

مطالعه بافت‌شناسی اثرات اولتراسوند با فرکانس ۱MHz بر بافت استخوانی پس از ایجاد ضایعه ناقص استخوانی در خرگوش

سیامک بشردوست M.Sc.*[‡]، سعید کاظمی Ph.D.*[‡]، عبدالحسین شاهرودی M.Sc.*[‡]، افسانه آذری M.Sc.*[‡]

حسین ایمانی Ph.D.*[‡]، محمود جبل عاملی Ph.D.*[‡]

‡ جهاد دانشگاهی علوم پزشکی ایران، گروه پژوهشی فیزیوتراپی

* پژوهشکده رویان، مرکز تحقیقات علوم سلولی و ناباروری

‡ دانشگاه بقیه الله، گروه علوم تشریح

* دانشگاه علوم پزشکی ایران، گروه ارتوپدی

‡ آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۴۴۷-۱۶۳۱۵، جهاد دانشگاهی علوم پزشکی ایران، گروه پژوهشی فیزیوتراپی

چکیده

هدف: در این پژوهش تاثیر اولتراسوند با فرکانس ۱MHz بر روند التیام استخوان خرگوش از نظر رتبه‌ای - توصیفی و بافت‌شناسی توصیفی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها: این بررسی روی ۴۰ سر خرگوش آزمایشگاهی نر از نژاد Dutch - Poland با سن ۴ تا ۶ ماه که ۲ کیلوگرم وزن داشتند، انجام شد. هر خرگوش در بیهوشی کامل و با شرایط استریل تحت عمل جراحی نقص جزئی استخوانی تی‌بیا در هر دو اندام عقبی قرار می‌گرفت. اندام عقبی سمت راست به عنوان اندام آزمایش و اندام عقبی سمت چپ به عنوان اندام کنترل در نظر گرفته می‌شد. در واقع هر حیوان کنترل خود محسوب می‌گردید. حیوانات به روش کاملاً تصادفی به ۴ گروه ۱۰ سری برای هفته‌های اول تا چهارم تقسیم می‌شدند. از روز اول پس از جراحی هر یک از حیوانات علاوه بر درمان‌های عادی به صورت روزانه تحت اولتراسوند تراپی با مشخصات فرکانس ۱MHz، Pulse ۱:۳، $1\text{w}/\text{cm}^2$ به مدت ۵ دقیقه قرار می‌گرفتند. پس از طی دوره‌های زمانی ذکر شده حیوانات با استنشاق اتر در فضای بسته از بین می‌رفتند. جهت ارزیابی بافت‌شناسی نمونه تهیه شده از محل نقص استخوانی پس از ثبوت، دکلسیفیکاسیون و پردازش بافتی در پارافین قالبگیری شده و برشهایی به ضخامت ۷ میکرون از محل ضایعه تهیه می‌گردید. برشها به روش همانوکسیلین - ائوزین رنگ آمیزی سپس از دو روش توصیفی و کمی (میانگین رتبه‌ای - توصیفی) کال استخوانی برای ارزیابی استفاده می‌شد.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که اولتراسوند تراپی با فرکانس ۱MHz باعث تسریع روند التیام استخوان می‌گردد. میانگین رتبه‌ای - توصیفی کال استخوانی در اندام آزمایش در روز ۲۸ پس از جراحی افزایش معنی‌داری را نسبت به اندام کنترل نشان می‌دهد ($P < 0.05$). اگر چه در سایر موارد این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نیست ولی روند افزایش رو به رشد ترمیم استخوان در هفته‌های تحت بررسی در اندام آزمایش نسبت به اندام کنترل محسوس است.

نتیجه‌گیری: اولتراسوند تراپی با فرکانس ۱MHz موجب تسریع روند التیام استخوان پس از ایجاد نقص جزئی استخوانی در خرگوش می‌گردد.

کل واژگان: اولتراسوند، ترمیم استخوان، خرگوش

مقدمه

مطرح شده نظرات متفاوتی در مورد فرکانس و زمان مناسب درمان وجود دارد. در این تحقیق با توجه به نتایج مثبت ارائه شده در فرکانس پایین، با انتخاب این فرکانس سعی گردید ابتدا به کمک روشهای ارزیابی بافت‌شناسی توصیفی و کمی میزان تاثیر اولتراسوند درمانی در ترمیم استخوان مشخص و سپس در زمان مناسب استفاده از اولتراسوند تراپی بررسی گردد.

مواد و روشها

پژوهش حاضر به روش تجربی کلاسیک بر روی ۴۰ سر خرگوش نر از نژاد Dutch-Poland تهیه شده از مؤسسه تحقیقاتی رازی با ۶-۴ ماه سن و ۲ کیلوگرم وزن، انجام شد. تمام حیوانات در محیط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲۰ الی ۲۳ درجه سانتیگراد، نگهداری می‌شدند. هر خرگوش در یک قفس انفرادی تمیز با دسترسی آزاد به آب و خوراک مخصوص نگهداری می‌گردید. حیوانات برای بررسی در چهار هفته به صورت تصادفی تقسیم شدند.

در مرحله جراحی، هر حیوان با بیهوشی عمومی تحت عمل جراحی Partial Osteotomy به روش Dental Hole در استخوان تی‌بیای هر دو اندام عقبی قرار می‌گرفت. این تکنیک جراحی به دلیل یکسان بودن میزان ضایعه و به حداقل رساندن صدمات بافت نرم توسط بسیاری از محققین به عنوان روش انتخابی جراحی مورد استفاده قرار گرفته است. (۱۹، ۱۸، ۱۷، ۶). به منظور ایجاد بیهوشی عمومی از دیسازپام (ساخت شرکت کیبیداروی ایران) به میزان ۴mg/kg و کتامین هیدروکلراید (با نام تجاری Calypsol محصول شرکت Liedeon Richter مجارستان) به میزان ۵۰mg/kg که به صورت تزریق داخل عضلانی، تحت شرایط استریل استفاده گردید (۲۰). در حین عمل جراحی، در صورت نیاز به کنترل بیهوشی از اتر استفاده می‌گردید. برای جلوگیری از عفونت، آنتی بیوتیک تراپی به دو شیوه عمومی و موضعی انجام گرفت. در شیوه عمومی، پنی سیلین پروکایین ۸۰۰۰۰۰۰ (تولید شرکت جابرین حیوان) به میزان ۴۰۰۰۰ unit/kg به صورت داخل عضلانی ۶ ساعت قبل از عمل جراحی و در حین عمل به حیوان تزریق و در شیوه موضعی در محل برش پوست از پماد جنتامایسین (محصول شرکت تولیداروی ایران) همراه با پانسمان استفاده می‌گردید. در مرحله جراحی حیوان در بیهوشی کامل از پشت بر روی تخت جراحی قرار گرفته و اندامهای حرکتی حیوان به وسیله ریسمان به گیره‌های چهارگوشه تخت ثابت می‌گردید. در مرحله بعد تحت شرایط استریل برشی به طول ۲ سانتیمتر به وسیله تیغ جراحی شماره ۱۸ در پوست و فاسیای عمقی قسمت میانی سطح داخلی استخوان تی‌بیای حیوان، ۴ تا ۶ سانتیمتر پائین‌تر از Tibial Tubercle ایجاد می‌گردید. سپس با کمک یک پیک مته فولادی استریل به قطر ۲ میلی‌متر که به یک دریل برقی متصل بود یک نقص استخوان جزئی تا عمق کانال میانی در وسط سطح داخلی ته استخوان، ۵ سانتیمتر پائینتر از Tibial Tubercle ایجاد می‌گردید. در مرحله بعد فاسیای عمقی به وسیله نخ جذبی ۳/۰ (ساخت شرکت آلمانی Braun) و پوست با نخ سیلک reverse cutting (ساخت شرکت سوپا ایران) به روش بخیه منقطع دوخته

ترمیم استخوان و شکستگی‌ها یکی از شگفت‌انگیزترین فعالیتهای هموستاتیک بدن است (۱). به دنبال وقوع شکستگی مراحل التهاب، ترمیم و تجدید ساختار به طور متوالی انجام گرفته تا پیوستگی استخوان صدمه دیده تجدید گردد (۲). سرعت این فرآیند آهسته و موجب تداوم ناتوانی بیمار می‌شود که خود باعث مشکلات ناشی از شکستگی و تداوم درمان خواهد گردید (۳). این نکته محققین را در جستجوی روشهای گوناگون درمانی برای تسریع فرآیند التیام استخوان ترغیب نمود (۴).

کاتسلی و همکاران (۵) در سال ۱۹۹۰ اولتراسوند تراپی با فرکانس ۳MHz را در تسریع ترمیم استخوان از دید بافت‌شناسی توصیفی تنها در مراحل اولیه موثر قلمداد کردند. این پژوهشگران استفاده از این فرکانس را در مراحل نهایی ترمیم استخوان زیان آور و نامناسب دانستند.

Wang و همکاران (۶) در سال ۱۹۹۴ فرکانسهای ۱/۵MHz و ۵MHz اولتراسوند را در تسریع ترمیم استخوان مورد بررسی قرار داده و نتایج مثبت و موثری را گزارش نمودند. این پژوهشگران فرکانس ۱/۵MHz را در ترمیم استخوان موثرتر بیان کردند. Lin و همکاران (۷) در سال ۱۹۹۵ از اولتراسوند تراپی با فرکانس ۱/۵MHz در جذب ماده زمینه‌ای کمک کننده ترمیم DP-bioglass استفاده کردند. این پژوهشگران فرکانس یاد شده اولتراسوند تراپی را موجب تسریع جذب DP-bioglass از هفته سوم تا هفته ششم پس از جراحی دانستند. Tanzer و همکاران (۸) در سال ۱۹۹۶ فرکانس ۱/۵MHz را در تسریع ترمیم استخوان پس از ایجاد ضایعه استخوانی ناقص موثر قلمداد کردند. Yang و همکاران (۹) در سال ۱۹۹۶ با استفاده از فرکانس ۵MHz گزارش کردند: اگر چه این فرکانس در دو هفته تغییرات مثبتی را در جهت تسریع التیام ایجاد می‌کند ولی این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نیست. ادامه درمان با این فرکانس پس از دو هفته از نظر این محققین موجب ایجاد تغییرات منفی و کاهش سرعت التیام گزارش گردید. Zorlu و همکاران (۱۰) در سال ۱۹۹۸ استفاده از فرکانس ۱MHz اولتراسوند تراپی را در ترمیم استخوان از دید رادیولوژی و هیستوپاتولوژی در هفته دوم و سوم موثر گزارش کردند.

بررسی پایگاههای اطلاعاتی در چند سال اخیر نشان می‌دهد که تعداد تحقیقات مستمر در این زمینه بسیار افزایش یافته است. این نکته خود مؤید افزایش علاقه محققین به یافتن مطالب جدید در زمینه تاثیر اولتراسوند تراپی بر ترمیم استخوان می‌باشد. اگر چه در بسیاری از این تحقیقات اولتراسوند تراپی در تسریع ترمیم استخوان مؤثر قلمداد گردیده ولی هنوز اختلافاتی در مورد دوز پیشنهادی یا زمان مناسب اولتراسوند تراپی وجود دارد (۱۴-۱۱). از طرف دیگر برخی از محققین اگر چه تأثیرات مثبت اولتراسوند تراپی را پذیرفته‌اند ولی این نوع درمان را همیشه موثر نمی‌دانند (۱۵) و یا اینکه آن را کاملاً بی‌تأثیر قلمداد می‌کنند (۱۶).

در تحقیقاتی که نقش اولتراسوند تراپی در ترمیم استخوان موثر

پس از مطالعه لامهای رنگ آمیزی شده به روش هماتوکسیلین انوزین تنظیم گردید (جدول ۱). به این ترتیب درصد بافتهای تشکیل شده با استفاده از قطعه چشمی (Euromex Microscope Holland ۱۹-۷۸ Squares Mic) صفحه شطرنجی و با بزرگنمایی ۳۲ برابر میکروسکوپ نوری تعیین می گردید. صفحه شطرنجی مذکور کل منطقه ضایعه را در هنگام بررسی تحت پوشش قرار می داد.

جدول ۱: جدول رتبه بندی توصیفی وضعیت بافت تشکیل شده بر محل ضایعه استخوانی

رتبه	درصد بافت فیبروز و گرانولهای در صد استخوان	جسم خارجی	نابالغ
۱	۱۰۰	صفر	صفر
۲	۸۵	۱۵	۱۵
۳	۷۰	۲۰	۲۰
۴	۵۵	۴۵	۴۵
۵	۴۰	۶۰	۶۰
۶	۲۵	۷۵	۷۵
۷	۱۰	۹۰	۹۰
۸	صفر	۱۰۰	۱۰۰

در این روش خانه های اشغال شده توسط کال، استخوان نابالغ و مجموع بافت فیبروز و گرانولهای جسم خارجی به تفکیک شمارش می شد. سپس درصد استخوان نابالغ و رتبه توصیفی کال محاسبه می گردید. به عنوان مثال اگر کل کال ۶۰ خانه را اشغال می کرد و استخوان نابالغ ۳۶ خانه و بافت فیبروز و گرانولهای جسم خارجی ۲۴ خانه را اشغال می کردند. نحوه محاسبه درصد به این شکل بود:

در صد استخوان نابالغ $60 \times \frac{36}{60} = 36\%$
 در صد بافت فیبروز گرانولهای جسم خارجی $40 \times \frac{24}{60} = 16\%$
 با توجه به جدول ۱، این کال داری رتبه ۵ است. جهت مقایسه تغییرات مورد بررسی بین اندامهای کنترل طی هفته های تحت بررسی از آزمون Kruskal wallis استفاده و $\alpha = 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

در هیچ یک از حیوانات علایمی از عفونت، خونریزی و لخته خون در محل جراحی مشاهده نگردید. برشهای جراحی پوست تا روز هفتم کاملاً التیام یافته و در این روز تمام بخیه ها کشیده می شدند. طی نمونه برداری، میزان خونریزی بافت نرم در اندام آزمایش کمی بیشتر از اندام کنترل به نظر می رسید.

پس از جراحی هر دو اندام عقبی حیوان، محل جراحی پانسمان و روز عمل جراحی روز صفر محسوب می گردید. پانسمانها روزانه تا روز هفتم تعویض گردیده و روز هفتم بخیه ها کشیده می شدند. خرگوشها در طی چهار هفته در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ تحت بررسی قرار می گرفتند. تعداد خرگوش در نظر گرفته شده برای هر دوره بررسی ۱۰ سر بود. از روز اول پس از جراحی تا زمانهای تعیین شده، اندام آزمایش هر حیوان با اولتراسوند تیمار می شد. دستگاه مولد امواج اولتراسوند ساخت شرکت Shresbury انگلستان قبل از شروع آزمایش کالیبره شد. جهت اولتراسوند درمانی از فرکانس ۱MHz، نوع Pulse با Duty Cycle = ۱:۳ استفاده گردید. شدت مورد استفاده $1w/cm^2$ / ۰ به مدت ۵ دقیقه بود که به صورت روزانه بر روی اندام عقبی آزمایش (اندام سمت چپ) اعمال می گردید. قبل و بعد از اولتراسوند درمانی موضع با الکل ۷۰ درجه تمیز می شد. در اندام عقبی سمت مقابل (اندام سمت راست) تمام موارد، به غیر از اولتراسوند درمانی انجام می گردید. این اندام به عنوان اندام کنترل در نظر گرفته شد یعنی در واقع هر حیوان کنترل خود محسوب گردید.

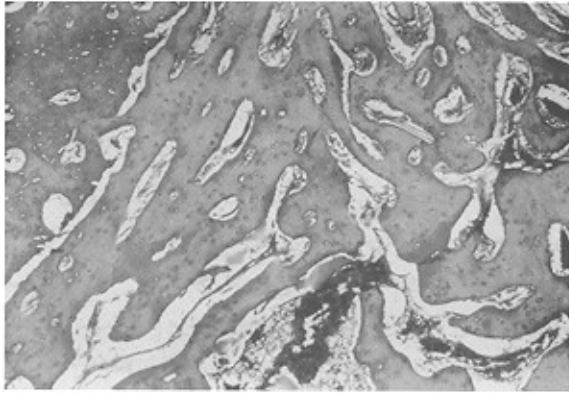
در انتهای هر دوره بررسی، خرگوشها به روش استنشاق انر در فضای بسته کشته شده و بلافاصله محل ضایعه و قسمت سالم مجاور از بدن حیوان جدا و نمونه ها ۴ روز در فرمالین قرار داده می شد. به منظور انجام دکلسیفیکاسیون نمونه ها به مدت چهار روز در اسیدنیتریک ۷ درصد قرار گرفته و پس از شستشو با آب جاری به مدت ۱۲ ساعت در محلول سولفات سدیم ۵ درصد قرار داده می شدند تا PH بافتی اصلاح گردد. در مرحله بعد نمونه تحت پردازش بافتی قرار گرفته و در پارافین مذاب قالبگیری می شد. سپس به وسیله میکروتوم با تیغه ثابت برشهای عرضی از محل ضایعه به ضخامت ۷ میکرون تهیه می گردید. به منظور باز شدن چروک برشها، برشها ابتدا بر روی الکل ۳۰ درجه منتقل شده و سپس در حمام آب گرم ۴۵ درجه سانتیگراد قرار می گرفتند. سپس بر روی لامهای آغشته به چسب آلومین منتقل شده و به مدت یک دقیقه بر روی صفحه داغی با حرارت ۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده می شدند و نهایتاً به مدت سی دقیقه در دستگاه Oven با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد قرار می گرفتند. برشها با هماتوکسیلین انوزین و نری کروم ماسون رنگ آمیزی شده و پس از ارزیابی بافت شناسی توصیفی به وسیله روشهای رتبه ای - توصیفی مطالعه می شدند. پس از ارزیابی توصیفی لامها برای تعیین رتبه توصیفی کال تشکیل شده در محل ضایعه با الگو قرار دادن معیار درجه بندی توصیفی Huo و همکاران (۲۱)، با توجه به تفاوتی موجود در مدل ایجاد ضایعه و دوره بررسی از جدول رتبه ای توصیفی استفاده شد (۲۲) این جدول

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار رتبه های توصیفی اندامهای کنترل و آزمایش بر روزهای تحت بررسی

گروهها	مشخصه های آماری	تعداد نمونه	میانگین تفاضلهای	انحراف معیار تفاضلهای	سطح معنی دار
آزمایش - کنترل روز ۲۸		۱۰	-۱/۱	۱/۳۷۰	$P < 0.05$
آزمایش - کنترل روز ۲۱		۱۰	-۱/۲	۰/۹۱۹	NS
آزمایش - کنترل روز ۱۴		۱۰	-۱/۴	۰/۸۴۳	NS
آزمایش - کنترل روز ۷		۱۰	+۱	۱/۳۷	NS

بیست و هشتم استخوان سازی اولیه به تدریج شکل گرفته و ساختمانهای شبه استخوان متراکم ایجاد گردیده بود (شکل ۴).

اگر چه آرایش سلولهای استئوبلاست در اندام کنترل با آرایش استخوان سالم و متراکم تفاوت داشت، ولی در اندام آزمایش ساختار نزدیکتری به استخوان متراکم وجود داشت.



شکل ۳. نمای هیستولوژیک برش عرضی از استخوان سازی جدید در ناحیه سوراخ ۲۱ روز پس از جراحی و اولتراسوندتراپی با فرکانس ۱MHz (H&E 40X).



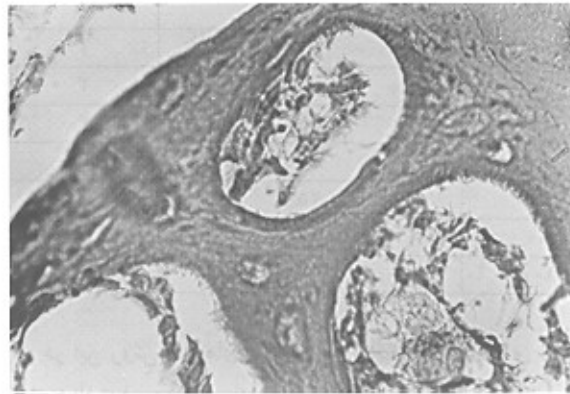
شکل ۴. نمای هیستولوژیک از نحوه آرایش سلولهای استخوانی تیغه‌های جدید ۲۸ روز پس از جراحی و اولتراسوندتراپی با فرکانس ۱MHz (H&E 400X).

بررسی نتایج آماری نشان می‌دهد که میانگین زنبه‌ای - توصیفی در دو اندام کنترل و آزمایش در روز هفتم تقریباً برابر بوده و در روزهای ۱۴، ۲۱، ۲۸ پس از جراحی در اندام آزمایش بیشتر از اندام کنترل است (جدول ۲). این نتایج که منطبق بر نتایج بافت‌شناسی توصیفی است نشان می‌دهد که اولتراسوند تراپی با فرکانس ۱MHz موجب تسریع روند التیام استخوان می‌گردد. اگر چه این تسریع تنها در مراحل نهایی التیام (روز ۲۸ پس از عمل جراحی) معنی‌دار گردیده است ($P < 0.05$).

بحث

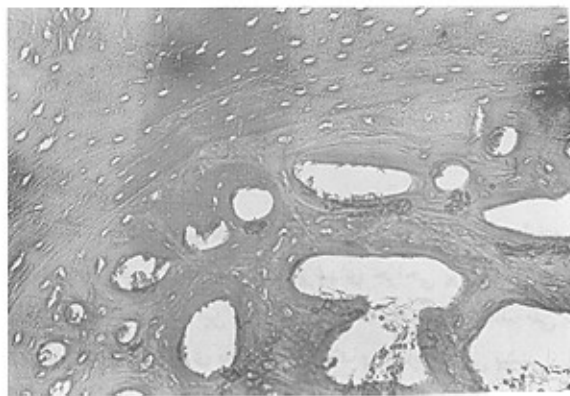
در این تحقیق به دنبال اولتراسوندتراپی با فرکانس ۱MHz بر نقص استخوانی جزئی در تی‌بیای خرگوش مشاهده گردید که روند التیام استخوان از نظر بافت‌شناسی توصیفی تسریع یافته و بافت استخوانی سریعتر مراحل ترمیم را پشت سر می‌گذارد. از نظر رتبه‌ای اگر چه در روزهای چهاردهم و بیست و یکم پس از جراحی میانگین رتبه‌ای -

از نظر بافت‌شناسی توصیفی، روز هفتم پس از جراحی در هر دو اندام کنترل و آزمایش محل ضایعه کاملاً مشخص بوده و بافت همبندی ناحیه حاوی سلولهای چربی، گلبولهای سفید و قرمز فراوان بود. بافت همبندی ناحیه سوراخ با بافت مغز قرمز استخوان از طرف داخل و بافت‌های همبندی دیگر از طرف خارج اتصال یافته بود به نحوی که وجه تمایزی برای جدا کردن آنها از یکدیگر وجود نداشت. فعالیت استخوان سازی در سطح داخل استخوان متراکم و درست در داخل اندوست به صورت تیغه‌های استخوانی نابالغ دیده می‌شد. در حالی که اندام آزمایش نسبت به اندام کنترل در کناره‌های این تیغه‌ها سلولهای استئوبلاست به وضوح دیده می‌شدند (شکل ۱).



شکل ۱. برش عرضی هیستولوژیک از استخوان ۷ روز پس از جراحی و اولتراسوندتراپی با فرکانس ۱MHz (H&E 400X) نحوه آرایش تیغه‌های استخوان اطراف عروق قابل توجه است.

در روز چهاردهم زمینه آئوزینوفیلی تیغه‌های نابالغ جدید در سطح استخوان متراکم نسبت به استخوان متراکم قبلی روشن‌تر و کم رنگ‌تر بوده و به صورت یک خط استخوان قبلی و جدید را متمایز می‌کرد. این خط تمایز در اندام آزمایش پررنگ‌تر به نظر می‌رسید (شکل ۲).



شکل ۲. برش عرضی هیستولوژیک از استخوان سازی جدید ۱۴ روز پس از جراحی و اولتراسوندتراپی با فرکانس ۱MHz مرز بین تیغه‌های استخوانی جدید و استخوان قدیمی به خوبی مشخص است (H&E 100X).

در روز بیست و یکم بخش اعظم ناحیه ضایعه توسط تیغه‌های استخوانی نابالغ پر شده بود در حالیکه ضخامت این تیغه‌ها در اندام آزمایش نسبت به اندام کنترل کمی بیشتر بود (شکل ۳).

یکی از مهمترین فرضیه‌های مطرح شده در این زمینه اثر مکانیکی مستقیم اولتراسوند است که باعث افزایش تولید و سنتز پروستاگلندین (PGE2) می‌گردد. پروستاگلندینها خود به عنوان عامل جذب و ساخت استخوان شناخته شده‌اند (۷). همچنین اولتراسوند با تاثیر روی غشاء سلول استخوانی باعث کاهش اثر هورمون پاراتیروئید و افزایش اثر کلسی‌تونین می‌گردد و به این ترتیب به تجدید ساختار استخوان کمک می‌کند (۸). این نکته روند افزایش تدریجی سرعت التیام استخوان را توجیه می‌کند. با توجه به بحث‌های مطرح شده به طور کلی می‌توان اثرات اولتراسوند تراپی را در ترمیم استخوان به شکل زیر تقسیم بندی کرد:

- در اثر فشار مکانیکی حبابهای کوچکی که حرکت نوسانی دارند نفوذپذیری غشاء تحت تاثیر قرار گرفته و باعث ایجاد تغییراتی در پروتئینها و یونها در داخل سلول می‌گردد. این تغییرات موجب تسریع روند التیام استخوان می‌گردند.

- فشار مکانیکی بر روی گیرنده‌های حساس به کشش اثر گذاشته و فعالیت داخل سلولی را افزایش می‌دهد. افزایش این فعالیت به توبه خود قادر به افزایش روند التیام استخوان است.

- گرمای ناشی از اولتراسوند تراپی که در متابولیسم سلول اثر دارد قادر است در رشد استخوان تاثیر گذار باشد. این خاصیت در استفاده از فرکانسهای بالا در مراحل میانی یا نهایی درمان واضحتر است.

- اثر مکانیکی اولتراسوند موجب تغییراتی در محل اتصال ماتریکس خارج سلولی سلولهای استخوانی شده و باعث ایجاد تغییراتی در داخل سلول می‌گردد. این خاصیت در استفاده از فرکانسهای پائینی مشخص تر است (۲۵).

اولتراسوند تراپی با شدت $1\text{w}/\text{cm}^2$ به نوع ۱:۳ Pulse و فرکانس ۱MHz موجب تسریع سرعت التیام استخوان و بهبود وضعیت بافتی در هفته‌های دوم، سوم و چهارم پس از جراحی نقص استخوانی جزئی می‌گردد. این افزایش در هفته چهارم پس از جراحی از نظر آماری معنی دار است ($P < 0.05$). لذا انجام پژوهش با شدت‌ها و فرکانسهای دیگر و همچنین استفاده از روشهای دیگر ارزیابی پیشنهاد می‌گردد. رسیدن به بهترین شدت و فرکانس درمانی برای کاهش مدت درمان شکستگی‌ها، باعث کاهش هزینه‌های درمان و مشکلات و عوارض ناشی از شکستگی‌ها می‌گردد.

تقدیر و تشکر

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی گروه پژوهشی فیزیوتراپی جهاد دانشگاهی علوم پزشکی ایران است. نویسندگان مقاله از همکاری اعضاء هیئت علمی و کارکنان این نهاد کمال تشکر را دارند.

توصیفی در اندام آزمایش بیشتر از میانگین رتبه‌ای - توصیفی در اندام کنترل بود ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. میانگین رتبه‌ای - توصیفی در روز بیست و هشتم پس از جراحی در اندام آزمایش افزایش معنی داری را نسبت به اندام کنترل نشان می‌داد ($P < 0.05$).

همانطور که می‌دانیم التهاب یک مرحله دینامیک است که طی آن انواع سلولها نظیر پلاکتها، ماست سلها، ماکروفاژها، نوتروفیلها و ... به محل ضایعه وارد و از آن خارج می‌شوند. اولتراسوند تراپی با تغییر نفوذ پذیری غشاء پلاکتی و افزایش نفوذ پذیری موجب آزاد شدن سروتونین می‌گردد که خود باعث تسریع روند التهاب می‌گردد (۲۳). همچنین تغییر نفوذپذیری باعث افزایش ترشح موادی نظیر هیستامین از ماست سلها گردیده (۴) و تولید فاکتورهای رشد توسط ماکروفاژها را افزایش می‌دهد (۲۴). این نکات می‌تواند افزایش تدریجی روند التیام استخوان تحت تاثیر اولتراسوند تراپی را توجیه کند.

همانطور که از نتایج تحقیق مشخص است این افزایش تدریجی در هفته چهارم پس از جراحی به حداکثر می‌رسد این نکته ناشی از تغییرات ترشح فاکتور ترمیم است که به نظر می‌رسد وابسته به فرکانس اولتراسوند تراپی است (۲۳). Yang و Dyson نشان دادند که اولتراسوند در فرکانسهای پائین موجب آزاد سازی فوری فاکتورهایی می‌گردد که از قبل در سیتوپلاسم وجود داشته‌اند در حالی که فرکانسهای بالای اولتراسوند باعث تحریک آزاد سازی فاکتورهایی جدیدی می‌گردد که طی فرآیند ترشحی طبیعی سلول آزاد می‌گردند (۲۳).

در واقع به نظر می‌رسد که هنگام استفاده از فرکانسهای بالا یک اثر تاخیری در ترمیم استخوان ایجاد می‌گردد در حالیکه فاکتورهای آزاد شده در فرکانسهای پائین اثرات قوی تر و فوری تری در تحریک رشد فیروبلاستها و استئوبلاستها دارند (۲۳). این نکته در واقع توجیه کننده علت استفاده از فرکانس ۱MHz در تحقیق حاضر است.

از طرف دیگر ثابت شده که اولتراسوند تراپی باعث افزایش خصوصیات فیزیکی کالوس می‌گردد. این کار از طریق افزایش پروتئینهای ماتریکس خارج سلولی در غضروف صورت می‌گیرد و به این ترتیب جایگزینی استخوان تسریع می‌یابد. بالطبع در مراحل پیشرفته تر التیام، استفاده از اولتراسوند تراپی به دلیل فوق موجب تسریع تبدیل غضروف به بافت همبندی استخوانی اولیه می‌گردد (۲۵). این نکته نتایج به دست آمده در هفته چهارم تحقیق را توجیه می‌کند.

از طرف دیگر اولتراسوند، ترشح مواد از ماست سلها را افزایش داده (۲۶) و تولید فاکتورهای رشد توسط ماکروفاژها را تحریک می‌کند (۲۴). هر دو نکته نیز موجب تسریع سرعت التیام استخوان می‌گردند.

References

- Mitchell A, Greenbaum DPM, Irvin O, Kanat DPM: Current concepts in bone healing. J of the American pediatric Medical Ass. 1993; 83: 123-129
- Gregg PJ, Stevens J, Wortlock PH: Fractures and dislocations, Principle of management. Blackwell

- Scientific. 1996; 71-78
- Yamada K: Biological effects of low power laser irradiation on clonal osteoblastic cells (MC3T3-E1). J of Japanese Orthopaedic Ass. 1991; 65: 101-112
- Trelles MA, Mayayo E: Bone fracture consolidates

- faster with power laser. *Laser in Surg & Med.* 1987; 71: 36-45
۵. کاظمی س، جمالی م، سلسبیلی ن، بشر دوست س: بررسی تأثیر اولتراسوند درمانی در ترمیم استخوان خرگوش. نشریه علمی پژوهشی. فیض، سال چهارم، ۱۳، بهار ۷۹، صفحات ۳۵-۲۹
6. Wang SJ, Lewallen DG, Bolander MYS, Cho E: Low intensity ultrasound treatment increases strength in a rat femoral fracture model. *J Orthopaedic Research.* 1994; 12: 40-47
7. Lin FH, Lin CC, Lu CM, Liu HC: The effects of ultrasonic stimulation on DP-bioglass bone substitute. *Med Engineering Physics.* 1995; 17: 20-26
8. Tanzer M, Harvey E, Kay A, Morton P: Effect of noninvasive low intensity ultrasound on bone growth into porous-coated implants. *J Orthopaedic Research.* 1996, 14(6): 901-906
9. Yang KH, Parvizi J, Wang SJ, Lewallen DG: Exposure to low intensity ultrasound increases aggrecan gene expression in a rat femur fracture model. *J Orthopaedic Research.* 1996; 14(5): 802-809
10. Zorlu U, Tercan M, Özyazgan I, Taskan I: Comparative study of the effect of ultrasound and electrostimulation on bone healing in rats. *American J Physical Medicine Rehabilitation.* 1998; 77: 427-432
11. Hadjiargyrou M, Mcleod K, Ryaby JP, Rubin C: Enhancement of fracture healing by low intensity ultrasound *Clinical Orthopaedic.* 1998; (355 suppl): 216-229
12. Mary E, Rudzki MM, Rudzki M, Borchardt B, et al: Does low intensity pulsed ultrasound speed healing of scaphoid fractures? *Handchir Mikrochir Plastic Chir (German).* 2000; 32(2):115-122
13. Nolte PA, Klein Nulend J, Albers GH, Marti PK, et al: Low intensity ultrasound stimulates endochondral ossification in vitro. *J of Orthopaedic Research.* 2001; 19(2): 301-307
14. Takikawas, Matsui N, Kokubu T, Tsunoda M: Low intensity pulsed ultrasound initiates bone healing in rat nonunion fracture model. 2001; 20(3): 197-205
15. Mary E, Mock C, Lenich A, Ecker M: Is low intensity ultrasound effective in treatment of disorders of fracture healing? *Unfallchirurg (German).* 2002; 105(2): 108-115
16. Emami A, Petren Mallmin M, Larsson S: No effect of low intensity ultrasound on healing time of interamedullary fixed tibial fractures. *J of Orthopaedic trauma.* 1999; 13(4): 252-257
17. Akai M, Yabuki T, Tateishi T, Shirasaki Y: Mechanical properties of the electrically stimulated callus. *Clinical Orthopaedics and Related Research.* 1984; 188: 293-302
18. Hamanishi C, Kawabata T, Yoshii T, Tanakas: Bone mineral density changes in distracted callus stimulated by pulsed direct electrical current. *Clinical Orthopaedics and Related Research.* 1995; 312: 247-252
۱۹. بشر دوست س، بیات م، ابراهیمی ا، حسینیان م و همکاران: تأثیر تابش لیزر کم توان هلیوم نئون بر التیام نقص استخوانی جزئی در تی بیا خرگوش. فصلنامه علمی پژوهشی فیض. پائیز ۱۳۷۷، سال دوم، شماره ۳ (پایه ۷)، صفحات ۹-۱۵
20. Green CJ, Tuffery AA: Anaesthesia and analgesia in laboratory animals: An introduction for new experimenters. Chichester, Great Britain, John Wiley & Sons Ltd. 1987; 261-301
21. Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundberg CM: The influence of ibuprofen on fracture repair biomechanical, histologic and histomorphometric parameters in rat. *J of Orthopaedic Research.* 1991; 9: 383-390
۲۲. حیدری ک، بیات م، ژام د، حسینی ا، آذری ا: مطالعه بافت‌شناسی آثار لیزر کم توان هلیوم نئون بر التیام نقص استخوانی جزئی در استخوان تی بیا خرگوش. نشریه علمی پژوهشی نامه دانشگاه. زمستان ۱۳۷۹، سال دهم، شماره ۲۹، صفحات ۱۴-۷
23. Kitchen S, Bazin S: *Claytons Electrotherapy.* W.B. Saunders. 1996; 56-93
24. Yang SR, Dyson M: The effect of therapeutic ultrasound on angiogenesis. *Ultrasound in Medicine and Biology.* 1990; 16: 261-269
25. Yang KH, parvizi J, Wang SJ, Lewallen DG, et al: Exposure of low intensity ultrasound increases aggrecan gene expression in a rat femur fracture model. *J of Orthopaedic Research.* 1996; 14(5): 802-809
26. Fyte MC, Chahl LA: Mast cell degranulation: Possible mechanism of therapeutic ultrasound. *Ultrasound in Medicine and Biology.* 1982; 4: 62-66

