

## آثار اولتراسوند درمانی بر اسکار پوست خرگوش

دکتر احمدحسینی\*، دکتر محمدبیات\*، دکتر سید ناصر رضوی\*، دکتر حسین حکمت\*

\* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، گروه آناتومی

### خلاصه

در تحقیق حاضر آثار اولتراسوند درمانی بر ویژگیهای سلولی و ضخامت بافت اسکار پوست خرگوش بررسی شد.

در ۷ رأس خرگوش نر تحت بیهوشی عمومی و در شرایط استریل ۴ برش با ضخامت کامل بطول ۳cm در پوست پشت آنها ایجاد شد. برش اول برای اولتراسوند درمانی، دومی برای اولتراسوند درمانی خاموش، سومی برای آغشته کردن زخم با ژله و چهارمی برای درمان با بتادین در نظر گرفته شدند. روز عمل جراحی روز صفر محسوب می‌شود و روز بعد روز یک و الی آخر ویژگیهای اولتراسوند درمانی از اینقرار بود:

1 MHz & Pulsed & 2:8 & 0.5 watt/cm<sup>2</sup> & 4 min

اولتراسوند درمانی و سایر درمانها از بعد از عمل جراحی بطور روزانه انجام شدند. در روز سی بمنظور بررسی بافت اسکار بعد از کشتن خرگوشها با اتر نمونه برداری بافتی بعمل آمد و مراحل کار عملی بافت شناسی عمومی بر روی نمونه‌ها انجام شد و برشها با رنگ همتوکسلین و ائوزین رنگ شدند. با استفاده از قطعه‌های چشمی مخصوص سلولهای فیبروبلاست و ماکروفاز و نوتروفیل و اندوتلیوم عروق شمارش شدند و ضخامت بافت اسکار و اپیدرم جدید اندازه گرفته شدند. داده‌ها به روش آنالیز واریانس ارزیابی شدند.

بالاترین میانگین فیبروبلاست و ماکروفاز و نوتروفیل متعلق به گروه پلاسبو و بالاترین میانگین اندوتلیوم عروق و ضخامت بافت اسکار متعلق به گروه ژله و بالاترین میانگین اپیدرم جدید متعلق به گروه اولتراسوند درمانی بود. هیچکدام از تغییرات فوق بین گروههای تحقیق از نظر آماری معنی‌دار نبودند.

اولتراسوند درمانی طبق برنامه انجام شده در تحقیق حاضر تأثیر مثبت بر بافت اسکار حاصل از زخم برش پوست خرگوش نداشت.

واژگان کلیدی: اولتراسوند درمانی، شمارش سلولی، اسکار پوست، خرگوش

### مقدمه

اسکار (تقسیم‌بندی کرده‌اند (۱). این فازها با یکدیگر همپوشانی دارند. در حقیقت در فاز بلوغ اپیدرم جدید، فیبروبلاستها، عروق تازه تشکیل شده و تجدید ساختار ماده خارج سلولی کمی بعد از ظهور این ساختمانها شروع می‌شود و در ماههای بعد ادامه می‌یابد (۲).

التیام زخمهای برشی پوست فرآیند دینامیک و پیچیده‌ای است که بوسیله فعالیت سلولهای مختلف که در نهایت هدف واحدی را دنبال می‌کند، متجلی می‌شود. فرآیند التیام را به فازهای التهاب، تکثیر سلولی و سترکلاژن (بافت گرانولاسیون) و بدنال آنها فاز تجدید ساختار زخم و بلوغ کلاژن (بافت

از آنجا که عدم درمان اسکار بدلیل ایجاد محدودیت حرکتی بر رفتار اجتماعی، اعتماد به نفس و فعالیت‌های روزانه بیمار لطمات جبران ناپذیری وارد می‌کند (۱۵) و با ملاحظه تعداد اندک تحقیقات کنترل شده راجع به اثرات اولتراسوند درمانی بر روی بافت اسکار و فاز تجدید ساختار فرآیند التیام و اختلاف نظرات مشخص موجود در این تحقیقات و با توجه به آثار مثبتی که به اولتراسوند نسبت داده‌اند (۶-۴) در مقاله حاضر آثار اولتراسوند درمانی بر اسکار حاصل از زخم‌برشی پوست خرگوش بعد از گذشت سی روز از ایجاد آن بوسیله معیارهای ارزیابی: ۱- شمارش سلولی که در برگرفته شمارش سلولهای فیبروبلاست و ماکروفاژ و نوتروفیل و اندوتلیوم عروق بود و ۲- اندازه‌گیری ضخامت بافت اسکار و ضخامت اپیدرم جدید بررسی گردید.

### مواد و روشها

در این تحقیق از ۷ راس خرگوشهای نر نژاد DUTCH که حدود ۱/۵ kg وزن و حدود ۵ ماه سن داشتند و در انستیتو پاستور ایران تکثیر شدند استفاده شد و همگی در یک حیوانخانه که درجه حرارت آن بین ۲۰ الی ۲۳ درجه سانتیگراد و ۱۲ ساعت روشن و ۱۲ ساعت تاریک بود بسر بردند. به منظور ایجاد زخم‌برشی روز قبل از جراحی موی پوست پشت خرگوش تراشیده شد و با بتادین (Povidine Iodine) محصول شرکت سهامی تولید داروی ایران ضد عفونی شد. در روز جراحی جهت بیهوش کردن، بر مبنای وزن حیوان داروهای Ketamine Hydrochloride با نام تجارتي Calypsol محصول شرکت مجارستان Gedeon Richter ادیازپام محصول شرکت کیمداری

قسمت اعظم تحقیقاتی که در زمینه التیام زخم انجام می‌شود بر روی تسریع فرآیند التیام متمرکز شده است تا قدرت کشش طبیعی کسب شده و از ایجاد اسکار هیپرتروفی و کلونید ممانعت بعمل آید. نتایج تحقیقات نشان داده است اختلالات فرآیند التیام در مقایسه با عفونت، موجب مرگ و میر بیشتر بیماران شده است (۳). اولتراسوند درمانی یکی از مدالیت‌های طب فیزیکی است که توسط متخصصین فیزیوتراپی و طب فیزیکی به منظور کاهش درد و افزایش جریان خون و افزایش تحرک بافتی بکار می‌رود (۶-۴). پژوهشهای انجام شده در خصوص آثار اولتراسوند درمانی بر فرآیند التیام زخم نشان داده است که اولتراسوند در فاز التهاب ممکن است موجب کاهش ادم (۷)، و تشدید دگرانولاسیون ماست سلها (۸ و ۴) و افزایش جریان خون در رگزیایی که بطور ثانویه باعث انتقال اکسیژن و ماکروفاژهای بیشتر به محل زخم می‌گردد شود (۱۰ و ۹) و در فاز تکثیر رسوب کلاژن و در فاز بلوغ تجدید ساختار بافت اسکار را تحریک نماید (۱۱) و ۸ و ۴). اما اکثر تحقیقات آزمایشگاهی انجام شده مربوط به فازهای التهاب و تکثیر سلولی فرآیند بوده است و پژوهشهای اندکی راجع به آثار اولتراسوند درمانی بر بافت اسکار چاپ شده است. Fieldhouse C در سال ۱۹۷۹ بدنبال درمان اسکار ناشی از اپی‌زیوتومی بیماران به وسیله اولتراسوند اعلام نمود که اولتراسوند درمانی موجب کاهش درد شده و بافت ترمیمی قویتری را باعث می‌شود (۱۲). ter Haar G در سال ۱۹۹۹ در مقاله مروری خود اعلام کرد اسکار درمان شده بوسیله اولتراسوند ممکن است قویتر و ارتجاعی‌تر از بافت اسکار طبیعی شود (۱۳). اما در تحقیقی که نگارندگان این مقاله انجام دادند از تأثیر مثبت اولتراسوند درمانی بر قدرت کشش بافت اسکار حمایت نگردید (۱۴).

ایران و Pentzaocine محصول شرکت سهامی تولید داروی ایران بصورت داخل عضلانی تزریق شدند. دوزکتابامین ۳۵ mg/kg، و دیسکازم ۳ mg/kg و پنتازوسین ۰/۴ mg/kg بود. به منظور ایجاد برش ابتدا موضع با بتادین ضد عفونی و چند دقیقه بعد چهار خط طولی به اندازه حدود ۳cm به ترتیب زیر با بتادین کشیده شد. دو خط پایین تر از زاویه تحتانی اسکاپولاهای راست و چپ و دو خط دیگر بالای ستیغ های خاصره راست و چپ. در حین ترسیم این خطوط دقت لازم بر روی سیستم وریدهای سطحی پوست بعمل آمد تا ورید طولی اصلی ناحیه آسیب نبیند و در مجموع حداقل ضایعه به عروق وارد شود. برش بوسیله تیغ بیستوری نمره ۲۴ ایجاد شد. طول برش حدود ۳ cm و در برگیرنده ضخامت کامل پوست و عضله جلدی (Panniculus carnosus) بود. به منظور حفظ فاصله حدود ۲ mm بین دو لبه برش در همه زخمها، دو بخیه جدا بوسیله نخ بخیه سیلک CURVED REVERSE CUTTING سه صفر ساخت سویا، ایران زده می شد. روز ایجاد برش روز صفر محسوب می شد. یک زخم برای گروه اولتراسوند درمانی و سه زخم دیگر برای گروههای شاهد بترتیب ذیل در نظر گرفته شدند. دو زخم دمی یکی بطور تصادفی برای گروه اولتراسوند درمانی و دیگری برای اولتراسوند درمانی خاموش (Placebo) تعیین شدند. دو زخم سری یکی بطور تصادفی برای تیمار زخم با بتادین و دیگری برای آغشتگی با ژله در نظر گرفته شدند. در گروه اولتراسوند درمانی بلافاصله بعد از ایجاد برش و در روزهای یک الی سی برنامه اولتراسوند درمانی یکبار در روز بشرح ذیل اجرا شد. حیوان را در نگهدارنده بیحرکت کرده و بر روی برش جراحی و پوست اطراف آن ژله مخصوص اکوکاردیوگرافی از راه مری محصول

شرکت فرآیند نیک ایران، پخش کرده و اولتراسوند درمانی بوسیله دستگاه هلندی SONOPULS ENRAF NONIUS با خصوصیات 1MHz & pulsed 2:8 0.5 watt/cm<sup>2</sup> & 4 min با طی مسیرهای طولی رفت و برگشت سردرمانی به ناحیه تابش شد. لازم به یاد آوری است که دستگاه پیش از انجام تحقیق بوسیله شرکت وارد کننده و سرویس کننده، کالیبره شد. در گروه پلاسبو برنامه ای که برای اولتراسوند درمانی شرح داده شد دقیقاً اجرا شد و تنها تفاوت آن خاموشی دستگاه بود. در گروه ژله روزی یکبار سطح زخم و پوست اطراف آن با ژله آغشته و بعد از ۴ دقیقه با گاز استریل برداشته شد و در گروه بتادین، در محل برش بتادین ریخته شد. بعد از اینکه درمانها بر روی برشها اجرا گردید سطح آنها بوسیله گاز روغنی و گاز کتانی استریل پوشانده می شد و به منظور حفظ پانسمانها و محافظت برشها از آلودگی احتمالی، تنه حیوان بوسیله لباس برزنتی مخصوص پوشانده شد. خرگوشها در طی دوره تحقیق در قفسهای انفرادی تمیز نگهداری و دسترسی آزاد به آب و خوراک خرگوش داشته، کاه و هویج مصرف می کردند. در روز سی، خرگوشها به روش استنشاق اتر در فضای بسته کشته، از بافت اسکار و پوست مجاور نمونه تهیه و درون محلول ثابت کننده نوترال بافر فرمالین گذاشته شد. مراحل پردازش بافت و قالبگیری با پارافین و موم انجام گرفته و بوسیله میکروتوم آلمانی با تیغه ثابت Leitz برشهایی به ضخامت ۶ میکرومتر تهیه و برشها با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. به منظور شمارش سلولی از قطعه چشمی (Eye Piece) هلندی Mic 0078-19 Scale With 400 Squares Euromex Microscopes که بر روی میکروسکوپ نوری سوار شد استفاده گردید. سلولهای فیروپلاست، ماکروفاژ، نوتروفیل و اندوتلیوم عروق بافت اسکار شمارش

بالاترین میانگین بافت اسکار متعلق به گروه ژله و اپیدرم جدید متعلق به گروه اولتراسوند درمانی است. در هیچ یک از دو متغیر فوق اختلاف معنی دار آماری بین گروههای تحقیق مشاهده نشد.

**جدول ۱ - متغیرهای مورد بررسی در گروههای تحقیق**

متغیر مورد بررسی		فیبروبلاست		ماکروفاژ		نوتروفیل		اندوتلیوم عروق	
		بررسی		گروه					
اولتراسوند	۴۲/۴ ± ۱۹۸/۶	۳۲/۳ ± ۰/۸	۰/۲ ± ۰/۳	۲/۱ ± ۱/۸	پلاسیو	۲۲/۰/۸ ± ۴۴/۴	۳/۳ ± ۱/۹	۱ ± ۱/۳	۱/۱ ± ۰/۸
درمانی	۱۹۱/۵ ± ۳۷/۹	۱/۳ ± ۰/۱	۰/۷ ± ۱	۲/۲ ± ۱/۷	ژله	۱۵۴/۹ ± ۳۷/۸	۱/۲ ± ۰/۷	۰/۷ ± ۱	۲/۲ ± ۱/۷
					بتادین		۱/۳ ± ۰/۱	۰/۱ ± ۱	۰/۴ ± ۰/۴

داده‌ها بصورت Mean ± SD ارائه شده‌اند.

با انجام آنالیز واریانس اختلاف معنی دار آماری بین گروههای تحقیق مشاهده نشد.

**جدول ۲ - ضخامت‌های اندازه‌گیری شده در گروههای تحقیق**

ضخامت	اسکار (mm)	اپیدرم جدید (µm)	گروه
اولتراسوند درمانی	۲/۳ ± ۰/۸	۶۹/۴ ± ۱۹/۳	
پلاسیو	۲/۴ ± ۰/۶	۶۷/۲ ± ۱۳/۹	
ژله	۲/۸ ± ۰/۴	۶۹/۲ ± ۲۳/۷	
بتادین	۲/۴ ± ۰/۹	۶۵ ± ۱۳/۷	

داده‌ها بصورت Mean ± SD ارائه شده‌اند.

با انجام آنالیز واریانس اختلاف معنی دار آماری بین گروههای تحقیق مشاهده نشد.

**بحث**

کاربرد اولتراسوند درمانی طبق برنامه اعمال شده در تحقیق حاضر، موجب کمتر شدن تعداد فیبروبلاستها ، اندوتلیوم عروق و ضخامت بافت اسکار بترتیب در مقایسه با گروههای پلاسیو ، ژله و سایر گروهها و افزایش ضخامت اپیدرم جدید در مقایسه با سایر گروهها شد . همچنین تعداد نوتروفیلها نسبت به سایر گروهها (باستثنای گروه بتادین) کاهش یافت و تعداد ماکروفاژها نسبت به سایر گروهها (باستثنای

شدند و مساحت ناحیه شمارش شده برای هر نوع سلول و در هر نمونه و با بزرگنمایی 400x میکروسکوپ نوری ۶۲۵۰۰۰µm2 بود. به منظور اندازه‌گیری ضخامت از قطعه چشمی ساخت شرکت فوق‌الذکر با مشخصات MIC 1143, HWF 10x EYE PIECE 10/100 ADJUSTABLE استفاده شده با بزرگنمایی 40x میکروسکوپ نوری ضخامت پنج نقطه از بافت اسکار که در فاصله‌های مساوی از یکدیگر قرار داشتند مشخص و میانگین آنها محاسبه و به عدد ۴۰ تقسیم شده، واحد اندازه‌گیری به میلی‌متر تبدیل یافت. به منظور اندازه‌گیری ضخامت اپیدرم جدید با بزرگنمایی 400x میکروسکوپ نوری ضخامت ۵ نقطه اپیدرم جدید که در فاصله مساوی از یکدیگر قرار داشتند مشخص و سپس میانگین آنها محاسبه گردید. واحد اندازه‌گیری میکرومتر بود. با توجه به اینکه گروههای مورد بررسی از دو بیشتر بودند از روش آماری آنالیز واریانس استفاده و P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار محسوب شد.

**یافته‌ها**

در روز دوم در محل برش پوسته زخم تشکیل شده بود و در روز دهم بخیه‌ها کشیده شدند. یک رأس از خرگوشها پیش از رسیدن به مرحله نمونه‌برداری بدلیل نامعلومی از بین رفت.

جدول ۱ میانگین و انحراف معیار تعداد سلولهای فیبروبلاست ، ماکروفاژ ، نوتروفیل و اندوتلیوم عروق گروههای تحقیق را نشان می‌دهد. بالاترین میانگین ۳ سلول اول متعلق به گروه پلاسیو و سلول چهارم متعلق به گروه ژله است. در هیچکدام از متغیرهای فوق اختلاف معنی دار آماری بین گروههای تحقیق مشاهده نشد. جدول ۲ میانگین و انحراف معیار ضخامت بافت اسکار (mm) و اپیدرم جدید (µm) گروههای تحقیق را نشان می‌دهد.

چهار برابر در اندکس میتوزی در سلولهایی که تابش را تحمل کردند و ۳) افزایش ۸ برابر در سرگردانی کروموزومی و فقدان دوکهای میتوز. محققان اعلام کردند احتمال این وجود دارد که در شرایط این تحقیق، سلولها نسبت به شرایط بالینی دوز بیشتری از اولتراسوند دریافت کرده باشند. (۱۱)

نتایج تحقیق Miller DL و همکاران در سال ۱۹۹۵ نشان داد اولتراسوند در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) علاوه بر تولید  $H_2O_2$  بوسیله کایتاسیون، از طریق سایر تأثیرات صوتی - شیمیایی و یا جنبه‌های دیگر عمل مستقیم کایتاسیون، موجب صدمه به DNA در سلولهایی می‌شود که درمان با اولتراسوند را تحمل کردند. محققان اعلام کردند اظهار نظر راجع به تأثیرات بالقوه کایتاسیون از جنبه ملاحظات ایمنی و کارآیی مثبت برای استفاده‌های بالینی اولتراسوند که توسط برخی منابع توصیه شده است، مشکل می‌باشد. (۱۸)

بعنوان نتیجه‌گیری می‌توان بیان داشت که اولتراسوند درمانی طبق برنامه انجام شده در تحقیق حاضر، تأثیر مثبت بر بافت اسکار حاصل از زخم برش پوست خرگوش نداشت.

### تشکر و قدردانی

نگارندگان این مقاله از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه متبوع که بودجه این تحقیق را تأمین کردند (قرارداد شماره ۵۶۷۱) و از مسئولین دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس و جهاد دانشگاهی علوم پزشکی ایران که تجهیزات آزمایشگاهی را در اختیار نگارندگان این مقاله قرار دادند و سرکار خانم قاسمی که در مراحل عملی بافت‌شناسی کمک کردند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

گروه پلاسبو) افزایش یافت ولی هیچیک از تغییرات فوق از نظر آماری معنی‌دار نبودند. مفهوم تغییرات فوق عدم تأثیر مثبت اولتراسوند درمانی طبق برنامه اعمال شده در تحقیق حاضر، بر ویژگیهای سلولی و ضخامت بافتی در اسکار حاصل از زخم برشی در خرگوش می‌باشد. در حالی که در صورت حصول نتایج مثبت از دیدگاه بافت‌شناسی، می‌بایست با یک بافت اسکار با فیروبلاستهای کمتر در مقایسه با سایر گروهها که از نظر آماری هم معنی‌دار بود، مواجه می‌شدیم. (۱۶) دلیل احتمالی نتایج تحقیق حاضر ممکن است برخی آثار سوئی باشد که دو گروه از محققان به امواج اولتراسوند نسبت داده‌اند. (۱۷ و ۱۸) در نتیجه، این عامل فیزیکی نتوانسته است موجب تسریع بخشی معنی‌دار فرآیند التیام زخم گردد. بنابراین بافت التیامی در این گروه نتوانسته است ویژگی‌های فاز بلوغ فرآیند التیام زخم و بافت اسکار (کاهش معنی‌دار تعداد سلولها و ضخامت بافت) را در مقایسه با سایر گروههای تحقیق نشان دهد.

مطالعه جدول شماره یک نشان می‌دهد که در هر چهار گروه تحقیق تعداد ماکروفاژها، نوتروفیلها و اندوتلیوم عروق بسیار کمتر از تعداد فیروبلاستها می‌باشد که با توجه به اینکه نمونه‌های مورد مطالعه در فاز تجدید ساختار قرار دارند و حالت التهابی فروکش کرده است، طبیعی است.

موارد ذیل نتایج تحقیقاتی است که آثار سوء اولتراسوند را نشان داده‌اند:

De Deyie PG & Kirsh-Volders M سال ۱۹۹۵ اولتراسوند را با فرکانس ۱MHz و مد ضربانی به فیروبلاستهای انسانی در محیط کشت سه مدتهای صفر، سی، شصت و نود ثانیه تاباندند و تغییرات ذیل را در آنها مشاهده کردند: ۱) کاهش وابسته به زمان در تعداد سلولهای بهبود یافته، ۲) افزایش

REFERENCES:

1. Brown GL, Curtsinger LJ, White Mitchell RO, et al. Acceleration of tensile strength of incisions treated with EGF and TGF- $\beta$ . *Arch Surg*. 1988; 208 (6): 788-794.
2. Clark RAF. *Biology of dermal wound repair*. *Dermatologic Clin*. 1993; 11(4): 647-666.
3. Peacock EE, Cohen IK. *Wound Healing in Mc Carthy, JC May, JW, Littler JW. (Eds), Plastic Surgery, Vol 1, Philadelphia: WB Saunders, 1990; p: 161-185.*
4. Dyson M, Pond JB, Joseph J, et al. The stimulation of tissue regeneration by means of ultrasound. *Clin Sci*, 1986; 35: 273-285.
5. Lehmann JF. *Therapeutic heat and cold*, Baltimore, Williams & Wilkins, 1990.
6. Ziskin MC, Diarmid TM, Michlovitz SL. *Therapeutic ultrasound in : Michlovitz SL (ed), Thermal agents in rehabilitation. Philadelphia FA Davis Company, 1986; p: 134-166.*
7. Fyfe MC, Chahl LA. The effects of ultrasound on experimental oedema in rats. *Ultrasound Med Biol*. 1980; 6: 107-111.
8. Dyson M, Suckling J. Stimulation of tissue repair by ultrasound : A survey of the mechanisms involved. *Physiotherapy*, 1972; 64: 105-108.
9. Abramson DI, Burnett C, Bell Y, et al. Changes in blood flow oxygen uptake and tissue temperature produced by therapeutic physical agent: I Effect of ultrasound. *Am J Phys Med*, 1980; 39: 51-62.
10. Young SR, Dyson M. The effect of therapeutic ultrasound on angiogenesis, *Ultrasound Med Biol*, 1990; 16 (3) : 261-269 .
11. Harvey W, Dyson M, Pond JB, et al. The stimulation of protein synthesis in human fibroblast by therapeutic ultrasound. *Rheumatol Rehabil*, 1975; 14: 237.
12. Fieldhouse C. Ultrasound for relief of pain full episiotomy scars. *Physiotherapy*, 1979; 65(7): 217.
13. Ter Haar G. Therapeutic ultrasound. *Eur J Ultrasound*, 1999; 9: 3-9.
- ۱۴- رضوی ن، بیات م، حسینی ا و همکاران. بررسی اثر اولتراسوند درمانی بر التیام زخم باز پوست خرگوش از دیدگاه قدرت کشش، پژوهنده، ۱۳۷۵ سال اول، شماره ۲: ۲۳.
15. Alster TS, Nanni CA Pulsed dye laser treatment of hypertrophic burn scars, *Plast Reconstr Surg*, 1992. ,102: 2190-2194.
16. Dyson M, Young S, Pendle CL, et al. Comparison of the effects of moist and dry conditions on dermal repair, *J Invest Dermatol*, 1982; 91: 434-439.
17. De Deyne PG, Kirsh - Volders M. In vitro effects of therapeutic ultrasound on the nucleus of human fibroblasts. *Ultrasound Med Biol*, 1995; 757: 629-34.
18. Miller DL, Thomas RM, Buschbom RL. Comet assay reveals DNA strand breaks induced by ultrasonic cavitation in vitro. *Ultrasound Med Biol*, 1995; 21(6): 1841-48.