

· 基础研究 ·

半导体激光照射对家兔皮肤伤口愈合的影响

马长升 尹勇 李海涛 杨继庆

【摘要】目的 探讨波长 650 nm 的半导体激光照射对家兔皮肤伤口愈合的影响。**方法** 选用 21 只家兔,建立伤口模型,随机分为对照组、5 mW 照射组和 10 mW 照射组。分别在第 5 天、第 9 天和第 13 天,通过生物统计学方法测量并计算伤口面积变化百分数(ΔS),同时行组织形态学观察。**结果** 5 mW 照射组与对照组 ΔS 相比,差异有统计学意义($P < 0.05$);10 mW 照射组与对照组 ΔS 相比,差异有统计学意义($P < 0.05$);而 5 mW 照射组与 10 mW 照射组 ΔS 相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。2 个照射组炎症消退以及胶原、新生血管和上皮的形成均优于对照组。**结论** 波长为 650 nm、能量为 1 J 的半导体激光照射,选择功率 5 mW 或 10 mW,均对家兔皮肤伤口的愈合有促进作用,且作用的差别不大。

【关键词】 半导体激光; 伤口愈合; 低强度激光照射; 兔

Healing cutaneous wounds through laser irradiation MA Chang-sheng*, YIN Yong, LI Hai-tao, YANG Ji-qing.

* Department of Radiation Oncology, Shandong Cancer Hospital, Ji'nan 250117, China

Corresponding author: YIN Yong, Email: yinyongsd@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To quantify the effect of 650 nm semiconductor laser irradiation on cutaneous wound healing in rabbits. **Methods** Model wounds were induced in 21 adult male rabbits. They were then divided randomly into a control group, a 5 mW irradiation group and a 10 mW irradiation group. Biometry and light microscopy were used to investigate the effect of low intensity laser therapy (LILT) on cutaneous wound healing. **Results** Statistically significant differences were observed among the groups in terms of wound shrinkage. The differences between the irradiated and control groups were significant at the 5th, 9th and 13th day. However, any differences between the 5 mW and 10 mW groups were not significant. **Conclusions** LILT at 650 nm at either 5 mW or 10 mW and 1 J/cm² accelerates cutaneous wound healing in rabbits. But irradiation at 10 mW is no more effective than at 5 mW.

【Key words】 Semiconductor lasers; Wound healing; Low intensity laser irradiation; Rabbit

弱激光亦称低强度激光,其生物学效应研究国内外报道很多,认为弱激光可以提高人体的免疫功能,改善局部血液循环和缺氧状态,减少炎性渗出并加速炎性产物的吸收和排泄,调节神经系统功能,对骨骼和组织有修复作用等。本研究探讨波长为 650 nm 的半导体激光照射对家兔皮肤伤口愈合的生物学效应。

对象与方法

一、实验仪器

激光源为第四军医大学物理教研室自行研制的 DL-Y 型半导体激光治疗仪,输出波长 650 nm,功率范围 1~50 mW,光斑直径 2~6 mm,利用凸透镜对激光扩束后达 25 mm,可连续输出。应用北京光电研究所

研制的 M-93 功率计用来标定输出功率。

二、伤口模型的建立

兔耳缘静脉给予速眠新 II 0.2 ml/kg 体重麻醉后固定,背部脊椎两侧以 80 g/L 硫化钠(溶于 10 g/L 羧甲基纤维素溶液中)脱毛,脱毛区用体积分数为 75% 的乙醇消毒,用镊子和手术刀在脊柱两侧各作一个圆形伤口,伤口直径 2 cm,深达肌肉层^[1]。

三、实验动物分组与处理

实验分组:将 21 只家兔随机分为对照组、5 mW 照射组和 10 mW 照射组,每组 7 只。家兔的后背切口进行相应处理后:对照组不行激光照射;5 mW 照射组给予功率为 5 mW 的激光照射;10 mW 照射组给予功率为 10 mW 的激光照射。

四、照射方法

5 mW 照射组照射时间为 16 min,功率为 5 mW,能量为 1 J,光斑直径为 2.5 cm,照射距离为 8.0 cm;10 mW 照射组照射时间为 8 min,功率为 10 mW,能量为 1 J,光斑直径 2.5 cm,照射距离 8.0 cm。能量(J)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2010.05.001

作者单位:250117 济南,山东省肿瘤防治研究院物理室(马长升、尹勇);第四军医大学生物医学工程系(李海涛、杨继庆)

通信作者:尹勇, Email: yinyongsd@yahoo.com.cn

$=4PT/(\pi D^2)$, 其中, P 为激光功率(W), T 为照射时间(s), D 为光斑直径(cm)。

五、伤口面积计算方法^[2]

获取家兔伤口模型的照片,选取 2 cm × 2 cm 的黑色正方形为参照物。利用 Photoshop 软件精确地计算图形面积:①选择套锁工具,选取伤口区域。为了保证精确选择伤口区,将“容差”值设为 0,取消“消除锯齿”项。②选择“图像”,调出“直方图”窗口,得出照片像素值,再转化为面积。

六、检测指标

1. 愈合速度:伤口模型建立后第 1 天,测量伤口面积,作为标准值,然后测量第 5 天、第 9 天和第 13 天的伤口面积,用伤口愈合面积变化的百分数代表愈合速度。假设第 1 天伤口的面积为 S_1 ,第 n 天的面积为 S_n ,则第 n 天伤口面积的变化百分数为: $\Delta S = |S_n - S_1| / S_1 \times 100\%$ 。

2. 形态学观察:分别于实验第 5 天、第 9 天和第 13 天各处死 1 只家兔,取伤口的组织块做 HE 染色病理切片,在光镜下观察表面上皮的连续性、炎性渗出物、新生血管形成的数目与形态学特征、成纤维细胞的形态学特征、胶原纤维的排列和密度。

七、数据处理

数据用($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 13.0 版统计分析软件进行处理,多重比较采用 LSD- t 检验。

结 果

一、愈合速度

图 1 表示伤口面积相对于第 1 天变化的百分数 ΔS 。第 5 天,对照组与 5 mW 照射组 ΔS 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);对照组与 10 mW 照射组 ΔS 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);而 5 mW 照射组与 10 mW 照射组 ΔS 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。第 9 天,对照组与 5 mW 照射组 ΔS 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);对照组与 10 mW 照射组 ΔS 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);而 5 mW 照射组与 10 mW 照射组 ΔS 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。第 13 天,对照组与 5 mW 照射组 ΔS 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);对照组与 10 mW 照射组 ΔS 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);而 5 mW 照射组与 10 mW 照射组 ΔS 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

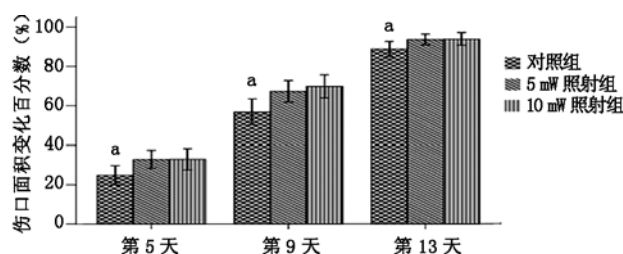
二、形态学分析

第 5 天,对照组伤口创面逐渐干燥,有痂形成,创面开始收缩,伤口范围逐渐变小,伤口边缘上皮细胞增殖,伤口表面有含细胞碎片的厚甲壳形成,伤口下的真皮中有中性粒细胞、炎症细胞、细胞碎片、淋巴细胞和巨噬细胞;5 mW 照射组和 10 mW 照射组均有新生血

管形成,可见成纤维细胞和胶原纤维,见图 2。

第 9 天,5 mW 照射组和 10 mW 照射组部分伤口有表皮形成,表皮边缘有细胞碎片,仍可见炎症渗出,有微血管、成纤维细胞和小胶原纤维形成;与对照组比较,2 个照射组的结缔组织、淋巴组织、巨噬细胞、成纤维细胞和新生毛细血管更明显,数目更多,见图 3。

第 13 天,各组伤口表皮已经完全恢复,但对对照组的上皮组织分化比 2 个照射组少,平行于伤口的表皮和深层真皮存在一定量的成纤维细胞和血管,也可见淋巴细胞和巨噬细胞;2 个照射组均观察到大量的成纤维细胞,且有明显的细胞核,表明这些细胞的活性很强,也可见纤细的胶原纤维平行于上皮表面,且排列整齐,见图 4。



注:与 5 mW 照射组、10 mW 照射组相应时间点比较, $^a P < 0.05$

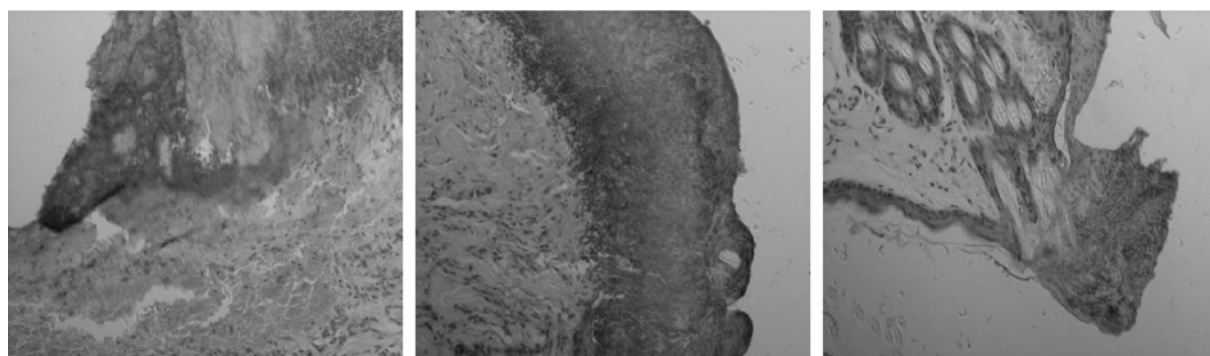
图 1 各组伤口面积变化的百分数比较(%, $\bar{x} \pm s$)

讨 论

激光能量在临床上是一个重要的参数。当用于治疗时,除了能量以外,波长、功率、接触或非接触照射、照射时间、组织类型、生理条件以及组织的光学特性等都必须考虑^[3]。Rezende 等^[4]报道,830 nm 激光二极管在能量密度为 1.3 J/cm² 时对老鼠皮肤伤口有促进愈合的作用。

我们的实验结果表明,能量为 1 J、波长为 650 nm 激光照射能影响皮肤伤口的愈合过程,体现在促进炎症消退以及胶原、新生血管和上皮形成等方面。此结果与其它关于低强度激光照射的研究一致:如 Grossman 等^[5]用波长 780 nm、能量密度为 0.5 J/cm² 的激光照射,使试管内的成纤维细胞增殖。Hawkins 和 Abrahamse^[6]用不同能量密度(0.5, 2.5, 5, 10 和 16 J/cm²)的激光照射培养细胞,观察正常和损伤的人体皮肤成纤维细胞的反应,结果表明能量密度为 5 J/cm² 时,损伤细胞横过损伤的边缘时移动更快,光疗作用更好;能量密度为 10 J/cm² 或 16 J/cm² 时,细胞的活性和增殖下降。由此可知,激光照射对细胞活性的影响与能量参数密切相关。Sommer 等^[7]报道,激光能量必须超过阈值强度才会产生生物学效应。

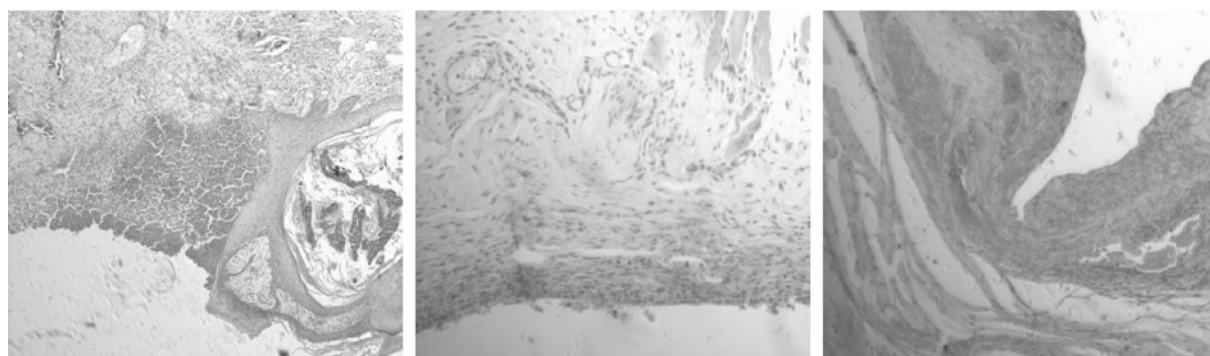
本实验选择的照射方式为非接触式,激光束单色固定于组织表面。这种方法能避免激光头对血液和真



对照组

5 mW 照射组

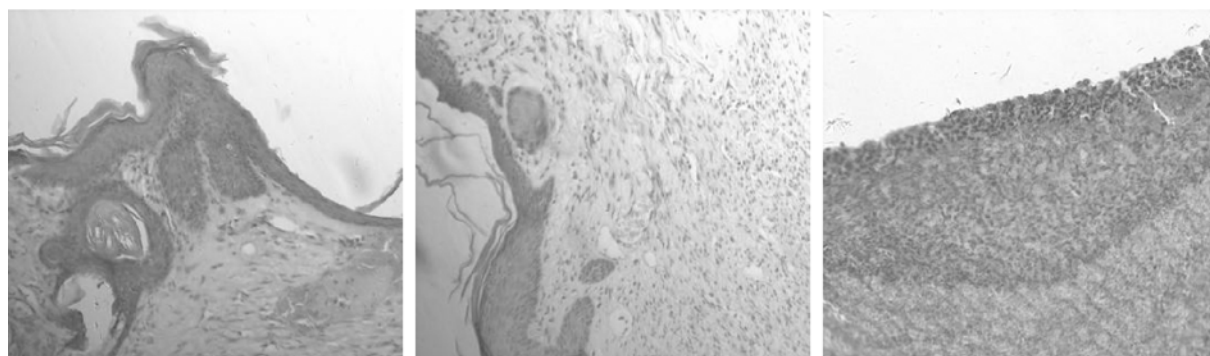
10 mW 照射组

图 2 各组第 5 天病理组织观察(HE 染色, $\times 40$)

对照组

5 mW 照射组

10 mW 照射组

图 3 各组第 9 天病理组织观察(HE 染色, $\times 40$)

对照组

5 mW 照射组

10 mW 照射组

图 4 各组第 13 天病理组织观察(HE 染色, $\times 40$)

皮的污染。实验数据表明,采用能量为 1 J,功率为 5 mW 或 10 mW 的激光照射伤口,愈合速度比不行激光照射时快。然而,功率和能量密度是如何影响伤口愈合,是否存在阈值,仍需要进一步的实验研究。

参 考 文 献

- [1] 付小兵,孙同柱,盛志勇. 几种用于创伤修复研究的动物模型. 中华实验外科杂志,1999,16:479-480.
- [2] 曹许华. 不用 CAD,Photoshop 也能求面积. 电脑爱好者,2005,10:50.
- [3] Nunez SC, Nogueira GEC, Ribeiro MS, et al. He-Ne laser effects on blood microcirculation during wound healing: a method of in vivo study through laser Doppler flowmetry. Lasers Surg Med, 2004, 35:363-368.
- [4] Rezende SB, Ribeiro MS, Nunez SC, et al. Effects of a single near-infrared laser treatment on cutaneous wound healing: biomedical and histological study in rats. J Photochem Photobiol B Biol, 2007, 87:145-153.
- [5] Grossman N, Schneid N, Reuveni H, et al. 780 nm low power diode laser irradiation stimulates proliferation of keratinocyte cultures; involvement of reactive oxygen species. Lasers Surg Med, 1998, 22:212-218.
- [6] Hawkins DH, Abrahamse H. The role of laser fluence in cell viability, proliferation, and membrane integrity of wounded human skin fibroblasts following helium-neon laser irradiation. Lasers Surg Med, 2006, 38:74-83.
- [7] Sommer AP, Pinheiro ALB, Mester AR, et al. Biostimulatory windows in low-intensity laser activation: lasers, scanners, and NASA's light-emitting diode array system. J Clin Laser Med Surg, 2001, 19:29-33.

(修回日期:2009-08-29)

(本文编辑:吴 倩)