انجمن علوم و مهندسی پلاسمای ایران

هشتمین کنفرانس مهندسی و فیزیک پلاسما (PEP2021)

دانشگاه مازندران ۲۳ و ۲۴ تیرماه ۱۴۰۰

بررسی اثر جت پلاسمای سرد اتمسفری آرگون بر روی بیوشیمی سرم خون و کبد موش‌های صحرایی سالم

مطهره امین جراحی[۱،*] – فرشاد صحبت زاده[۱،۲]–– مائده قاسمی[۱،۲] –رضا ابراهیم نژاد درزی[۱] – حسین نجف زاده[۳،۴]

۱– دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه فیزیک اتمی و مولکولی– بابلسر، ایران

۲– دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه ، هسته پژوهشی پلاسما – بابلسر، ایران

۳– دانشگاه علوم پزشکی بابل، دانشکده علوم پزشکی، گروه فارموکولوژی و توکسیکولوژی– بابل ، ایران

٤– مرکز تحقیقات زیست شناسی سلولی و مولکولی ، پژوهشکده بهداشت ، دانشگاه علوم پزشکی بابل ، بابل ، ایران

*آدرس رایانامه نویسنده مسئول : **aminjarahi03@gmail.com**

کلید واژه: پلاسما پزشکی، جت پلاسمای سرد اتمسفری، تاثیر پلاسما بر روی پوست

چکیده

در این پژوهش جت پلاسمای سرد اتمسفری آرگون جهت استفاده در پزشکی ساخته شد و ایمنی آن مورد بررسی قرار گرفت. برای اطمینان از ایمنی پلاسما و ارزیابی خطر آن در تعامل با بافت موجود زنده با انتخاب مدل حیوانی به تیمار موش سالم پرداخته شد. در بررسی‌ها مشخص شد که هنگام تیمار، موش نباید به زمین متصل باشد. با بررسی بیوشیمی خون و پاتولوژی بافتهای پوست و کبد موش تیمار شده مشخص شد کاهش فاصله تا سر نازل و افزایش زمان تیمار باعث افزایش عوارض جانبی می شود. عوارض جانبی بیشتر را می توان ناشی از افزایش جریان نشتی دانست.

Investigating the effect of cold atmospheric argon plasma jet on the blood serum biochemical and liver of healthy rats

Motahare Aminjarrahi[1,*], Farshad Sohbatzadeh[1,2], Maede Ghasemi[1,2], Reza Ebrahimnezhad Darzi[1], and Hossein Najafzadehvarzi[3,4].

1- Department of Atomic and Molecular Physics, Faculty of Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

2- Plasma Research Core, Faculty of Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

3- Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medical Sciences, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

4- Cellular and Molecular Biology Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

*corresponding e-mail: **aminjarahi03@gmail.com**

Abstract

In this research, an argon cold physical plasma jet was made for medical usage and its safety had been investigated. Healthy rats were treated with CAP as an animal model to ensure the safety of the argon cold plasma and assess the risk of interaction with living organisms and tissue. It has been concluded that rats should not be attached to ground in the process of treating. By investigating the biochemistry of the blood and pathology of skin and liver tissues it was found that the side effects of CAP treatment increases by decreasing the distance from nozzle head and increasing the treatment time. These side effects can be attributed to the increased leakage current during the treatment.

Keywords: plasma medicine, Cold atmospheric plasma jet, Effects plasma on the tissue.

مقدمه:

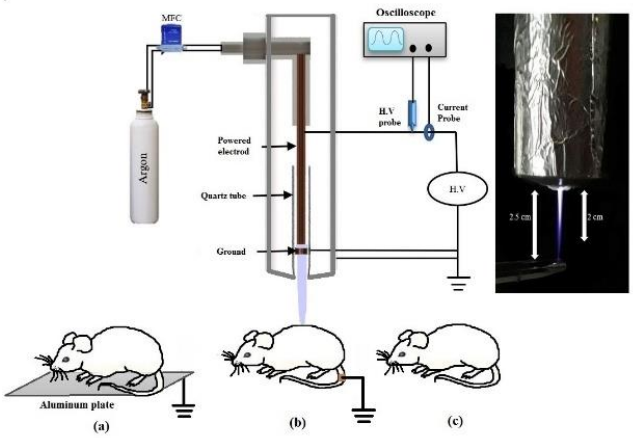
پلاسمای سرد اتمسفری به عنوان یک ابزار نوین در پزشکی شناخته شـده که ارزیابی ریسـک و حذف عوارض جانبی آن همیشـه یک چالش برای پژوهشگران بوده است. علاوه بر آسیب های گرمایی و تابش‌های فرابنفش تاثیرات گزارش شـده از RONSها ناشـی ازCAP بر روی مولکولهای زیستی بیانگر تاثیرات سمی پلا سمای سرد اتم سفری بر موجود زنده می‌با شد[1]. اگرچه CAP میتواند

منبع گونه‌های فعال سمی باشد، در عین حال اثرات مفید CAP نیز در موارد مختلف ذکر شده است[2,3].

در این پژوهش با مشخصه‌یابی نازل CAPJ ساخته شده، ایمنی دستگاه مورد بررسی قرار گرفت. با معرفی مدل حیوانی آسیب‌های احتمالی به بافت زنده مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از موش‌های بزرگ صحرایی به عنوان نمونه تحت تیمار استفاده شد. با بررسی هیستوپاتولوژی پوست که به عنوان بافتی که به صورت مستقیم در معرض تابش پلاسما قرار می‌گیرد عوارض جانبی ناشی از پلاسما در مدها و زمان‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. همچنین جهت بررسی تاثیرات پلاسما و بررسی سمیت آن بیوشیمی خون نیز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت تا بتوان سمیت وابسته به دوز پلاسما را بر روی خون و در نتیجه موجود زنده مورد ارزیابی قرار داد.

مواد و روش‌ها:

در این پژوهش نازل جت پلاسمای سرد اتمسفری برای کاربردها پزشکی طراحی، ساخته و مشخصه یابی شده است. شماتیک چیدمان در شکل(۱) آورده شده است.



شکل ۱-شماتیک جت پلاسمای سرد اتمسفری برای تیمار موش صحرایی سالم

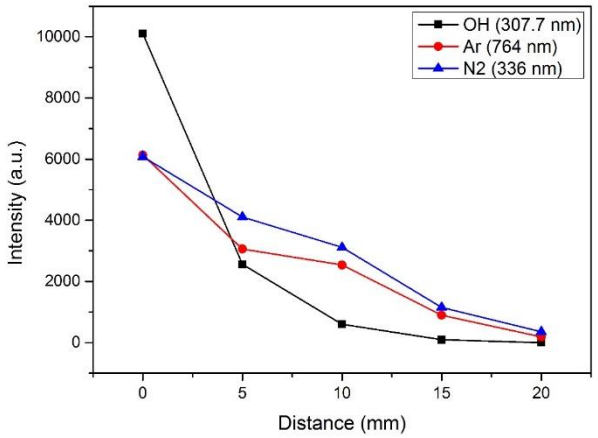
برای استاندارد سازی و اطمینان از ایمنی دستگاه علاوه بر بررسی فاکتورهایی مانند توان، جریان، ولتاژ و همچنین دمای جت باید آسیب‌های احتمالی به بافت زنده نیز ارزیابی شود. به همین منظور در این پژوهش برای بهینه سازی CAPJ از مدل موشی استفاده شد. از موش‌های بالغ بزرگ صحرایی ماده با میانگین وزن ۱۷۰تا ۱۹۰ گرم که موی زائد آنها یک روز قبل از انجام تست اصلاح شده بود به عنوان هدف و نمونه تحت تیمار استفاده شد. از آنجایی که موشها در فرآیند تیمار به هوش می باشند از restrainer به عنوان محدود کننده موشها استفاده شد. سه موش برای تست رفتار انتخاب شد تا با استفاده از مدل رفتاری شرایط کاری دستگاه بهینه شود شکل(۱). به همین منظور سه حالت مختلف چیدمان شامل: موش بر روی صفحه آلومینیوم زمین شده، دم موش اتصال به زمین و موش بدون اتصال به زمین مورد بررسی قرار گرفت. ولتاژ کاری این آزمایش ۲۰ کیلوولت، فرکانس کاری ٦ کیلوهرتز و شارش گاز آرگون ۲ لیتر بر دقیقه می‌باشد. طول جت قابل رویت ۲۸ میلیمتر می‌باشد.

برای انجام آزمایش‌ها و آنالیز آماری موش‌ها به ۷ گروه تقسیم شدند. ٦ گروه آن توسط پلاسما تیمار شدند که هر گروه شامل ۵ موش می‌باشد، و یک گروه سه تایی کنترل نیز در نظر گفته شد. تیمار در ۲ فاصله ۲۰ و ۲۵ میلیمتری از سر نازل انجام گرفته است که به ترتیب مد استریمری و مد پر پلاسما نامگذاری شده‌اند. در هر مد کاری دستگاه، تیمار در سه زمان متفاوت ۲، ۵ و ۱۰ دقیقه صورت گرفت. درسه گروه اول موش‌ها در فاصله ثابت ۲۵ میلیمتر از سر نازل و در مدت زمان‌های ۲، ۵ و ۱۰ دقیقه قرار گرفتند و به ترتیب با P2,P5 & P10 نامگذاری شدند. در سه گروه دوم موش‌ها در فاصله ۲۰ میلیمتر از سر نازل و در مدت زمان‌های ۲، ۵ و ۱۰ دقیقه قرار گرفتند و به ترتیب با S2,S5 & S10 نامگذاری شدند. به منظور بررسی میکروسکوپیک بافت پوستی و کبد، همچنین مطالعه بیوشیمی خون یک روز بعد از تیمار با پلاسما از موش‌ها نمونه برداری شد.

نتایج:

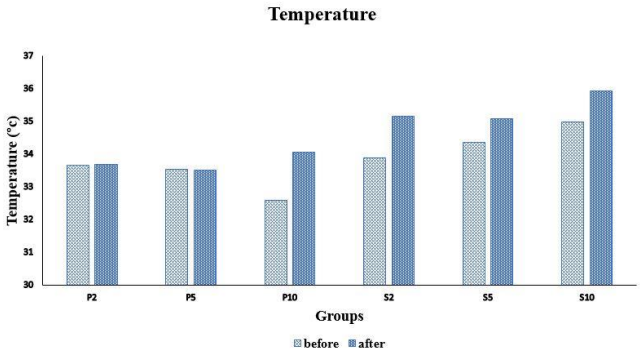
در مرحله اول برای اطمینان از کارایی و ایمنی دستگاه توان انتقالی، دما و طیف انتقالی به هدف اندازه‌گیری شد. بیشینه توان انتقالی 500 mw (فاصله 2.5 cm) اندازه‌گیری شد که با زیاد شدن فاصله نازل و هدف(2.5 cm و بیشتر) این مقدار به 100 mw رسید. برای مشاهده گونه‌های برانگیخته در فواصل مختلف از نازل طیف پلاسمای آرگون ثبت شد. سه خط طیفی شاخص مربوط به

OH ، Ar و N_2 برحسب فاصله در شکل(۲) آورده شده است. بیشترین شدت ثبت شده مربوط به خط طیفی OH(307.7 nm) می‌باشد که شدت آن با افزایش فاصله از سر نازل با سرعت بیشتری نسبت به دیگر خطوط کاهش می یابد.



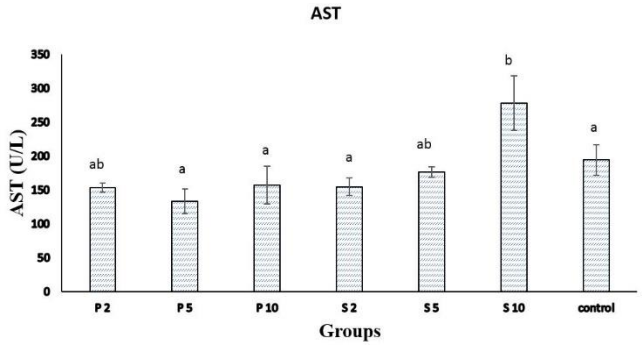
شکل ۲–شدت خطوط طیفی برحسب فاصله از سر نازل برای ۳ خط طیفی بارز N2 و OH, Ar

برای اطمینان از عدم وجود آسیب حرارتی بر روی بافت زنده دمای موش یکبار قبل از تیمار با پلاسما و بار دیگر بعد از تیمار با پلاسما با دماسنج لیزری اندازه‌گیری شد که نتایج در شکل (۳) آورده شده است.

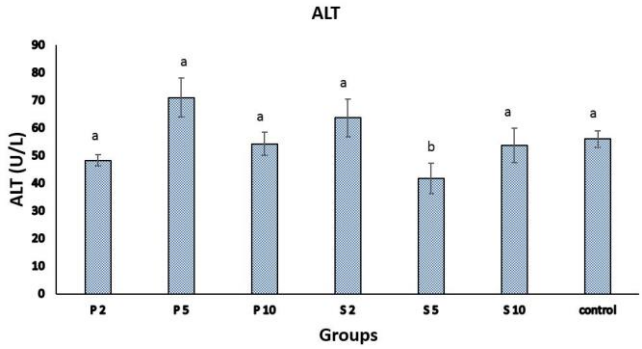


شکل ۳– دمای پوست موش در محل تماس با پلاسما، قبل و بعد از تیمار.

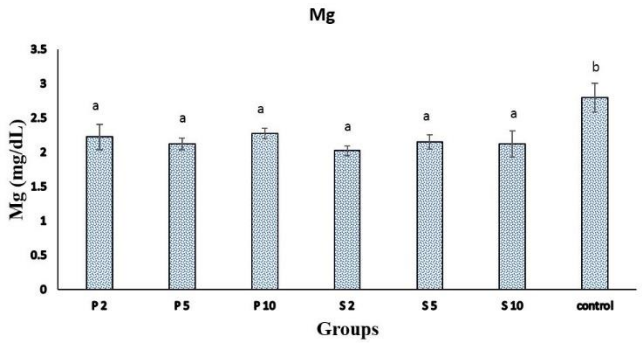
تجزیه و تحلیل بیو شیمیایی سرم خون موش صحرایی برای گروه های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. از نظر میانگین مقدار نیتروژن اوره، کراتینین، آلکالین فسفاتاز، ، آلبومین، بیلی‌روبین تام، بیلی‌روبین مستقیم، سدیم و پتاسیم اختلاف معنی داری بین گروه‌های مختلف مشاهده نشد. در بررسی آنزیم‌های آسپارتات ترانس آمیناز(AST) و آلانین آمینوترانسفراز(ALT) و همچنین منیزیم (Mg) موجود در خون تغییرات معنی داری مشاهده شده است که به ترتیب در شکل (٤) – (٦) آورده شده است.



شکل ٤- نمودار میانگین AST



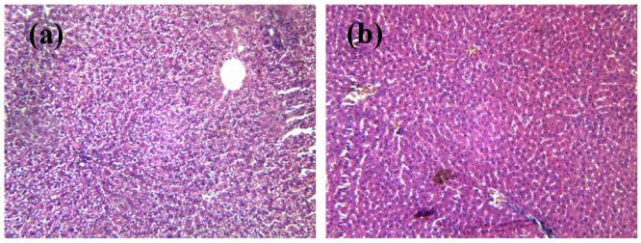
شکل۵- نمودار میانگین ALT



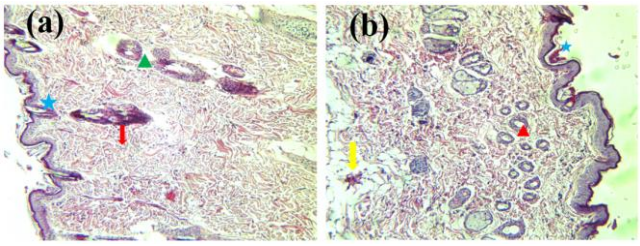
شکل۵- نمودار میانگین Mg

به منظور بررسی بیشتر و تایید مشاهدات بیوشیمی خون ، هیستوپاتولوژی از بافت کبد نیز صورت پذیرفت. یک نمونه از تصویر میکرو سکوپیک از بافت کبد مربوط به گروه P10 و S10 به ترتیب شکل (٦)، (a) و (b) آورده شده است.

یک نمونه از تصویر میکروسکوپیک از بافت پوست مربوط به گروه P10 و S10 به ترتیب شکل (۷)، (a) و (b) آورده شده است. در این تصویر تغییرات ناشی از تیمار با جت پلاسما در شکل علامت‌گذاری شده است.



شکل ٦- هیستوپاتالوژی کبد. (a) پرپلاسما ۱۰ دقیقه (P10) – (b) پلاسما استریمری ۱۰ دقیقه (S10)



شکل ۷- هیستوپاتالوژی پوست. (a) پرپلاسما ۱۰ دقیقه (P10) – (b) پلاسما استریمری ۱۰ دقیقه (S10)

بحث و نتیجه‌گیری

در بررسی پارمترهای فیزیکی جت پلاسمای ساخته شده از ایمنی دستگاه اطمینان حاصل شد. با توجه به عایق کاری‌های انجام شده نازل جت پلاسما قابلیت در دست گرفتن دارد. با اندازه‌گیری دما و توان انتقالی به هدف، از ایمن بودن دستگاه از این لحاظ نیز اطمینان حاصل شد.

با استفاده از پاسخ رفتاری موش‌ها مشخص گردید اتصال بدن موش به زمین باعث افزایش جریان الکتریکی در بدن موش و در نتیجه آزردگی موش‌ها می‌شود؛ لذا اتصال به زمین بدن موش به هر روشی توصیه نمی‌گردد.

در بررسی بیوشیمیای سرم خونی موش‌ها، فاکتورهای نیتروژن اوره، کراتینین، آلکالین فسفاتاز، آلبومین، بیلی‌روبین تام، بیلی‌روبین مستقیم، سدیم و پتاسیم هیچ تغییر معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد. ولی در بررسی آنزیم‌های آسپارتات ترانس آمیناز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) تغییرات معنی‌داری مشاهده شد. با توجه به کارکرد این آنزیم‌ها در کبد به بررسی هیستوپاتولوژی کبد نیز پرداخته شد که تغییراتی در بافت کبد بخصوص در زمان تیمار ۱۰ دقیقه مشاهده شد. این تغییرات شامل کم رنگ و کوچک شدن هسته سلول و افزایش فضای سینوزئیدها و کمی پرخونی می‌باشد.

در بررسی هیستوپاتالوژی پوست، نازک شدن اپتیلیوم، پرخونی، کنده شدن طبقه شاخی و نکروز فیبروبلاست مشاهده شده است که این تغییرات با افزایش زمان تیمار و کاهش فاصله تا سر نازل، افزایش می‌یابد. علت این افزایش را می‌توان ناشی از جریان نشتی و افزایش توان الکتریکی انتقالی به هدف دانست.

تغییرات در بیوشیمی سرم خون، بافت کبد و پوست بخصوص در تیمارهای بلند مدت مشاهده شده است، ولی این تغییرات شدید و آسیب‌زا نمی‌باشد. با توجه به خواص درمانی جت پلاسما می‌توان این آسیب‌ها را به عنوان عوارض جانبی قبول نمود. اگرچه این تغییرات با زمان تیمار ۱۰ دقیقه مورد قبول می‌باشد، ولی باید اثرات تجمعی و تاثیرات بلند مدت تیمار با پلاسما نیز مورد بررسی قرار گیرد.

ریسک هر دستگاه مولد پلاسما با توجه به شرایط ویژه ساخت خود باید مورد ارزیابی قرار گیرد و شرایط بهینه آن با توجه به کاربرد آن در پزشکی معرفی شود. در این پژوهش مشاهده شد تیمار با پلاسما در فاصله بیشتر از ۲۵ میلیمتری از سر نازل و در مدت زمان‌های کمتر از ۵ دقیقه شرایط بهینه و بدون عوارض جانبی به منظور استفاده در درمان و زیبایی را دارد.

مرجع ها

[1] Attri, P., Kumar, N., Park, J. H., Yadav, D. K., Choi, S., Uhm, H. S., . . . Lee, W. (2015). Influence of reactive species on the modification of biomolecules generated from the soft plasma. *Scientific reports*, *5*, 8221.

[2] Metelmann, H.-R., Von Woedtke, T., & Weltmann, K.-D. (2018). *Comprehensive clinical plasma medicine: cold physical plasma for medical application*: Springer.

[3] Rafiei, A., Sohbatzadeh, F., Hadavi, S., Bekeschus, S., Alimohammadi, M., & Valadan, R. (2020). Inhibition of murine melanoma tumor growth in vitro and in vivo using an argon-based plasma jet. *Clinical Plasma Medicine*, 100102.