

لیزر درمانی کم توان: دریچه‌ای نو در مهندسی بافت و پزشکی بازساختی

چکیده

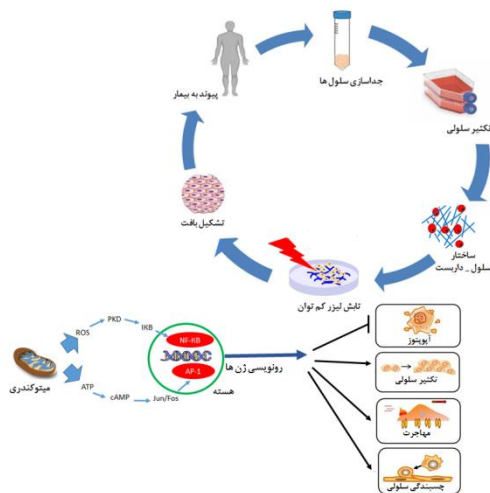
با پیشرفت روزافزون روش‌های درمانی مبتنی بر سلول‌های بنیادی و تکنولوژی‌های کاربردی مختلف مانند لیزر درمانی کم توان، به عنوان یک تکنیک ایمن با پتانسیل درمانی فوق‌العاده، استفاده از این روش دریچه جدیدی در زمینه مهندسی بافت و پزشکی بازساختی، گشوده است. سیگنالینگ سلولی ناشی از تابش لیزر کم توان می‌تواند موجب افزایش تکثیر و القاء تمایز سلول‌های بنیادی شده و در نتیجه در سلول درمانی و مهندسی بافت، کاربرد و جایگاه ویژه‌ای داشته باشد.

در این مقاله با مطالعه آخرین تحقیقات انجام شده در زمینه لیزر درمانی کم توان، به بررسی مکانیسم اثر تابش لیزر در سطح مولکولی و سلولی پرداخته و تاثیر بر تکثیر، تمایز و مهاجرت سلولی را در مطالعات مختلف مورد ارزیابی قرار داده‌ایم.

نتایج حاکی از تاثیر مثبت و وابسته به دوز لیزر بر تکثیر و مهاجرت انواع مختلف سلول‌های بنیادی و القاء تمایز این سلول‌ها به رده‌های سلولی مختلف مانند استئوبلاست، استئوکلاست، تنوسیت، نورون، سلول‌های اپی‌تلیال و... در اغلب مطالعات است.

در نتیجه استفاده از لیزر درمانی کم توان، به عنوان یکی از مولفه‌های سیگنالینگ سلولی و همچنین یک روش درمانی ایمن و کارآمد در زمینه مهندسی بافت و پزشکی بازساختی، توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: مهندسی بافت، لیزر درمانی کم توان فوتو بیومدولاسیون سیگنالینگ سلولی سلول‌های بنیادی



چکیده گرافیکی

ریحانه تمیمی^۱
 محدثه خداداد^۱
 سعید حسامی تکلو^۲
 شاهرخ شجاعی^{۳،۱}
 مهدی اسکندریان^۴
 زینب پیرآور^۲
 سهیلا زمانلوی بنیسی^{۱*}

مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و سلول درمانی، پژوهشکده مهندسی بافت و پزشکی بازساختی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران
 ۲. دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران
 ۳. دانشکده فنی و مهندسی، گروه مهندسی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران
 ۴. آزمایشگاه ژنتیک مولکولی انسان، موسسه زیست‌شناسی مولکولی و بیوتکنولوژی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه آدام میکویو، پوزنان، لهستان

نویسنده مسئول: سهیلا زمانلوی بنیسی
 پست الکترونیک:

Soh.zamanluibenisi@iauctb.ac.ir

مقدمه

امروزه، نارسایی بافت‌ها و اندام‌های بدن به دلیل بیماری، آسیب و یا نقص در رشد، به یک نگرانی عمده در نظام پزشکی، بهداشتی و اقتصادی جوامع بشری تبدیل شده است. در حال حاضر، اهدای بافت / اعضاء بدن به عنوان یک راهکار درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما این روش درمانی، یک فرایند پیچیده و چندرشته‌ای است که به دنبال یک مجموعه از معیارهای خاص تعیین شده و در نهایت منجر به یک عمل جراحی که نیازمند تخصص‌های گوناگون پزشکی است، می‌گردد. با این حال، به دلیل کمبود افراد اهداکننده عضو، افزایش تعداد افراد در لیست انتظار پیوند و افزایش جمعیت بیماران نیازمند پیوند، وابستگی به بافت‌ها و اندام‌های اهدایی یک رویکرد عملی نیست. علاوه بر این، احتمال رد پیوند و ناموفق بودن درمان به دلیل پاسخ ایمنی فرد گیرنده، این روش را با مشکلات جدی روبرو می‌سازد. برای رفع این نیاز پزشکی مهم، مهندسی بافت، به گزینه‌ای امیدوارکننده تبدیل شده است. مهندسی بافت و پزشکی بازساختی یک رویکرد چندرشته‌ای است که دانش و فناوری‌های مختلف از جمله بیولوژی، شیمی، مهندسی، پزشکی، داروسازی و علوم مواد را برای ایجاد درمان‌ها و محصولات عملکردی، برای ترمیم یا جایگزینی بافت‌ها و اندام‌های آسیب‌دیده ترکیب می‌کند [۱]. مهندسی بافت یک فرایند چندمرحله‌ای و شامل مهندسی اجزای مختلفی است که برای تولید بافت‌ها یا ارگان‌های جدید مورد نظر، همکاری می‌کنند (شکل ۱) [۲]. در واقع مفهوم مهندسی بافت بر بکارگیری یک مثلث شامل سلول بنیادی / پروژنیاتور، داربست و سیگنالینگ سلولی [۳] برای بازسازی بافت‌های بیولوژیک عملکردی متکی است. منابع سلول‌های بنیادی گوناگونی شناسایی شده‌اند که نقشی اساسی در بازسازی بافت دارند. در یک تقسیم‌بندی می‌توان سلول‌های بنیادی را به دو دسته سلول‌های بنیادی جنینی و بالغ تقسیم کرد. سلول‌های بنیادی جنینی سلول‌های نابالغ و تمایز نیافته از توده سلولی داخلی بلاستوسیست‌ها هستند، که به طور پیوسته توانایی خود نوزایی و تمایز دارند. سلول‌های بنیادی بزرگسالان / سلول‌های پروژنیاتور، سلول‌های تمایز نیافته‌ای هستند که قادر به تمایز به انواع

خاصی از بافت‌ها هستند [۴]. آن‌ها یکپارچگی بافت‌هایی را که در آن ساکن هستند، مانند خون، پوست، استخوان و غضروف حفظ می‌کنند [۵].

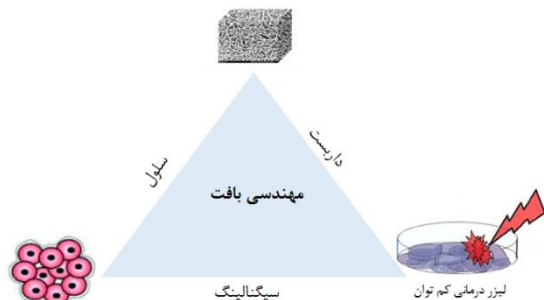
با ظهور مهندسی بافت، احیاء و بازسازی اندام‌ها و بافت‌ها، منجر به ساخت و توسعه داربست‌هایی از بیومواد بیولوژیک، سنتزی یا کامپوزیت گردید که توانایی تقلید و کنترل ریزمحیط^۱ سلولی را داشته و می‌توانند کنام^۲ سلول‌های بنیادی را شبیه‌سازی کنند. این داربست‌ها می‌توانند پلیمرهای طبیعی (به عنوان مثال، کلاژن، کیتوسان، آلژینات و یا هیالورونیک اسید) یا مواد مصنوعی (به عنوان مثال، اسید پلی‌گلیکولیک، اسید پلی‌لاکتیک و اسید پلی‌لاکتیک - پلی‌گلیکولیک) و یا سرامیک‌های زیست فعال باشند [۶]. ترکیب استفاده از سلول‌های بنیادی و داربست‌های ساخته‌شده از بیومواد که می‌توانند به صورت نانو الیاف، هیدروژل و یا سایر ساختارهای متخلخل باشند، ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و مکانیکی مشابه با کنام طبیعی سلول‌های بنیادی در محیط *in vivo* را دارا بوده و قادرند به عنوان ابزاری برای پشتیبانی از تکثیر و تمایز سلول‌ها مورد استفاده قرار گیرند [۵].

سیگنالینگ سلولی به عنوان سومین فاکتور مهم در مثلث مهندسی بافت، بسیار حائز اهمیت است. در واقع مکانیسم‌های مولکولی که سلول‌ها با یکدیگر ارتباط برقرار می‌کنند و به محیط خود پاسخ می‌دهند، به عنوان سیگنالینگ سلولی شناخته می‌شوند [۷]. ارتباط بین سلول‌ها با یکدیگر، ریزمحیط آن‌ها و بقیه بدن، نقش اصلی را در هماهنگی برای زنده ماندن و تکثیر سلول‌ها، موقعیت و عملکرد آن‌ها ایفا می‌کند. سرنوشت سلول‌های بنیادی در بدن پیچیده بوده و در موارد زیادی ناشناخته مانده است. سیگنال‌هایی که در فرایند تخصصی شدن سلول‌های بنیادی تأثیرگذار هستند متفاوت بوده و می‌توان آن‌ها را به دو دسته فاکتورهای داخلی و خارجی تقسیم کرد. عوامل خارجی شامل تماس فیزیکی بین سلول‌ها، تماس بین سلول‌ها با ماتریکس و یا ترشح فاکتورهای شیمیایی توسط بافت‌های اطراف و

¹ Micro environment

² Niche

گوناگون در تمایز سلول‌های بنیادی به رده‌های سلولی مختلف موثر است. علیرغم مطالعات و تحقیقات بسیاری که در زمینه مکانیسم اثر لیزر کم توان و کاربردهای درمانی آن مانند ترمیم زخم، تسکین درد، کاهش التهاب، افزایش سرعت بازسازی بافت‌های آسیب دیده و... صورت گرفته است، توجه به کاربرد لیزر درمانی کم توان به عنوان یکی از عوامل سیگنالینگ سلولی که می‌تواند بر تکثیر و تمایز سلول‌ها اثرگذار بوده و در استراتژی‌های درمانی مبتنی بر سلول‌درمانی و مهندسی بافت در کاربردهای بالینی مورد استفاده قرار گیرد، ضروری به نظر می‌رسد. لذا در این مطالعه با بررسی مکانیسم اثر لیزر کم توان بر بیان ژن‌ها و مسیرهای سیگنالینگ، به نقش لیزر درمانی کم توان در القاء تکثیر، تمایز و مهاجرت سلولی پرداخته‌ایم.



شکل ۱: مثلث مهندسی بافت - لیزر درمانی کم توان به عنوان مولفه سیگنالینگ سلولی در مهندسی بافت

لیزر درمانی کم توان

توسعه لیزر برای مصارف پزشکی، برای اولین بار در سال ۱۹۶۷، توسط پزشک مجارستانی، اندره مستر^۲ مطرح و به عنوان لیزر درمانی کم توان یا فوتوبیومودولاسیون^۳ شناخته شد [۱۲]. در این سال پروفیسور مستر، به توانایی لیزر هلیوم - نئون در افزایش سرعت رشد مو [۱۳] و تحریک بهبود زخم در موش‌ها پی برد [۱۴] و اندکی پس از آن، شروع به استفاده از لیزر برای معالجه بیماران مبتلا به زخم‌های پوستی غیرقابل بهبود در موش‌ها و انسان نمود [۱۵، ۱۶]. لیزر درمانی کم توان که در ابتدا به طور عمدی برای ترمیم زخم و تسکین درد مورد استفاده

عوامل داخلی سیگنال‌هایی هستند که توسط ژن‌ها کنترل می‌شوند [۸، ۵]. سرنوشت سلول‌های بنیادی نه تنها توسط مواد ژنتیکی بلکه توسط ریز محیط (کنام) آن‌ها تنظیم می‌شود. ریز محیط ایده‌آل ترکیبی از شرایط مختلف برای شبیه‌سازی بیشتر ماتریس خارج سلولی، ساخت شرایط فیزیکی شیمیایی مناسب برای رشد سلول‌های بنیادی و تأمین نیازهای تکثیر، تمایز، چسبندگی و سایر جنبه‌های سلول‌های بنیادی است. در واقع یک محیط ایده‌آل باید سختی مکانیکی مناسب، تخلخل، توپوگرافی، محیط سه بعدی، تحریک مکانیکی مناسب و آرایش منظم / بی‌نظم مورد نظر را دارا باشد.

یکی دیگر از این عوامل سیگنالینگ، فاکتورهای رشد می‌باشند که در روند بازسازی بسیار حائز اهمیت هستند. این ترکیبات به طور معمول از سلول‌ها آزاد می‌شوند و از طریق تعامل با ماتریکس خارج سلولی مستقیماً با گیرنده‌های سطح سلول ارتباط برقرار می‌کنند. اتصال فاکتورهای رشد به گیرنده‌های خاص متصل به غشاء سلول، مکانیسم‌ها و مسیرهای مختلفی را درگیر می‌کند که در مهندسی بافت منجر به افزایش بقاء، تکثیر، مهاجرت سلول، چسبندگی، و تمایز به انواع سلولی مورد نظر می‌شوند [۹، ۵، ۱۰، ۱۱]. اما جداسازی سلول‌ها از کنام خود در داخل بدن، برای استفاده در کاربردهای مختلف مهندسی بافت موجب می‌شود تا تقلید کامل ریز محیط سلول به گونه‌ای که در محیط *in vivo* وجود دارد امکان‌پذیر نبوده و در نتیجه شرایط بهینه برای رشد، تکثیر و تمایز مناسب آن‌ها فراهم نشود. بنابراین استفاده از روش‌هایی که بتوانند سیگنالینگ مورد نیاز سلول در محیط آزمایشگاه را فراهم کنند، ضروری به نظر می‌رسد.

لیزر درمانی کم توان^۱ که به عنوان نور درمانی کم توان نیز شناخته می‌شود، یک روش درمانی غیرتهاجمی است که کاربردهای گوناگونی در علوم سلولی، زیست‌شناسی و پزشکی داشته و براساس تغییرات فتوشیمیایی و فتوفیزیکی در سلول عمل می‌کند. لیزر کم توان در محدوده طول موج نور مرئی و مادون قرمز، با تاثیر بر میتوکندری و افزایش تولید ATP، در افزایش تکثیر و زنده‌مانی سلول‌ها نقش دارد. همچنین لیزر با تغییر در بیان ژن‌ها و القاء مسیرهای سیگنالینگ

² Endre Mester

³ photobiomodulation

¹ Low Level Laser Therapy (LLLT)

تابانده می‌شود. لیزر کم‌توان، از منابع نوری مختلفی از جمله لیزر گازی هلیوم - نئون، گالیم - آرسناید، یاقوت، گالیم - آلومینیوم - آرسناید، گارنت - آلومینیوم - ایتروم - نئودیمیم، دیود لیزرهای فسفید آلومینیوم - گالیم - ایندیوم، لیزرهای غیرحرارتی دی‌اکسیدکربن، نور مرئی و... استفاده می‌کند [۱۶، ۱۹، ۲۵، ۲۶].

معمولاً برای PBM از نور در محدوده طول موج قرمز و NIR (۶۰۰ تا ۱۰۷۰ نانومتر) که در اصطلاح در "پنجره نوری" قرار می‌گیرد، استفاده می‌شود. طول موج‌های پایین‌تر در طیف قرمز (۶۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر) به طور عمیق به بافت نفوذ نمی‌کنند و برای درمان بافت‌های سطحی استفاده می‌شوند، در حالی که طول موج‌های بلندتر (۷۸۰ تا ۹۵۰ نانومتر) بسیار عمیق‌تر نفوذ می‌کنند و از آن برای درمان بافت‌های عمیق‌تر استفاده می‌شود. زیرا پراکندگی و جذب که در طول موج‌های کوتاه‌تر مانند طیف قرمز بیشتر است با عمق نفوذ پرتو لیزر رابطه عکس دارد. نشان داده شده است که استفاده از نور در طیف آبی / بنفش رشد باکتری‌های بیماری‌زا را سرکوب می‌کند. قدرت نور مورد استفاده معمولاً در محدوده ۱ تا ۱۰۰۰ میلی‌وات است و به کاربرد آن بستگی دارد. دوز (شار^۵)، که تابعی از ترکیب انرژی و زمان است، نیز بسیار مهم است، و بسته به کاربرد لیزر متفاوت است [۱۶، ۲۰].

نفوذ نور در بافت هدف، توسط گیرنده‌های نوری / کروموفورهای میتوکندریایی درون‌زا جذب شده و کانال‌های یونی غشایی را فعال می‌کند؛ در نتیجه برهمکنش‌های فیزیکی و شیمیایی ایجاد شده منجر به تعدیل فرآیندهای سلولی مختلف می‌شود [۲۰-۲۴]. با وجود این که امروزه PBM به عنوان یک روش درمانی غیرتهاجمی برای معالجه بیماری‌های گوناگون کاربرد دارد، اما همچنان بحث‌برانگیز باقی مانده است. این امر عمدتاً به دلیل عدم درک مکانیسم‌های زیربنایی سلولی و مولکولی است، بنابراین استفاده از آن تا حد زیادی تجربی است. یکی دیگر از عوامل مؤثر، این واقعیت است که تنظیمات و پارامترهای زیادی مانند طول موج (نانومتر، nm)، دانسیته انرژی (ژول بر سانتی متر مربع، J/cm²)، دانسیته توان (وات بر سانتی متر مربع،

قرار می‌گرفت، در سال‌های اخیر، به یک روش پرکاربرد به خصوص در زمینه‌های طب فیزیکی و توانبخشی تبدیل شده است. لیزر تراپی در زمینه‌های مختلف درمانی با هدف کاهش التهاب و تورم، بهبود ترمیم زخم، درمان اختلالات عصبی، جلوگیری از آپوپتوز، تسکین درد، داروهای احیاءکننده و بهبود عملکرد انواع مختلف بافت‌ها استفاده می‌شود [۱۶، ۱۷، ۱۸]. با گسترش کاربردهای پزشکی LLLT، می‌توان از این روش در درمان یا تسکین عوارض بیماری‌های گوناگون از جمله بیماری‌های پوستی (مانند آکنه، برص، پسوریازیس و...)، بیماری‌های سیستم عصبی (مانند سکته مغزی، آسیب‌های نخاعی، پارکینسون، آلزایمر و...)، بیماری‌های قلبی (مانند انفارکتوس میوکارد)، دردهای اسکلتی - عضلانی (مانند تخریب دیسک بین مهره‌ای)، بیماری‌های خودایمنی (مانند آرتریت روماتوئید) و ترمیم زخم خصوصاً در بیماران مبتلا به دیابت استفاده کرد [۱۸].

برخلاف لیزرهای پرتوان که باعث تخریب بافت با یک اثر فوتوترمال می‌شوند، LLLT یک روش درمانی با اثرات فوتوشیمیایی و فوتوفیزیکی است، به طوری که نور باعث ایجاد تغییرات بیوشیمیایی، و نه حرارتی، در درون سلول‌ها می‌گردد [۱۸، ۱۹]. همچنین، LLLT با فتودینامیک درمانی^۱ و سایر روش‌های فرسایشی تفاوت دارد، زیرا این سیستم بر پایه گرمایش نیست [۲۷]. در واقع این فرایند را می‌توان با فرآیند فتوسنتز در گیاهان مقایسه کرد، که فوتون‌ها توسط گیرنده‌های نوری سلول جذب شده و باعث تغییرات شیمیایی در سلول می‌گردند [۱۹]. این روش یک درمان بدون درد و غیرتهاجمی است که از تابش مستقیم نور در محدوده نور مرئی یا مادون قرمز نزدیک^۲ طیف نور بر بافت هدف استفاده می‌کند. طول موج پرتو لیزر بکار رفته از ۴۰۰ تا ۱۱۰۰ نانومتر، با دانسیته توان کمتر از ۱۰۰ mW/cm² و دانسیته انرژی کمتر از ۱۰ J/cm² است، که توسط منابع مختلفی مانند لیزر (با نور یکپارچه یا همدوس^۳) و یا ال‌ای‌دی^۴ (دیود ساطع‌کننده نور، با نور غیریکپارچه یا ناهمدوس)

¹ Photo Dynamic Therapy (PDT)

² Near Infrared

³ Cohorent

⁴ Light Emitting Diode

⁵ fluence

W / cm^2 ، ساختار پالس (نانو ثانیه، ns) و زمان (ثانیه، s) نور اعمال شده باید با دقت برای هر تیمار انتخاب شوند. انتخاب غیربینه این پارامترها منجر به یافته‌های نامطلوب یا حتی نتایج درمانی منفی می‌شود. همچنین، عدم وجود مواردی که عوارض جانبی یا موارد زیان‌آور مرتبط با لیزر درمانی کم توان را گزارش کنند نیز تا حد زیادی تاییدکننده این روش درمانی است [۱۶]. با این حال، علی‌رغم استفاده روزافزون از این تکنولوژی، بسیاری از مکانیسم‌های اساسی فیزیولوژیک PBM ناشناخته مانده‌اند [۲۸، ۱۵، ۱۴]، و این امر ضرورت تحقیقات بیشتر را ضروری می‌سازد [۱۲].

مکانیسم اثر لیزر درمانی کم توان در سطح مولکولی

بر اساس قانون اول فوتو بیولوژی، برای اینکه نور کم توان مرئی یا مادون قرمز نزدیک، بر سیستم بیولوژیکی تأثیر داشته باشد، فوتون‌ها باید توسط باندهای جذب الکترونیکی^۱ متعلق به یک مولکول گیرنده فوتون یا کروموفور^۲ جذب شوند. [۲۰، ۱۹] کروموفور یک مولکول (یا بخشی از یک مولکول) است که به یک ترکیب رنگ می‌بخشد (مانند کلروفیل موجود در گیاهان، باکتروکلروفیل در جلبک‌های آبی مایل به سبز، هموگلوبین موجود در گلبول‌های قرمز، میوگلوبین، سیتوکروم سی‌اکسیداز^۳ (COX) و سایر سیتوکروم‌ها، فلاوین، فلاوپروتئین‌ها یا پورفیرین‌ها [۲۹، ۱۹، ۱۸]. در واقع رنگ‌های مربوط به کروموفورها توسط بخشی از طیف نور که جذب می‌کنند، تعیین می‌شوند برای مثال، کلروفیل سبز، فلاوپروتئین زرد و هموگلوبین قرمز است [۳۰، ۱۸].

هنگامی که نور به کروموفورها برخورد می‌کند، انرژی فوتون باعث تهییج الکترون‌ها و پرش آن‌ها از مدارهای با انرژی پایین به مدارهای پرانرژی‌تر می‌شود. در طبیعت، این انرژی ذخیره‌شده توسط سیستم برای انجام فرایندهای سلولی گوناگون مانند فتوسنتز و فتومورفونز قابل استفاده است [۱۸]. میتوکندری‌ها "نیروگاه‌های سلولی" در سلول‌های یوکاریوتی محسوب می‌شوند که با استفاده از

فسفوریلاسیون اکسیداتیو و زنجیره انتقال الکترون، مواد مغذی و اکسیژن را به آدنوزین تری فسفات^۴ تبدیل می‌کنند. تصور می‌شود که میتوکندری‌ها، گیرنده‌های نوری اصلی هستند و افزایش آدنوزین تری فسفات، گونه‌های اکسیژن فعال^۵، کلسیم داخل سلولی و آزادسازی نیتریک اکساید^۶، رویدادهای اولیه در این فرایند می‌باشند. بنابراین با توجه به اینکه، مکانیسم عمل LLLT در سطح میتوکندری است، می‌بایست ساختاری که در میتوکندری به عنوان کروموفور عمل می‌کند مشخص شود. چهار کمپلکس متصل به غشاء در میتوکندری شناسایی شده‌اند که هر یک، ساختار غشاء گذر (ترنس ممبرین) بسیار پیچیده‌ای که در غشای داخلی تعبیه‌شده را تشکیل می‌دهند. کمپلکس IV، که به عنوان سیتوکروم سی‌اکسیداز نیز شناخته می‌شود، یک کمپلکس پروتئینی غشاء گذر بزرگ در میتوکندری است، که جزئی از زنجیره تنفسی انتقال الکترون است. COX، اصلی‌ترین گیرنده نور در محدوده طول موج قرمز - مادون قرمز نزدیک در سلول‌های پستانداران است [۳۱، ۱۹]. به نظر می‌رسد COX همان طیف نوری را جذب می‌کند که برای پاسخ بیولوژیکی به نور در محدوده NIR مشاهده می‌شود. بنابراین منطقی است که فرض کنیم COX به عنوان یک کروموفور مهم در LLLT عمل می‌کند. COX شامل ۲ مرکز مس و ۲ مرکز آهن هم^۷ است که قادر به جذب نور در طیف وسیعی از جمله NIR هستند [۱۸]. نکته مهم دیگری که باید مورد توجه قرار گیرد، تاثیر جذب انرژی نور توسط COX است. در سطح سلولی، تابش لیزر باعث جدا شدن پیوند NO از COX بوسیله نور می‌شود. در سلولی که دچار استرس شده (در زمان جراحت یا هیپوکسی)، NO تولید شده توسط NO سنتاز میتوکندریایی، اکسیژن را از COX جدا می‌کند، که منجر به کاهش تنفس سلولی و در نتیجه آن کاهش تولید ترکیبات ذخیره‌کننده انرژی، مانند ATP می‌شود. با جدا کردن NO از COX، LLLT مانع از

⁴ ATP

⁵ reactive oxygen species (ROS)

⁶ NO

⁷ heme-iron

¹ electronic absorption bands

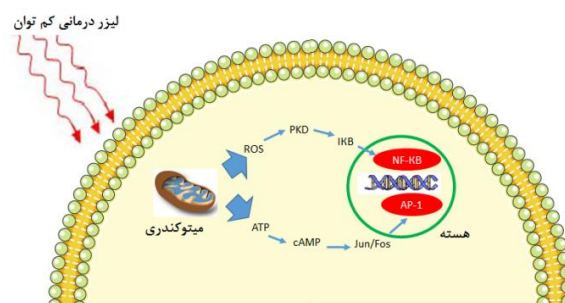
² chromophore

³ cytochrome c oxidase

شود [۲۰، ۱۹]. از آنجا که LLLT متابولیسم اکسیژن را تشدید می‌کند، تولید ROS را نیز افزایش داده و به نوبه خود، برخی از فاکتورهای رونویسی حساس به ردوکس مانند NF-κB و پروتئین فعال‌کننده^۲، را فعال می‌کند، که منجر به تنظیم افزایشی ژن‌های مختلف تحریک‌کننده و محافظ^۳ می‌شود. سرانجام LLLT با فعال‌سازی فاکتورهای رونویسی تعدیل‌کننده‌ی پاسخ‌های سلولی و بافتی اثر خود را اعمال می‌کند [۱۸].

LLLT سنتز DNA و RNA را ارتقاء بخشیده و تولید پروتئین‌ها را افزایش می‌دهد. همچنین فعالیت آنزیمی را تعدیل کرده، بر pH داخل و خارج سلولی تأثیر می‌گذارد و متابولیسم سلولی را تسریع می‌کند. نشان داده شده است که بیان ژن‌های گوناگون مربوط به تکثیر سلولی، مهاجرت و تولید سیتوکین‌ها و فاکتورهای رشد نیز توسط لیزر کم‌توان تحریک می‌شود [۳۴، ۱۸]. تصور می‌شود اثرات طولانی مدت LLLT به دلیل فعال‌شدن فاکتورهای رونویسی مختلف، توسط مولکول‌های سیگنالینگ شیمیایی آبی حاصل از تحریک میتوکندری توسط LLLT است. مهم‌ترین این مولکول‌های سیگنالینگ ATP، cyclic-AMP، NO و ROS است [۲۰، ۱۹]. یکی دیگر از مکانیسم‌های مورد قبول درباره برهمکنش میان سلول و نور که توسط کارو [۳۵، ۱۷] پیشنهاد شد، به سیگنال‌دهی میتوکندریایی برگشتی^۴ اشاره دارد، که با فعال‌سازی در محدوده نور مرئی و مادون قرمز رخ می‌دهد. به گفته کارو، اولین قدم در این فرایند جذب یک فوتون با انرژی hv توسط کروموفور COX است. این برهمکنش پتانسیل غشاء میتوکندری را افزایش می‌دهد و باعث افزایش سنتز ATP و تغییر در غلظت‌های ROS، یون کلسیم (Ca²⁺) و NO می‌شود. علاوه بر این، ارتباطی بین میتوکندری و هسته وجود دارد، که با تغییر در زیرساختار میتوکندری، یعنی تغییرات در هموستاز fusion-fission در یک شبکه میتوکندریایی دینامیک انجام می‌شود.

جداشدن اکسیژن از COX می‌شود و در نتیجه باعث تنفس سلولی بدون مانع می‌شود [۳۲، ۱۸].



شکل ۲: مکانیسم اثر لیزر کم‌توان: جذب انرژی پرتولیزر با افزایش تولید ATP و ROS سیگنالینگ سلولی را هدایت می‌کند که منجر به افزایش تکثیر سلولی می‌گردد

افزایش فعالیت COX، افزایش تولید ATP و افزایش انتقال الکترونی قابل اندازه‌گیری است. ایده اصلی در مورد تنفس سلولی این است که الکترون‌های پراثرژی از حامل‌های الکترون، مانند NADH و FADH₂، از طریق یک سری کمپلکس‌های غشاء گذر از جمله COX به گیرنده الکترونی نهایی منتقل می‌شوند. افزایش ATP سلولی تولید شده توسط LLLT می‌تواند از طریق بالا بردن سطح انرژی سلولی و با تنظیم افزایشی مولکول AMP حلقوی (cAMP) که در بسیاری از مسیرهای سیگنالینگ نقش دارد، در اثرات مثبت نقش داشته باشد [۳۱، ۱۸]. اکسیژن به عنوان پذیرنده نهایی الکترون عمل کرده و در این فرایند به آب تبدیل می‌شود. بخشی از اکسیژن که متابولیزه می‌شود، گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را به عنوان یک محصول فرعی طبیعی تولید می‌کند.

ROS (به عنوان مثال، سوپراکسید و پراکسید هیدروژن) مولکول‌های شیمیایی فعال هستند که نقش مهمی در سیگنالینگ سلولی، تنظیم پیشرفت چرخه سلولی، فعال‌سازی آنزیمی و سنتز اسید نوکلئیک و پروتئین دارند [۳۳] LLLT. قادر است با افزایش گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش گونه‌های نیتروژن فعال^۱ باعث ایجاد تغییر در پتانسیل کلی ردوکس سلول در جهت اکسیداسیون بیشتر

² activator protein 1

³ stimulatory and protective genes

⁴ retrograde mitochondrial signaling

¹ reactive nitrogen species (RNS)

اندوتلیال [۵۱،۱۹] و لنفوسیت‌ها [۵۲،۱۹] می‌شود. به نظر می‌رسد، مکانیسم تکثیر، ناشی از تحریک نوری میتوکندری باشد که منجر به فعال شدن مسیرهای سیگنالینگ و تنظیم افزایشی فاکتورهای رونویسی (که در نهایت باعث افزایش فاکتورهای رشد می‌شود) می‌گردد. LLLT می‌تواند باعث نئوواسکولاریزیشن^۱، ارتقاء آنژیوژنز و افزایش سنتز کلاژن برای کمک به بهبود زخم‌های حاد [۵۳] و مزمن [۵۴-۵۶] شود. در بسیاری از مطالعات مشاهده شده است که LLLT منحنی پاسخ دوز دوفازی را نشان می‌دهد [۵۷،۵۸]، به طوری که دوزهای پایین‌تر نور از دوزهای بسیار بالاتر، مؤثرتر است. این دوزهای پایین نور، توانایی بهبود پوست، اعصاب، تاندون‌ها، غضروف و استخوان‌ها را نشان داده‌اند.

مکانیسم اثر لیزر درمانی کم توان در سطح سلولی

لیزر درمانی کم توان فرآیندهای بیولوژیک گوناگونی از جمله رشد و تکثیر سلولی، تمایز و مهاجرت [۲۹] را تحریک می‌کند. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که پارامترهای مختلف لیزر از جمله طول موج و انرژی، در تکثیر، تمایز و مهاجرت سلول‌های بنیادی مؤثر است؛ همچنین تحقیقات حاکی از تأثیر مثبت لیزر کم توان بر تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی و بهبود مدل‌های مختلف بیماری می‌باشد [۲۶].

زنده‌مانی و تکثیر سلولی

تأثیر لیزر کم توان بر زنده‌مانی و تکثیر سلولی در شرایط آزمایشگاهی، در انواع مختلفی از سلول‌ها از جمله فیبروبلاست‌ها، سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های اسکلتی، کراتینوسیت‌ها، میوبلاست‌ها و انواع سلول‌های بنیادی مورد مطالعه قرار گرفته است [۵۹-۶۱]. با این حال، مکانیسم‌های دخیل در تکثیر سلولی ناشی از LLLT به خوبی درک نشده است [۶۲]. سازوکارهای مختلفی در ارتباط با اثرات میتوژنیک تابش لیزر کم توان مطرح شده است از جمله دایمریزاسیون بدون لیگاند و فعال‌سازی گیرنده‌های خاص در "حالت انرژی مناسب"^۲ برای دریافت انرژی لیزر، که منجر به اتوفسفوریلاسیون

تغییر در زیر ساختار میتوکندری باعث تغییر در سنتز ATP، پتانسیل ردوکس داخل سلولی، pH و سطح cAMP می‌شود. پروتئین فعال‌کننده ۱ و NF-κB فعالیت‌های خود را با تغییر در نفوذپذیری غشاء و شار یونی در غشای سلولی تغییر می‌دهند. علاوه بر این، برخی مسیرهای مکمل مانند تنظیم افزایشی مستقیم برخی ژن‌ها نیز توسط کارو مطرح شده است [۱۷،۳۶].

یکی از مکانیسم‌های کلاسیک که در لیزر درمانی نقش دارد، این است که انرژی لیزر توسط کروموفورهای داخل سلول جذب شده و به انرژی متابولیکی تبدیل می‌شود، به طوری که سطح ATP سلولی بعد از تابش لیزر He-Ne تقریباً دو برابر افزایش می‌یابد [۳۷]. تغییرات رخ داده در عملکرد گیرنده‌های نوری، واکنش اصلی و تغییرات پس از آن در سیگنالینگ سلولی و عملکردهای سلولی جزء واکنش‌های ثانویه است [۳۸]. واکنش‌های اصلی پس از جذب نور شامل فرضیه سینگلت - اکسیژن، فرضیه تغییر خاصیت ردوکس، فرضیه اکسید نیتروژن، گرمایش موضعی موقت و فرضیه آنیون سوپراکسید [۳۹] است. در حالی که واکنش‌های ثانویه پس از جذب نور، مسیرهای سیگنالینگ سلولی هستند که شامل سیگنال‌دهی برگشتی میتوکندریایی نیز می‌شود [۴۰].

تابش نور قرمز و مادون قرمز نزدیک، توسط اجزای زنجیره تنفسی میتوکندری جذب و در نتیجه باعث افزایش گونه‌های اکسیژن فعال و آدنوزین تری فسفات / یا AMP حلقوی می‌شود و یک آبشار سیگنالینگ که باعث تکثیر و محافظت سلولی می‌شود را آغاز می‌کند [۴۱، ۴۰-۴۵]. به دنبال افزایش ATP و سنتز پروتئین پس از LLLT، بیان فاکتورهای رشد و سیتوکین‌ها افزایش می‌یابد و در نهایت منجر به تکثیر سلولی می‌شود [۴۶، ۴۷].

علیرغم مطالعات زیادی که به بررسی چگونگی عملکرد LLLT پرداخته‌اند، هنوز مکانیسم دقیق عمل آن کاملاً روشن و شناخته شده نیست، با این وجود طیف گسترده‌ای از اثرات در سطح مولکولی، سلولی و بافتی مشاهده شده است [۱۶، ۴۸]. مطالعات گوناگون نشان می‌دهند که LLLT در دوزهای پایین باعث افزایش تکثیر سلولی فیبروبلاست‌ها [۱۹، ۴۹]، کراتینوسیت‌ها [۱۹، ۵۰]، سلول‌های

¹ neovascularization

² right energetic state

محدوده باقی می‌ماند تا به سلول‌ها برسد. LLLT تکثیر سلولی را افزایش داده و از یافته‌های بالینی بهبود زخم پس از LLLT پشتیبانی می‌کند. مشاهده مهم دیگری که از مطالعات آزمایشگاهی به دست آمده است، رابطه معکوس بین دانسیته توان یا انرژی پرتو لیزر با پاسخ‌های سلولی است؛ به طوری که مقایسه مطالعات مختلف نشان می‌دهد که دانسیته انرژی بالاتر منجر به مهار تکثیر سلول، مهاجرت، زنده ماندن و یا فعالیت ATP می‌شود [۸۲]. جدول (۱)، تاثیر لیزر درمانی کم‌توان با طول موج، توان و انرژی‌های مختلف بر زنده ماندن و تکثیر سلول‌ها را در مطالعات مختلف نشان می‌دهد. شواهد نشان داده است که وقتی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از بافت چربی با لیزر 5 J/cm^2 تحت تابش قرار می‌گیرند، تکثیر این سلول‌ها به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. [۸۳]

لیزر 1 GaAlAs , 4 J/cm^2 (650 nm) با افزایش تکثیر، تمایز و ترشح فاکتور رشد در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی، منجر به بهبود ترمیم زخم در پوست موش می‌گردد. به‌علاوه، بیان مارکرهای سطحی مزانشیمی در سلول‌های تحت تابش افزایش می‌یابد [۸۴، ۲۶]. همچنین استفاده از لیزر کم‌توان (808 nm, 3 J/cm^2 , 200 mV , 0.2 W/cm^2) بمدت ۵ دقیقه در ۷ روز، تکثیر و زنده ماندن سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی را افزایش می‌دهد [۸۵، ۲۶]. لیزر درمانی کم‌توان، با طول موج 950-780 نانومتر و دانسیته انرژی $10\text{-}50 \text{ j/cm}^2$ هر روز یا یک روز در میان، می‌تواند در افزایش بقا، تکثیر و لانه‌گزینی^۲ سلول‌های مزانشیمی موثر باشد [۸۶، ۲۶].

در مطالعه دیگری، تابش لیزر کم‌توان (۶۶۰ نانومتر، ۵ میلی‌وات، 6 J/cm^2 , ۱۰، ۱۲) در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان، به‌طور قابل توجهی تکثیر و زنده ماندن این سلول‌ها را افزایش می‌دهد [۸۷، ۲۶]. به‌علاوه، استفاده از لیزر کم‌توان با طول موج‌های ۴۷۰، ۶۳۰ و ۶۶۰ نانومتر باعث افزایش تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان می‌شود [۸۸، ۲۶].

آن‌ها و اثرات پایین دست می‌گردد [۶۳]. همچنین فعال‌شدن کانال‌های کلسیم که باعث افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی و تکثیر سلولی می‌شود نیز از جمله این اثرات است [۶۴-۶۸]. از طرف دیگر، تابش نور قرمز و مادون قرمز نزدیک و جذب آن توسط اجزای زنجیره تنفسی میتوکندری، باعث افزایش ROS و ATP یا AMP حلقوی، و شروع آپساره‌های سیگنالینگ می‌گردد، که منجر به تکثیر سلولی و محافظت از سلول می‌شود [۲۵، ۶۹، ۶۸، ۷۰]. به دنبال افزایش ATP و سنتز پروتئین پس از تابش لیزر، بیان فاکتورهای رشد و سیتوکین‌ها افزایش یافته و در نهایت منجر به بهبود تکثیر سلولی می‌شود [۲۵].

برای درک بهتر مکانیسم اثر لیزر بر تکثیر سلولی، شناسایی مسیرهای انتقال پیام که توسط لیزر تحریک می‌شود، ضروری است. مطالعات گوناگونی گزارش کرده‌اند که LLLT به‌طور خاص مسیر سیگنالینگ MAPK / ERK را فعال کرده و در نتیجه باعث تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای می‌شود [۷۱، ۷۲]. مطالعه دیگری نشان می‌دهد که LLLT مسیر سیگنالینگ RTK / PKC را برای تقویت تکثیر سلولی فعال می‌کند [۷۳] و باعث فعال‌شدن قابل توجه مسیر ROS / Src می‌گردد [۷۴]. علاوه بر این، Akt می‌تواند توسط پروتئین کیناز Src یا PKCs فعال شود [۷۵-۷۸]، بنابراین، به احتمال زیاد Akt در تکثیر سلولی ناشی از LLLT نقش دارد. از طرف دیگر، لیزر درمانی می‌تواند سطح تولید ROS داخل سلولی را افزایش دهد [۷۴، ۶۳، ۷۹]. افزایش اکسیدان‌های داخل سلولی می‌تواند باعث فعال‌شدن Akt شود [۸۰، ۸۱]. بنابراین این گزارش‌ها وجود مسیر سیگنالینگ ROS / Akt را در تکثیر سلولی ناشی از LLLT نشان می‌دهد.

طول موج لیزر بکار رفته، یک فاکتور مهم در پاسخ سلولی به تابش است. اثبات شده است که نور قرمز تا مادون قرمز نزدیک در محدوده ۶۰۰-۱۰۷۰ نانومتر بیشترین تاثیر را در تکثیر سلولی دارد. این مساله می‌تواند یک پدیده فیزیکی به دلیل جذب نور در این محدوده باشد. نور با طول موج‌های کوتاه‌تر توسط هموگلوبین یا ملانین جذب می‌شود، در حالی که طول موج‌های بلندتر توسط آب جذب شده و در این

¹ Gallium-Aluminum-Arsenide

² homing

در مطالعه دیگری، تأثیر دیود لیزر ۶۳۵ نانومتری بر تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که پس از تابش لیزر کم توان به دلیل وابستگی تکثیر سلول‌های مزانشیمی به کانال Kir، تکثیر این سلول‌ها به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. فعال‌سازی مسیر Notch-1 و تنظیم افزایشی آن نقش مهمی در این روند دارد. همچنین مشخص شد که استفاده از لیزر نه تنها کانال‌های Kir را فعال کرده و مسیرهای سیگنالینگ Notch-1 را تحریک می‌کند، بلکه همچنین سیگنالینگ بالادست و پایین دست تنظیم‌کننده‌های چرخه سلولی را هماهنگ کرده و باعث ایجاد اثرات میتوزنیک در سلول‌های تحت تابش می‌شود [۲۶، ۸۹].

تابش لیزر ۶۶۰ نانومتری (۱۲ J/cm², 6, 3, 91 mW) درکراتینوسیت‌های انسانی (سلول‌های HaCaT) موجب افزایش تکثیر این سلول‌ها می‌شود. همچنین، بیان پروتئین‌های مربوط به تکثیر و بلوغ اپیتلیال (CK10, CK14, p63) نشان‌دهنده بلوغ سریع‌تر کراتینوسیت‌های مهاجر در زخم‌های تحت درمان با لیزر است [۹۰]. در مطالعه‌ای که روی فیبروبلاست‌های انسانی (HS27) تحت تابش لیزر قرمز با طول موج ۶۲۸ نانومتر، در دوزهای انرژی J/cm² ۰/۴۴، ۰/۸۸ و ۲ انجام شد، این سلول‌ها رشد سریع‌تری نسبت به گروه کنترل نشان دادند، به طوری که بهترین نتیجه در دانسیته انرژی 0.88 J/cm² مشاهده شد [۳۴]. همچنین، تابش لیزر کم توان با طول موج ۶۷۵ نانومتر و انرژی 2 J/cm² منجر به افزایش زنده‌مانی سلول‌های اندوتلیال ورید ناف انسان، در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد. با افزایش شدت لیزر به 4 J/cm² و 8 J/cm²، کاهش جزئی اما غیرقابل توجهی در میزان بقای سلول‌ها حاصل شد. در مقابل، دوزهای بالاتر از جمله 60 J/cm² و 80 J/cm² باعث کاهش زنده‌مانی سلول‌ها بعد از ۴۸ ساعت می‌شود [۹۱].

جدول ۱) تأثیر لیزر درمانی کم توان با پارامترهای مختلف بر زنده‌مانی و تکثیر سلول‌ها

منبع	نتایج	دانسیته انرژی / توان	طول موج لیزر	سلول
۸۴	افزایش تکثیر، تمایز و ترشح فاکتور رشد	4 J/cm ²	650 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی
۸۵	افزایش تکثیر و زنده‌مانی سلول‌ها	3j/cm ² , 0.2w/cm ²	808 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی
۸۶	افزایش بقا، تکثیر و لانه‌گزینی	10-50 j/cm ²	nm 780-950	سلول بنیادی مزانشیمی مغز استخوان
۸۷	افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)	6, 10, 12 J/cm ²	660 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان
۸۹	افزایش تکثیر سلولی	32.6 mw/cm ²	635 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان
۹۰	افزایش تکثیر سلولی، افزایش بیان پروتئین‌های مربوط به تکثیر و بلوغ اپیتلیال، بلوغ سریع‌تر کراتینوسیت‌های مهاجر در محل زخم	100 mW, 3, 6, 12 J/cm ²	660 nm	کراتینوسیت‌های انسانی
34	افزایش تکثیر سلولی	۲, ۰/۸۸, ۰/۴۴ J/cm ²	nm ۶۲۸	فیبروبلاست‌های انسانی
۱۰۰	افزایش زنده‌مانی سلولی کاهش جزئی در زنده‌مانی سلول کاهش زنده‌مانی سلولی	2 J/cm ² , 8 و 4 J/cm ² , 80 و 60 J/cm ²	675 nm	سلول‌های اندوتلیال ورید ناف انسان
۹۲	افزایش تکثیر سلولی (۸۰۸ نانومتر تکثیر سلولی را القاء نمی‌کند)	۲۰ mW/cm ² , ۱۲ j/cm ²	635 nm, ۸۰۸/۶۳۵ nm, nm ۸۰۸	سلول‌های بنیادی مزانشیمی بند ناف انسانی
۹۳	افزایش تکثیر سلولی	1.2, 2.4, ۳/۶ J/cm ²	nm ۸۰۸	سلول‌های استروبلات جنین انسان یا کشت هیپوکسی
۹۴	افزایش تکثیر سلولی	1, 3, 5, 10, 20, 50 J/cm ² , ۱۶/۷ mW/cm ²	810 nm	سلول‌های سینوویوسیت تحت آرتریت روماتوئید
۹۵	افزایش تکثیر سلولی	1.96-7.8 J/cm ²	809 nm	فیبروبلاست‌های رباط پرودنتال انسانی

میزان تکثیر سلول‌ها با طول موج ۶۳۵ نانومتر در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش بیشتری نشان می‌دهد درحالی‌که لیزر ۸۰۸ نانومتر تکثیر سلولی را القاء نمی‌کند [۹۲].

دیود لیزر کم‌توان GaAlAs (۸۰۸ نانومتر، با دانسیته انرژی J/cm^2 3.6, 2.4, 1.2) در سلول‌های استئوبلاست جنین انسان با کشت هیپوکسی (رده سلولی ۱/۱۹) باعث افزایش تکثیر سلول‌ها می‌شود [۹۳]. تابش لیزر ۸۱۰ نانومتر با دانسیته انرژی $1 J/cm^2$ ، ۳، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۵۰ بر روی سلول‌های سینوویوسیت تحت آرتیت روماتوئید، با انرژی $50 J/cm^2$ و توان $16 mW/cm^2$ زنده‌مانی سلول‌ها را کاهش نمی‌دهد، درحالی‌که انرژی $5 J/cm^2$ موجب افزایش تکثیر سلولی می‌گردد [۹۴]. دیود لیزر GaAlAs، ۸۰۹ نانومتر، با انرژی $1/96 J/cm^2 - 7/84$ ، به طور قابل توجهی تکثیر سلولی فیبروبلاست‌های رباط پرپودنتال انسانی را تا ۷۲ ساعت پس از LLLT افزایش می‌دهد [۸۲، ۹۵].

مطالعه دیگری نتایج مشابهی را گزارش می‌دهد، به طوری‌که درمان با لیزر کم‌توان ۶۶۰ نانومتر و توان ۳۵۰ میلی‌وات، روزانه سه بار در معرض ۱۵ دقیقه لیزر، تکثیر سلولی بالاتری را در فیبروبلاست‌های تحت تابش در مقایسه با گروه‌های کنترل نشان می‌دهد [۱۰۴، ۸۲]. دیود لیزر Ga-As با طول موج ۹۰۴ نانومتر و انرژی $3 J/cm^2$ یا ۴، تکثیر سلول‌های فیبروبلاست (NIH-3T3) را ۳ تا ۶ برابر نسبت به گروه کنترل افزایش می‌دهد. با این حال، تراکم انرژی بالاتر ($5 J/cm^2$) رشد سلول‌ها را تحریک نمی‌کند [۹۶]. با توجه به مطالعات انجام شده، تحریک زیستی ناشی از لیزر در زمانی کم‌توان با دانسیته انرژی بسیار پایین و یا بسیار بالا ممکن است منجر به تأثیرات متناقضی شود. به جز تأثیر دانسیته انرژی پرتو لیزر، مطالعات مختلف همچنین بر روی تأثیر طول موج‌های گوناگون بر سلول‌های مختلف نیز متمرکز شده‌اند [۸۲].

PBM با چهار طول موج لیزر LED، (525,415، ۶۶۰ و ۸۳۰ نانومتر) باعث افزایش تکثیر سلول‌های hORSC¹ و سرکوب آپوپتوز سلول‌ها، می‌گردد، که وابسته به سطح انرژی است. تابش

۹۶	افزایش تکثیر سلولی عدم تحریک تکثیر سلولی	$3,4 J/cm^2$ $5 J/cm^2$	۹۰۴ nm	سلول‌های فیبروبلاست
۴۷	افزایش تکثیر سلولی و سرکوب آپوپتوز	$5 J/cm^2$ (525,660,830nm) $10 J/cm^2$ (415,525,660,830 nm)	415,525,66 nm 0,830	سلول‌های ORSC انسانی
۹۷	کاهش ATP سلولی مهار تکثیر سلولی افزایش تکثیر سلولی	$3 J/cm^2$	۴۱۵، ۵۴۰ nm ۸۱۰، ۶۶۰ nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی
۹۸	تأثیر اندک بر تکثیر سلولی مهار تکثیر سلولی تحریک تکثیر سلولی	$3 J/cm^2$ $16mw/cm^2$	۳۹۰ nm ۴۱۵ nm ۶۶۰ nm	فیبروبلاست‌های انسانی
۹۹	افزایش تکثیر سلولی مهار تکثیر و افزایش آپوپتوز	$5/5 J/cm^2$	830,980 nm ۲,۹۴۰ nm	فیبروبلاست‌های پوست انسان
۱۰۰	افزایش تکثیر سلولی تحریک سنتز کلاژن تأثیر قابل توجهی در تکثیر سلولی و سنتز کلاژن ندارد.	$60 J/cm^2$	635/680 nm ۸۳۰ nm ۶۳۵ nm	فیبروبلاست‌های انسانی
۱۰۱	افزایش تکثیر سلولی	$1,3 J/cm^2$	804 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های بنیادی قلبی
۱۰۲	افزایش تکثیر و زنده‌مانی سلولی، بیان گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاست (bFGF)، فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF-1) I و گیرنده آن (IGFBP3)	$2 J/cm^2$	۶۸۵ nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسانی
۱۰۳	افزایش زنده‌مانی و تکثیر سلولی	$1-4 J/cm^2$	۶۵۰ nm	سلول‌های اندوتلیال عروقی ناف انسان

تیمار سلول‌های مزانشیمی بندناف انسانی، با لیزر کم‌توان ۶۳۵، ۸۰۸ و ۸۰۸/۶۳۵ نانومتر با دانسیته توان $20 mW/cm^2$ و تراکم انرژی $2 j/cm^2$ ، تأثیرات متفاوتی بر تکثیر سلول‌ها نشان می‌دهد.

¹ human outer root sheath cell

نانومتر، تکثیر سلول را مهار کرده و باعث افزایش آپوپتوز می‌گردد [۹۹].

لیزر درمانی کم توان با طول موج ۸۳۰ نانومتر و ترکیب دو طول موج ۶۳۵/۸۳۰ نانومتر با دانسیته انرژی 60 J/cm^2 باعث افزایش تکثیر فیبروبلاست‌های انسانی و سنتز کلاژن می‌شود، در حالی که لیزر ۶۳۵ نانومتر به تنهایی، موجب افزایش قابل توجهی در تکثیر سلول‌ها یا سنتز کلاژن نمی‌گردد [۱۰۰]. مطالعه دیگری نشان داد که، تابش لیزر گالیم - آرسناید با طول موج ۸۰۴ نانومتر و دانسیته انرژی 3 J/cm^2 و ۱۳ بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های بنیادی قلبی، منجر به افزایش تکثیر سلولی به ترتیب تا ۴ و ۲ هفته پس از تیمار با لیزر گردید، و هیچ تفاوتی بین دو چگالی انرژی وجود نداشته است [۱۰۱]. در مطالعه دیگری اثر LLLT در استئوبلاست‌های تمایز یافته مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که لیزر کم توان با طول موج ۶۸۵ نانومتر، و دانسیته انرژی 2 J/cm^2 ، باعث افزایش تکثیر و زنده‌مانی سلول‌ها همراه با بیان گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاست (bFGF)، فاکتور رشد شبه‌انسولینی I (IGF-I) و گیرنده آن (IGFBP3) می‌گردد [۱۰۲]. همچنین لیزر درمانی با طول موج 650 نانومتر ($4 \text{ J/cm}^2 - 1$) به صورت وابسته به دوز، بر زنده‌مانی سلول‌های اندوتلیال عروقی ناف انسان اثر افزایشی نشان می‌دهد. فعال کردن مسیر سیگنالینگ PI3K / Akt باعث افزایش تکثیر این سلول‌ها می‌شود [۱۰۳].

تایز

لیزر درمانی کم توان، به عنوان یکی از فاکتورهای سیگنالینگ سلولی، باعث تمایز سلول‌های بنیادی به انواع مختلف سلولی مانند استئوبلاست، کندروسیت، نورون، سلول‌های اندوتلیال و... می‌گردد. با این حال، به نظر نمی‌رسد که این برهمکنش مانند تاثیر لیزر بر تکثیر سلول، حساسیت یا رابطه معکوس با دانسیته‌های انرژی بالاتر داشته باشد [۸۲]. جدول (۲)، تاثیر لیزر درمانی کم توان با طول موج، توان و انرژی‌های مختلف بر تمایز سلول‌های بنیادی به رده‌های سلولی گوناگون را نشان می‌دهد.

LED با طول موج ۵۲۵، ۶۶۰ و ۸۳۰ نانومتر در 5 J/cm^2 و با تمام طول موج‌ها در 10 J/cm^2 به‌طور قابل توجهی تکثیر سلولی را افزایش می‌دهد. لیزر ۶۶۰ نانومتری در 10 J/cm^2 بهترین تحریک را بر تکثیر ORSC ها را نشان می‌دهد. نسبت $\text{Bcl}2 / \text{bax}$ mRNA با تابش لیزر ۵۲۵ نانومتر و انرژی 10 J/cm^2 به‌طور قابل توجهی بقای سلولی را افزایش می‌دهد، در حالی که سایر طول موج‌ها و سطح انرژی‌ها این تاثیر را ندارند [۴۷].

هنگامی که سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی، در محیط تکثیر، تحت تیمار با لیزر ۴۱۵، ۵۴۰، ۶۶۰ و ۸۱۰ نانومتری با دوز 3 cm^2 کشت می‌شوند، پرتو لیزر با نور آبی و سبز ($415,540 \text{ nm}$) مانع تکثیر سلولی و پرتو لیزر با نور قرمز و مادون قرمز نزدیک ($660,810 \text{ nm}$) باعث افزایش تکثیر سلولی می‌شود. لیزر درمانی در محدوده آبی و سبز، موجب کاهش ATP سلولی شده در حالی که در محدوده قرمز / NIR، ATP را به صورت دو فازی افزایش می‌دهد. لیزر آبی و سبز افزایش بیشتری در کلسیم درون سلولی و ROS ایجاد کرده، همچنین پتانسیل غشاء میتوکندری (MMP) و pH داخل سلولی را کاهش می‌دهد، در حالی که لیزر قرمز و NIR اثر معکوس دارند. نتایج نشان می‌دهد که نور آبی / سبز با فعال کردن $\text{TRPV}1^1$ ، افزایش کلسیم و ROS از تکثیر سلولی جلوگیری می‌کند [۹۷]. در مطالعه دیگری با تابش لیزر LED با طول موج‌های 415,660,390 نانومتر بر فیبروبلاست‌های انسانی مشخص شد، نور آبی ۴۱۵ نانومتر مانع از تکثیر سلول‌ها و نور قرمز ۶۶۰ نانومتر موجب تحریک تکثیر سلول‌ها می‌گردد، در حالی که اشعه ماوراء بنفش ۳۹۰ نانومتر تاثیر کمی بر تکثیر سلولی دارد [۹۸]. همچنین، تابش لیزرهای ۸۳۰، ۹۸۰، ۲، ۹۴۰ نانومتری ($5/5 \text{ J/cm}^2$) بر روی فیبروبلاست‌های پوست انسان نشان دادند که هر دو طول موج ۸۳۰ و ۹۸۰ نانومتر به‌طور قابل توجهی تکثیر سلولی را در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تابش تحریک می‌کند اما لیزر با طول موج ۲، ۹۴۰

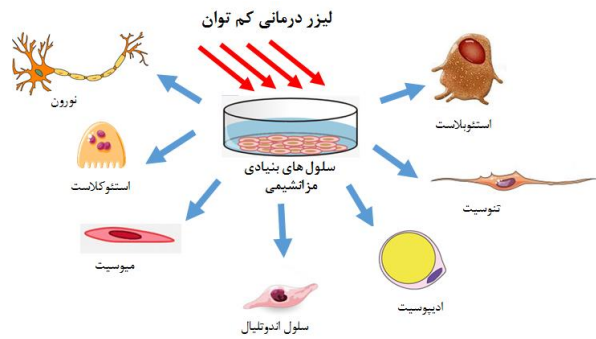
¹ transient receptor potential cation channel subfamily V member 1

به طور قابل توجهی باعث بهبود تشکیل استخوان و افزایش چشمگیر تراکم مواد معدنی و حجم توده استخوانی در یک ماتریس پوستی آسلولار شده می‌شود [۱۱۰، ۲۶]. همچنین در مطالعه دیگری، لیزر کم‌توان (Nd: YAG؛ ۱۰۶۴ نانومتر، 2 J / cm^2 و ۴) به طور قابل توجهی تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان را افزایش داده و موجب تمایز آن‌ها به سلول‌های استخوانی می‌شود. علاوه بر این، این مطالعه نشان داد که لیزرهای کم‌توان ۴، ۸ و ۱۶ ژول بر سانتی‌متر مربع، بیان $\text{TNF}\alpha$ را مهار می‌کند که می‌تواند به طور قابل توجهی موجب سرکوب تکثیر و تمایز به استخوان شود [۱۱۱، ۲۶]. استفاده از فورسکولین همراه با لیزر کم‌توان (20 mJ / cm^2) در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان می‌تواند موجب تمایز به سلول‌های عصبی شود. همچنین بیان پروتئین بتا توبولین II نیز در اثر این تیمار افزایش یافته است [۱۱۲، ۲۶].

مطالعه دیگری با استفاده از لیزر کم‌توان ۸۰۸ نانومتر، (64 J / cm^2) نشان داد، تابش لیزر بیان ژن‌های ALP ، RUNX2 و OSX را افزایش می‌دهد. RUNX2 مهم‌ترین مارکر تمایز به استئوبلاست است. همچنین در این مطالعه، کاهش فاکتورهای پیش‌التهابی (IL6 و IL17) و افزایش سیتوکین‌های ضدالتهاب (IL-1 و IL-10) مشاهده شده است [۱۱۳، ۲۶]. لیزرهای کم‌توان (۱۵ هرتز، ۱۵۰ میلی‌آمپر، ۲/۲۵ وات) می‌توانند تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان به سلول‌های استئوبلاست را که در داربست‌های سه‌بعدی کلاژن بذرافشانی شده‌اند، افزایش دهند که می‌توان از آنها در درمان بیماری‌های پریدنتال استفاده کرد [۱۱۴، ۲۶]. مطالعه دیگری نشان داد که تابش لیزر GaAlAs با طول موج ۶۶۰ نانومتر در سطوح مختلف انرژی بر خصوصیات فیزیولوژیکی و مولکولی سلول‌های استرومایی مغز استخوان موش موثر است. تابش لیزر بیان BMP2 و IGFI را افزایش داده و در نتیجه باعث افزایش تکثیر و تمایز به سلول‌های استئوبلاست می‌شود. بنابراین LLLT به صورت وابسته به دوز، باعث افزایش تمایز به استئوبلاست و رسوب مواد معدنی می‌شود [۱۱۵، ۲۶]. همچنین استفاده از لیزر کم‌توان (0.5 J / cm^2) می‌تواند باعث افزایش تکثیر

نتایج حاصل از یک مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از لیزر تراپی ۸۰۸ نانومتری می‌تواند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی بند ناف به سلول‌های عصبی را القاء کند. این مطالعه همچنین نشان داد که لیزر ۸۰۸ نانومتری می‌تواند پس از ۷۲ ساعت موجب بیان پروتئین مارکر نورون‌ها (NeuN) گردد، در حالی که لیزر ۶۳۵ نانومتری باعث افزایش تکثیر سلول‌های مزانشیمی می‌شود [۱۰۵، ۲۶].

در مطالعه دیگری لیزر کم‌توان (۶۶۰ نانومتر، 10 J / cm^2 ، 10 mW / cm^2) می‌تواند باعث افزایش رگ‌زایی در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی شود و مشخص شد که این سلول‌ها می‌توانند پس از پیوند، به سلول‌های اندوتلیال تمایز یافته و عملکردشان بهبود یابد [۱۰۶]. این مطالعه همچنین نشان داد که پس از درمان با لیزر کم‌توان قرمز، آپوپتوز در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی کاهش می‌یابد. در این مطالعه، شناسایی مارکرهای CD31 ، CD34 ، vWF و KD با استفاده از ایمونوفلورسانس، تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های اندوتلیال را تایید می‌کند [۱۰۸، ۱۰۷، ۲۶]. همچنین، لیزر درمانی کم‌توان (۶۶۰ نانومتر، 550 mW / cm^2) با تسریع در تمایز سلول‌های اندوتلیال و ترشح فاکتورهای رشد (HGF ، VEGF ، FGF) موجب بهبود عملکرد در اندام‌های ایسکمیک می‌گردد [۱۰۹، ۲۶].



شکل ۳: تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده‌های سلولی گوناگون در اثر تابش لیزر کم‌توان

استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی و تابش لیزر کم‌توان (۸/۶۳۲ نانومتر، ۱۷ میلی وات، 1 J / cm^2)

جدول ۲) تاثیر لیزر درمانی کم توان با پارامترهای مختلف بر تمایز سلول‌های بنیادی

منبع	نتایج	دانسیته انرژی / توان	طول موج لیزر	سلول
۱۰۵	تمایز نورونیک	$J/cm^2 \times 4$	808 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی پندناف
۱۰۷، ۱۰۸	تمایز اندوتلیال، افزایش رگ‌زایی	$J/cm^2 \times 6$ $10 mW/cm^2$	660 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی
۱۰۹	تمایز سلول‌های اندوتلیال و ترشح فاکتورهای رشد HGF، VEGF و FGF	$550 mW/cm^2$	660 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی
۱۱۰	تمایز استئوژنیک، افزایش چشمگیر تراکم مواد معدنی و حجم توده استخوانی	$J/cm^2 \times 1$	632/8 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی
۱۱۱	تمایز استئوژنیک	$2,4 J/cm^2$	1064 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان
۱۱۲	تمایز نورونیک، افزایش بیان پروتئین بتا توبولین II	$20 mJ/cm^2$	660 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان
۱۱۳	تمایز استئوژنیک، کاهش فاکتورهای پیش التهابی (IL6 و IL17) و افزایش سیتوکین‌های ضد التهاب (IL-10 و IL-1)	$64 J/cm^2$	808 nm	سلول‌های استرومایی مغز استخوان
۱۱۵	تمایز استئوژنیک، افزایش بیان BMP2 و IGFI	0, 1, 2, or 4 J/cm^2 $10 mW/cm^2$	660 nm	سلول‌های استرومایی مغز استخوان
۱۱۶	تمایز میوزونیک، ترشح NGF و VEGF	$0.5 J/cm^2$ $60 mW/cm^2$	635 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی
۱۱۷	تمایز به استئوبلاست و استئوکلاست	$4 J/cm^2$	808 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان
۱۱۸	تمایز نورونیک تمایز استئوژنیک	$3, 6 J/cm^2$ $2, 4 J/cm^2$	810 nm	سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان
۱۱۹	تمایز استئوژنیک	$5, 10, 20 j/cm^2$	460 nm	سلول‌های بنیادی پالپ دندان

سلول‌های بنیادی مزانشیمی و تمایز میوزونیک آن‌ها شده و ترشح VEGF و NGF را تسهیل کند [۱۱۶، ۲۶]. در مطالعه دیگری، لیزر کم توان مادون قرمز (۸۰۸ نانومتر، $4 J/cm^2$) موجب القاء تمایز به استئوکلاست و استئوبلاست در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان می‌گردد [۱۱۷، ۲۶].

استفاده از لیزر کم توان ($6 J/cm^2$ و ۳، $810 nm$) موجب تمایز سلول‌های بنیادی مغز استخوان به سلول‌های عصبی می‌شود، در حالی که تابش لیزر با دانسیته انرژی $4 J/cm^2$ و ۲ این سلول‌ها را به استئوبلاست متمایز می‌کند [۱۱۸، ۲۶]. مطالعه دیگری نشان داد که استفاده از لیزر کم توان ($5, 10, 20 J$) باعث افزایش تمایز استخوانی در سلول‌های بنیادی پالپ دندان می‌شود [۱۱۹، ۲۶]. همچنین، سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون انسان را می‌توان با تابش لیزر کم توان به سلول‌های تنوسیت تبدیل کرد. بنابراین، استفاده از فاکتورهای رشدی مانند EGF2، TGFβ3، IGF-1، bFGF2 با لیزر کم توان می‌تواند باعث بیان مهمترین ژن‌های تنوژنیک از جمله EGR1، TNF و DCN شود [۱۲۰، ۲۶]. همچنین در یک مطالعه، استفاده از لیزر کم توان، با طول موج ۴۲۰ و ۵۴۰ نانومتر در $3 J/cm^2$ بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی انسان کشت شده در محیط استئوژنیک، نشان داد که تحریک تمایز به استئوبلاست در این سلول‌ها در مقایسه با سلول‌های تیمار شده با لیزر ۶۶۰ و ۸۱۰ نانومتر بیشتر بوده است که با افزایش بیان RUNX2، استریکس و استئوکلسین همراه بود (بیان RUNX2 نشان‌دهنده تمایز سلول‌ها به استئوبلاست است) [۴۶]. همچنین، رنگ آمیزی ایمونوفلورسانس، مارکرهاى اندوتلیال (CD34، CD31 و KDR) را در سلول‌های تحت تابش لیزر ۶۶۰ نانومتر، نشان دادند [۱۲۱]. تابش لیزر He-Ne با طول موج ۶۳۲ نانومتر، باعث افزایش تکثیر و تمایز به رده سلولی استئوبلاست انسانی همراه با افزایش قابل توجه مارکرهاى استئوژنیک از جمله آلکالین فسفاتاز (ALP)، استئوپوتین و سیالوپروتئین استخوان می‌شود [۵۹].

استخوان به بافت ایسکمیک شده که می‌تواند عملکرد آن را بهبود بخشد [۱۲۳، ۲۶].

تابش لیزر کم‌توان با طول موج ۶۶۰ و ۸۳۰ نانومتر در J/cm^2 به‌طور قابل توجهی موجب افزایش مهاجرت hORSC ها می‌شود. در این مطالعه تابش لیزر LED با طول موج ۶۶۰nm نتایج بهتری در مهاجرت این سلول‌ها نسبت به طول موج ۸۳۰ نانومتر دارد [۴۷]. همچنین مهاجرت ملانوسیت‌ها توسط تابش لیزر هلیوم - نئون (۶۳۲ نانومتر، J/cm^2 ۱/۵-۰/۵) افزایش می‌یابد. bFGF یک فاکتور رشد ملانوسیتی قلمداد می‌شود، درحالی‌که NGF یک فاکتور پاراکرین برای بقای ملانوسیت‌ها در پوست است. هر دو فاکتور رشد bFGF و NGF مهاجرت ملانوسیت‌ها را تحریک می‌کنند. لیزر ۶۳۲ نانومتری افزایش قابل توجهی در آزادسازی bFGF از کراتینوسیت‌ها و فیروبلاست‌ها و افزایش قابل توجه آزادشدن NGF از سلول‌های کراتینوسیت را نشان می‌دهد [۱۲۴].

همچنین، لیزر درمانی کم‌توان با لیزر هلیوم - نئون (۶۳۲.۸ نانومتر، J/cm^2 ۱۶، ۵، ۲/۵)، نشان داد که تیمار با لیزر J/cm^2 ۲/۵، دو تا سه بار در روز و همچنین روزانه یک بار، تکثیر و مهاجرت سلولی را افزایش می‌دهد. درحالی‌که، تابش لیزر در J/cm^2 ۱۶/۰ موجب مهار تکثیر سلول و اثرات منفی بر مهاجرت سلولی، زنده‌مانی و فعالیت آدنوزین تری‌فسفات می‌گردد [۱۲۵]. همچنین لیزر درمانی با طول موج ۶۵۰ نانومتر، اثرات القاء در مهاجرت HUVEC ها در دوزهای تابش J/cm^2 ۱/۰ تا ۴/۰ اعمال می‌کند [۱۰۳].

با توجه به نتایج بدست آمده از تحقیقات اخیر در زمینه تاثیر مثبت لیزر درمانی کم‌توان بر تکثیر و مهاجرت سلولی و همچنین تمایز استئوژنیک، تنوژنیک، میوژنیک، نوروژنیک و ... می‌توان از تیمار سلول‌های بنیادی و یا سایر منابع سلولی در مهندسی بافت استخوان، غضروف، عصب، عضله و ... در ترکیب با داربست‌های بیومتریالی مناسب و یا به تنهایی در کاربرد های سلول درمانی استفاده کرد. بر این اساس، به نظر می‌رسد استفاده از این تکنیک در استراتژی‌های درمانی مبتنی بر سلول‌درمانی و مهندسی بافت به

سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون انسان	660 nm	3,6,12 J/cm ²	تمایز تنوژنیک	۱۲۰
سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی انسان کشت شده در محیط استئوژنیک	420,540nm	J/cm ² ۳	تمایز استئوژنیک	۴۶
سلول‌های استیلاست انسانی مشتق شده از استخوان	۶۳۲nm	0.14, 0.43, J/cm ² 1.43 180 mw/cm ²	تمایز استئوژنیک	۵۹

مهاجرت سلولی

مهاجرت سلولی فرآیند اساسی در توسعه و حفظ ارگان‌های چند سلولی است. تشکیل بافت در طی رشد جنینی، ترمیم زخم و پاسخ‌های ایمنی بدن همگی به حرکت منظم سلول‌ها (در جهت‌های خاص و به مکان‌های خاص) نیازمند است. سلول‌ها اغلب در پاسخ به سیگنال‌های خارجی از جمله سیگنال‌های شیمیایی و مکانیکی مهاجرت می‌کنند. این در حالیتیست که تنظیم نامناسب مهاجرت سلولی می‌تواند منجر به مشکلات و بیماری‌های گوناگون، از جمله ناتوانی ذهنی، بیماری‌های عروقی، تشکیل تومور و متاستاز سرطان شود. درک مکانیسم مهاجرت سلول‌ها منجر به توسعه استراتژی‌های درمانی جدیدی برای کنترل بیماری‌های مختلف مانند مهاجرت سلول‌های توموری مهاجم می‌شود. مطالعات گوناگون، تاثیر لیزر درمانی کم‌توان با پارامترهای تابش گوناگون بر مهاجرت سلولی را مورد مطالعه قرار داده اند.

لیزر کم‌توان با طول موج ۶۶۰ نانومتر (۲۲۰ ولت، ۵۰ هرتز) می‌تواند با افزایش EKK1 / 2 و FAK (که سیگنال‌های چسبندگی و مهاجرت سلول‌ها را تنظیم می‌کنند)، مهاجرت سلولی را افزایش دهد. در این مطالعه، فاکتورهای رشد HGF و PDGF نیز افزایش یافته است [۱۲۲، ۲۷]. ایسکمی ناشی از انفارکتوس میوکارد باعث آسیب به بافت قلب می‌شود که ظرفیت بازسازی و ترمیم قلب را محدود می‌کند. بر این اساس، استفاده از لیزر کم‌توان ۱۰ میلی وات بر سانتی‌متر مربع باعث مهاجرت سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز

منظور افزایش کارایی و سرعت ترمیم بافت‌ها و اندام‌های آسیب‌دیده، دریچه‌ای نو در کاربرد های بالینی پزشکی بازساختی بگشاید.

نتیجه‌گیری

پزشکی بازساختی و مهندسی بافت با بکارگیری ترکیبی از درمان‌های نوین مانند سلول‌های بنیادی و لیزر درمانی کم‌توان قادر است با فراهم کردن بافت‌ها و اندام‌های سالم و عملکردی کیفیت زندگی بیماران را بهبود بخشد. امروزه محققان در حال انجام تحقیقات پایه و بالینی در زمینه پزشکی لیزر و فوتوبیولوژی، با هدف ایجاد روش‌های جدید تشخیصی و درمانی هستند.

در این مطالعه، به بررسی آخرین تحقیقات انجام شده در مورد اثرات سلولی و مولکولی تابش لیزر بر سلول‌های بنیادی پرداختیم. نتایج حاصل از مطالعات نشان می‌دهد که تاثیر لیزر درمانی کم‌توان بر تکثیر، تمایز و مهاجرت سلولی، به‌طور قابل توجهی تحت تاثیر نوع، طول موج، انرژی و توان لیزر بکار رفته و همچنین نوع سلول تحت تابش است. انتخاب مناسب پارامترهای لیزر درمانی، تاثیر مثبتی بر تکثیر و تمایز سلول‌های کشت شده از جمله سلول‌های بنیادی مزانشیمی دارد که در مهندسی بافت و پزشکی بازساختی بسیار حائز اهمیت است. لذا، تجزیه و تحلیل دقیق داده‌های تجربی موجود و جمع‌آوری آنها تحت یک پایگاه داده سیستمیک و جامع، می‌تواند افق‌های جدیدی را در تحقیقات زیست پزشکی، فوتوتراپی و سلول درمانی بگشاید.

References:

1. Lanza R, Langer R, Vacanti J. Principles of tissue engineering. 4th edition, Atlanta, GA: Elsevier Acad, 2013.
2. Chandra P, Soker S, Atala A. Tissue engineering: current status and future perspectives. 5th Edition Academic Press, United State, 2020.
3. Howard D, Buttery L, Shakesheff K, Roberts S. Tissue engineering: strategies, stem cells and scaffolds. Journal of Anatomy 2008, vol. 213, no. 1, 66–72.
4. Lv F, Tuan R, Cheung K, Leung V. Concise review: the surface markers and identity of human mesenchymal stem cells. vol. 32, no. 6. 1408–1419, 2014.
5. Ahmed G, Abouauf E, AbuBakr N, Dörfer C, El-Sayed K. Tissue Engineering Approaches for Enamel, Dentin, and Pulp Regeneration, Stem cell international, 2020: 5734539.
6. Hashemi-Beni B, Khoroushi M, Foroughi M, Karbasi S, Khademi A. Tissue engineering: Dentin–pulp complex regeneration approaches (A review), Tissue and Cell. 2017. vol. 49, no. 5, 552–564.
7. Vanessa L.S. LaPointe, et al. Cellular Signaling. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-420145-3.00004-3>, 2015.
8. Wojciech Zakrzewski W, Dobrzyński M, Szymonowicz M, Rybak Z. Stem cells: past, present, and future. Stem Cell Research & Therapy. 2019. 10:68
9. Atanasova M, Whitty A. Understanding cytokine and growth factor receptor activation mechanisms, Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology. 2012. vol. 47, no. 6, 502–530.
10. Nishihara T, Terashita M, Tabata Y, Washio A. Local regeneration of dentin-pulp complex using controlled release of fgf-2 and naturally derived sponge-like scaffolds. International Journal of Dentistry, 2012.
11. Oshima M, Tsuji T. Functional tooth regenerative therapy: tooth tissue regeneration and whole-tooth replacement, Odontology. 2014. vol. 102, no. 2, 123–136.
12. Tripodi N, Corcoran D, Antonello P, Balic N, Caddy D, Knight A, Meehan C, Sidirolou F, Sarah Fraser S, Kiatos D, Husaric M, Apostolopoulos V, Feehan J. The effects of photobiomodulation on human dermal fibroblasts in vitro: A systematic review, Journal of Photochemistry & Photobiology. B: Biology. 2021. 214: 112100
13. Mester E, Szende B, Gärtner P. Effect of laser on hair growth of mice. Kiserl Orvostud. 1967; 19: 628–631.
14. Mester E, Spiry T, Szende B, Tota J G. Effect of laser rays on wound healing. Am J Surg. 1971; 122: 532–535.
15. Mester E, Korényi-Both A, Spiry T, Scher A, Tisza S. Stimulation of wound healing by laser rays. Acta Chir Acad Sci Hung. 1972; 13: 315–324.
16. Hourel N. Healing Effects of Photobiomodulation on Diabetic Wounds. Applied Sciences. 2019; 9(23): 5114.
17. Freitas de Freitas L, Hamblin M. Proposed Mechanisms of Photobiomodulation or Low-Level Light Therapy. IEEE J Sel Top Quantum Electron. 2016. VOL. 22, NO. 3.
18. Hashmi J, Huang Y, Osmani B, Sharma S, Naeser M, Hamblin M. Role of Low-Level Laser Therapy in Neurorehabilitation. PM R. 2010; 2(12 Suppl 2): S292–S305.
19. Cotler H, Chow R, Hamblin M, Carroll J. The Use of Low Level Laser Therapy (LLLT) For Musculoskeletal Pain. MOJ Orthop Rheumatol. 2015; 2(5): 00068
20. Chung H, Dai T, Sharma S, Huang Y, Carroll J, Hamblin M. The Nuts and Bolts of Low-level Laser (Light) Therapy. Ann. Biomed. Eng. 2012, 40, 516–533.
21. Anders J, Lanzafame R, Arany P. Low-Level Light/Laser Therapy Versus Photobiomodulation Therapy. Photomed. Laser Surg. 2015, 33, 183–184.

22. Mosca R, Ong A, Albasha O, Bass K, Arany P. Photobiomodulation Therapy for Wound Care. *Adv. Ski. WoundCare* 2019, 32, 157–167.
23. Sassoli C, Chellini F, Squecco R, Tani A, Idrizaj E, Nosi D, Giannelli M, Zecchi-Orlandini S. Low intensity 635 nm diode laser irradiation inhibits fibroblast–myofibroblast transition reducing TRPC1 channel expression/activity: New perspectives for tissue fibrosis treatment. *Lasers Surg. Med.* 2015, 48, 318–332.
24. Hamblin, M.R. Mechanisms and Mitochondrial Redox Signaling in Photobiomodulation. *Photochem. Photobiol.* 2018, 94, 199–212.
25. AlGhamdi K, Kumar A, Moussa N. Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells, Springer-Verlag London Ltd 2011.
26. Ahrabi B, Rezaei Tavirani M, Khoramgah M, Noroozian M, Darabi S, Khoshsirat S, Abbaszadeh H. The Effect of Photobiomodulation Therapy on the Differentiation, Proliferation, and Migration of the Mesenchymal Stem Cell: A Review. *J Lasers Med Sci* 2019 Autumn; 10(Suppl1):S96-S103.
27. Usumez A, Cengiz B, Oztuzcu S, Demir T, Hamdi Aras M, Gutknecht N. Effects of laser radiation at different wavelengths (660, 810, 980, and 1,064 nm) on mucositis in an animal model of wound healing. *Lasers Med Sci.* 2014; 29(6): 1807–1813.
28. Hamblin M, Demidova-Rice T. Mechanisms of low level light therapy - an introduction. Vol. 61001. The International Society for Optical Engineering; Bellingham, Washington, USA: 2006. p. 1-12.
29. Waynant, Ronald W., Anders, Juanita. Mechanisms for Low-Light Therapy II. Edited by Hamblin, Michael R. 2007. Proceedings of the SPIE, Volume 6428.
30. F Aimbire¹, R Albertini, M T T Pacheco, H C Castro-Faria-Neto, P SLM Leonardo, V V Iversen, R A B Lopes-Martins, J M Bjordal Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNF α levels in acute inflammation. *Photomed Laser Surg.* 2006; 24: 33–37.
31. Margaret T T Wong-Riley¹, Huan Ling Liang, Janis T Eells, Britton Chance, Michele M Henry, Ellen Buchmann, Mary Kane, Harry T Whelan Photobiomodulation directly benefits primary neurons functionally inactivated by toxins: role of cytochrome c oxidase. *J Biol Chem.* 2005; 280(6): 4761–4771.
32. Lane N. Cell biology: power games. *Nature.* 2006; 443(7114): 901–903.
33. Karu TI, Kolyakov SF. Exact action spectra for cellular responses relevant to phototherapy. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23: 355–361.
34. Zhang Y, Song S, Fong C, Tsang C, Yang Z, Yang M. cDNA microarray analysis of gene expression profiles in human fibroblast cells irradiated with red light. *J Invest Dermatol.* 2003; 120: 849–857.
35. Karu T. I. Mitochondrial signaling in mammalian cells activated by red and near-IR radiation. *Photochem Photobiol.* 2008. vol. 84, no. 5, pp. 1091–1099.
36. Magrini T. D, Santos N, Milazzotto M, Cerchiaro G, Martinho H. Low-level laser therapy on MCF-7 cells: A micro-Fourier transform infrared spectroscopy study. *J. Biomed. Opt.* 2012, vol. 17, no. 10, p. 101516.
37. Zungu I, Evans D, Abrahamse H. Mitochondrial responses of normal and injured human skin fibroblasts following low level laser irradiation—An in vitro study. *Photochem. Photobiol.* 2009, 85, 987–996.
38. Sauer H, Wartenberg M, Hescheler J. Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation. *Cell Physiol Biochem.* 2001. 11: 173–186.
39. Gavish L, Asher Y, Becker Y, Kleinman Y. Low-level laser irradiation stimulates mitochondrial membrane potential and disperses subnuclear promyelocytic leukemia protein. *Lasers Surg Med.* 2004. 35: 369–376.
40. Hawkins D, Abrahamse H. Effect of multiple exposures of low-level laser therapy on the cellular responses of wounded human skin

- fibroblasts. *Photomed Laser Surg*, 2006.24:705–714.
41. Tanboga I, Eren F, Altinok B, Peker S, Ertugral F. The effect of low level laser therapy on pain during dental tooth-cavity preparation in children. *Eur. Arch Paediatr Dent*, 2011, vol. 12, no. 2, 93–95.
42. Fujimoto K, Kiyosaki T, Mitsui N, Mayahara K, Omasa S, Suzuki N, Shimizu N. Low-intensity laser irradiation stimulates mineralization via increased BMPs in MC3T3-E1 cells. *Lasers Surg Med*, 2010, vol. 42, no. 6, 519–526.
43. Klapczynski A. Influence of photobiomodulation with blue light on the metabolism, proliferation and gene expression of human fibroblasts. 2019. DOI: <https://doi.org/10.11588/heidok.00027187>
44. Dang Y, Ye X, Weng Y, Tong Z, Ren Q. Effects of the 532-nm and 1,064-nm Q-switched Nd:YAG lasers on collagen turnover of cultured human skin fibroblasts: a comparative study. *Lasers Med Sci*. 2010, Sep; 25(5):719–26.
45. Hwang M, Son H, Lee J, Yoo C, Shin J, Nam H, Lim H, Baek S, Park J, Kim J, Choi H. Phototherapy suppresses inflammation in human nucleus pulposus cells for intervertebral disc degeneration. *Lasers Med Sci.*, 2018 Jul;33(5):1055–1064.
46. Wang Y, Huang Y, Wang Y, Lyu P, Hamblin M. Photobiomodulation (blue and green light) encourages osteoblastic-differentiation of human adipose-derived stem cells: role of intracellular calcium and light-gated ion channels. *Sci Rep*. 2016 Sep 21; 6:33719.
47. Kim J, Woo Y, Sohn K, Jeong K, Kang H. Wnt/b-Catenin and ERK Pathway Activation: A Possible Mechanism of Photobiomodulation Therapy With Light-Emitting Diodes that Regulate the Proliferation of Human Outer Root Sheath Cells. *Lasers Surg Med*. 2017 Dec; 49(10):940–947.
48. Houreld N, Masha R, Abrahamse H. Low-intensity laser irradiation at 660 nm stimulates cytochrome c oxidase in stressed fibroblast cells. *Lasers Surg Med*. 2012, 44, 429–434.
49. Frigo L, Fávero G, Campos Lima H, Maria D, Bjordal J, Joensen J, Iversen V, Marcos R, Parizzoto N, Brandão Lopes-Martins R. Low-level laser irradiation (InGaAlP-660 nm) increases fibroblast cell proliferation and reduces cell death in a dose-dependent manner. *Photomed Laser Surg*. 2010; 28(Suppl 1):S151–S156.
50. Basso F, Oliveira C, Kurachi C, Hebling J, Souza Costa C. Biostimulatory effect of low-level laser therapy on keratinocytes in vitro. *Lasers Med Sci*. 2013; 28(2):367–374.
51. Szymanska J, Goralczyk K, J Klawe J, Lukowicz M, Michalska M, Goralczyk B, Zalewski P, Newton J L, Gryko L, Zajac A, Rosc D. Phototherapy with low-level laser influences the proliferation of endothelial cells and vascular endothelial growth factor and transforming growth factor-beta secretion. *J Physiol Pharmacol*. 2013; 64(3):387–391.
52. Moore P, Ridgway T, Higbee R, Howard E, Lucroy M. Effect of wavelength on low-intensity laser irradiation-stimulated cell proliferation in vitro. *Lasers Surg Med*. 2005; 36(1):8–12.
53. Chen C, Tsai J, Wang y, Lee C, Chen J, Huang M. Low-level laser irradiation promotes cell proliferation and mRNA expression of type I collagen and decorin in porcine Achilles tendon fibroblasts in vitro. *J Orthop Res*. 2009; 27(5):646–650.
54. Usumez A, Cengiz B, Oztuzcu S, Demir T, Aras M, Gutknecht N. Effects of laser radiation at different wavelengths (660, 810, 980, and 1,064 nm) on mucositis in an animal model of wound healing. *Lasers Med Sci*. 2014; 29(6):1807–1813.
55. Yu W, Naim J O, Lanzafame R J. Effects of photostimulation on wound healing in diabetic mice. *Lasers Surg Med*. 1997; 20(1):56–63.
56. Dadpay M, Sharifian Z, Bayat M, Bayat M, Dabbagh A. Effects of pulsed infra-red low level-

- laser irradiation on open skin wound healing of healthy and streptozotocin-induced diabetic rats by biomechanical evaluation. *J Photochem Photobiol B*. 2012; 111:1–8.
57. Woodruff L, Bounkeo J, Brannon W, Dawes K, Barham C, Waddell D, Enwemeka C. The efficacy of laser therapy in wound repair: a meta-analysis of the literature. *Photomed Laser Surg*. 2004; 22(3):241–247.
58. Huang Y, Chen A, Carroll J, Hamblin M. Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose Response*. 2009; 7(4):358–383.
59. Stein A, Benayahu D, Maltz L, Oron U. Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblasts in vitro. *Photomed Laser Surg*. 2005; 23:161–166.
60. Shefer G, Partridge TA, Heslop L, Gross JG, Oron U, Halevy O. Low-energy laser irradiation promotes the survival and cell cycle entry of skeletal muscle satellite cells. *J Cell Sci*. 2006. 115:1461–1469.
61. Jia YL, Guo ZY. Effect of low-power He-Ne laser irradiation on rabbit articular chondrocytes in vitro. *Lasers Surg Med*. 2004.34:323–328.
62. Gao X, Xing D. Molecular mechanisms of cell proliferation induced by low-power laser irradiation. *J Biomedical Sci*. 2009.16:4.
63. Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J Photochem Photobiol B* 1999.49:1–1.
64. Cohen N, Lubart R, Rubinstein S, Breitbart H. Light irradiation of mouse spermatozoa: stimulation of in vitro fertilization and calcium signals. *Photochem Photobiol*, 1998. 68:407–413.
65. Evan R, Kokoska M.D, Andrew B, Wolff B A, Gregory S, Smith Ph.D, Thomas A, Miller M.D. Epidermal growth factor-induced cytoprotection in human intestinal cells involves intracellular calcium signaling. *J Surg Res*, 2000.88:97–103.
66. Duan R, T Cheng-Yi Liu, Li Y, Guo H, Yao L-B, Signal transduction pathways involved in low-intensity He-Ne laser induced respiratory burst in bovine neutrophils: a potential mechanism of low-intensity laser biostimulation. *Lasers Surg Med*, 2001.29:174–178.
67. Krizaj D, Copenhagen D R. Calcium regulation in photoreceptors. *Front Biosci*. 2002.7:d2023–d2044.
68. Lavi R, Shainberg A, Friedmann H, Shneyvays V, Rickover O, Eichler M, Kaplan D, Lubart R. Low-energy visible light induces reactive oxygen species generation and stimulates an increase of intracellular calcium concentration in cardiac cells. *J Biol Chem*. 2003.278:40917–40922..
69. Karu TI. Mitochondrial signaling in mammalian cells activated by red and near-IR radiation. *Photochem Photobiol*. 2008. 84:1091–1099.
70. Gavish L, MSC YA, Becker Y, Kleinman Y. Low-level laser irradiation stimulates mitochondrial membrane potential and disperses subnuclear promyelocytic leukemia protein. *Lasers Surg Med* 2003.35:369–376.
71. Ben-Dov N, Shefer G, Irinicher A, Wernig A, Oron U, Halevy O. Low-energy laser irradiation affects satellite cell proliferation and differentiation in vitro. *Biochim Biophys Acta* 1999.1448:372–380.
72. Shefer G, Oron U, Irintchev A, Wernig A, Halevy O. Skeletal muscle cell activation by low-energy laser irradiation: A role for the MAPK/ERK pathway. *J Cell Physiol*. 2001.187:73–80.
73. Gao X, Chen T, Xing D, Wang F, Pei Y, Wei X. Single cell analysis of PKC activation during proliferation and apoptosis induced by laser irradiation. *J Cell Physiol*. 2006.206:441–448.
74. Zhang J, Xing D, Gao X. Low-power laser irradiation activates Src tyrosine kinase through reactive oxygen species mediated signaling pathway. *J Cell Physiol*. 2008.217:518–528.
75. Kassenbrock CK, Hunter S, Garl P, Johnson GL, Anderson SM. Inhibition of Src

- family kinases blocks epidermal growth factor (EGF)-induced activation of Akt, phosphorylation of c-Cbl, and ubiquitination of the EGF receptor. *J Biol Chem*. 2002.277:24967–24975.
76. Kawakami Y, Nishimoto H, Kitaura J, R.Littman D, G.Rawlings D, Kawakami T. Protein kinase C betaII regulates Akt phosphorylation on Ser-473 in a cell typeand stimulus-specific fashion. *J Biol Chem*. 2004.279:47720–47725.
77. Partovian C, Simons M. Regulation of protein kinase B/Akt activity and Ser473 phosphorylation by protein kinase C alpha in endothelial cells. *Cell Signal*. 2004.16:951–957.
78. Bentley JK, Newcomb DC, Goldsmith AM, Jia Y, Sajjan US, Hershenson MB. Rhinovirus activates interleukin-8 expression via a Src/p110beta phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in human airway epithelial cells. *J Virol*. 2007.81:1186–1194.
79. Alexandratou E, Yova D, Handris P, Kletsasb D, Loukas S, Human fibroblast alterations induced by low-power laser irradiation at the single cell level using confocal microscopy. *Photochem Photobiol Sci* .2002.1:547–552.
80. Ushio-Fukai M, Alexander R.W, Akers M, Fujior Y, Walsh K, Griendling k.k. Reactive oxygen species mediate the activation of Akt/protein kinase B by angiotensin II in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*. 1999.274:22699–22704.
81. Wang X, D.Mccullough K, Franke TH, Holbrook N. Epidermal growth factor receptor dependent Akt activation by oxidative stress enhances cell survival. *J Biol Chem*. 2000.275:14624– 1463.
82. Tam Sh, Tam V, Ramkumar Sh, Khaw ML, Law H, Lee Sh. Review on the Cellular Mechanisms of Low-Level Laser Therapy Use in Oncology. *Front Oncol*. 2020; 10: 1255.
83. Han B, Fan J, Liu L, Tian J, Gan CH, Yang Z, Jiao H, Zhang T, Liu Zh, Zhang H. Adiposederived mesenchymal stem cells treatments for fibroblasts of fibrotic scar via downregulating TGF- β 1 and Notch-1 expression enhanced by photobiomodulation therapy. *Lasers Med Sci*. 2019; 34(1):1-10.
84. Liao X, Li Sh-H, Xie G-H, Xie SH, Xiao Li, Song J-X, Liu H-W. Preconditioning With Low-Level Laser Irradiation Enhances the Therapeutic Potential of Human Adipose derived Stem Cells in a Mouse Model of Photoaged Skin. *Photochem Photobiol*. 2018;94(4):780-90.
85. Nurković J, Zaletel I, Nurković S, Hajrović S, Mustafić F, Isma J, Škevin AJ, Grbović V, Filipović MK, Dolićanin Z. Combined effects of electromagnetic field and low-level laser increase proliferation and alter the morphology of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Lasers Med Sci*. 2017;32(1):151- 60.
86. Gammal ZH, Zaher AM, El-Badri N. Effect of lowlevel laser-treated mesenchymal stem cells on myocardial infarction. *Lasers Med Sci*. 2017;32(7):1637-46.
87. Cavalcanti MF, A. Maria D, Isla N, Leal-Junior EC, Joensen J, Bjordal JM, A.M.B R. Martins L, Diomede F, Trubiani O, Frigo L. Evaluation of the proliferative effects induced by low-level laser therapy in bone marrow stem cell culture. *Photomed Laser Surg*. 2015;33(12):610-6.
88. Ahn JC, Rhee YH, Choi SH, Yu Kim D, Chung PS. Low level light promotes the proliferation and differentiation of bone marrow derived mesenchymal stem cells. In *Mechanisms for Low-Light Therapy* ., Proceedings of the SPIE, 2015;Volume 9309.
89. Giannelli M, Chellini F, Sassoli Ch, Francini F, Pini A, Squecco R, Nosi D, Bani D, Zecchi-Orlandini S, Formigli L. Photoactivation of bone marrow mesenchymal stromal cells with diode laser: effects and mechanisms of action. *J Cell Physiol*. 2013;228(1):172-81.
90. Felipe F, Felipe F. Sperandio, Simões A, Corrêa L, C.Aranha C, S. Giudice F, R. Hamblin M, C.O.M. Sousa S. Low-level laser irradiation promotes the proliferation and maturation of keratinocytes

- during epithelial wound repair. *Journal of Biophotonics*, 2015; 8, (10):795-803.
91. Bagheri Hs, Mousavi M, Rezaabakhsh A, Rezaie J, Rasta S-H, Nourazarian A, Avci C-B, Tajalli H, Talebi M, Oryan A, Khaksar M, Kazemi M, Nassiri S-M, Ghaderi SH, Goker Bagca B, Rahbarghazi R, Sokullu E. Low-level laser irradiation at a high power intensity increased human endothelial cell exosome secretion via Wnt signaling. *Lasers in Medical Science*. 2018; 33: 1131–1145.
92. Chen H, Wang H, Li Y, Liu W, Wang Ch, Chen Zh. Biological effects of low-level laser irradiation on umbilical cord mesenchymal stem cells. *AIP Advances*. 2016; 6, 045018.
93. Pyo Se-J, Song W-W, Kim In-R, Park B-S, Kim Ch-H, Shin S-H, Chung I-K, Kim Y-D. Low-level laser therapy induces the expressions of BMP-2, osteocalcin, and TGF- β 1 in hypoxic-cultured human osteoblasts. 2012 Springer-Verlag London.
94. Yamaura M, Yao M, Yaroslavsky I, Cohen R, Smotrich M. Low Level Light Effects on Inflammatory Cytokine Production by Rheumatoid Arthritis Synoviocytes, *Lasers in Surgery and Medicine*. 2009; 41:282–290.
95. Kreisler M, Christoffers AB, Willershausen B, D'Hoedt B. Effect of low-level GaAlAs laser irradiation on the proliferation rate of human periodontal ligament fibroblasts: an in vitro study. *J Clin Periodontol*. 2003; 30:353–8.
96. Pereira AN, Eduardo CDP, Matson E, Marques M. Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. *Lasers Surg Med*. 2002; 31:263–7.
97. Wang Y, Huang Y_Y, Wang Y, Lyu P, R. Hamblin M. Red (660 nm) or near-infrared (810 nm) photobiomodulation stimulates, while blue (415 nm), green (540 nm) light inhibits proliferation in human adipose derived stem cells. *Sci Rep*. 2017; 7, 7781.
98. Wenqi Li, Xiaojian HU, Xi, Lu, Jie Liu, Zeqing Chen, Xiaoli Zhou, Muqing Liu, Shangfeng Liu. RNA- seq analysis revealed the molecular mechanisms of photobiomodulation effect on human fibroblasts, *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2020; 36(4):299-307.
99. Crisan B, Crisan B, Soritau O, Baciut M, Campian R, Crisan L, Baciut G. Influence of three laser wavelengths on human fibroblasts cell culture. *Lasers Med Sci*. 2013; 28:457–63.
100. Ma H, Yang J-P, Tan RK, Lee H-W, Han S-K. Effect of low-level laser therapy on proliferation and collagen synthesis of human fibroblasts in vitro. *JWound Manag Res*. 2018; 14:1–6.
101. Tuby H, Maltz L, Oron U. Low-level laser irradiation (LLL) promotes proliferation of mesenchymal and cardiac stem cells in culture. *Lasers Surg Med*. 2007; 39:373–8.
102. Saygun I, Nizam N, Ural A, Serdar M, Avcu F, Tozum T. Low-level laser irradiation affects the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulinlike growth factor-I (IGF-I), and receptor of IGF-I (IGFBP3) from osteoblasts. *Photomed Laser Surg*. 2012; 30:149–54.
103. Saygun I, Nizam N, Ural A, Serdar M, Avcu F, Tozum T. Low-level laser irradiation affects the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulinlike growth factor-I (IGF-I), and receptor of IGF-I (IGFBP3) from osteoblasts. *Photomed Laser Surg*. 2012; 30:149–54.
104. Scharfetter VH, Galvan O, Riechelmann H, Dudas J. Differential responses of fibroblasts, non-neoplastic epithelial cells, and oral carcinoma cells to low-level laser therapy. *Support Care Cancer*. 2012; 20:523–9.
105. Chen H, Wu H, Yin H, Wang J, Dong H, Chen Q, Li Y. Effect of photobiomodulation on neural differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Lasers Med Sci*. 2019; 34(4):667-75.

106. Park IS, Chung PS, Ahn J.C, Leproux A. Human adiposederived stem cell spheroid treated with photobiomodulation irradiation accelerates tissue regeneration in mouse model of skin flap ischemia. *Lasers Med Sci.* 2017;32(8):1737-46.
107. Park IS, Chung PS, Ahn J.C . Angiogenic synergistic effect of adipose-derived stromal cell spheroids with low-level light therapy in a model of acute skin flap ischemia. *Cells Tissues Organs.* 2016;202(5-6):307-18.
108. Park IS, Chung PS, Ahn J.C. Enhancement of ischemic wound healing by spheroid grafting of human adiposederived stem cells treated with low-level light irradiation. *PLoS One.* 2015;10(6):e0122776.
109. Park IS, Chung PS, Ahn J.C. Enhanced angiogenic effect of adipose-derived stromal cell spheroid with low-level light therapy in hind limb ischemia mice. *Biomaterials.* 2014;35(34):9280-9.
110. Choi K, Kang B, lee S, Bae S, Kweon O, Kim W. Low-level laser therapy promotes the osteogenic potential of adipose-derived mesenchymal stem cells seeded on an acellular dermal matrix. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2013;101(6):919-28.
111. Wang L, Wu F, Liu Ch, Guo j, Yang Y, Oiu Y. Low level laser irradiation modulates the proliferation and the osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells under healthy and inflammatory condition. *Lasers Med Sci.* 2019;34(1):169-78.
112. Ferreira-Silva V, L. Primo F, Baqui M, Magalhães D, Orellana M, Castilho-Fernandes A, Cruz M, Câmara N, Covas D , Tedesco A. Beneficial role of low-intensity laser irradiation on neural β -tubulin III protein expression in human bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Rev Rep.* 2018;14(4):585-98.
113. Amaroli A, Laus F, Cuteri V, Hanna R, Subbieti MG, Benedicenti S. The effects of photobiomodulation of 808 nm diode laser therapy at higher fluence on the in vitro osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells. *Front Physiol.* 2018;9:123.
114. Leonida A, Pausco A, Rossi G, Carini F, Baldoni M, Caccianiga G. Effects of low-level laser irradiation on proliferation and osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells seeded on a threedimensional biomatrix: in vitro pilot study. *Lasers Med Sci.* 2013;28(1):125-32.
115. Wu JY, Wang YH, Wang GJ, Ho ML, Wang CZ, Yeh ML , Chen CH. Low-power GaAlAs laser irradiation promotes the proliferation and osteogenic differentiation of stem cells via IGF1 and BMP2. *PloS One.* 2012;7(9):e44027.
116. Hou JF, Zhang H, Yuan X, Li BS J, Wei YJ, Hu Sh. In vitro effects of low-level laser irradiation for bone marrow mesenchymal stem cells: Proliferation, growth factors secretion and myogenic differentiation. *Lasers Surg Med.* 2008;40(10):726-33.
117. Bouvet-Gerbetaz S, Merigo E, Rocca J, Carle G, Rochet MD N. Effects of low-level laser therapy on proliferation and differentiation of murine bone marrow cells into osteoblasts and osteoclasts. *Lasers Surg Med.* 2009;41(4):291-7.
118. Soleimani M, Abbasnia E, Fathi M, Sahraei H, Fathi Y , Kaka GH. The effects of low-level laser irradiation on differentiation and proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells into neurons and osteoblasts—an in vitro study. *Lasers Med Sci.* 2012;27(2):423-30.
119. Pinheiro CC, de Pinho MC, Aranha AC, Fregnani E, Bueno DF. Low Power Laser Therapy: A Strategy to Promote the Osteogenic Differentiation of Deciduous Dental Pulp Stem Cells from Cleft Lip and Palate Patients. *Tissue Eng Part A.* 2018;24(7-8):569-75.
120. Gomiero ch, Bertolutti G, Martinello T , Van Bruaene N, Y. Broeckx S, Patruno M , H. Spaas J. Tenogenic induction of equine mesenchymal stem cells by means of growth factors and low-

level laser technology. *Vet Res Commun.* 2016;40(1):39-48.

121. In-Su Park, Phil_sang chung, Jin chul Ahn. Adipose-derived stromal cell cluster with light therapy enhance angiogenesis and skin wound healing in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* .2015; 1e7. 462(3):171-177.

122. Yin K, Zhu R, Shihua W, Chanhua Zhao R. Low-level laser effect on proliferation, migration, and antiapoptosis of mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev.* 2017;26(10):762-75.

123. Tuby H, Maltz L, oron U. Induction of autologous mesenchymal stem cells in the bone marrow by lowlevel laser therapy has profound beneficial effects on the infarcted rat heart. *Lasers SurgMed.*2011;43(5):401-9.

124. Hsin-Su Yu, Chieh-Shan Wu, Ying-Hsien Kao, Min-His Chiou, Chia-Li Y. Helium^{Neon} Laser Irradiation Stimulates Migration and Proliferation in Melanocytes and Induces Repigmentation in Segmental-Type Vitiligo *J Invest Dermatol.* 2003;120(1):56-64.

125. Hawkins D, Abrahamse H. Effect of multiple exposures of low-level laser therapy on the cellular responses of wounded human skin fibroblasts. *Photomed Laser Surg.* 2006,24:705–14.