

اثرات فوتوبیولوژیک لیزر هلیوم نئون بر روی میزان پروتئین تام، آلبومین و فعالیت آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز، آلکالین فسفاتاز در خون

خلاصه

هدف: این بررسی به منظور سنجش و تعیین اثرات فوتوبیولوژیک لیزر هلیوم نئون دو میلی وات با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر بر روی میزان فعالیت آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز، آلکالین فسفاتاز و میزان پروتئین تام و آلبومین خون در خرگوش طراحی شده است. لیزر هلیوم نئون در این تحقیق یکی از انواع لیزرهای کم توان است که با در نظر گرفتن عملکرد فوتوبیواسستمی مولاتوری کاربرد های فراوان دارد.

هر چند تاثیرات درمانی تابش لیزرهای کم توان در طول موجها و دوزهای مختلف بخوبی شناخته شده، اما مکانیسم دقیق تاثیر تابش لیزر بر سلولهای زنده تا کنون مشخص نشده است.

مواد و روش کار: ۳۰ سر خرگوش نر سفید بالغ نیوزلندی با میانگین وزنی ۱/۵ تا ۲ کیلوگرم بصورت تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. گروه شاهد (۱۵ سر خرگوش) و گروه تیمار با لیزر (۱۵ سر خرگوش) که هر دو گروه تحت بیهوشی عمومی قرار گرفته و گروه تیمار با لیزر بمدت ۳۰ دقیقه تحت تابش لیزر هلیوم نئون ۲ میلی وات پیوسته با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر و دوز ۳/۶ ژول بر سانتیمتر مربع قرار گرفت. در پایان، از همه حیوانات نمونه خون اخذ شده و میزان فعالیت آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز، آلکالین فسفاتاز و میزان پروتئین تام و آلبومین سرم مورد سنجش قرار گرفتند.

نتایج و بحث: در مورد پروتئین تام، آلبومین، لاکتات دهیدروژناز و کراتین کیناز اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) مشاهده گردید. به نظر می رسد لیزر کم توان هلیوم نئون قادر به تحریک سنتز پروتئین در کبد بوده از طرف دیگر موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز و کراتین کیناز در سرم می گردد.

واژه های کلیدی: فوتوبیولوژیک، لیزر هلیوم نئون، لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز، آلکالین فسفاتاز، پروتئین تام و آلبومین

دکتر جعفر رحمانی کهنمونی^۱

دکتر شهاب الدین صافی^۲

دکتر رسول صدیقی بنابی^۳

^۱ دانشجوی دکتری تخصصی کلینیکال پاتولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

^۲ استادیار کلینیکال پاتولوژی و عضو هیئت علمی واحد علوم و تحقیقات تهران

^۳ دانشیار فیزیک لیزر و عضو هیئت علمی دانشگاه صنعتی شریف تهران

نویسنده مسئول: دکتر جعفر رحمانی کهنمونی

پست الکترونیکی: jrahmani23@yahoo.com

مقدمه

لیزر درمانی کم توان^۱ در ابتدا بمنظور انرژی بخشیدن به ارگانیزم بیمار مورد استفاده قرار گرفت. بعدها در طی کار با لیزرهای کم توان، پدیده جذب رزونانس^۲ کشف گردید. در همان اوایل کاربرد لیزر درمانی کم توان پدیده جذب رزونانس بعنوان راه رسیدن ادراکی به ماهیت بیماری، به جهت اثر گذاری مستقیم بر ارگانیزم در سطح اتمی و مولکولی توسعه پیدا کرد و از آنجا که عارضه خطرناکی در برداشت، از

آن در درمان بسیاری از بیماریها و حتی قوی تر کردن ارگانهای سالم استفاده گردید [۱۵].

لیزر درمانی کم توان به روشهای گوناگونی می تواند انجام شود مثل لیزر طب سوزنی^۳، از روی پوست^۴، از روی ارگان^۵، از راه حفرات بدن^۶، از درون رگ^۷ و سایر روشها.

هدف از این بررسی، سنجش و تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز، آلکالین فسفاتاز و میزان پروتئین تام و آلبومین

- 3 Acupuncture
- 4 Transcutaneous
- 5 Transorganic
- 6 Intracavitary
- 7 Intravenous

1 Low Level Laser Therapy (LLLT)

2 Resonance absorption phenomenon

نئون ۲ میلی وات پیوسته با طول موج ۶۳۲/۸ نانو متر و دوز ۳/۶ ژول بر سانتیمتر مربع قرار گرفتند. بعد از اتمام تابش لیزر، بلافاصله از قلب آنها خونگیری بعمل آمده و همانند گروه شاهد نسبت به سنجش فاکتورهای فوق الذکر اقدام شد. در نهایت مقادیر بدست آمده از دو گروه شاهد و تیمار با استفاده از آزمون آماری t-test و توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۵ مورد مقایسه و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. با توجه با اینکه در منابع ذکر شده که در درمان با لیزرهای کم توان در روش تابش لیزر به خون^۵ از لیزر هلیوم نئون با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر و مدت تابش ۱۰ الی ۴۰ دقیقه و توان خروجی ۴-۱ میلی وات استفاده گردد [۱۴]. لذا در این بررسی از لیزر هلیوم نئون ساخت مرکز تحقیقات لیزر بناب با توان دو میلی وات بصورت پیوسته و طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر، مدت زمان تابش ۳۰ دقیقه و دوز ۳/۶ ژول بر سانتیمتر مربع استفاده گردید.

یافته ها

۱- فسفاتاز قلیایی (ALP): مقدار آلکالین فسفاتاز در گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد معنی دار ($P > 0.05$) تلقی نگردید (جدول شماره ۱).

کراتین کیناز (CPK): با مقایسه کراتین کیناز در دو گروه شاهد و تیمار متوجه تفاوت معنی دار ($P < 0.01$) و افزایش فعالیت این آنزیم در گروه تیمار شدید (جدول شماره ۱).

لاکتات دهیدروژناز (LDH): افزایش معنی دار ($P < 0.05$) میانگین گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید (جدول شماره ۱). پروتئین تام (Total protein): افزایش مقادیر میانگین پروتئین تام سرم در گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد که کاملاً معنی دار ($P < 0.05$) بود (جدول شماره ۱).

آلبومین (Albumin): آلبومین گروه تیمار نیز افزایش معنی دار ($P < 0.01$) نسبت به آلبومین گروه شاهد نشان داد (جدول شماره ۱).

بحث

چنین بنظر می رسد تابش لیزرهای کم توان به خون با بهبود میکروسیرکولاسیون و مصرف بیشتر اکسیژن توسط بافت همچنین تاثیر مثبت بر متابولیسم موجب افزایش اکسیداسیون ملکولهای حمل کننده انرژی شامل گلوکز، پیروات و دیگر مواد می شوند. همچنین بعلت وازودیلاتاسیون و کاهش ویسکوزیته موجب تغییر در خواص رئولوژیک^۶ خون می شوند [۲۰]. بهبود تغذیه بافتی، طبیعی شدن فعالیت عصبی نیز از یافته های دیگر است [۹]. تابش لیزر به خون فشار اکسیژن را در خون و بافت بالا برده و پروسه های تکثیر و ترمیم را تسهیل

خون در خرگوش می باشد. لیزر هلیوم نئون استفاده شده در این بررسی، از انواع لیزرهای کم توان است که با در نظر گرفتن عملکرد فوتوبیواستیمولاتوری کاربرد های فراوان دارد.

در بیست سال اخیر لیزردرمانی با لیزرهای کم توان در پزشکی و دامپزشکی از جایگاه مطمئن و پایداری برخوردار شده است، تاباندن لیزر کم توان به خون^۱ یکی از روش های مهم لیزردرمانی کم توان محسوب می گردد [۱۴]. تا اواسط دهه ۸۰ لیزر هلیوم نئون با نور قرمز ۶۳۲/۸ نانومتر بصورت گسترده مطالعه و استفاده از آن به روش LBI از سال ۱۹۸۱ در شوری بصورت آزمایشی و بالینی شروع شد [۱۶]. این روش ابتدا برای درمان بیماری های قلبی عروقی بکار رفت اما بعدها دامنه استفاده از آن گسترش یافت [۱۴]. تاباندن لیزر کم توان به ارگانسیم دارای چندین اثر بالینی می باشد که شامل اثر ضد التهابی، تحریک ایمنی، نوروتروفیک، ضد درد، حساسیت زدایی، میکروب کشی، ضد ادم، طبیعی کردن رئولوژی و همودینامیک خون می باشد [۱۱-۱۲]. بطور کلی لیزرهای کم توان بعنوان یک بیواستیمولاتور، ضد درد، ضد حساسیت، آنتی توکسیک، آنتی هیپوکسیک، ضد اسپاسم، گشاد کننده عروق، آنتی آریتمیک، آنتی باکتریال و ضد التهاب نیز مورد استفاده قرار می گیرد.

مواد و روش کار

در این بررسی ابتدا ۳۰ سر خرگوش نر سفید بالغ نژاد نیوزلندی که دارای وزن تقریبی ۱/۵ تا ۲ کیلوگرم بودند تهیه و بصورت تصادفی^۲ به دو گروه مساوی شاهد و تیمار تقسیم شدند. با توجه به جدول کوهن و بر اساس توان آزمون برابر با ۰/۷۶ و ضریب اثر ۰/۵ و $\alpha = 0.05$ ، تعداد نمونه برای هر گروه ۱۵ سر خرگوش در نظر گرفته شد همچنین با توجه به وجود دو گروه مستقل شاهد و تیمار و کمی بودن متغیرهای مورد سنجش از آزمون آماری t-test استفاده گردید.

در گروه شاهد بعد از ایجاد بیهوشی عمومی و قرار گرفتن خرگوشها در وضعیت تابش لیزر (بدون لیزرتراپی) و پس از سپری شدن ۳۰ دقیقه، از طریق قلب از آنها خونگیری بعمل آمده سرم نمونه ها در سانتریفوژ و با ۱۵۰۰ دور در دقیقه جدا شده، با استفاده از کیت های شرکت زیست شیمی میزان پروتئین تام، آلبومین و فعالیت آنزیمهای لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز، آلکالین فسفاتاز مورد سنجش قرار گرفت.

در گروه تیمار با لیزر بعد از ایجاد بیهوشی عمومی و قرار گرفتن خرگوشها در وضعیت تابش لیزر، حیوانات به مدت ۳۰ دقیقه و از روی پوست^۳ و از محل ورید کناری^۴ گوش راست در معرض تابش لیزر هلیوم

- 1 Laser Blood Irradiation
- 2 Random
- 3 Transcutaneous
- 4 Marginal

۱ - میانگین فاکتورهای مورد سنجش در دو گروه شاهد و تیمار

(mean ±SEM)

فاکتورهای مورد سنجش	گروه شاهد	گروه تیمار
پروتئین تام (گرم در دسی لیتر)	۵/۹ ± ۰/۰۹۳	۶/۷۱ ± ۰/۲۱۷ *
آلبومین (گرم در دسی لیتر)	۳/۴۴ ± ۰/۱۶۶	۴/۳۲ ± ۰/۰۸۷ *
کراتین کیناز (واحد بین المللی در لیتر)	۶۸/۷ ± ۲/۰۱	۹۹ ± ۶ *
لاکتات دهیدروژناز (واحد بین المللی در لیتر)	۶۲۲/۵ ± ۴۹/۱۲	۹۴۹ ± ۶۱/۳۸ *
آلکالین فسفاتاز (واحد بین المللی در لیتر)	۵۶/۲ ± ۴/۹۳	۶۵/۳ ± ۴/۰۹ *

* اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$

میباشد [۹]. در این بررسی فعالیت کبدی با سنجش میزان متابولیسم کبد از قبیل پروتئین تام و آلبومین سرم و تعیین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در دو گروه شاهد و تیمار (گروه لیزر) مورد ارزیابی قرار گرفت هرچند در منابع مختلف افزایش پروتئین و آلبومین سرم در وضعیت دهیدراتاسیون تشریح شده لیکن افزایش معنی دار پروتئین تام و آلبومین در این بررسی کاملاً بر یافته های سابق در خصوص تحریک سنتز پروتئین توسط لیزرهای کم توان، منطبق می باشد [۱۰-۱۱-۱۲]. اما عدم تغییر معنی دار فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد بر خلاف یافته های قبلی می باشد [۶]. از طرفی بدلیل انتشار گزارشات متعدد از تاثیر لیزرهای کم توان بر روی بافت عضلانی و عصبی [۱-۲] در این بررسی میزان فعالیت آنزیم کراتین کیناز و لاکتات دهیدروژناز در دو گروه شاهد و تیمار ارزیابی گردید. هرچند آنزیم لاکتات دهیدروژناز جزو آنزیم های غیراختصاصی است لیکن جهت بررسی تاثیر پذیری سلولهای بدن از لیزرهای کم توان فعالیت این آنزیم نیز در سرم مورد سنجش و مقایسه در دو گروه شاهد و تیمار قرار گرفت. لاکتات دهیدروژناز در این تحقیق افزایش معنی دار نشان داد از آنجایی که اغلب بافتها دارای این آنزیم هستند تفسیر افزایش آن قدری مشکل است از سوی دیگر افزایش فعالیت این آنزیم در سرم می تواند ناشی از آسیب به عضله قلب هنگام خونگیری از آن باشد. افزایش معنی دار فعالیت آنزیم کراتین کیناز می تواند در اثر تاثیر سیستمیک لیزر بر سیستم عصبی و عضلانی باشد که منطبق بر یافته های قبلی پژوهشگران می باشد [۶].

نتیجه گیری

لیزر هلیوم نئون دو میلی وات پیوسته با دوز ۳/۶ ژول بر سانتیمتر مربع موجب تحریک سنتز پروتئین در کبد شده، باعث افزایش معنی دار پروتئین تام و آلبومین سرم می شود همچنین بطور معنی دار فعالیت آنزیمهای لاکتات دهیدروژناز و کراتین کیناز را افزایش می دهد ولی بر روی فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز تاثیر قابل توجه و معنی داری ندارد.

تشکر و قدردانی

از آقای دکتر خلیلی (ریاست محترم موسسه تحقیقات و سرم سازی پیام مرند) و همکاران ایشان، آقای مهندس یگانه (ریاست محترم مرکز پژوهشکده لیزر و مواد بناب)، آقایان بهاور نیا و رضا زاده (کارشناسان محترم آزمایشگاه سپاسگزارم.

می نماید. عامل کلیدی در اثر فوتو بیولوژیک لیزرهای کم توان، فعال شدن آنزیمها است که منجر به قویتر شدن فرایندهای بیوسنتتیک و بیوانژتیک در سلول می گردد. فعال شدن آنزیمهای بیوانژتیک باعث افزایش سطح ATP و دیگر مواد فعال بیولوژیکی می شود [۱۹]. بررسی های انجام شده در شرایط Invivo حاکی از کاهش آسیب و تسریع ترمیم بافتهای آزرده تحت تابش لیزرهای کم توان است [۲-۳]. همچنین کاهش سریع ادم و افزایش جریان لنف در موشهای درمان شده با لیزر بعد از جراحی مشاهده شده است [۱۳]. این تغییرات وابسته به دوز، فرکانس و طول موج لیزر بوده و تأثیرات مثبت ترمیمی لیزرهای کم توان هم در انسان [۱۸-۲۱] و هم در حیوانات به اثبات رسیده است [۷-۸]. لیزرها در درمان بیماری های اسکلتی و عضلانی نیز کمک شایانی می کنند [۶]. در مطالعه Invivo لیزرهای کم توان، افزایش فعالیت فاگوسیتیک نوتروفیلها در انسان به اثبات رسیده است [۴-۱۷]. تا کنون هیچ گزارشی مبنی بر آسیب بافتی در خصوص کاربرد لیزرهای کم توان مشاهده نشده چرا که این لیزرها معمولاً جزو کلاس B III طبقه بندی می شوند و آن قدر توان ندارند که به بافتها آسیب رسانده یا باعث آتش سوزی شوند اما قادر به صدمه زدن به چشمها هستند [۵]. نظر به تحقیقات انجام گرفته لیزرهای کم توان خصوصاً لیزر هلیوم نئون با تأثیر بر روی بافت کبدی موجب کاهش دژنراسیون، نکروز و آماس پارانیشیم کبدی می شود و همچنین گزارشاتی مبنی بر افزایش ظرفیت حمل اکسیژن به بافتها، اصلاح متابولیسم سلولی و در نتیجه تولید ATP و انرژی و بطور خاص، افزایش سنتز پروتئین در دسترس

منابع

- 1- Ailioaie L, Ailioaie C, Topoliceanu F. Laser Action in Nerve Injuries in Children. Book of Abstracts, 8-th International Congress of EMLA, Moscow 2001; 42.
- 2- Airaksinen O, Airaksinen K, Rantanen P. Effects of He-

Ne laser irradiation on the trigger points of patients with chronic tension in the neck. Scand J App Electrother 1989; 4:63-65.

- 3- Anders J, Borke R, Woolery S. Low-power laser

- irradiation alters the rate of regeneration of rat facial nerve. *Lasers Surg Med* 1993; 13:72-82.
- 4- Babapour R. Low energy laser systems. *Clinics in dermatology science* 1995; 13: 87-90
 - 5- Baxter G. *Therapeutic Lasers. Theory and Practice.* Churchill Livingstone, London 1994; 132-9.
 - 6- Beckerman H, de Ble R, Bouter L. The efficacy of laser therapy for musculoskeletal and skin disorders. A criteria-based meta-analysis of randomized clinical trials. *Physical Therapy* 1992; 72: (7): 483-91.
 - 7- Bisht D, Gupta S, Misra V. Effect of low intensity laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Indian J Medical Research* 1994; 100: 43-46.
 - 8- Ghamsari S, Taguchi K, Abe N. Histopathological effect of low-level laser therapy on sutured wounds of the teat in dairy cattle 1996; 18(1): 17-21.
 - 9- Kipshidze F. Optimal Dosing of Intravascular Low-Power Red Laser Light as an Adjunct to Coronary Stent Implantation: Insights from a Porcine Coronary Stent Model. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* 2001; 19(5): 261-5.
 - 10- Karu T. *Photobiology of low power laser therapy.* Chur, Switzerland, Harwood Academic Publishers 1989; 22-34.
 - 11- Karu T. *The Science of Low Power Laser Therapy.* Gordon and Breach Sci. Publ, London 1998; 112-7.
 - 12- Karu T. Low power laser therapy, In *CRC Biomedical Photonics Handbook*, T.Vo-Dinh, Editor- in-Chief, CRC Press, Boca Raton (USA) 2002.
 - 13- Lievens P. The influence of laser irradiation on the motricity of lymphatical system and on the wound healing process. *Intl. Congress on Laser in Med & Surgery*, Bolgna June 1985; 26-8.
 - 14- Moshkovska T, Mayberry J. Transcutaneous Laser Blood Irradiation. *Postgraduate Medical Journal* 2005; 81: 436-41.
 - 15- **Pretidev R . Bioresonance Information laser Therapy of Diabets Mellitus Low-level laser therapy** 2002 ; 83: 27-30
 - 16- Semenov F. Use of YAZ-ND laser in the treatment of non healing Trepanation cavities after cleaning surgery of the middle ear. *Vestnik Otorinolaringologii* 1996; 2: 14-7.
 - 17- Shiroto C, Sugawara K, Kumae T. Effect of diode laser radiation in vitro on activity of human neutrophils. John Wiley & Sons Ltd. Publisher. Baffins Lane, Chichester, England 1989; 135-40.
 - 18- Stadler I, Evans R, Kolb B, Naim J. In vitro effects of low-level laser irradiation at 660 nm on peripheral blood lymphocytes. *Lasers in surgery and medicine* 2000; 27(3): 255- 61.
 - 19- Wang ping H. Helium neon laser irradiation stimulates cell proliferation through photostimulatory effects in mitochondria. *Journal of investigative dermatology* 2007; 127: 2048-57.
 - 20- Xian-Qiang M. In vitro effects of helium neon laser irradiation on human blood. *Photomedicine and laser surgery* 2004; 22(6): 477-82.
 - 21- Yu W, Naim J, Lanzafame R. Effects of photostimulation on wound healing in diabetic mice. *Lasers in Surgery & Medicine* 1997; 20(1): 56-63.