

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 منحصربه‌فرد خود اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. در این روش بسته به ناحیه تحت درمان، مقداری دی‌اکسیدکربن 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 توأماً 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 CO₂ 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 نادری¹سید مهدی طبایی^{2*}پرینیا همتی³افشان شیرکوند⁴محمدحسن سهیلی‌فر⁵

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 بیوفتونیک، 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

شماره : تماس : 09124268376

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

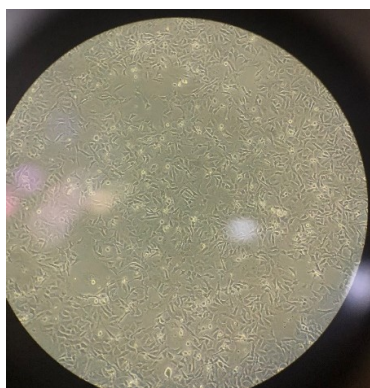
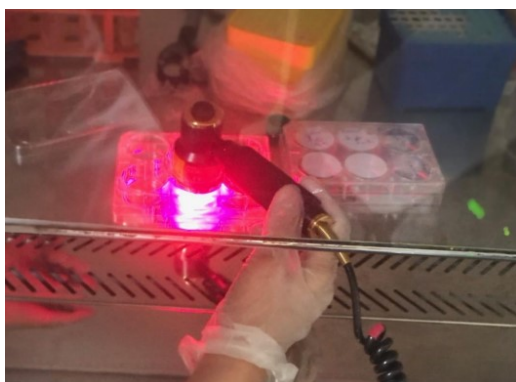
مقدمه

لیزرهای کم توان با توجه به مکانیسم فتوشیمیایی برای تغییر عملکرد سلولی بکار می روند 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 می شوند، در برخی از موارد درمانی از جمله کاهش درد و تسریع روند بهبود زخم های مزمن و کاهش التهاب در کلینیک مورد استفاده قرار گرفته است (2). لیزرها به خاطر تولید پرتوهای نوری با ویژگی های منحصر به فرد، به عنوان منابع قدرتمند تولید پرتو نور به شمار می روند. اثرات درمانی لیزرهای کم توان با استفاده از شدت های پایین نور و از طریق جذب و انتقال انرژی فوتون در قالب واکنش های فتوشیمیایی آن حاصل می شود (3). مطالعات نشان داده است که تحریک زیست نوری با استفاده از منابع نوری لیزرهای کم توان در طول موج های قرمز و مادون قرمز موجب افزایش فعالیت میتوکندری به صورت افزایش سنتز ATP (4, 5)، افزایش گرادیان پروتونی (ΔpH) (6)، تغییر پتانسیل غشای میتوکندری ($\Delta \Psi$) (7) و افزایش میزان ROS (5) می گردد. از طرفی تحریک زیست نوری باعث افزایش سنتز mRNA در سلول، افزایش تشریح برخی از فاکتورهای رشد و سیتوکاین های که در روند ترمیم نقش دارند می گردد (3).

پرتوی لیزرهای کم توان در طول موج های 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- κ B و AP-1 می شود که این مساله موجب افزایش روند تکثیر سلولی می شود (7). لازم به ذکر است که در بحث استفاده بالینی از لیزر به دو مورد بیشتر توجه می شود: زمان تابش پرتویی و دوز تابشی. این موارد از پارامترهای کلیدی در استفاده از لیزر می باشد. از طرفی در کنار استفاده از لیزر کم توان می توان از روش های 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 اندازه ای قابل توجه بوده است، که در حال حاضر در سراسر جهان توسط پزشکان پوست، مورد استفاده قرار می گیرد.

در این روش، برای جوانسازی پوست، کربن دی اکسید به صورت مستقیم به زیر پوست تزریق می شود. این عمل در هر نقطه از بدن، از جمله صورت، گردن، بازوها، باسن و پاها قابل انجام است. گاز دی اکسید کربن حتی می تواند 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 می شود. به نظر می رسد 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 موفقیت آمیز و ایمن برای حلقه های تیره دور چشم (DEC) است که به تازگی پیشنهاد شده است، این روش همچنین در بسیاری از زمینه های زیبایی و درمانی مانند جوان سازی پوست، ترمیم زخم، استریا و آلوپسی و غیره استفاده شده است (8, 9). همراه با مکانیسم های مختلف بالقوه کربوکسی تراپی، اصلی ترین کار ایجاد گردش خون بهتر و اکسیژن رسانی به بافت های هدف است، بنابراین کاربرد آن در زمینه های مختلف پزشکی است، به ویژه در درمان های زیبایی و پوستی و همچنین ترمیم زخم به سرعت رشد می کند (10, 11). اثر بیشتر کربوکسی تراپی بیشتر در کلاژن سازی و کاهش چین و چروک های پوستی است. کلاژن بخش اعظم ماتریکس خارج سلولی را تشکیل می دهد. TGF- β تنظیم کننده اصلی ماتریکس خارج سلولی است که در فعال سازی فیبروبلاست های پوستی و در remodeling اسکار نقش دارند. فیبروبلاست های پوستی یکی از سلول های اصلی در پوست است که نقش مهمی را در ترمیم زخم های پوستی ایفا می کند. فیبروبلاست های پوستی از طریق افزایش در شدت مهاجرت، تکثیر و سنتز کلاژن فرایند ترمیم زخم را تسهیل می کنند (12 و 13). مطالعات نشان داده است که وجود گاز دی اکسید کربن نقش بسزایی را در رشد سلولی ایفا می کند.

سلول های بنیادی نقش بسزایی در جوان سازی و آسیب های پوستی دارد و در پزشکی بازساختی می توان از سلول های 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 سلول های بنیادی مزانشیمی با بزرگنمایی 10×10

3. بررسی اثر کربوکسی تراپی

سلول های بنیادی مشتق از چربی با دستگاه Carboxy therapy و با سرعت ها و حجم های مختلف در معرض گاز CO_2 قرار گرفتند و با توجه به مقدار گاز وارد شده در محلول محیط کشت میزان غلظت و pH سنجش گردید. وارد کردن گاز CO_2 به محیط کشت، تحت شرایط استریل انجام شد. با توجه به اندازه گیری pH و دما و همچنین میزان CO_2 حل شده در محیط کشت بررسی گردید.

سلول های بنیادی تحت تاثیر فاکتورهای فیزیکی می تواند منجر به بهبود در استفاده از این سلول ها گردد.

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

روش کار

مطالعه حاضر به صورت آزمایشگاهی بر روی سلول های 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.

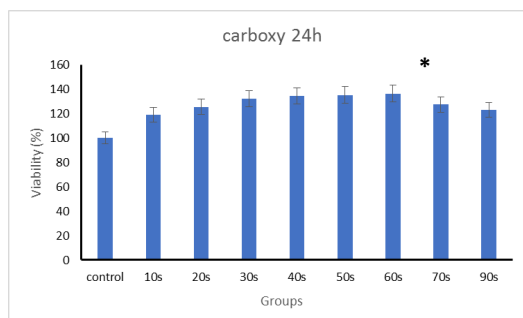
1. کشت سلول

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 آنتی بیوتیک انجام گرفت با گذشت چند روز از کشت سلول ها و رشد زیاد آنها و چسبیدن سلول ها به کف فلاسک پاساژ سلولی انجام گردید. پس از رسیدن سلول ها به پاساژ 3 از آنها برای انجام تیمارهای لیزر و کربوکسی استفاده شد.

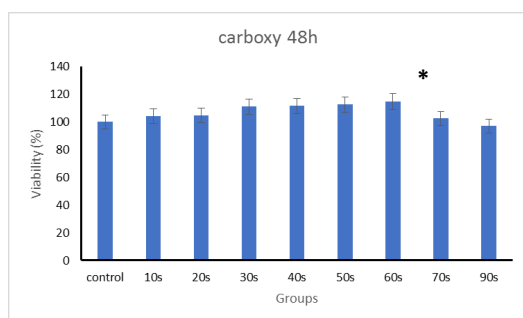
2. بررسی اثر لیزر کم توان

سلول های بنیادی مزانشیمی پس از رسیدن به پاساژ 3، در پلیت های مخصوص کشت داده شد و با دستگاه لیزر کم توان با انرژی های مختلف 2، 3، 5، و 7 ژول بر سانتی متر مربع تحت تابش نور لیزر قرمز با طول موج 685 نانومتر، توان 50 میلی وات قرار گرفت.

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



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



نمودار 2: زنده مانایی سلولهای بنیادی مزانشیمی تحت تیمار کربوکسی در غلظت های 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 می رسد و سپس کاهش می یابد.

2- بررسی اثر لیزر کم توان

سلولهای بنیادی مزانشیمی پس از رسیدن به پاساژ 3، در پلیت های مخصوص کشت داده شد و با دستگاه لیزر کم توان با انرژی های 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 نشان دهنده افزایش زنده مانایی سلولها تحت تیمار لیزر کم توان است و همان گونه که مشاهده می شود 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

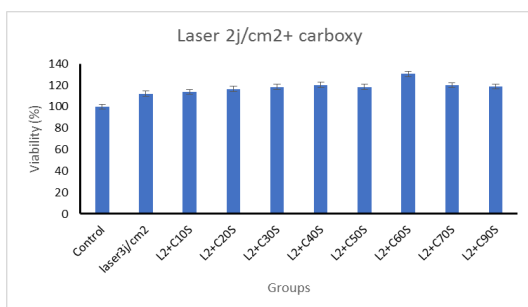
برای بررسی زنده مانایی سلولی از تست MTT استفاده می شود. تست MTT یک تست رنگ سنجی به شمار می آید. در این تست از نمک ترازولیموم استفاده می شود. اساس این تست بر جذب این نمک توسط سلول و ورود آن به زنجیره تنفسی سلول در میتوکندری ها می باشد. سلولها در پلیت 96 خانه ای کشت داده شدند و سپس تیمارهای لیزر و کربوکسی انجام شد.

نتایج

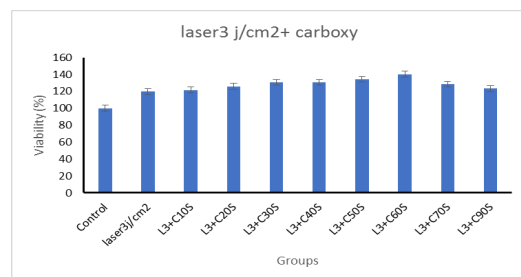
کشت سلول MSCs در محیط DMEM F12 + 10% FBS حاوی آنتی بیوتیک انجام گرفت. پس از رشد سلولها و رسیدن سلولها به پاساژ 3 تست زنده مانایی سلولها در حضور تیمارهای لیزر با دوزهای مختلف و کربوکسی با غلظت های مختلف و همچنین تیمار همزمان این دو تیمار انجام شد.

1- بررسی اثر کربوکسی تراپی

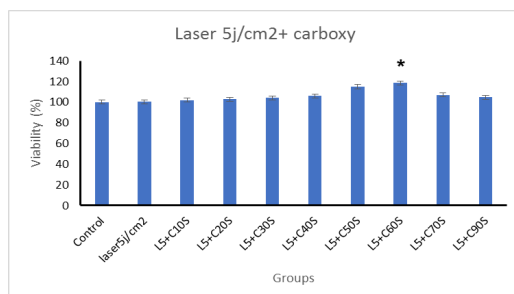
نتایج حاصل از تست MTT بر روی سلولهای بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی انسانی در تیمار با کربوکسی در گروه های 10، 20، 30، 50، 60 و 90 ثانیه در بازه زمانی 24 و 48 ساعت در نمودارهای 1 و 2 نشان داده شده است. قابل ذکر است فشار



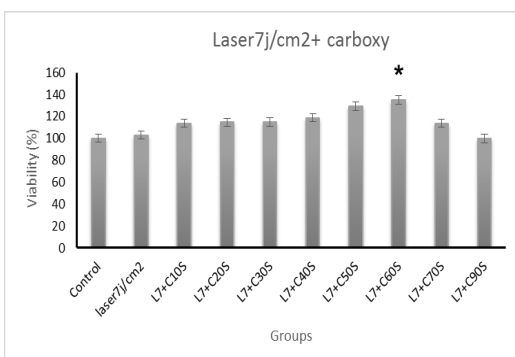
نمودار 5: تست MTT با تیمار لیزر با انرژی 2 ژول بر سانتی متر مربع به همراه غلظت‌های مختلف کربوکسی



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

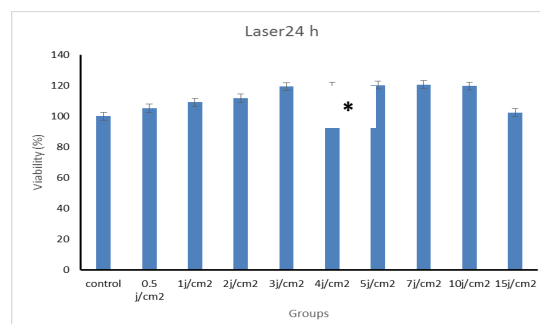


نمودار 7: تست MTT با تیمار لیزر با انرژی 5 ژول بر سانتی مترمربع به همراه غلظت‌های مختلف کربوکسی

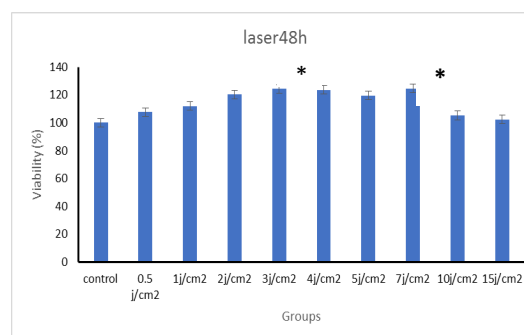


نمودار 8: تست MTT با تیمار لیزر با انرژی 7 ژول بر سانتی مترمربع به همراه غلظت‌های مختلف کربوکسی

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



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



نمودار 4: زنده مانایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی تحت تیمار لیزر در دوزهای مختلف 0.5-15 ژول بر سانتی مترمربع 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 مترمربع 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 اصلی ترین 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 ترشحاتی 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 فراوان ترین 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، نتوانژیوزن،

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 میلی متر جیوه برای التیام زخم ضروری می‌باشد (15).

درمان با دی‌اکسیدکربن (2Co)، که معمولاً به عنوان کربوکسی تراپی شناخته می‌شود، به تجویز 2Co 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 دی‌اکسیدکربن دیگر موضعی نبوده و شامل عبور 2Co از طریق تزریق مستقیم به بافت زیرجلدی بود که نتایج سریع‌تر و بهتری را در پی داشت. بعد از تزریق دی‌اکسیدکربن 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، خونسازی به بافت را افزایش می‌دهد. در واقع هرچه محیط بافت اسیدی تر 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 پلاستیک، 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 کم‌توان با دوزهای مختلف نیز افزایش میزان زنده‌مانایی و تکثیر مشاهده شد که در دوز لیزر 3 ژول بر سانتی‌متر مربع افزایش بیشتر و چشمگیر مشاهده گردید.

با افزایش زنده‌مانایی و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی رخدادهای مطلوبی در بافت از جمله ترمیم زخم خواهد داشت و با توجه به اینکه این کار، به‌عنوان اولین کار به‌صورت تجربی در محیط آزمایشگاهی انجام شده، می‌تواند خیلی ارزشمند باشد نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند روش نوین و بهتری با مزایای بهتر برای جایگزینی قلمداد شود.

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

این روش درمانی محبوب‌ترین روش درمانی است که به‌طور رسمی در سراسر جهان به رسمیت شناخته شده است و جایگزینی برای دارودرمانی برای بسیاری از بیماری‌ها است.

از مزایای این روش این است که نه تنها برای کاهش علائم پیری و جوانسازی استفاده می‌شود، بلکه برای تسریع در بهبود آسیب‌های پوستی به‌دلیل تزریق CO₂ که با ترمیم سریع‌تر و بهتر و با کمترین عوارض همراه است استفاده می‌شود (25، 26).

از آنجایی که کربوکسی‌تراپی در سلامتی بدن می‌تواند نقش موثری داشته باشد و با توجه به وجود انواع زخم‌های مزمن مزمن دیابتیک، سوختگی، زخم بستر، زخم‌های مزمن بعد از عمل جراحی و... و اهمیت سلول‌های بنیادی در فرآیند التیام زخم‌ها (16-24) و همچنین با توجه به کمبود مطالعات انجام شده در این رابطه به‌ویژه مطالعه آزمایشگاهی، در این مطالعه اثرات گاز دی‌اکسیدکربن را در تکثیر سلول‌های بنیادی انسانی مورد بررسی قرار داده شد.

نتایج تست MTT نشان داد که زنده‌مانایی و تکثیر سلول‌ها در تیمارهای مختلف کربوکسی افزایش یافت به‌طوری‌که در غلظت ۸۳۰ زنده‌مانایی افزایش یافته و در غلظت ۸۶۰ 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 β 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 - jedno 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.