

## مطالعه میزان تکثیر در رده سلولی بنیادی مزانشیمی تحت تاثیر

## کربوکسی تراپی و نور لیزر کم توان

## چکیده

**اهداف:** با توجه به اهمیت روز افزون ترمیم و جوانسازی بافت‌های مختلف لازم است توجه زیادی به تدوین پروتکل‌های درمانی جهت بهبود نتایج درمانی انجام شود. در حال حاضر از لیزرهای کم توان در ترمیم بافت‌های پوستی استفاده می‌شود. روش کربوکسی تراپی با توجه به درمان غیرتهاجمی و ویژگی‌های منحصر به فرد خود اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. در این روش بسته به ناحیه تحت درمان، مقداری دی‌اکسید کربن به موضع تزریق می‌شود. گرچه این ماده به صورت طبیعی توسط سلول‌های بدن تولید می‌شود، اما زمانی که مقدار آن بیش از حد طبیعی شود؛ بدن را مجبور به پاسخ می‌کند. زمانی که این ماده وارد بدن می‌شود، سیستم گردش خون در ناحیه تحت درمان تحریک می‌شود. بدن این شرایط جدید را به منزله کمبود اکسیژن در نظر گرفته و سعی می‌کند با استفاده از رگ‌های خونی، شرایط را کنترل کند. با توجه به اثرات بالینی لیزرهای کم توان و همچنین روش کربوکسی تراپی لازم است اثرات کربوکسی و همچنین اثرات توأم با لیزرهای کم توان در سطح سلولی نیز بررسی شود. در این مطالعه میزان تکثیر و زنده‌مانایی سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی تحت این تیمارها جهت کمک به تدوین پروتکل‌های درمانی موثرتر بررسی شده است.

**مواد و روش‌ها:** مطالعه حاضر به صورت آزمایشگاهی بر روی سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی انسانی انجام گردید. سلول ADMSCs از جهاد دانشگاهی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد. کشت در محیط DMEM [ + 10% FBS ] حاوی آنتی‌بیوتیک یک درصد انجام گرفت. سلول‌های بنیادی مشتق از چربی تحت تاثیر لیزر کم توان با دوزهای مختلف 2، 3، 5 و 7 ژول بر سانتی متر مربع و همچنین تحت تیمار کربوکسی با غلظت‌های مختلف (با سرعت‌ها و حجم‌های مختلف) با دستگاه Carboxy therapy در معرض گاز CO<sub>2</sub> قرار داده شدند و سپس زنده‌مانایی سلولی توسط تست MTT انجام شد.

**نتایج:** نتایج حاصل از تست MTT نشان‌دهنده افزایش زنده‌مانایی و تکثیر سلول‌ها تحت تیمارهای لیزر و کربوکسی بود و در تیمار همزمان لیزر و کربوکسی افزایش بیشتری را نسبت به گروه کنترل نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** براساس یافته‌های مطالعه حاضر استفاده از کربوکسی تراپی و همچنین استفاده هم زمان لیزر با دوز بهینه می‌تواند به عنوان یک روش جایگزین در ترمیم پوست مورد استفاده قرار گیرد.

میناسادات نادری<sup>1</sup>سید مهدی طبایی<sup>2\*</sup>پرینیا همتی<sup>3</sup>افشان شیر کوند<sup>4</sup>محمد حسن سهیلی فر<sup>5</sup>

1- استادیار بیوفیزیک، گروه بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، ایران

2- دانشیار پوست و مو، گروه پژوهشی لیزر پزشکی، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران، ایران

3- پژوهشگر گروه پژوهشی لیزر پزشکی، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران، ایران

4- استادیار بیوفوتونیک، گروه پژوهشی فتودینامیک تراپی، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران، ایران

5- استادیار پزشک مولکولی، گروه پژوهشی لیزر پزشکی، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران، ایران

نویسنده مسئول: دکتر سید مهدی طبایی

پست الکترونیک:

[Smtabaie@yahoo.com.ir](mailto:Smtabaie@yahoo.com.ir)

شماره تماس: 09124268376

کلید واژه‌ها: کربوکسی تراپی، زنده‌مانایی، لیزر کم توان، سلول‌های بنیادی مزانشیمی

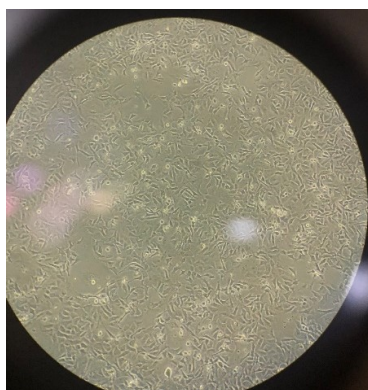
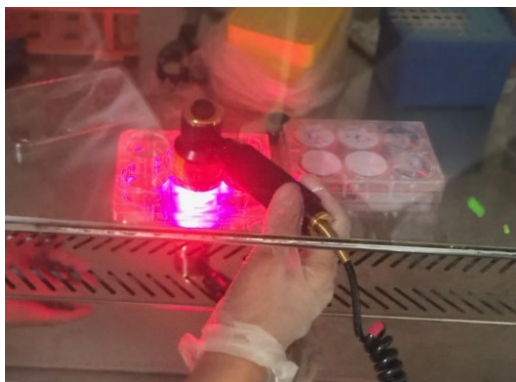
## مقدمه

لیزرهای کم توان با توجه به مکانیسم فتوشیمیایی برای تغییر عملکرد سلولی بکار می‌روند و کاربرد وسیعی در پزشکی دارند (1) تحریک زیست نوری (Photobiostimulation) با استفاده از پرتوهایی با طول موج قرمز تا مادون قرمز نزدیک (near-infra red) که توسط لیزرهایی با توان کم ایجاد می‌شوند، در برخی از موارد درمانی از جمله کاهش درد و تسریع روند بهبود زخم‌های مزمن و کاهش التهاب در کلینیک مورد استفاده قرار گرفته است (2). لیزرها به خاطر تولید پرتوهای نوری با ویژگی‌های منحصربه‌فرد، به عنوان منابع قدرتمند تولید پرتو نور به شمار می‌روند. اثرات درمانی لیزرهای کم توان با استفاده از شدت‌های پایین نور و از طریق جذب و انتقال انرژی فوتون در قالب واکنش‌های فتوشیمیایی آن حاصل می‌شود (3). مطالعات نشان داده است که تحریک زیست نوری با استفاده از منابع نوری لیزرهای کم توان در طول موج‌های قرمز و مادون قرمز موجب افزایش فعالیت میتوکندری به صورت افزایش سنتز ATP (4, 5)، افزایش گرادیان پروتونی ( $\Delta pH$ ) (6)، تغییر پتانسیل غشای میتوکندری ( $\Delta \Psi$ ) (7) و افزایش میزان ROS (5) می‌گردد. از طرفی تحریک زیست نوری باعث افزایش سنتز mRNA در سلول، افزایش شرح برخی از فاکتورهای رشد و سیتوکاین‌های که در روند ترمیم نقش دارند می‌گردد (3).

پرتوی لیزرهای کم توان در طول موج‌های محدوده قرمز و مادون قرمز منجر به تولید ROS شده که به دنبال آن افزایش بازجذب کلسیم داخل سلولی، و فعال شدن پروتئین کینازهای C، موجب افزایش فعالیت NF- $\kappa$ B و AP-1 می‌شود که این مساله موجب افزایش روند تکثیر سلولی می‌شود (7). لازم به ذکر است که در بحث استفاده بالینی از لیزر به دو مورد بیشتر توجه می‌شود: زمان تابش پرتویی و دوز تابشی. این موارد از پارامترهای کلیدی در استفاده از لیزر می‌باشد. از طرفی در کنار استفاده از لیزر کم توان می‌توان از روش‌های دیگر از قبیل کربوکسی تراپی استفاده کرد. کربوکسی تراپی یکی از متدهای درمانی غیرتهاجمی است که نخستین بار در دهه 90 در فرانسه معرفی شد. اثربخشی این متد درمانی به اندازه‌ای قابل توجه بوده است، که در حال حاضر در سراسر جهان توسط پزشکان پوست، مورد استفاده قرار می‌گیرد.

در این روش، برای جوانسازی پوست، کربن دی‌اکسید به صورت مستقیم به زیر پوست تزریق می‌شود. این عمل در هر نقطه از بدن، از جمله صورت، گردن، بازوها، باسن و پاها قابل انجام است. گاز دی‌اکسید کربن حتی می‌تواند در مناطق ظریف یا پوست نازک مانند اطراف چشم تزریق شود. از این درمان به منظور کاهش چربی و سلولیت، افتادگی پوست، جای آکنه، خطوط و چین و چروک و حتی گودی زیر چشم مورد به صورت تجربی استفاده می‌شود. به نظر می‌رسد مکانیسم عملکرد کربوکسی تراپی گردش خون بهتر، بهبود قابلیت ارتجاعی پوست، کاهش رسوب موضعی یا حتی بهبود نتایج زیبایی بعد از لیپوساکشن با مشخصات ایمنی قابل قبول است. کربوکسی تراپی همچنین یک گزینه موفقیت‌آمیز و ایمن برای حلقه‌های تیره دور چشم (DEC) است که به تازگی پیشنهاد شده است، این روش همچنین در بسیاری از زمینه‌های زیبایی و درمانی مانند جوانسازی پوست، ترمیم زخم، استریا و آلوپسی و غیره استفاده شده است (8, 9). همراه با مکانیسم‌های مختلف بالقوه کربوکسی تراپی، اصلی‌ترین کار ایجاد گردش خون بهتر و اکسیژن‌رسانی به بافت‌های هدف است، بنابراین کاربرد آن در زمینه‌های مختلف پزشکی است، به ویژه در درمان‌های زیبایی و پوستی و همچنین ترمیم زخم به سرعت رشد می‌کند (10, 11). اثر بیشتر کربوکسی تراپی بیشتر در کلاژن‌سازی و کاهش چین و چروک‌های پوستی است. کلاژن بخش اعظم ماتریکس خارج سلولی را تشکیل می‌دهد. TGF- $\beta$  تنظیم‌کننده اصلی ماتریکس خارج سلولی است که در فعال‌سازی فیبروبلاست‌های پوستی و در remodeling اسکار نقش دارند. فیبروبلاست‌های پوستی یکی از سلول‌های اصلی در پوست است که نقش مهمی را در ترمیم زخم‌های پوستی ایفا می‌کند. فیبروبلاست‌های پوستی از طریق افزایش در شدت مهاجرت، تکثیر و سنتز کلاژن فرایند ترمیم زخم را تسهیل می‌کنند (12 و 13). مطالعات نشان داده است که وجود گاز دی‌اکسید کربن نقش بسزایی را در رشد سلولی ایفا می‌کند.

سلول‌های بنیادی نقش بسزایی در جوانسازی و آسیب‌های پوستی دارد و در پزشکی بازساختی می‌توان از سلول‌های بنیادی در درمان استفاده کرد. بهبود فاکتورهای سلولی و همچنین تکثیر



شکل 1:

الف) تابش نور لیزر کم توان، طول موج 685 نانومتر، توان 50 میلی وات  
ب) مرفولوژی سلول‌های بنیادی مزانشیمی با بزرگنمایی 10×10

### 3. بررسی اثر کربوکسی تراپی

سلول‌های بنیادی مشتق از چربی با دستگاه Carboxy therapy و با سرعت‌ها و حجم‌های مختلف در معرض گاز CO<sub>2</sub> قرار گرفتند و با توجه به مقدار گاز وارد شده در محلول محیط کشت میزان غلظت و pH سنجش گردید. وارد کردن گاز CO<sub>2</sub> به محیط کشت، تحت شرایط استریل انجام شد. با توجه به اندازه‌گیری pH و دما و همچنین میزان CO<sub>2</sub> حل شده در محیط کشت بررسی گردید.

سلول‌های بنیادی تحت تاثیر فاکتورهای فیزیکی می‌تواند منجر به بهبود در استفاده از این سلول‌ها گردد.

توجه به افزایش روبه رشد استفاده از کربوکسی تراپی و لیزر کم‌توان در موارد مختلف درمانی و همچنین اثرات مفید این دو تیمار لازم است مکانیسم‌های سلولی مربوط به این تیمارها در سطح سلولی بررسی شود و با اثرات لیزرهای کم‌توان مقایسه شود تا با بررسی این موارد به تدوین پروتکل‌های درمانی بهتر بتوان کمک نمود.

### روش کار

مطالعه حاضر به صورت آزمایشگاهی بر روی سلول‌های بنیادی مشتق از چربی و در مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران در سال 1401-1402 انجام گردید این مطالعه در کمیته اخلاق پژوهشکده معتمد جهاد دانشگاهی مطرح و با کد IR.ACECR.IBCRC.REC.1400.016 تصویب گردید.

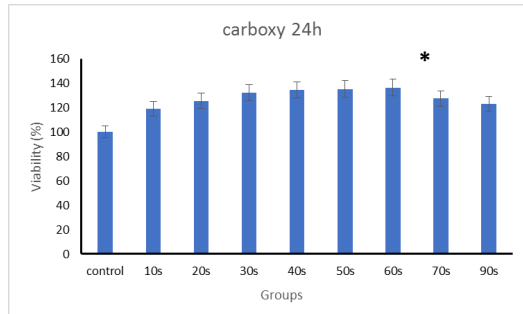
### 1. کشت سلول

سلول بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی (MSCs) از جهاد دانشگاهی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد. کشت در محیط DMEM F12 + 10% FBS حاوی آنتی‌بیوتیک انجام گرفت با گذشت چند روز از کشت سلول‌ها و رشد زیاد آنها و چسبیدن سلول‌ها به کف فلاسک پاساژ سلولی انجام گردید. پس از رسیدن سلول‌ها به پاساژ 3 از آنها برای انجام تیمارهای لیزر و کربوکسی استفاده شد.

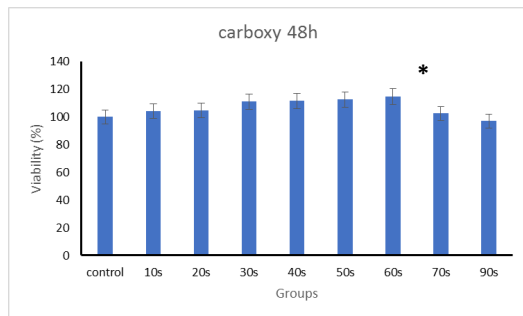
### 2. بررسی اثر لیزر کم‌توان

سلول‌های بنیادی مزانشیمی پس از رسیدن به پاساژ 3، در پلیت‌های مخصوص کشت داده شد و با دستگاه لیزر کم‌توان با انرژی‌های مختلف 2، 3، 5، و 7 ژول بر سانتی‌متر مربع تحت تابش نور لیزر قرمز با طول موج 685 نانومتر، توان 50 میلی‌وات قرار گرفت.

دستگاه 1/0 Bar, 20 cc/min بود و دستگاه لیزر استفاده شده دستگروه 3MED carboxy therapy بود.



نمودار 1: زنده مانایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی تحت تیمار کربوکسی در غلظت‌های مختلف در بازه 24 ساعت



نمودار 2: زنده مانایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی تحت تیمار کربوکسی در غلظت‌های مختلف در بازه 48 ساعت

نتایج حاکی از افزایش زنده مانایی و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی تحت تاثیر تیمار کربوکسی نسبت به گروه کنترل است. زنده مانایی سلولی تحت تاثیر غلظت 60 به بیشترین مقدار خود می‌رسد و سپس کاهش می‌یابد.

## 2- بررسی اثر لیزر کم توان

سلول‌های بنیادی مزانشیمی پس از رسیدن به پاساژ 3، در پلیت‌های مخصوص کشت داده شد و با دستگاه لیزر کم توان با انرژی‌های مختلف 0.5 - 15 ژول بر سانتی متر مربع تحت تابش نور لیزر قرمز با طول موج 685 نانومتر، توان 50 میلی وات قرار گرفت. نمودارهای 3 و 4 نشان‌دهنده افزایش زنده مانایی سلول‌ها تحت تیمار لیزر کم توان است و همان‌گونه که مشاهده می‌شود زنده مانایی سلول‌ها تحت لیزر با دوزهای مختلف نسبت به گروه



شکل 2: تاثیر تیمار کربوکسی تراپی در محیط کشت سلولی

## 4. تست زنده مانایی و تکثیر سلولی

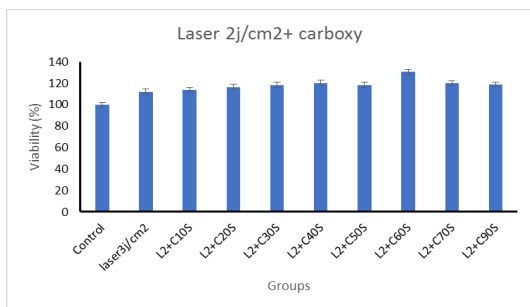
برای بررسی زنده مانایی سلولی از تست MTT استفاده می‌شود. تست MTT یک تست رنگ‌سنجی به‌شمار می‌آید. در این تست از نمک ترازولیموم استفاده می‌شود. اساس این تست بر جذب این نمک توسط سلول و ورود آن به زنجیره تنفسی سلول در میتوکندری‌ها می‌باشد. سلول‌ها در پلیت 96 خانه‌ای کشت داده شدند و سپس تیمارهای لیزر و کربوکسی انجام شد.

## نتایج

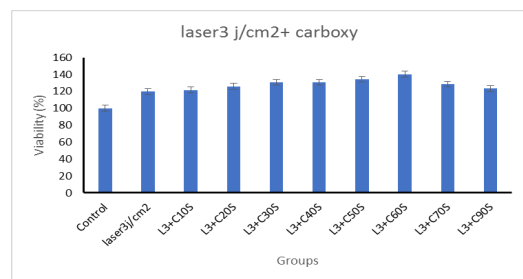
کشت سلول MSCs در محیط DMEM F12 + 10% FBS حاوی آنتی‌بیوتیک انجام گرفت. پس از رشد سلول‌ها و رسیدن سلول‌ها به پاساژ 3 تست زنده مانایی سلول‌ها در حضور تیمارهای لیزر با دوزهای مختلف و کربوکسی با غلظت‌های مختلف و همچنین تیمار همزمان این دو تیمار انجام شد.

## 1- بررسی اثر کربوکسی تراپی

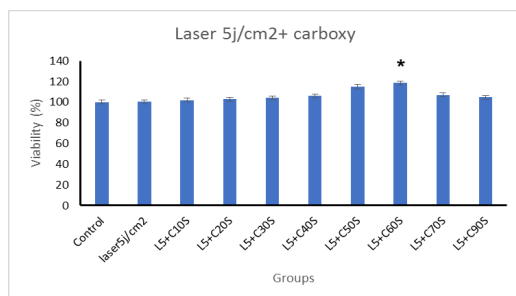
نتایج حاصل از تست MTT بر روی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی انسانی در تیمار با کربوکسی در گروه‌های 10، 20، 30، 50، 60 و 90 ثانیه در بازه زمانی 24 و 48 ساعت در نمودارهای 1 و 2 نشان داده شده است. قابل ذکر است فشار



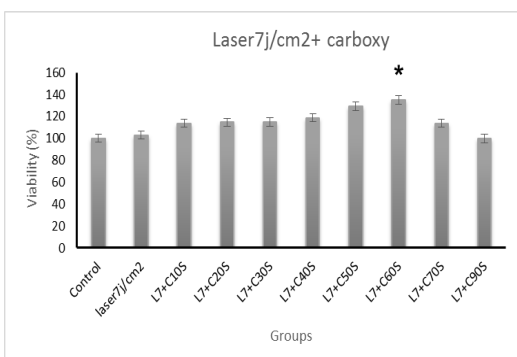
نمودار 5: تست MTT با تیمار لیزر با انرژی 2 ژول بر سانتی متر مربع به همراه غلظت‌های مختلف کربوکسی



نمودار 6: تست MTT با تیمار لیزر با انرژی 3 ژول بر سانتی متر مربع به همراه غلظت‌های مختلف کربوکسی

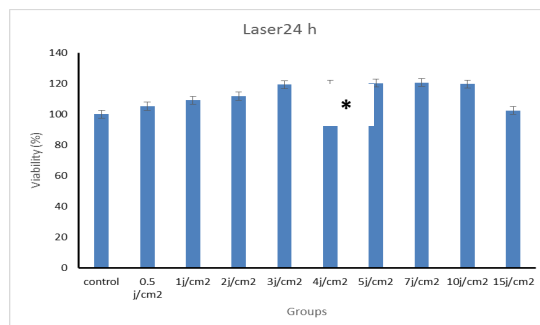


نمودار 7: تست MTT با تیمار لیزر با انرژی 5 ژول بر سانتی متر مربع به همراه غلظت‌های مختلف کربوکسی

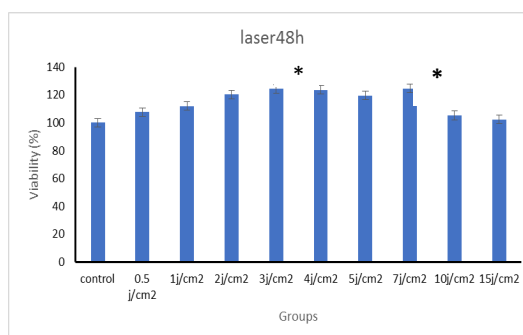


نمودار 8: تست MTT با تیمار لیزر با انرژی 7 ژول بر سانتی متر مربع به همراه غلظت‌های مختلف کربوکسی

کنترل افزایش می‌یابد. در بازه 48 ساعت و دوز 3 ژول بر سانتی متر مربع افزایش بیشتری را نشان داد.



نمودار 3: زنده مانایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی تحت تیمار لیزر در دوزهای مختلف 0.5-15 ژول بر سانتی متر مربع در بازه 24 ساعت



نمودار 4: زنده مانایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی تحت تیمار لیزر در دوزهای مختلف 0.5-15 ژول بر سانتی متر مربع در بازه 24 ساعت

### 3- تیمارهای همزمان تست لیزر و کربوکسی‌تراپی

سلول‌های بنیادی مزانشیمی پس از رسیدن به پاساژ 3، در پلیت‌های مخصوص کشت داده شد و با دستگاه لیزر کم‌توان با انرژی‌های مختلف 2، 3، 5 و 7 ژول بر سانتی متر مربع تحت تابش نور لیزر قرمز با طول موج 685 نانومتر، توان 50 میلی‌وات قرار گرفت. و پس از تابش لیزر و انکوبه به مدت 24 ساعت، تست کربوکسی با گروه‌های مختلف 10-90 ثانیه انجام شد.

این نمودارها نشان دهنده افزایش زنده مانایی سلول‌ها با توجه به دوزهای مختلف لیزر کم توان و همچنین غلظت‌های مختلف تیمار با کربوکسی است. با توجه به شکل مشاهده می‌شود که زنده مانایی سلول در بازه ۳۰ و ۶۰s نسبت به گروه کنترل بیشتر بوده و افزایش یافته است و زنده مانایی سلول‌ها تحت تیمار هم زمان لیزر با دوز 3 ژول بر سانتی متر مربع و تیمار کربوکسی افزایش بیشتری را نشان داد.

### بحث

پوست بزرگترین بافت بدن مهره داران است که عملکردهای زیادی شامل تنظیم حرارت، هدایت حس‌های فیزیکی و سد مکانیکی در مقابل هجوم میکروارگانیسم‌ها و عوامل مضر محیطی از قبیل تابش اشعه آسیب‌های مکانیکی و سوختگی‌های گرمایی و شیمیایی دارد. حفظ ساختار طبیعی پوست، به خصوص پوست صورت، از آنجاکه ظاهر و صورت عامل تعیین کننده مهمی برای ارتباط شکلی فرد است، ارزش بالایی در روابط اجتماعی دارد (11-13).

تحقیقات در زمینه ترمیم پوست، بسیار حائز اهمیت می‌باشد. سلول‌های بنیادی تشکیل دهنده اصلی‌ترین سلول‌های مستقر در بافت همبند هستند و مسئولیت سنتز و ترشح ترکیب‌های بافت همبند و مولکول‌های پیش ساز انواع مختلف کلاژن و فیبرهای الاستین را دارند. برنامه ترش‌هی سلول‌های بنیادی تعیین کننده ساختار ECM و در نهایت فراهم کننده اساس ساخت نوع به خصوصی از بافت همبند می‌باشد. سلول‌های بنیادی دوکی شکل هستند و تمام خصوصیات سلول‌های فعال تولید کننده پروتئین را دارند. آنها سیتوپلاسم کشیده با چندین زائده سطحی که حاوی شبکه آندوپلاسمی خشن به شدت متراکم است را دارند (13).

فیبروبلاست‌ها و سلول‌های بنیادی سلول‌های اصلی تولید کننده کلاژن و مسئول بازسازی (remodeling) آن می‌باشند. کلاژن فراوانترین پروتئین موجود در بافت‌های حیوانی می‌باشد که نقش مهمی در هموستاز بافت همبند به عهده دارد. بروز وقفه در فرایند التیام زخم یک مشکل مهم بالینی است که هزینه‌های زیادی را بر جامعه تحمیل می‌کند. آسیب هیپوکسیک با کاهش تکثیر سلول‌های بنیادی و فیبروبلاست‌ها، تولید کلاژن، نوآنژیوژنز،

اپیتلیالیزاسیون مجدد و فعالیت لکوسیت‌ها، مانع درمان می‌شود. روش‌های متعددی برای افزایش قابلیت دسترسی بافت‌ها به اکسیژن پیشنهاد شده است و مطالعات نشان داده‌اند که یک فشار جزئی اکسیژن از طریق پوست بیشتر از 30 تا 40 میلی‌متر جیوه برای التیام زخم ضروری می‌باشد (15).

درمان با دی‌اکسید کربن (CO<sub>2</sub>)، که معمولاً به عنوان کربوکسی تراپی شناخته می‌شود، به تجویز CO<sub>2</sub> با هدف درمانی اشاره دارد. این تکنیک برای اولین بار در سال 1932 در فرانسه ابداع شد و در ابتدا برای درمان بیماری‌ها از طریق پوست با استفاده از حمام آب گرم گازدار یا استفاده از آب اشباع از اکسیژن مورد استفاده قرار می‌گرفت. از این روش برای درمان آرتروپاتی و زخم‌ها استفاده می‌شد (16).

پس از توسعه فناوری‌های جدید، استفاده از دی‌اکسید کربن دیگر موضعی نبوده و شامل عبور CO<sub>2</sub> از طریق تزریق مستقیم به بافت زیرجلدی بود که نتایج سریع‌تر و بهتری را در پی داشت. بعد از تزریق دی‌اکسید کربن به زیر پوست، مقدار زیادی از این گاز با آب موجود در بافت و خون واکنش می‌دهد و تبدیل به ماده‌ای اسیدی به نام بیکربنات می‌شود. بیکربنات باعث اسیدی شدن محیط بافت و خون موضعی می‌شود و بدن برای جبران این مشکل، خون‌رسانی به بافت را افزایش می‌دهد. در واقع هرچه محیط بافت اسیدی‌تر باشد، اکسیژن بیشتری به آن وارد می‌شود (17).

کربوکسی تراپی در درمان بیماری‌های پوستی و همچنین برای بهبود گردش خون، تقویت خواص محافظتی پوست استفاده می‌شود. این روش منجر به بهبود سریع‌تر زخم‌ها (دیابتی، ایسکمیک، بعد از عمل و پس از سانحه)، سوختگی، کاهش خارش پوست، واکنش‌های آلرژیک و فرآیندهای التهابی می‌شود.

البته می‌توان به این نکته نیز اشاره کرد که ترکیب کربوکسی تراپی و روش‌های سنتی منجر به نتیجه بهتر در زیبایی پوست، جراحی پلاستیکی، امکان دستیابی به اثر گشادکنندگی و انبساط عروقی و سازماندهی مجدد کلاژن داخل پوستی می‌شود. از این روش برای افزایش اثر سایر روش‌ها نیز می‌توان در موارد درمانی و زیبایی پوست استفاده کرد.

با تیمارهای همزمان لیزر کم توان با دوزهای مختلف نیز افزایش میزان زنده مانایی و تکثیر مشاهده شد که در دوز لیزر 3 ژول بر سانتی متر مربع افزایش بیشتر و چشمگیر مشاهده گردید.

با افزایش زنده مانایی و تکثیر سلول های بنیادی مزانشیمی رخدادهای مطلوبی در بافت از جمله ترمیم زخم خواهد داشت و با توجه به اینکه این کار، به عنوان اولین کار به صورت تجربی در محیط آزمایشگاهی انجام شده، می تواند خیلی ارزشمند باشد نتایج حاصل از این مطالعه می تواند روش نوین و بهتری با مزایای بهتر برای جایگزینی قلمداد شود.

در مطالعات بعدی پیشنهاد می شود برای تایید تکثیر بیشتر با توجه به تیمار لیزر کم توان با دوز بهینه و تیمار کربوکسی با گروه بهینه، تست تکمیلی مانند بررسی سیکل سلولی و آپتوز انجام گیرد.

این روش درمانی محبوب ترین روش درمانی است که به طور رسمی در سراسر جهان به رسمیت شناخته شده است و جایگزینی برای دارو درمانی برای بسیاری از بیماری ها است.

از مزایای این روش این است که نه تنها برای کاهش علائم پیری و جوانسازی استفاده می شود، بلکه برای تسریع در بهبود آسیب های پوستی به دلیل تزریق CO<sub>2</sub> که با ترمیم سریع تر و بهتر و با کمترین عوارض همراه است استفاده می شود (25,26).

از آنجایی که کربوکسی تراپی در سلامتی بدن می تواند نقش موثری داشته باشد و با توجه به وجود انواع زخم های مزمن دیابتیک، سوختگی، زخم بستر، زخم های مزمن بعد از عمل جراحی و... و اهمیت سلول های بنیادی در فرآیند التیام زخم ها (16-24) و همچنین با توجه به کمبود مطالعات انجام شده در این رابطه به ویژه مطالعه آزمایشگاهی، در این مطالعه اثرات گاز دی اکسید کربن را در تکثیر سلول های بنیادی انسانی مورد بررسی قرار داده شد.

نتایج تست MTT نشان داد که زنده مانایی و تکثیر سلول ها در تیمارهای مختلف کربوکسی افزایش یافت به طوری که در غلظت ۳۰ س<sup>۳۰</sup> زنده مانایی افزایش یافته و در غلظت ۶۰ س<sup>۶۰</sup> افزایش بیشتری از خود نشان داد.

## References

- 1- Brosseau, L.; Welch, V.; Wells, G. A.; De Bie, R.; Gam, A.; Harman, K.; Morin, M.; Shea, B. et al. (2005). Brosseau, Lucie. ed. "Low level laser therapy (Classes I, II and III) for treating rheumatoid arthritis". *Cochrane Database of Systematic Reviews* (4): CD002049.
- 2- Rola P, Włodarczak S, Lesiak M, Doroszko A, Włodarczak A. Changes in Cell Biology under the Influence of Low-Level Laser Therapy. *Photonics*. 2022;9(7):502  
<https://doi.org/10.3390/photonics9070502>.
- 3- Mester, E, ; Mester AF, ; Mester, A. The biomedical effects of laser application. *Lasers Surg Med*. 1985;5(1):31-9.
- 4- Huang ,YY; Sharma ,SK; Carroll ,J; Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy - an update. *Dose Response*. 2011;9(4):602-18.
- 5- Chu ,J ; Wu ,S ; Xing ,D; Survivin mediates self-protection through ROS/cdc25c/CDK1 signaling pathway during tumor cell apoptosis induced by high fluence low-power laser irradiation. *Cancer Lett*. 2010;297(2):207-19.
- 6- Wu , S; Xing ,D; Gao ,X ; Chen ,WR. High fluence low-power laser irradiation induces mitochondrial permeability transition mediated by reactive oxygen species. *J Cell Physiol*. 2009;218(3):603-11.
- 7- Huang ,L ; Wu ,S ; Xing ,D. ; High fluence low-power laser irradiation induces apoptosis via inactivation of Akt/GSK3 $\beta$  signaling pathway. *J Cell Physiol*. 2011;226(3):588-601.
- 8- Sun ,X; Wu ,S; Xing D;. The reactive oxygen species-Src-Stat3 pathway provokes negative feedback inhibition of apoptosis induced by high-fluence low-power laser irradiation. *FEBS J*. 2010;277(22):4789-802.
- 9- Clark RA. Overview and general considerations of wound repair. *The molecular and cellular biology of wound repair*: Springer; 1998. p. 3-33.
- 10- Singer AJ, Simon M. Wound healing and skin substitutes. *Stem cell and gene-based therapy*: Springer; 2006. p. 375-93.
- 11- Stocum DL. *Regenerative biology and medicine*: Academic Press; 2012.
- 12- Clark RA. Overview and general considerations of wound repair. *The molecular and cellular biology of wound repair*: Springer; 1998. p. 3-33.
- 13- Sempowski GD, Borrello MA, Blieden TM, Barth RK, Phipps RP. Fibroblast heterogeneity in the healing wound. *Wound Repair and Regeneration*. 1995;3(2):120-31.
- 14- Kamolz L-P, Lumenta DB. Dermal replacements in general, burn, and plastic surgery. *Tissue Engineering in Clinical Practice*. 2013;226.
- 15- Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration*. 2008;16(5):585-601.
- 16- Dan Dimitrijevič S, Paranjape S, Wilson JR, Gracy RW, Mills JG. Effect of hyperbaric oxygen on human skin cells in culture and in human dermal and skin equivalents. *Wound Repair and Regeneration*. 1999;7(1):53-64.
- 17- Bagherani N, Smoller BR, Tavoosidana G, Ghanadan A, Wollina U, Lotti T. An overview of the role of carboxytherapy in dermatology. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2023.
- 18- Hunt TK, Zederfeldt B, Goldstick TK. Oxygen and healing. *The American Journal of Surgery*. 1969;118(4):521-5.
- 19- Brandi C, D'Aniello C, Grimaldi L, Bosi B, Dei I, Lattarulo P, et al. Carbon dioxide therapy in the treatment of localized adiposities: clinical study and histopathological correlations. *Aesthetic plastic surgery*. 2001;25(3):170-4.
- 20- Varlaro V, Manzo G, Mugnaini F, Bisacci C, Fiorucci P, De Rango P, et al. Carboxytherapy: effects on microcirculation and its use in the treatment of severe lymphedema. *Acta Phlebologica*. 2007;8(2):79-91.
- 21- Pianez LR, Custódio FS, Guidi RM, de Freitas JN, Sant'Ana E. Effectiveness of carboxytherapy in the treatment of cellulite in healthy women: a pilot study. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*. 2016;9:183.

- 22- Zenker S. Carboxytherapy: Carbon dioxide injections in aesthetic medicine. Prime Europe. 2012;2(1):42-50.
- 23- Kołodziejczak A, Podgórna K, Rotsztein H. Is carboxytherapy a good alternative method in the removal of various skin defects? Dermatologic Therapy. 2018;31(5):e12699.
- 24- Zelenkova H. Carboxytherapy non-invasive method in dermatology and some other branches of medicine. Acta Scientific Medical Sciences. 2019;3(5):42-8.
- 25- Brandi C, Grimaldi L, Nisi G, Brafa A, Campa A, Calabro M, et al. The role of carbon dioxide therapy in the treatment of chronic wounds. in vivo. 2010;24(2):223-6.
- 26- Bunyatyan ND, Drogovoz SM, Kononenko AV, Prokofiev AB. Karboksiterapiia - odno iz innovatsionnykh napravleniĭ v kurortologii [Carboxytherapy - an innovative trend in resort medicine]. Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult. 2018;95(5):72-76.
- 27- Bunyatyan ND, Drogovoz SM, Shtroblya AL, Kononenko AV, Zelenkova H, Prokofyev AB, Sapovsky MM, Nikolaeva LL. Mekhanizm pul'moprotektornogo deĭstviia karboksiterapii [The mechanism of the pulmoprotective action of carboxytherapy]. Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult. 2019;96(4):58-62.