



تعیین زمان درمان بهینه دستگاه تخلیه سد دی‌الکتریک DBD با گاز کاری هوا با استفاده از گرید برای درمان زخم های سطحی پوست موش های Balb/c بر اساس فازهای زخم

استرکی، آسانا*^(۱) - عباسی دوانی، فریدون^(۲) - قاسمی، بهجت^(۳) - شهبازی راد، زهرا^(۴)

دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده مهندسی هسته‌ای، گروه کاربرد پرتوها

چکیده:

کوتاه کردن زمان بهبود زخم به دلیل کاهش هزینه‌ها و کاهش احتمال عفونت و کاهش عوارض زخم سالهاست توجه محققین را به خود جلب کرده است. در این مقاله نیز پرتودهی توسط دستگاه تخلیه سد دی‌الکتریک DBD با گاز کاری هوا بر روی زخم‌های سطحی پوست موش‌های Balb/c (نژاد سوری) انجام شد. زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ ثانیه پرتودهی برای درمان زخم پوست موش‌ها برای فاز تکثیر سلولی یعنی سومین مرحله بهبود زخم انتخاب شد. پرتودهی به مدت ۱۰ روز از زمان ایجاد زخم انجام شد و تاثیر پلازما در تسریع بهبود زخم در روزهای اول درمان در زخم‌ها مشاهده شد. نتایج یافت شناسی و آماری گروه‌ها نیز باهم مقایسه شد.

کلمات کلیدی: دستگاه تخلیه سد دی‌الکتریک DBD، زخم سطحی، درم، اپیدرم، تغییرات هیستولوژی، هایپرپلازی بافت گرانول، کلاژن.

مقدمه:

پلاسمای سرد در دهه‌های اخیر به ابزاری جذاب برای تقویت زخم و معالجه بیماری‌های پوستی تبدیل شده است. ترمیم زخم دارای مراحل مختلف انعقاد خون التهاب، تکثیر سلولی و بازسازی است که هر کدام شامل مراحل متعدد دیگری هستند و تعدادی از این مراحل با هم تداخل دارند و به راحتی از هم قابل تفکیک نیستند. لذا بهبود کمی و کیفی هر کدام از مراحل می‌تواند منجر به تسریع ترمیم زخم و کاهش عوارض ناشی از آن شوند [۱]. اولین مرحله بهبود زخم بلافاصله پس از آسیب هموستاز (جلوگیری از خونریزی) است که به مدت یک ساعت رخ می‌دهد. دومین مرحله ایجاد التهاب است که مدت کوتاهی بعد از هموستاز به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت پس از آسیب آغاز می‌گردد. طی این مرحله سلول‌های بافت آسیب دیده، مویرگ‌ها، پلاکت‌های خونی و سیتوکین‌ها فعال می‌شوند. سومین مرحله، مرحله تکثیر



سلولی است که ۱ تا ۳ هفته پس از آسیب رخ می‌دهد. چهارمین مرحله تمایز و بازسازی بافت (remodeling) است که ۳ هفته پس از آسیب شروع می‌شود. طی این مرحله بلوغ کامل بافتی یا اسکار ایجاد می‌شود [۲-۴]. به علت اهمیت زیادی که کوتاه کردن زمان بهبود زخم برای پیشگیری از عفونت و کاهش عوارض ناشی از طولانی شدن زمان درمان دارد، پژوهشگران مطالعات زیادی در این حوزه انجام داده و روش‌های متعددی را آزمایش کرده‌اند. برای مثال، آنکه اشمیت^۲ و همکاران در تحقیقی نشان داده‌اند که جت پلاسمای سرد بهبود زخم‌های پوست موش‌های صحرائی را سرعت می‌بخشد [۵]. زهرا شهبازی راد و همکاران نیز یک دستگاه پلاسمای جت و یک دستگاه تخلیه سددی الکتریک DBD فشار اتمسفر ساخته‌اند و با آزمایش آن‌ها بر روی نمونه‌های آزمایشگاهی نشان داده‌اند که این دستگاه توانایی بهبود زخم را به طور یکنواخت دارد [۶]. گویمینزو^۳ و همکارانش یک جت پلاسمای فشار جو (APPJ) تولید شده در گاز آرگون از طریق تخلیه سددی الکتریک را برای زخم‌های پوستی سطحی در موش Balb/c ارائه می‌دهد، و تسریع روند بهبود زخم را در دزهای مناسب پلاسمای نشان داده‌اند [۷].

در این مطالعه، یک دستگاه DBD فشار اتمسفر با منبع تغذیه ولتاژ بالا سینوسی با بیشینه ولتاژ ۲۰ kv و فرکانس ۱۰ kHz استفاده شد. از این دستگاه برای ارزیابی اثر زمان‌های مختلف درمان پلاسمای بر زخم سطحی استفاده شد. مورفولوژی سطح پوست موش Balb/c و تغییرات هیستولوژی در زخم پوست موش‌ها بررسی شد و پارامترهای بافت شناسی پوست اندازه‌گیری شد. نتیجه گرفتیم که درمان روزانه پلاسمای برای مدت زمان مناسب باعث بهبود زخم می‌شود، در حالی که درمان روزانه پلاسمای برای مدت طولانی‌تر بهبود زخم را به تعویق می‌اندازد. هدف ما از این مطالعه بررسی تأثیر پلاسمای در تسریع روند بهبود زخم پوست موش بود.

روش کار :

در این آزمایش موش‌های ماده Balb/c (۲۵ تا ۳۰ گرمی) در مرکز حیوانات دانشگاه بقیه‌الله تحت شرایط استاندارد قرار گرفتند. موش‌ها دسترسی آزاد به غذا و آب و یک چرخه نور و تاریکی هرکدام به ترتیب ۱۲ ساعته داشتند. تمام آزمایشات طبق دستورالعمل‌های مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. موش‌ها به طور تصادفی در ۴ گروه قرار داده شدند (۵ حیوان در هر گروه) و با استفاده از کتامین^۴ ۱۰٪ و زایلازین^۵ ۲٪ بیهوش شدند. با استفاده از پنچ بیوپسی mm

^۲ Anke Schmidt

^۳ Xu GM

^۴ Ketamine

^۵ ZYLAZINE

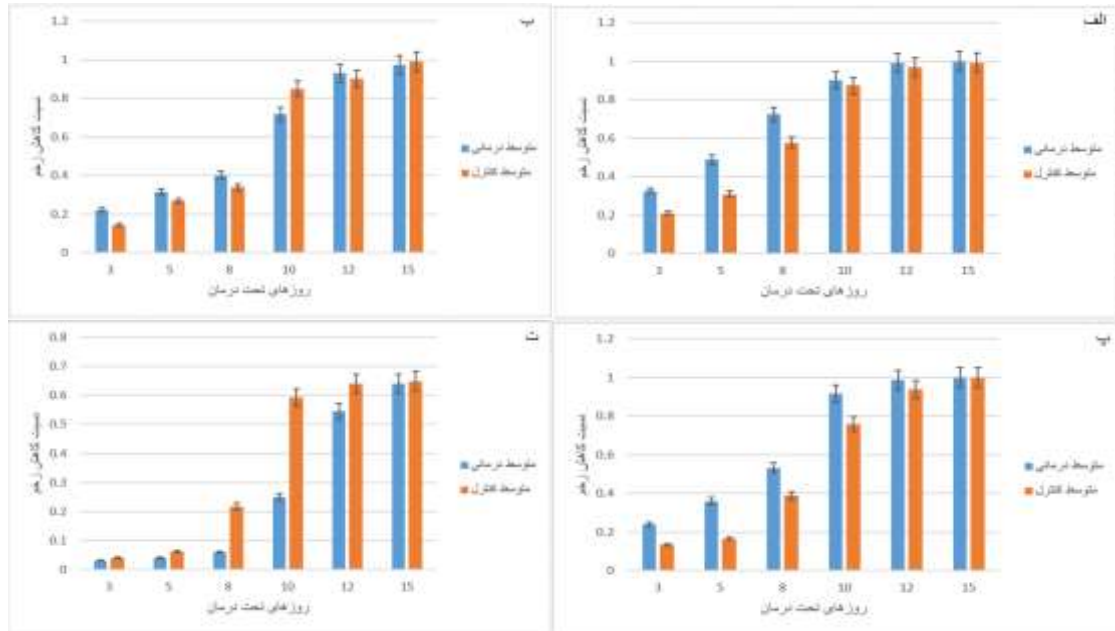
۸ دو زخم بر روی کمر موش‌ها ایجاد شد ((طبق شکل ۱-الف))، زخم چپ جهت درمان و زخم راست کنترل). لایه درم و اپیدرم پوست کمر موش‌ها برداشته شد. سپس زخم موش‌ها تحت درمان با دستگاه تخلیه سد دی‌الکتریک DBD با گاز کاری هوا قرار گرفت (شکل ۱-ب). پرتودهی زخم تحت درمان روزانه برای مدت زمانهای مختلف (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ ثانیه) به مدت ۱۰ روز انجام شد، و بهبودی زخم تحت درمان با روند طبیعی بهبود زخم کنترل در روزهای ۱، ۳، ۵، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۵ مقایسه شد. شکل شماره ۲ نمونه‌ای از تغییرات زخم درمانی و کنترل را نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که روند بهبود زخم درمانی نسبت به زخم کنترل سریعتر رخ داده است.



شکل (۱): الف) زخم چپ جهت درمان و زخم راست کنترل، ب) نحوه‌ی پرتودهی زخم تحت درمان با استفاده از دستگاه تخلیه سد دی‌الکتریک DBD

روز	۱	۳	۵	۸	۱۰	۱۲	۱۵
درمانی							
کنترل							

شکل (۲): نمونه‌ای از تغییرات روزانه زخم درمانی و کنترل



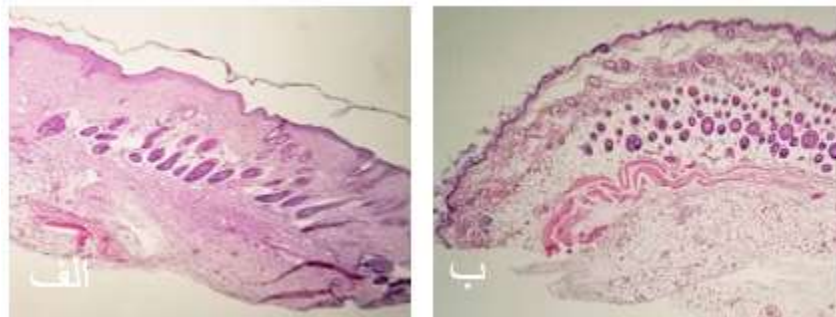
شکل (۳): نسبت کاهش زخم برای ۴ گروه درمانی، الف) ۱۰ ثانیه، ب) ۱۰ ثانیه پ) ۳۰ ثانیه ت) ۴۰ ثانیه

اندازه گیری بستن زخم و بافت شناسی:

در روزهای ۱، ۳، ۵، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۵ عکس برداری از زخم موش‌ها انجام شد. دو مرحله نمونه برداری در روز ۸ و ۱۵ انجام شد. نمونه‌ها به مدت یک هفته در فرمالین نگهداری شدند و سپس در موم پارافین تعبیه شدند و میزان بسته شدن زخم‌ها مورد بررسی قرار گرفت. شکل شماره ۳ نتایج نسبت کاهش زخم برای ۴ گروه درمانی را نشان می‌دهد، همانطور که مشاهده می‌شود در گروه‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ ثانیه پرتودهی روزانه بر روی زخم موش‌ها، نتایج نسبت کاهش زخم در روزهای اول نسبت به زخم درمان نشده روند بهتری را طی کرده‌است. روند بهبود زخم تحت درمان سریع‌تر از زخم کنترل نشان داده شده است که این تسریع در گروه ۱۰ و ۲۰ و ۳۰ ثانیه در روزهای اول قابل ملاحظه می‌باشد و مشاهده می‌شود که ابعاد زخم سریعتر جمع شده است که دلیل آن مهاجرت سلولی و تکثیر سلولی است. در گروه درمانی ۴۰ ثانیه‌ای زخم‌ها روند بهبود خوبی را نسبت به زخم درمان نشده طی نکردند که نشان می‌دهد مهاجرت سلولی و تکثیر سلولی با اختلال رو به رو بوده است.

تغییرات هیستولوژی در زخم‌های حیوانات، و پارامترهای بافت شناسی بافت، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آماری نشان داد که اندازه زخم در طول دوره آزمایشی تغییر کرده و بین روز و گروه آزمایش تعامل معناداری وجود دارد. همه زخم‌ها اعم از زخم درمانی و زخم کنترل در روز ۱۴ بسته شدند. و به ترتیب نتایج بهینه از بازسازی سلول‌های اپیدرمی

، هایپرپلازی بافت گرانول و رسوب کلاژن در بعد بافت شناسی در روز ۸ مشاهده شد (شکل شماره ۳). نتیجه گیری شد که دوزهای مناسب پلاسما سرد می تواند باکتری های اطراف زخم را غیرفعال کند، تکثیر فیرو بلاست را در بافت زخم فعال کند و در نهایت بهبودی زخم را تسریع کند. در حالی که دزهای بیشتر پلاسما ترمیم زخم را به دلیل ایجاد مرگ سلولی توسط آپوپتوز یا نکروز سرکوب کرده است. هر دو اثر مثبت و منفی ممکن است مربوط به وجود اکسیژن واکنش پذیر در پلاسما باشد.



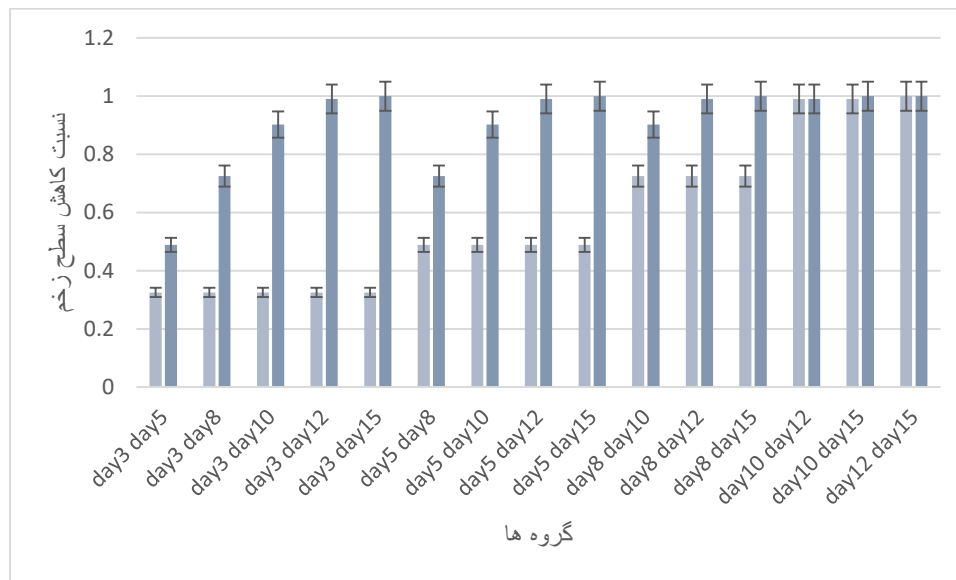
شکل (۴): الف) زخم تحت درمان ب) زخم کنترل، در روز ۸ مشاهده می شود که لایه درم و اپیدرم پوست در پوستی که درمان شده است زودتر روند بهبود را طی کرده است.

نتایج :

تحلیل آماری داده های کاهش مساحت زخم با استفاده از آزمون آماری مستقل و یا تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) و آزمون توکی مقایسه شدند.

جدول (۱): آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه بین گروه های مختلف کاهش زخم تحت درمان ۱۰ ثانیه ای و کنترل

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
rdn.day1	Between Groups	.000	1	.000		
	Within Groups	.000	4	.000		
	Total	.000	5			
rdn.day3	Between Groups	.020	1	.020	.447	.540
	Within Groups	.176	4	.044		
	Total	.196	5			
rdn.day5	Between Groups	.049	1	.049	2.112	.220
	Within Groups	.092	4	.023		
	Total	.140	5			
rdn.day8	Between Groups	.033	1	.033	1.227	.330
	Within Groups	.106	4	.027		
	Total	.139	5			
rdn.day10	Between Groups	.001	1	.001	.392	.565
	Within Groups	.012	4	.003		
	Total	.013	5			
rdn.day12	Between Groups	.001	1	.001	2.003	.230
	Within Groups	.002	4	.001		
	Total	.003	5			
rdn.day15	Between Groups	.000	1	.000	1.000	.374
	Within Groups	.000	4	.000		
	Total	.001	5			



شکل (۵): متوسط مقادیر کاهش زخم تحت درمان ۱۰ ثانیه ای به ازای روز های مختلف بعد از ایجاد زخم

بحث و نتیجه گیری :

درمان با پلاسمای سرد مستقل از اثر ضد عفونی پلاسمای سرد در موش، روند بهبود زخم را سرعت می بخشد. در محیط آزمایشگاهی، مهاجرت سلولی با درمان معمولی با پلاسمای افزایش داده می شود. در مجموع، پلاسمای سرد ممکن است



یک رویکرد مفید برای کوتاه کردن زمان بهبود زخم‌های مزمن و کاهش عوارض زخم و پیشگیری از عفونت و به حداقل رساندن هزینه‌های مراقبت از زخم در آینده باشد. و همچنین در آینده می‌توان از فناوری پلازما در درمانگاه‌ها برای فآیند بهبود زخم به ویژه زخم‌های مزمن استفاده کرد. لازم به ذکر است که هرچه زمان درمان کمتر باشد و بیمار دز کمتری در حین درمان دریافت کند مطلوب تر خواهد بود. در روز یکبار درمان ۱۰ ثانیه ای به مدت ۱۰ روز در آزمایشات ما نتایج مطلوبی نشان داده است.

مراجع :

۱. مشایخ, et al., اثرات باکتری کشته شده لاکتوباسیلوس کازئی (*Lactobacillus casei*) توسط کلروفورم بر ترمیم زخم پوستی موش صحرایی. زیست شناسی جانوری, ۲۰۱۳, ۶(۲).
۲. Pollmann, M., et al., *Effects of a probiotic strain of Enterococcus faecium on the rate of natural chlamydia infection in swine*. Infection and immunity, 2005. **73**(7): p. 4346-4353.
۳. بررسی اثر ترمیمی عصاره آبی و الکلی چای سبز بر روند التیام زخم های باز پوست موش et al پریچهره, ی., *NMRI* های نژاد.
۴. Singer, A.J. and R.A. Clark, *Cutaneous wound healing*. New England journal of medicine, 1999. **341**(10): p. 738-746.
۵. Schmidt, A., et al., *A cold plasma jet accelerates wound healing in a murine model of full-thickness skin wounds*. Experimental dermatology, 2017. **26**(2): p. 156-162.
۶. Rad, Z.S. and F.A. Davani, *Non-thermal atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma source construction and investigation on the effect of grid on wound healing application*. Clinical Plasma Medicine, 2016. **4**(2): p. 56-64.
۷. Xu, G.M., et al., *Dual effects of atmospheric pressure plasma jet on skin wound healing of mice*. Wound Repair and Regeneration, 2015. **23**(6): p. 878-884.