌های تجربی دیابتی با دوزهای ۲/۹ ژول بر سانتی‌متر مربع و ۴/۳ ژول بر سانتی‌متر مربع به ترتیب $2/7 \pm 0/5$ و $2/1 \pm 0/8$ بود و در گروه شاهد دیابتی برابر $1/3 \pm 0/9$ بود و میزان p value به ترتیب برابر با $p=0.019$ و $p=0.230$ بود.

نتیجه‌گیری: تابش لیزر کم توان هلیوم- نئون بر تاندون آشیل قطع شده به روش جراحی در موش‌های صحرایی تجربی سالم و دیابتی شده به وسیله استرپتوزوتوسین با دوز ۲/۹ ژول بر سانتی‌متر مربع باعث افزایش معنی‌دار استحکام و استرس حداکثر بافت ترمیمی شد که به وسیله آزمایش بیومکانیکی کشش مشخص شد.

کلیدواژه‌ها: لیزر کم توان درمانی، تاندون آشیل، دیابت نوع یک، فرآیند التیام تاندون، تنسیومتری

✉ آدرس مکاتبه: تهران، ولنجک، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی،

صندوق پستی ۱۹۸۵۷۱۷۴۴۳

Email: bayat_m@yahoo.com

مقدمه

دیابت یکی از بیماری‌های نسبتاً شایع در جهان است که مشکلات عدیده ای را بر سر راه سلامت جامعه ایجاد کرده است و اگرچه تحقیقات زیادی در خصوص تظاهرات بالینی، درمان و پاتوفیزیولوژی بیماری انجام شده است اما همچنان دیابت یک مشکل عمده است که میزان شیوع آن در حال افزایش است [۱ و ۲]. اصطلاحات دیابت نوع یک و دیابت نوع دو برای دسته‌بندی بیماری دیابت بکار می‌رود.

دیابت نوع یک؛ یکی از دو نوع عمده دیابت است که به‌وسیله شروع ناگهانی علائم مشخص می‌شود. انسولین بدن کاهش می‌یابد و شخص برای ادامه حیات به انسولین با منشا خارج بدن وابسته می‌شود. سن شروع آن به‌طور متوسط ۱۲ سالگی است، اگر چه می‌تواند در هر سنی شروع شود. این بیماری ناشی از فقدان ترشح انسولین به‌وسیله سلول‌های بتای پانکراس است که علت آن ممکن است عفونت ویروسی، واکنش‌های اتو ایمنی و احتمالاً فاکتورهای ژنتیکی باشد. آنتی‌بادی‌های سلول‌های جزایر لانگرهانس اغلب در زمان تشخیص بیماری وجود دارند. وقتی بیماری به خوبی کنترل نشود، فقدان انسولین باعث هیپرگلیسمیا، ادرار اسمزی (diuresis osmotic)، هیپراسمولاریتی، از دست رفتن آب و کتواسیدوسیس دیابتی می‌شود. دیابت نوع یک با آنژیوپاتی عروق خونی به‌ویژه عروق کوچک همراه است (microangiopathy) که شبکه چشم، کلیه و غشای پایه آرتریول‌های همه بدن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. افزایش مبتلایان به دیابت نوع یک در جهان به ویژه در کودکان زیر ۵ سال گزارش شده است.

دیابت نوع دو؛ یکی از دو نوع اصلی دیابت است که سن شروع آن به‌طور میانگین ۵۰ الی ۶۰ سالگی است. شروع آن تدریجی است که سیمپتوم‌های آن اختلال متابولیک یعنی قند در ادرار (glycosuria) و عواقب آن است و احتیاجی به انسولین با منشاء خارجی نیست و کنترل رژیم غذایی با یا بدون هیپو گلیسمیک دهانی اغلب مؤثر است. چاقی و فاکتورهای ژنتیک

اغلب وجود دارد، ترشح انسولین پایه در حد طبیعی یا حداقل حفظ می‌شود. اما آزاد شدن انسولین در واکنش به گلوکز به تأخیر می‌افتد یا کاهش می‌یابد. گیرنده‌های قند معیوب روی سلول‌های بتای پانکراس ممکن است در بیماری نقش داشته باشد. این عارضه اغلب با بیماری عروق خونی با قطرهای متفاوت به‌ویژه عروق بزرگ همراه است که این منجر به آترواسکلروز نابالغ با انفارکتوس میوکارد یا سندرم سکت می‌شود. به این نوع دیابت، دیابت بالغ، دیابت شیرین، دیابت شیرین بالغین، دیابت غیر وابسته به انسولین هم گفته می‌شود [۱].

تاندون‌ها عضلات را به استخوان متصل می‌کند و اجازه انتقال نیروی تولید شده به‌وسیله عضله به استخوان را می‌دهد و در نتیجه حرکت در مفصل ایجاد می‌شود. اختلالات تاندون در ورزش و محیط کار مشکلات زیادی را تولید می‌کند که حتی در صورت درمان مناسب، عوارض آن‌ها ماه‌ها طول می‌کشد [۳] و مشکلات مزمن به‌دلیل استفاده بیش از حد از تاندون‌ها بروز می‌کند و عامل بیش از ۳۰ درصد جراحات مرتبط به دوندگی است [۴]. بیولوژی سلولی تاندون‌ها هنوز کاملاً شناخته نشده است. درمان جراحی تاندون چالش بزرگ متخصصان پزشکی است [۵] و محققان در سال‌های اخیر اثر عوامل مختلف را روی تسریع التیام جراحی‌ها و اختلالات تاندونی (تاندونیت) در مدل‌های حیوانی و بیماران بررسی کردند [۱۴-۱۶].

برخی گزارش‌ها نشان دهنده اثر سوء دیابت بر تاندون از جمله پارگی تاندون [۱۵ و ۱۶] و بروز میزان بیشتری از سفتی مفصل شانه [۱۷] بوده است. اما به‌هرحال به‌منظور رفع دفورمیتی‌های ناشی از آثار دیابت بر دستگاه عصبی اسکلتی انجام جراحی‌های ترمیمی به‌منظور برطرف کردن claw hand و افزایش طول تاندون آشیل به‌منظور اصلاح بیومکانیکی پا (foot) دفورمیتی‌های ناشی از دیابت و بهبود زخم‌های پا و پیشگیری از ایجاد و عود آن‌ها پیشنهاد شده است که در بهبود عملکرد آن اعضا مؤثر بوده است [۱۸-۲۲]. اما افزایش طول

در هر دو تحقیق بالا دوز کمتر بر التیام زخم اثر مثبت داشت. در برخی از این پژوهش‌ها یک دوز لیزر تابش شد که همان یک دوز هم تأثیر مثبت داشته است:

دوز ۱ ژول بر سانتیمتر مربع [۴۰ و ۴۳] و دوز ۴ ژول بر سانتیمتر مربع [۴۶] و در دو تحقیق اخیر از این سری دوز ۵ ژول بر سانتیمتر مربع تأثیر مثبت بر التیام زخم دیابتی نشان داده است [۴۱ و ۴۲].

نکته آخر این‌که فقط در ۲ تحقیق از معیار ارزیابی بیو مکانیکی استفاده شده است [۴۰ و ۴۳].

در جمع بندی می‌توان اعلام کرد کار حاضر مزایای مثبت تحقیقات فوق را استفاده کرده است:

۱- حضور گروه‌های سالم در کنار گروه‌های دیابتی که امکان نتیجه‌گیری و جمع‌بندی کاملتر را فراهم کرد.

۲- استفاده از دو دوز تابش لیزر که امکان ارایه احتمال وابسته به دوز بودن واکنش بافت ترمیمی تاندون را مطرح کرد.

۳- استفاده از روش ارزیابی بیو مکانیکی که در عین دقت بالا احتمال سو نگری توسط محققان را از بین می‌برد چرا که دستگاه آزمایش را انجام و نتیجه را گزارش می‌کند.

اما مهمترین مشکلی که محققان کار حاضر با آن مواجه بودند قطر کم بیم (beam) موج دستگاه لیزر بود که محققان با استفاده از روش sequential که شرح کامل آن در مواد و روش‌ها خواهد آمد توانستند برای آن راه حلی بیابند.

با آگاهی از مشکلاتی که در پی جراحی روی تاندون‌های آشیل سالم هم مشاهده می‌شود [۴۸] و به دنبال جمع‌بندی تحقیقات فوق، هدف تحقیق حاضر بررسی اثر تابش لیزر کم توان هلیوم نئون روی التیام تاندون آشیل موش‌های صحرایی سالم و دیابتی شده به وسیله استرپتوزوتوسین است که به روش جراحی به‌طور عرضی کاملاً قطع شده است. نتایج تحقیق حاضر ممکن است در نهایت منجر به تدوین پروتکل‌های درمانی برای تسریع التیام تاندون‌های جراحی دیده بیماران دیابتی شود که می‌تواند موجب کاهش درد در بیماران و کاهش هزینه‌های درمانی شود.

تاندون آشیل در همه موارد کارساز نبوده است [۲۳]؛ از طرفی نتایج تحقیقات نشان داده است که در پی جراحی روی تاندون‌های مفصل شانه بیماران دیابتی در ۱۷ درصد بیماران عوارضی مشاهده شده و محققان نتیجه گرفتند که جراحان باید بدانند که حین عمل روی تاندون‌های اطراف مفصل شانه بیماران دیابتی با عوارض بیشتری نسبت به بیماران سالم مواجه می‌شوند [۱۷]. همچنین بررسی اثر دیابت نوع یک روی یک مدل تجربی التهاب تاندون نشان داد که در این شرایط واکنش التهابی تاندون نسبت به حالت طبیعی تغییر می‌کند و نورگزایی تاندون با تاخیر مواجه می‌شود [۲۴].

لیزرهای کم توان از دستگاه‌های مورد استفاده در طب فیزیکی است و تحقیقات اولیه به‌وسیله پروفیسور مستر (Mester) و همکاران نشان‌دهنده تسریع فرآیند التیام زخم در نتیجه کاربرد آن‌ها روی زخم پوستی بود [۲۷-۲۵]. این نتایج موجب شد تا دانشمندان به درک لیزر و تکامل آن علاقه بیشتری نشان دهند [۲۸]. کاربرد لیزرهای کم توان برای درمان التیام زخم پوستی، ترمیم استخوان و لیگامان به رسمیت شناخته شده و اهمیت پیدا کرده است [۳۸-۳۴]. از طرفی نتایج سایر تحقیقات انجام شده به‌وسیله نویسندگان مقاله حاضر و سایر محققان اثر مثبت تابش لیزرهای کم توان را روی التیام جراحی تجربی ایجاد شده در مدل‌های حیوانی نشان داده است [۱۱-۹ و ۳۸-۳۵].

تاندون هم نظیر هر بافت دیگر به پارگی و جراحی واکنش نشان می‌دهد. بین دوانت‌های قطع شده آن از لخته خون پر می‌شود و مهاجرت سلولی رخ می‌دهد و بافت اسکار تشکیل می‌شود [۳۹]. بنابراین با توجه به این مطلب که در منابع علمی درباره اثر لیزر کم توان بر التیام تاندون دیابتی تحقیق نشده است، به پژوهش‌هایی که به تأثیر لیزر کم توان بر التیام زخم باز پوستی دیابتی بوده‌اند می‌پردازیم [۳۶ و ۴۱-۴۷]. در اکثر این تحقیقات گروه‌های شاهد سالم وجود نداشت و فقط در دو تحقیق گروه‌های موش سالم مشاهده شد [۴۶ و ۴۴]. در اکثر این تحقیقات فقط ۱ دوز لیزر به کار رفت و صرفاً در ۲ تحقیق [۴۵ و ۴۵] از چند دوز لیزر استفاده شد که

مواد و روش‌ها

حیوان مورد بررسی

۴۲ سر موش‌های صحرایی (Rat) نر بالغ نژاد Wistar با وزن بالای ۲۵۰ گرم از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. موش‌ها به صورت تصادفی به دو گروه سالم و دیابتی تقسیم شدند. گروه سالم دارای ۱۸ سر موش صحرایی بود که به سه زیر گروه مساوی شامل دو گروه تجربی برای دو دوز مختلف برای تابش لیزر و یک گروه شاهد تقسیم شدند. گروه دیابتی هم دارای ۱۵ سر موش صحرایی بود که به سه زیر گروه مساوی شامل دو گروه تجربی برای دو دوز مختلف برای تابش لیزر و یک گروه شاهد تقسیم شدند. وزن و قند خون موش‌های گروه سالم و دیابتی در زمان جراحی و موعد نمونه برداری ثبت شد.

نحوه القای دیابت

خون ناشتا از طریق ایجاد زخم کوچکی در انتهای دم از موش‌های گروه دیابتی گرفته و قند خون آن‌ها به وسیله دستگاه پرتابل اندازه گیری قند (Biomine, Rightesttm GM300) (Biomine Corporation, Switzerland) ثبت شد.

استرپتوزوتوسین (streptozotocin, STZ) با نام تجاری Zanosar محصول شرکت (Enzo life Sciences, USA) در آب مقطر استریل حل و به صورت تازه و به نسبت وزن هر موش (۵۵ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی به موش‌های گروه دیابتی تزریق شد. بعد از گذشت یک هفته، مجدداً از دم آن‌ها خون گرفته شد و قند خون آن‌ها ثبت و در صورتی که بالای ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود، دیابتی محسوب شدند. سپس از زمان تزریق به مدت یک ماه تأمل شد تا شرایط هیپرگلیسمی در آن‌ها تثبیت شود. در زمان جراحی و زمان نمونه برداری مجدداً وزن و قند خون آن‌ها ثبت شد در صورتی که قند خون آن‌ها کمتر از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود، موش‌ها از برنامه تحقیق حذف شدند [۴۹].

جراحی

سی روز بعد از تزریق موفقیت آمیز استرپتوزوتوسین در گروه دیابتی و بعد از گذشت زمان مشابه در موش‌های سالم، آن‌ها به وسیله تزریق داخل عضلانی کتامین هیدروکلراید به میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم دیازپام به میزان ۵ میلیگرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. تحت شرایط استریل به وسیله اسکالپل برش طولی کوچکی به پوست روی تاندون آشیل اندام حرکتی عقبی سمت راست داده شد و تاندون آشیل در معرض دید قرار گرفت و از عضلات و عناصر اطراف جدا شد. تاندون آشیل ۵ میلی متر بالای استخوان کالکانتوس به طور عرضی کاملاً قطع شد و تاندون پلانتاریس هم قطع شد سپس دو انتهای قطع شده به روش اصلاح شده کسلر با نخ بخیه نایلون ۰۴ سر به سر شد. پوست با نخ بخیه نایلون ۰۳ دوخته شد. روز جراحی روز صفر محسوب شد.

برنامه تابش لیزر

از لیزر هلیوم نئون (HE-NE laser, THORLAB, USA) با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر و از نوع پیوسته استفاده شد که قدرت خروجی آن به میزان ۷/۲ مگاوات، قطر پرتو لیزر خروجی مدور آن ۸۵/۰ است. دستگاه لیزر به دیوار ثابت بود. پروب لیزر به فاصله کمی بالای موش قرار داشت. موش‌ها بیهوش شده و به صورت prone روی تخت کوچک جراحی به وسیله بستن ۴ اندام حرکتی به ۴ گیره واقع در ۴ گوشه تخت بی حرکت شدند. تخت جراحی روی میز صاف و بزرگی مستقر بود و به راحتی و با دقت میلی متر در صفحات x, y روی آن قابل حرکت دادن بود.

نحوه تابش لیزر در موش‌های سالم و دیابتی از این قرار بود که با خط کش از مرکز نقص خطی در امتداد محور میانی و طویل تاندون به طول حدود ۱۰ میلی متر رسم شد به طوری که مرکز آن در محل نقص بود. هم‌چنین در طرفین محل مرکز نقص، به فاصله ۲ میلی متر از طرفین آن ۲ خط به موازات محور

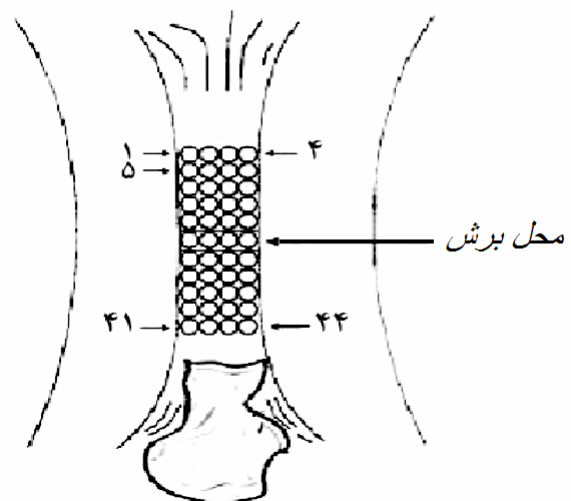
در حین تابش لیزر، موش‌ها با تزریق ۱/۲ الی ۳/۱ مقدار داروی بیهوشی زمان جراحی آرام شدند. برای گروه‌های شاهد شرایط موش‌های گروه‌های تجربی برقرار شد و تنها تفاوت آن‌ها این بود که موش‌های گروه شاهد لیزر را به صورت خاموش دریافت کردند.

آزمایش بیو مکانیکی

ده روز بعد از ایجاد زخم موش‌ها به وسیله استنشاق کلروفرم درون فضای بسته کشته شدند و تاندون آشیل سمت جراحی برداشته شد؛ به این صورت که نمونه تهیه شده شامل استخوان پاشنه، تاندون آشیل و قسمتی از بافت عضلانی متصل به تاندون بود و درون گاز آغشته به محلول نمکی ۰/۹ درصد گذاشته شد و به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. نمونه در موعد مقرر به آزمایشگاه تنسیومتری منتقل شد و تأمل شد تا ذوب شود سپس دو انت‌های نمونه به دو گیره ثابت و متحرک دستگاه سنجش استحکام مواد المانی Zwick محکم شد و گیره متحرک دستگاه با سرعت ۱ میلی متر بر ثانیه از گیره ثابت دور شد و نیروی حداکثر (maximum load) (N)، استرس حداکثر (نیوتن بر میلی متر مربع)، کار انجام شده (energy absorption Nmm) و سفتی ارتجاعی (tendon stiffness) (MPa/mm²) نمونه به وسیله دستگاه ثبت شد. سطح مقطع نمونه در زمان نمونه‌برداری به این ترتیب ثبت شد که به وسیله کولیس دیجیتال دو قطر عرضی راست به چپ و قدامی خلفی تاندون در محل بافت ترمیمی ثبت و به عنوان شاخصی برای سطح مقطع بافت ترمیمی به کار رفت. با تقسیم نمودن نیروی حداکثر به سطح مقطع نمونه، استرس حداکثر (maximum stress) (نیوتن بر میلی متر مربع)، به دست آمد. شاخص سطح مقطع نمونه ترمیمی به کامپیوتر متصل به دستگاه داده شد. با شروع حرکت دستگاه و دور شدن گیره متحرک از گیره ثابت کامپیوتر منحنی بار تغییر شکل (load-deformation) را ترسیم کرده و سرانجام در نقطه نیروی حداکثر بافت یعنی نقطه‌ای که

طول تاندون رسم شد به طوری که فاصله این دو خط از یکدیگر ۴ میلی متر بود (شکل ۱). سپس چهار خط مربوط (دو خط در بالا و پایین محل قطع تاندون و دو خط در طرفین محل قطع تاندون) به هم متصل شد که یک مستطیل به ابعاد ۴×۱۱ میلی متر را ایجاد کرد که محتوی ۴۴ مربع ۱×۱ میلی متر بود. سپس در این مستطیل، ۴۴ نقطه به شرح زیر تحت تابش لیزر قرار گرفت:

از یک نقطه واقع در گوشه مستطیل تابش لیزر شروع و تابش به صورتی پیش رفت که سعی می‌شد هر نقطه با نقطه مجاور خود لبه به لبه و اندکی هم‌پوشانی داشته باشد به طوری که قسمت اعظم مساحت مستطیل تحت تابش لیزر کم توان هلیوم - نئون قرار گرفت (شکل ۱) [۵۰]. در این روش هر نقطه به مدت‌های ۲ یا ۳ یا ۸ ثانیه به صورت ۶ بار در هفته به مدت ۱۰ روز مورد تابش قرار گرفت. دانسیته انرژی آن برای موش‌های سالم به ترتیب ۲/۹ ژول بر سانتی متر مربع و ۱۱/۵ سانتی متر مربع و مدت زمان تابش برای این دوزها به ترتیب برابر ۲ و ۸ ثانیه و برای موش‌های دیابتی ۲/۹ ژول بر سانتی متر مربع و ۳/۳ ژول بر سانتی متر مربع و مدت زمان تابش برای این دوزها به ترتیب برابر ۲ و ۳ ثانیه بود.



شکل ۱. تصویر شماتیک تاندون آشیل جراحی شده و نقاط تحت تابش لیزر. تابش از نقطه ۱ شروع شد و در نقطه‌های ۴ و ۵ ادامه یافت و در نقطه ۴۴ تمام شد.

اختلاف آن‌ها با روش Paired student t test از نظر آماری معنی‌دار بود ($p=0.001$) و قند زمان نمونه‌برداری $۶۶/۶ \pm ۷/۶۰$ بود که اختلاف آن با قند ابتدای تحقیق با استفاده از روش Paired student t test از نظر آماری معنی‌دار بود ($p=0.001$).

وزن موش‌ها نیز در بدو تحقیق $۷/۱۳ \pm ۷/۳۲۲$ و وزن آن‌ها یک هفته بعد از القای دیابت $۲۹۶/۲۱ \pm ۰/۱$ بود و مقایسه آن‌ها با روش Paired student t test از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p=0.002$) و وزن زمان نمونه‌برداری $۲۲۵/۲۰ \pm ۵/۱$ بود که مقایسه آن با وزن بدو تحقیق با روش Paired student t test از نظر آماری معنی‌داری را نشان داد ($p=0.000$).

نتایج آزمایش تنسیومتری

گروه یک: گروه سالم شاهد و تجربی با دوز $۲/۹$ ژول بر سانتی‌متر مربع معیارهای بیومکانیکی استرس حداکثر و نیروی حداکثر و سفتی نمونه بین گروه سالم شاهد و تجربی معنی‌دار شد (جدول ۱). معیار بیومکانیکی کار انجام شده معنی‌دار نشد.

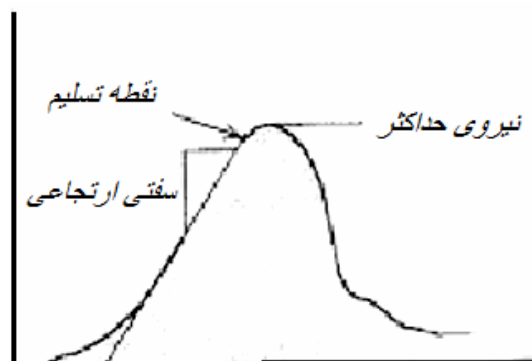
جدول ۱. میانگین و انحراف معیار معیارهای بیومکانیکی گروه یک و مقایسه آن‌ها به روش Independent Sample student t test

گروه (تعداد نمونه: ۶)	سفتی نمونه MPa/mm ²	کار انجام شده Nmm	نیروی حداکثر N	استرس حداکثر N/mm ²
شاهد	$۱۴/۴ \pm ۱۰/۹$	$۷۲/۱ \pm ۶۵/۱$	$۱۳/۶ \pm ۹/۰۱$	$۲/۴ \pm ۱/۶$
تجربی	$۲۸/۷ \pm ۱۰/۳$	$۱/۰۳ \pm ۳۵/۱$	$۲۳/۶ \pm ۴/۱$	$۴/۷ \pm ۱/۱$
سطح معنی‌داری (p)	۰/۰۴۲	۰/۳۲۳	۰/۰۳۳	۰/۰۱۸

معیارهای بیومکانیکی استرس حداکثر و نیروی حداکثر و سفتی ارتجاعی نمونه بین گروه سالم شاهد و تجربی با تابش لیزر با دوز $۲/۹$ J/cm² ثانیه معنی‌دار شد. معیار بیومکانیکی کار انجام شده معنی‌دار نشد.

گروه دو: گروه سالم شاهد و تجربی با دوز $۱۱/۵$ ژول بر سانتی‌متر مربع

حداکثر تحمل اعمال شده به آن را بدون پارگی ماکروسکوپی تحمل می‌کند شیب رو به بالای منحنی رو به پایین شده و قله منحنی نیروی حداکثر قلمداد شد. کار انجام شده عبارت از کل سطح زیر منحنی و شیب رو به بالای منحنی نشانگر میزان سفتی ارتجاعی بافت ترمیمی تاندون است [۳۷ و ۴۰] (شکل ۲).



شکل ۲. منحنی بار تغییر شکل و محل پارامترهای بیومکانیکی نیروی حداکثر و سفتی ارتجاعی تاندون و کار انجام شده

آنالیز آماری

توزیع طبیعی داده‌ها به روش one-sample kolmogorov-smirnov test آزمون شد. سپس داده‌های مربوط به وزن و قند خون موش‌های دیابتی به روش Paired student t test در ابتدای تحقیق و زمان جراحی با یکدیگر مقایسه شد. داده‌های آزمایش بیومکانیکی گروه‌های شاهد و تجربی به روش Independent Sample t test با یکدیگر مقایسه شد. $p < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار محسوب شد. داده‌ها به صورت Mean \pm SD ارائه شد.

یافته‌ها

در تمامی موش‌های گروه تجربی با تزریق اول استرپتوزوتوسین دیابت القا شد ولی ۹ سر از موش‌ها طی دوره تحقیق زنده نماندند که با موش‌های جدید جایگزین شدند. قند خون موش‌ها در بدو تحقیق $۱۷/۲ \pm ۹۹/۴$ و قند آن‌ها یک هفته بعد از القای دیابت $۳۵/۹ \pm ۳۰/۱$ بود و

فقط نیروی حداکثر بین گروه دیابتی شاهد و تجربی معنی دار شد (جدول ۴). استرس حداکثر و سفتی نمونه و کار انجام شده معنی دار نشد. شاید با دوز ۱۱/۵ نتایج به گونه بهتری بدست آید.

جدول ۴. میانگین و انحراف معیار معیارهای بیومکانیکی گروه چهار و مقایسه آن‌ها به روش Independent Sample student t test

معیارهای بیومکانیکی گروه	سفتی نمونه MPa/mm ²	کار انجام شده Nmm	نیروی حداکثر N	استرس حداکثر N/mm ²
شاهد	۶۷±۳/۲	۴۶۵±۴۰/۳	۹/۴±۶/۶	۱/۳±۰/۹
تجربی	۹/۹±۵/۳	۸۳۷±۴۲/۳	۱۹/۴±۲/۹	۲/۱±۰/۸
سطح معنی داری (p)	۰/۲۹۰	۰/۱۹۳	۰/۰۱۵	۰/۲۳۰

فقط نیروی حداکثر بین گروه دیابتی شاهد و تجربی با دوز ۴/۳ J/cm² معنی دار شد. استرس حداکثر و سفتی نمونه و کار انجام شده معنی دار نشد. (تعداد نمونه=۵)

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تابش لیزر کم توان هلیوم-نئون با دوز ۲/۹ ژول بر سانتی متر مربع بافت تاندون در حال ترمیم ده روزه موجب افزایش استحکام بافت ترمیمی موش‌های سالم و دیابتی در مقایسه با گروه شاهد می‌شود که این مطلب از طریق افزایش معنی‌دار ویژگی‌های بیومکانیکی بافت در حال ترمیم لیزر خورده در مقایسه با ویژگی‌های بیومکانیکی بافت در حال ترمیم شاهد که لیزر دریافت نکرده بودند و به‌طور خود به خود روند التیام را طی کردند نشان داده شد.

در تحقیق حاضر به تاندون در حال ترمیم موش‌های سالم دو دوز لیزر ۲/۹ ژول بر سانتی متر مربع و ۱۱/۵ ژول بر سانتی متر مربع تابانده شد. با توجه به نتایج تجزیه و تحلیل آماری هیچ یک از پارامترهای بیومکانیکی مورد بررسی بافت ترمیمی به دنبال تابش لیزر با دوز ۱۱/۵ ژول بر سانتی متر مربع افزایش معنی‌دار آماری پیدا نکرد ولی بررسی نتایج تجزیه و تحلیل آماری دوز لیزر ۲/۹ ژول بر سانتی متر مربع

هیچ یک از معیارهای بیومکانیکی استرس حداکثر و نیروی حداکثر و سفتی نمونه و کار انجام شده معنی‌دار نشد (جدول ۲). شاید با دوز ۴/۳ نتایج به گونه بهتری بدست آید.

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار معیارهای بیومکانیکی گروه دو و مقایسه آن‌ها به روش Independent Sample student t test

گروه (تعداد نمونه: ۶)	سفتی نمونه MPa/mm ²	کار انجام شده Nmm	نیروی حداکثر N	استرس حداکثر N/mm ²
شاهد	۱۴/۴±۱۰/۹	۷۲/۱±۶۵/۱	۱۳/۶±۹/۰۱	۲/۴±۱/۶
تجربی	۳۷/۰±۳۷/۲	۱۰۹±۶۴/۹	۲۱/۵±۸/۲	۶/۱±۵/۲
سطح معنی داری (p)	۰/۱۸۶	۰/۳۴۰	۰/۱۴۵	۰/۱۳۷

هیچ یک از معیارهای بیومکانیکی استرس حداکثر و نیروی حداکثر و سفتی ارتجاعی نمونه و کار انجام شده با تابش لیزر با دوز ۵/۱۱ J/cm² معنی دار نشد.

گروه سه: گروه دیابتی شاهد و تجربی با دوز ۲/۹ ژول بر

سانتی متر مربع

معیارهای بیومکانیکی استرس حداکثر و نیروی حداکثر و کار انجام شده بین گروه دیابتی شاهد و تجربی معنی‌دار شد (جدول ۳). معیار بیومکانیکی سفتی نمونه معنی‌دار نشد.

جدول ۳. میانگین و انحراف معیار معیارهای بیومکانیکی گروه سه و مقایسه آن‌ها به روش Independent Sample student t test

گروه (تعداد نمونه: ۵)	سفتی نمونه MPa/mm ²	کار انجام شده Nmm	نیروی حداکثر N	استرس حداکثر N/mm ²
شاهد	۶۷±۳/۲	۴۶۵±۳۷/۰	۹/۴±۶/۶	۱/۳±۰/۹
تجربی	۷/۹±۱/۵	۱/۴±۴۰/۱	۲۵/۰±۴/۹	۲/۷±۰/۵
سطح معنی داری (p)	۰/۴۷۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۱۹

معیارهای بیومکانیکی استرس حداکثر و نیروی حداکثر و کار انجام شده بین گروه دیابتی شاهد و تجربی با تابش لیزر با دوز ۲/۹ J/cm² معنی‌دار شد. معیار بیومکانیکی سفتی ارتجاعی نمونه معنی‌دار نشد.

گروه چهار: گروه دیابتی شاهد و تجربی با دوز ۴/۳ ژول

بر سانتی متر مربع

نشان داد که تابش لیزر با این دوز به تاندون‌های در حال ترمیم موجب بروز افزایش معنی‌دار آماری سه مورد از چهار پارامتر بیومکانیکی مورد بررسی یعنی سفتی ارتجاعی، نیروی حداکثر و استرس حداکثر در مقایسه با گروه شاهد می‌شود. از آنجا که کار انجام شده سطح زیر منحنی بار تغییر شکل تا نقطه پارگی ماکروسکوپی نمونه است [۳۶] به نظر نمی‌رسد که این پارامتر اهمیت چندانی از نقطه نظر بالینی داشته باشد و در سایر تحقیقات هم معیار اصلی ارزیابی نیست. سفتی ارتجاعی که نشان‌دهنده افزایش قابلیت ارتجاعی بافت است و نیروی حداکثر و استرس حداکثر که استحکام بافت را در مرحله بدون پارگی ماکروسکوپی نشان می‌دهد از اهمیت بالینی بیشتری برخوردار است [۶ و ۴۰ و ۵۱]. لازم به ذکر است که پارامتر استرس حداکثر از دقت بیشتری برخوردار است زیرا که در آن سطح مقطع نمونه تاندون هر موش در محاسبه نیروی اعمال شده بر بافت منظور می‌شود. [۵۲ و ۵۳] افزایش معنی‌دار پارامترهای بیومکانیکی آزمایش کشش و تنسیومتری گروه تجربی که آن هم در روز ده بعد از ایجاد قطع تاندون انجام شد، می‌تواند نشانه آن باشد که تابش لیزر باعث تشدید روند افزایش سنتز رشته‌های بافت کلاژن در محل بافت ترمیمی در روز ده بعد از ایجاد جراحت شده باشد [۵۴-۵۷] که این روند در مدل فرآیند التیام تاندون آشیل موش صحرایی با فاز تکثیر این فرآیند مطابقت دارد [۱۲]. تشدید روند افزایش سنتز رشته‌های کلاژن به‌وسیله فیروبلاست تحت تأثیر تابش لیزر باعث تولید رشته‌های بیشتر و احتمالاً ایجاد اتصالات عرضی بیشتر شده و در نتیجه تاندون در حال ترمیم استحکام بیشتری پیدا کرده است [۵۴-۵۷] و در نتیجه در پارامترهای بیومکانیکی سفتی ارتجاعی، نیروی حداکثر و استرس حداکثر نمونه‌های تجربی افزایش معنی‌دار آماری در مقایسه با نمونه‌های شاهد مشاهده شد.

تحقیقاتی درباره تابش لیزر هلیوم - نئون با دوز ۱ ژول بر سانتی‌متر مربع روی تاندون آشیل در حال ترمیم که اغلب

به‌وسیله پروفوسور انومکا (Enwemeka) و همکاران او انجام شده است [۵۴-۵۷] و یک مورد دیگر هم که اخیراً توسط الوکیل (Elwakil) گزارش شده است [۳۸] همه در مدل حیوانی خرگوش بوده است. اما در تحقیقاتی که تأثیر لیزر بر التیام تاندون در مدل‌های موش صحرایی (rat) و موش کوچک (mouse) بوده است علاوه بر اینکه لیزرهای با طول موج‌های بالاتر از طول موج هلیوم نئون به‌کار رفته است از دوزهای بالاتر لیزر کم‌توان هم استفاده شده است [۶ و ۹ و ۱۰ و ۵۸]. در این خصوص می‌توان به تحقیقات فیلیپین (Fillipin) و همکاران اشاره نمود که از طول موج ۹۰۴ نانومتر و دوز ۵ ژول بر سانتی‌متر مربع لیزر کم‌توان در موش صحرایی (rat) استفاده کردند [۱۰]. در تحقیقات کارینهو (Carrinho) و همکاران از طول موج‌های ۶۸۵ و ۸۳۰ نانومتر و دوزهای ۳ ژول بر سانتی‌متر مربع و ۱۰ ژول بر سانتی‌متر مربع لیزر در موش کوچک استفاده شد [۹]. در تحقیقات فانگ و ان جی Ng و Fung از طول موج ۶۶۰ نانومتر و از دوزهای ۱ ژول بر سانتی‌متر مربع و ۴ ژول بر سانتی‌متر مربع در موش صحرایی استفاده شد [۶] و بالاخره در تحقیقات اولیویرا (Oliveira) و همکاران در موش از طول موج ۸۳۰ نانومتر و دوز ۴ ژول بر سانتی‌متر مربع استفاده شد [۵۸].

به هر حال به نظر می‌رسد که بروز واکنش مثبت و تحریکی بافت تاندون در حال ترمیم موش‌های کوچک [۶ و ۹ و ۱۰ و ۵۸] و بزرگ در مقایسه با خرگوش [۳۸ و ۴۶-۴۹] به دوز بالاتری از لیزرهای کم‌توان نیاز دارد.

اما فرق دیگری که بین تحقیق حاضر و تحقیقات گروه Enwemeka [۳۶] و Elwakil [۳۸] وجود دارد این است که در بررسی‌های آن‌ها اندام حرکتی متعلق به تاندون آشیل قطع شده در چند روز اول بعد از عمل جراحی بی‌حرکت شده بود، در حالی که در تحقیق حاضر تاندون آشیل قطع شده بعد از جراحی بی‌حرکت نشده و آزاد بود.

رایج‌ترین شیوه برخورد پزشکان برای درمان پارگی‌ها و

حلالیت کلاژن شامل کلاژن قابل حل در نمک خنثی، کلاژن قابل حل در اسید، کلاژن قابل حل در پیسین و کلاژن غیر قابل حل بررسی شد [۳۶]. همچنین مقدار اتصالات عرضی (cross links) که اتصالات عرضی hydroxy pyridinum هم گفته می‌شود، اندازه‌گیری شد. نتایج آزمایش‌های بیوشیمیایی تاندون‌ها نشان داد که در تاندون‌های لیزر خورده غلظت کلاژن ۲۶ درصد افزایش می‌یابد و کلاژن قابل حل درون نمک خنثی و قابل حل درون اسید ۳۲ و ۳۳ درصد افزایش یافت. کاهش معنی‌داری (۹ درصد) در کلاژن قابل حل در پیسین مشاهده شد. اما تفاوت معنی‌داری در غلظت اتصالات عرضی هیدروکسی پیریدینوم بین تاندون‌های لیزر خورده و شاهد مشاهده نشد. محققان در توجیه این نتایج اعلام کردند که مولکول‌های کلاژن تازه سنتز شده در ابتدا اتصالات عرضی نابالغ دارند که به تدریج بالغ می‌شوند. بنابراین جای تعجب ندارد که اختلاف معنی‌دار آماری در خصوص اتصالات عرضی بین نمونه‌های لیزر خورده و شاهد در روز ۱۴ مشاهده نشود [۳۶].

کارینهو (Carrinho) و همکاران راجع به تاثیر لیزرهای با دو طول موج ۶۸۵ نانومتر و ۸۳۰ نانومتر با دوزهای (fluences) مختلف تحقیقی روی فرآیند التیام تاندون آشیل موش‌های کوچک (mice) بعد از تنوتومی انجام دادند [۹]. آن‌ها ۴۸ موش را در شش گروه تجربی توزیع کردند. در گروه A موش‌های تنوتومی شده با لیزر با طول موج ۶۸۵ نانومتر و دوز ۳ ژول بر سانتی‌متر مربع تیمار شدند. در گروه B موش‌های تنوتومی شده با لیزر با طول موج ۶۸۵ نانومتر و دوز ۱۰ ژول بر سانتی‌متر مربع تیمار شدند. در گروه C موش‌های تنوتومی شده با لیزر با طول موج ۸۳۰ نانومتر و دوز ۳ ژول بر سانتی‌متر مربع تیمار شدند. در گروه D موش‌های تنوتومی شده با لیزر با طول موج ۸۳۰ نانومتر و دوز ۱۰ ژول بر سانتی‌متر مربع تیمار شدند. در گروه E موش‌ها تنوتومی شدند و بالاخره موش‌های گروه F شاهد بدون تنوتومی بودند.

زخم‌های تاندون عمل جراحی است. ترمیم تاندون به‌کندی صورت می‌گیرد و بافت ترمیمی به‌دست آمده کیفیت پایینی دارد و عضو مبتلا اغلب دامنه حرکتی کامل را کسب نمی‌کند. در مراحل اولیه ترمیم، بافت عملکردی ضعیفی تشکیل می‌شود که نمی‌تواند نیروهای کششی را که به تاندون وارد می‌شود تحمل کند و بنابراین امکان کسب دامنه حرکتی اولیه وجود ندارد. هر چند بی‌حرکتی انگشتان التیام سریعتری را فراهم می‌کند اما قطعاً نتیجه آن تشکیل چسبندگی بین تاندون و غلاف آن است. این کار منجر به اصطکاک و کاهش سر خوردن (gliding) می‌شود. بار گذاری روی تاندون طی روند التیام به‌منظور جلوگیری از چسبندگی حیاتی است اما احتمال پارگی تاندون را دارد. درک بیولوژی و ارگانیزاسیون تاندون اولیه عضله (native) و فرایند شکلزایی آن برای توسعه و پیشرفت ابزارهای درمانی تاندون ضروری است. نمایش ژن‌هایی که طی شکلزایی تاندون بیان می‌شود و تعیین آن دسته از فاکتورهای رشدی که برای رشد و تکامل تاندون ضروری است، احتمالاً منجر به انتخاب شیوه‌های درمانی خواهد شد که کاربرد آن‌ها باعث تشکیل بافت ترمیمی با کیفیت بالا و بهبود نتایج عملکردی (Functional) تاندون و عضو خواهد شد [۵۹]. از طرفی نتایج تحقیق برینگ (Bring) نشان داد بی‌حرکتی عضو که بعد از پارگی تاندون اعمال می‌شود التیام تاندون را به تأخیر می‌اندازد [۶۰]. از این‌رو در تحقیق حاضر و سایر تحقیقات مشابه تاندون جراحی شده بعد از عمل جراحی آزاد گذاشته می‌شود و بی‌حرکت نمی‌شود [۶۱ و ۵۲ و ۵۳ و ۶۱]. در تحقیق Elwakill بین گروه‌های شاهد و تجربی در پارامترهای بیومکانیکی ultimate tensile strength بار در نقطه پارگی و انرژی جذب شده اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد در حالی که در مورد پارامتر افزایش طول در نقطه پارگی اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد [۳۸]. در تحقیق Enwemeka و همکاران پارامترهای بیوشیمیایی مانند مقدار هیدروکسی پرولین،

تایش لیزر با این دوز بر تاندون‌های در حال ترمیم برخلاف دوز ۲/۹ ژول بر سانتی‌متر مربع افزایش معنی‌دار آماری فقط در پارامتر بیومکانیکی نیروی حداکثر مشاهده شد. این نتیجه نشان می‌دهد که در شرایط دیابت هم نظیر شرایط سالم دوز بالاتر لیزر باعث افزایش معنی‌دار پارامترهای بیومکانیکی تاندون در حال ترمیم نمی‌شود. تحقیقات دیگری هم که در زمینه اثر لیزر کم‌توان بر بافت‌های دیابتی انجام شده‌است به نتایج کم و بیش مشابهی دست یافته‌اند. در این خصوص می‌توان به تحقیق جوادیه (Javadieh) و همکاران نویسنده این کاردر خصوص اثر لیزر کم‌توان فرسوخ بر التیام نقص ناقص استخوانی در موش دیابتی اشاره نمود که به دنبال تابش دو دوز ۲۳/۳ ژول بر سانتی‌متر مربع و ۱۱/۶ ژول بر سانتی‌متر مربع لیزر با طول موج ۸۹۰ نانومتر و ۷۰ وات و ۳۰۰۰ هرتز بر نقص‌های استخوانی و انجام آزمایش بیومکانیکی سه نقطه مشاهده شد که دوز ۱۱/۶ ژول بر سانتی‌متر مربع موجب افزایش معنی‌دار پارامترهای بیومکانیکی مورد مطالعه یعنی سفتی خم شدگی bending stiffness و نیروی حداکثر بافت استخوانی در حال ترمیم می‌شود [۶۲]. همچنین در یک رشته تحقیقات که گروه تحقیقاتی آبراهامز (Abrahamse) در محیط کشت در خصوص تأثیر لیزرهای کم‌توان از جمله لیزر هلیوم نئون بر یک مدل آزمایشگاهی سلول‌های فیبروبلاست انسانی دیابتی انجام دادند [۶۳-۶۵] به نتایج زیر دست یافتند: تابش لیزر هلیوم نئون با دوز ۵ ژول بر سانتی‌متر مربع اثر تحریکی برای مهاجرت سلول‌ها دارد و صدمه‌ای به سلول‌ها نمی‌زند درحالی‌که دوز ۱۶ ژول بر سانتی‌متر مربع اثر مهاری دارد و همچنین باعث صدمه ژنتیکی به سلول‌های WS1 (Wash Saline) درون محیط کشت می‌شود [۶۳]. تابش لیزر هلیوم نئون با دوز ۵ ژول بر سانتی‌متر مربع باعث افزایش سطح IL-6، تکثیر و مهاجرت سلول‌های دیابتی زخمی می‌شود درحالی‌که تابش ۱۶ ژول بر سانتی‌متر مربع باعث آسیب سلولی و کاهش تکثیر می‌شود و علامتی از مهاجرت

محققان بعد از تابش لیزر در روز ۱۳ تاندون‌ها را بعد از تنوتومی نمونه‌برداری و به‌وسیله میکروسکوپ پولاریزان تجزیه و تحلیل کمی کردند تا ارگانیزاسیون فیبرهای کلاژن را از طریق birefringence یا optic retardation بررسی کنند. آن‌ها بهترین ارگانیزاسیون و تجمع دسته‌های کلاژن را در گروه A یا موش‌هایی که لیزر با طول موج ۶۸۵ نانومتر و دوز ۳ ژول بر سانتی‌متر مربع دریافت کرده بودند، مشاهده کردند؛ هر چند که همه طول موج‌ها و دوزها در تسریع بخشی التیام تاندون موثر بود. آن‌ها با توجه به نتایج، یک وابستگی را در واکنش تاندون به طول موج گزارش کردند به طوری‌که با مقایسه کارایی دو طول موج بهترین واکنش به‌وسیله طول موج ۶۸۵ نانومتر مشاهده شد. آن‌ها همچنین مشاهده کردند که دوز کمتر لیزر (۳ ژول بر سانتی‌متر مربع) احتمالاً اثر برجسته‌تری بر التیام تاندون دارد که این دوز با دوز ۲/۹ ژول بر سانتی‌متر مربع که در تحقیق حاضر آثار معنی‌داری بر افزایش پارامترهای بیومکانیکی داشت مطابقت دارد. آن‌ها وجود یک منحنی وابسته به دوز را در واکنش بافت‌ها به تابش لیزر پیشنهاد کردند [۹]. به‌هرحال دوز ۱۱/۵ ژول بر سانتی‌متر مربع که در تحقیق حاضر به‌کار رفت باعث تغییرات معنی‌دار مثبت در روند ترمیم تاندون نشد.

در بخش حیوانات دیابتی تحقیق حاضر تابش لیزر با دوز ۲/۹ ژول بر سانتی‌متر مربع بر تاندون‌های در حال ترمیم موش‌های دیابتی باعث افزایش معنی‌دار پارامترهای بیومکانیکی در مقایسه با موش‌های دیابتی شاهد که لیزر دریافت نکرده بودند شد. اگر به میزان سطح معنی‌داری (p value) این آنالیزهای آماری توجه کنیم، می‌بینیم که سطح معنی‌داری در موش‌های دیابتی بالاتر از سطح معنی‌داری موارد مشابه در موش‌های سالم است که از نکات قابل توجه در بررسی حاضر است و نیازمند تحقیقات بیشتری در این زمینه است. در بخش حیوانات دیابتی دوز بالاتر لیزر یعنی دوز ۴/۳ ژول بر سانتی‌متر مربع هم به‌کار رفت که به دنبال

آزمایش‌های بافت‌شناسی و بیومکانیکی محققان دریافتند که تابش لیزر با دوز ۳۸۲/۲ ژول بر سانتی‌متر مربع موجب افزایش شبکه تیغه‌های استخوانی استخوان متراکم و همچنین افزایش قدرت آن می‌شود [۴۹].

تابش لیزر کم‌توان هلیوم-نئون بر تاندون آشیل قطع شده به روش جراحی در موش‌های صحرایی تجربی سالم و دیابتی شده به وسیله استرپتوزوتوسین با دوز ۲/۹ ژول بر سانتی‌متر مربع باعث افزایش معنی‌دار استحکام و استرس حداکثر بافت ترمیمی شد که این نتیجه به وسیله آزمایش بیومکانیکی کشش مشخص شد. میزان اختلاف سطح معنی‌داری بین موش‌های دیابتی گروه‌های شاهد و تجربی از میزان اختلاف سطح معنی‌داری بین نمونه‌های گروه‌های شاهد و تجربی سالم بیشتر بود. اما تابش دوز ۱۱/۵ ژول بر سانتی‌متر مربع بر نمونه‌های سالم و دوز ۴/۳ ژول بر سانتی‌متر مربع بر نمونه‌های دیابتی باعث افزایش معنی‌دار همه پارامترهای بیومکانیکی نشد. انجام تحقیقات سلولی مولکولی درباره تأثیر لیزر کم‌توان بر التیام تاندون و بررسی در حیوانات دیگر و در شرایط *in vitro* پیشنهاد می‌شود.

در آن‌ها دیده نمی‌شود [۶۴]. سلول‌های دیابتی زخمی شده طی یک الگوی وابسته به طول موج و دوز لیزر به نور لیزر واکنش نشان می‌دهند. سلول‌ها بهترین واکنش را در دوز ۵ ژول بر سانتی‌متر مربع لیزر هلیوم نئون نشان می‌دهند. تابش لیزر با دوز ۱۶ ژول بر سانتی‌متر مربع باعث انقباض زخم ناکامل، افزایش آپوپتوزیس و کاهش بیان bFGF می‌شود [۶۵].

اما در دیگر تحقیقاتی که توسط محققان حاضر انجام شد، نتایج متفاوتی به دست آمده است. میرزایی (Mirzaei) و همکاران موش‌ها را دیابتی کرده و بعد از سی روز از پوست آن‌ها فیبروبلاست استخراج کرده و تحت تابش با لیزر هلیوم نئون با دوزهای ۴-۹/۹ ژول بر سانتی‌متر مربع قرار دادند. محققان افزایش تعداد سلول‌ها در محیط کشت را که به وسیله روش MTT مشاهده شد، طی تابش با دوز ۴ ژول بر سانتی‌متر مربع لیزر هلیوم نئون مشاهده کردند [۶۶]. همچنین در تحقیقی که توسط بیات (Bayat) و همکاران انجام شد محققان موش‌ها را دیابتی کردند و بعد از یک ماه به استخوان تیبیای آن‌ها لیزر هلیوم نئون با دوزهای ۲۸/۶ ژول بر سانتی‌متر مربع و ۳۸۲/۲ ژول بر سانتی‌متر مربع تاباندند. بعد از انجام

References

1. **Dorland's illustrated medical dictionary.** 30th ed, Saundres, Philadelphia, 2003, pp 506-7.
2. **Perkins I.** Diabetes mellitus epidemiology-classification, determinants, and public health impacts. *J Miss State Med Assoc* 2004; 45: 355-62.
3. **Daniel RK, Breidenbach WC.** Tendon: Structure, Organization, and Healing. In *The Musculoskeletal System, Embryology, Biochemistry, and Physiology.* Cruess RL (editor) Churchill Livingstone. Newyork, 1982, pp 383-99.
4. **Byers PD.** Histological features of connective tissue. In *Diseases of Bones and Joints: Cell Biology, Mechanism and Pathology.* Salisbury JR, Woods CG, Byres PD (editor). Chapman and Hall Medical: London, 1994, pp. 476-508.
5. **Sharma P, Maffuli N.** Current concept review: Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. *The J of Bone Joint Surg Am* 2005;87:187-202.
6. **Ng GYF, Fung DTC.** The combined treatment effects of therapeutic laser and exercise on tendon repair. *Photomed Laser Surg* 2008;26:137-41.
7. **Chan HK, Fung DM, Ng GY.** Effects of low-voltage microamperage stimulation on tendon healing in rats. *J Orthop Sports Phys Ther* 2007;37:399-403.
8. **Virchenko O, Grengard M, Aspenberg P.** Independent and additive stimulation of tendon repair by thrombin and platelets. *Acta Orthop*

- 2006;77:960-6.
9. **Carrinho PM, Renno ACM, Koeke P, Salate ACB, Parizotto NA, Vidal BC.** Comparative study using 685-nm and 830-nm lasers in the tissue repair of tenotomized tendons in mouse. *Photomed Laser Surg* 2006;24:754-8.
 10. **Fillipin LI, Mauriz JL, Vedovelli K, Moreira AJ, Zettler CG, Lech O, et al.** Low-level laser therapy (LLLT) prevents oxidative stress and reduces fibrosis in rat traumatized Achilles tendon. *Lasers Surg Med* 2005;37:293-300.
 11. **Ozkan N, Altan L, Bingol V, Akin S, Yurtkuran M.** Investigation of the supplementary effect of Ga As laser therapy on the rehabilitation of human digital flexor tendons. *J Clin Laser Med Surg* 2004; 22:105-10.
 12. **Yuan J, Murrel GAC, Wei A-Q, Appleyard RC, Del Soldato P, Wang M-X.** Addition of nitric oxide via nitroflurbiprofen enhances the material properties of early healing of young rat Achilles tendon. *Inflamm Res* 2003;52:230-7.
 13. **Tatari H, Skiak E, Destan H, Ulukus C, Ozer E, Satoglus.** Effect of hylan G-F-20 in Achilles tendonitis: an experimental study in rats. *Arch Phys Med Rehabil* 2004;85:1470-4.
 14. **Kurz CA, Loebig TG, Anderson DD, Demeo PJ, Campbell PG.** Insulin-like growth factor I accelerates functional recovery from Achilles tendon injury in a rat model. *Am J Sports Med* 1999; 27:363-9.
 15. **Stern RE, Harwin SF.** Spontaneous and simultaneous rupture of both quadriceps tendons. *Clin Orthop Relat Res* 1980;147:188-9.
 16. **Truong DT, Dussault RG, Kaplan PA.** Fracture of the os perineum and rupture of the peroneus longus tendon as a complication of diabetic neuropathy. *Skeletal Radiol* 1995;24:626-8.
 17. **Chen AL, Shapiro JA, Ahn AK, Zuckerman JD, Cuomo F.** Rotator cuff repair in patients with type I diabetes. *J Shoulder Elbow Surg* 2003; 12:416-21.
 18. **Tamir E, McLaren AM, Gadgil A, Daniels TR.** Outpatients percutaneous flexor tenotomies for management of diabetic claw toe deformities with ulcers : a preliminary report. *Can J Surg* 2008;51: 41-4.
 19. **Willrich A , Angirasa AK , Sag RA.** Percutaneous tendo Achilles lengthening to promote healing of diabetic plantar foot ulceration. *J Am Podiatr Med Assoc* 2005; 95: 281-4.
 20. **Holstein P , Lohmann M, Bitsch M , Jorgensen B.** Achilles tendon lengthening , The panacea for planar foot ulceration. *Diabetes Metab Res Rev* 2004; 20: S37-40.
 21. **Mueller MJ, Sinacore DR, Hastings MK, Strube MJ, Johnson JE.** Effect of Achilles tendon lengthening on neuropathic plantar ulcers. A randomized clinical trial. *J Bone Joint Surg Am* 2003; 85:1436-45.
 22. **Nishimoto GS, Attinger CE, Cooper PS.** Lengthening the Achilles tendon for the treatment of diabetic fore foot ulceration. *Surg Clin North Am* 2003; 83:707-26.
 23. **Mueller MJ, Sinacore DR, Hastings MK, Lott DJ, Strube MJ, Johnson JE .** Impact of Achilles tendon lengthening on functional limitations and perceived disability in people with neuropathic plantar ulcer. *Diabetes Care* 2004; 27:1559-64.
 24. **Chbinou N, Frenette J.** Insulin-dependent diabetes impairs the inflammatory response and delays angiogenesis following Achilles tendon injury. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286: 952-7.
 25. **Mester E, Spiry T, Szende B, Tota JG.** Effect of laser rays on wound healing. *Am J Surg* 1971;122:532-5.
 26. **Mester E , Jaszsa-Nagy E.** Effect of laser radiation on wound healing and collagen synthesis. *Studia Biophysica* 1973;35:231-36.

27. **Mester E , Mester AF, Mester A.** The biomedical effect of laser application. *Lasers Surg Med* 1985; 5:31-90.
28. **Posten W, Wron 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.
29. **Kana JS , Huscheneriter G, Haina D, Waidelich W.** Effect of low- power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Arch Surg* 1981;116:293-6.
30. **Lyon RF, Abergel RP, White RA, Dwyer RM, Lastel JC, Uitto J.** Biostimulation of wound healing in vivo by a helium-neon laser. *Ann Plast Surg* 1987;18:47-50.
31. **Trelles MA, Mayayo E.** Bone fracture consolidates faster with low-power laser. *Lasers Surg Med* 1987;7:36-45.
32. **Bayat M, Delbari A, Almaseyeh MA, Sadeghi Y, Rezaie F.** Low-level laser therapy improves early healing of medial collateral ligament injuries in rats. *Photomed Laser Surg* 2005; 23:556-60.
33. **Rochkind S, Rousso M, Nissan M, Villareal 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;9:174-82.
34. **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.
35. **Azari A, Hosseini A, Bayat M , Ebrahimi E.** Effect of low power He-Ne laser on tensile strength of the Achilles tendon in tentomized rabbits. *Pajouhandeh* 1998; 2: 27-37. (Persian)
36. **Reddy GK, Stenho-Bittel L, Enwemekn LS.** Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit Achilles tendon .*Lasers Surg Med* 1998;22: 281-7.
37. **Demir H, Menku P, Kirnap M , Galis M, Lkizceli I.** Comparison of the effects of laser ,ultrasound and combined laser+ultrasound treatments in experimental tendon healing. *Lasers Surg Med* 2004; 35:84-9.
38. **Elwakil TF.** An in vivo experimental evaluation of He-Ne laser photostimulation in healing Achilles tendon. *Laser Med Sci* 2007; 22:53-9.
39. **Amadio PC, Tendon and ligament in Cohen K, Diegelman RF,Lindblad EJ.** Wound Healing, Biochemical and Clinical Aspects. W. B. Saunders, Philaladelphia, 1992, pp 384-95.
40. **Reddy GK,Stehno-Bittel L, Enwemeka CS .** Laser biostimulation accelerates wound healing in diabetic rats.*Wound Repair Rege* 2001; 9:248-55.
41. **Yu M, Naim GO, Lanzamae JL.** Effects of photostimulation on wound healing in diabetic mice. *Lasers Surg.Med* 1997;20: 56-63.
42. **Stadler I, Lanzamame RJ, Evans R,Naryan V, Dailey B, Buehner N, Naim J.** 830-nm irradiation increases the wound tensile strength in a diabetic murine model.*Lasers Surg Med* 2001; 28: 220-6.
43. **Reddy GK.** Comparison of the photostimulatory effects of visible He-Ne and infra red Ga –As lasers on healing impaired diabetic rat. *Lasers Surg Med* 2003;33:344-51.
44. **Kawalec JS, Hetherington V, PfennigwerthTC, Dockery DS, Doke M.** Effect of a diode laser on wound healing by using diabetic and non diabetic mice. *The J Foot Ankle Surg* 2004;43:214-20.
45. **Byrnes KR, Barna L, Cheunault VM, Waynant RW, Ilev IK, Longo L, et al.** Photobiomodulation improves cutaneous wound healing in an animal model of type 2 diabetes. *Photomed Laser Surg* 2004; 22:281-90.
46. **Carvalho PT, Mazzer N, dos Reis FA, Belchor**

- Ac, Silva IS.** Analysis of low-power He-Ne laser on healing of skin wounds in diabetic and non-diabetic rats. *Acta Chir Bras* 2006; 24:10-16.
47. **Akyol U, Gungormus M.** The effect of low-level laser therapy on healing of skin incisions made using a diode laser in diabetic rats. *Photomed Laser Surg* 2010; 28:51-5.
48. **Dalton GP, Wapner KL, Hecht PJ.** Complications of Achilles and posterior tibial tendon surgeries. *Clin Orthop Relat Res.* 2001; 391:133-9.
49. **Bayat M, Abdi SH, Javadieh F, Mohsenifar Z, Rashid MR.** The effects of low-level laser therapy on bone in diabetic and nondiabetic rats. *Photomed Laser Surg* 2009; 27:703-8.
50. **Enwemeka CS.** Intricacies of dose in laser phototherapy for tissue and pain relief. *Photomed Laser Surg* 2009; 27:387-93.
51. **Saygi B, Yildirim Y, Cabukoglu C, Kara H, Ramandan SS, Esemeli T.** The effect of dehydration and irrigation on the healing of Achilles tendon, an experimental study. *Ulus Travma Acil cerrahi Derg* 2008; 14:103-9.
52. **Zhang F, Liu H, Stile F, Stile F, Lei M-P, Pang Y, et al.** Effect of vascular endothelial growth factor on rat Achilles tendon healing. *Plast Reconstr Surg* 2003; 112:1613-9.
53. **Ansorge HL, Beredjiklian PK, Sollowsky LJ.** CD44 deficiency improves healing tendon mechanics and increase matrix and cytokine expression in a mouse patellar tendon injury model. *J Orthop Res* 2009; 27:1386-91.
54. **Enwemeka CS, Rodriguez O, Gall N, Walsh N.** Morphometrics of collagen fibril population in He:Ne laser photostimulated tendon. *J Clin Laser Med Surg* 1990; 8:151-6.
55. **Enwemeka CS.** Connective tissue plasticity: Ultrastructure, biomechanical and morphometric effect of physical factors on intact and regenerating tendons. *J Orthob Sports Phys Ther* 1991; 14:198-212.
56. **Enwemeka CS.** Ultrastructural morphometry of membrane-bound intracytoplasmic collagen in tendon fibroblasts exposed to He:Ne laser beam. *Tissue Cell* 1992; 24:511-23.
57. **Gum SL, Reddy GK, Stehno-bittel L, Enwemeka CS.** Combined ultrasonic, electrical stimulation, and laser promote collagen synthesis with moderate changes in tendon biomechanics. *Am J Phys Med Rehabil* 1997; 76:288-96.
58. **Oliveira FS, Pinfieldi CE, Parizoto NA, Liebano RE, Bossini PS, Garcia EB, et al.** Effect of low level laser therapy (830 nm) with different therapy regimes on the process of tissue repair in partial lesion calcaneus tendon. *Lasers Surg Med* 2009; 41: 271-6.
59. **James R, Kesturu G, Balian G, Chhabra AB.** Tendon Biology, biomechanics, repair, growth factors, and evolving treatment options. *J Hand Surg Am* 2008; 33: 102-12.
60. **Bring DKI, Reno G, Renstrom P, Salo P, Hart DA, Ackerman PW.** Joint immobilization reduces expression of sensory neuropeptide receptors and impairs healing after ruptures in a rat model. *J Orthop Res* 2009; 27: 274-80.
61. **Chan K-M, Fu S-c, Wong Y-P, Hui W-C, Cheuk YC, Wong MW-N.** Expression of transforming growth factor β isoforms and their roles in tendon healing. *Wound Rep Reg* 2008; 16:399-407.
62. **Javadieh F, Bayat M, Abdi S, Mohsenifar Z, Razi S.** The effects of infrared low-laser therapy on healing of partial osteotomy of tibia in streptozotocin induced diabetic rats. *Photomed Laser Surg* 2009; 27:641-6.
63. **Hourelid N, Abrahamse H.** Irradiation with a 632.8 nm Helium-Neon laser with 5J/cm² stimulates proliferation and expression of

- interleukin-6 in diabetic wounded fibroblasts cells. *Diabetes Technol Ther* 2007; 9:451-9.
64. **Hourelid N, Abrahamse H.** In vitro exposure of wounded diabetic fibroblasts cells to Helium-Neon laser at 5 and 16 J/cm². *Photomed Laser Surg* 2007; 25:78-84
65. **Hourelid N, Abrahamse H.** Laser light influences cellular viability and proliferation in diabetic-wounded fibroblasts cells in a dose- and wave length-dependent manner. *Laser Med Sci* 2008; 23:11-8.
66. **Mirzaei M, Bayat M, Mosafa N, Mohsenifar Z, Piryaei A, Farokhi B, et al.** Effect of low-level laser therapy on skin fibroblasts of streptozotocin-diabetic rats. *Photomed Laser Surg* 2007;25:519-25.