ارزیابی تاثیرتابش لیزر کم‌توان بر بقا و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول‌های بنیادی فولیکول موی انسانی

مینا سادات نادری[۱و۲]، سیدمهدی طبایی[۱*]، محمد حسن سهیلی‌فر[۱]، مجید پرنور[۳]

۱- گروه پژوهشی لیزر پزشکی، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۲- گروه بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران.
۳- گروه پژوهشی ترمیم نوری، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: تهران، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، پژوهشکده یارا، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، گروه پژوهشی لیزر پزشکی.
تلفن: ۰۲۱-۶۶۴۰۲۰۲۰
E-mail: smtabaie@yahoo.com

چکیده

دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۱۱ ویرایش: ۱۳۹۹/۰۶/۱۸ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۳ آنلاین: ۱۴۰۰/۰۱/۰۱

زمینه و هدف: امروزه از لیزرهای کم‌توان برای درمان ریزش مو به‌دلیل افزایش تکثیر سلولی استفاده می‌شود. سلول‌درمانی با استفاده از سلول‌های بنیادی می‌تواند رویکرد جدیدی در زمینه کاشت مو باشد. در این مطالعه اثر تابش لیزر کم‌توان بر بقا و همچنین میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن سلول‌های بنیادی فولیکول موی انسانی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: مطالعه آزمایشگاهی، مداخله‌ای و در محیط In vitro آزمایشگاه کشت سلولی سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران در سال ۱۳۹۸ (خرداد ۱۳۹۸ تا بهمن ۱۳۹۸) انجام شد. ابتدا فولیکول مو از ناحیه پس سری (SDA) جدا شد. جداسازی ناحیه بالب هر فولیکول پس از جداسازی واحدهای فولیکولار انجام شد. پس از رشد سلول‌های بنیادی فولیکول مو در فلاسک کشت سلولی، بیان نشانگرهای سلول‌های بنیادی با استفاده از روش فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گرفت. میزان بقا و همچنین میزان ROS تحت تابش دوزهای مختلف لیزر کم‌توان با طول موج ۶۸۵ nm سنجیده شد.

یافته‌ها: نتایج تیمار سلول‌های بنیادی فولیکول مو با دوزهای مختلف لیزر کم‌توان (صفر تا ۲۰ J/cm^2) نشان داد که لیزر کم‌توان با دوز پنج J/cm^2 بالاترین میزان بقا را نشان داد. نتایج سنجش میزان ROS تحت تاثیر لیزر کم‌توان نیز حاکی از افزایش میزان ROS در دوز انرژی پنج J/cm^2 بود.

نتیجه‌گیری: افزایش بقا و تکثیر بیشتر سلول‌های بنیادی فولیکول مو تحت تاثیر لیزر کم‌توان می‌تواند رویکرد جدیدی را در سلول‌درمانی با استفاده از سلول‌های بنیادی فولیکول مو و همچنین کاشت مو ایجاد کند.

کلمات کلیدی: فولیکول مو، لیزر کم‌توان، سلول‌های بنیادی، بقا.

مقدمه

ریزش مو و طاسی از شایع‌ترین مشکلات جوامع امروزی بوده و اثرات بسیار اقتصادی و روانی برجای می‌گذارد. در سال‌های اخیر تلاش‌های بسیاری در جهت درمان این مشکل صورت گرفته که در برخی از موارد موفقیت‌هایی نیز دربرداشته است. در برخی مطالعات جهت درمان آلوپسی آندروژنیک (Androgenic alopecia) اثر لیزر کم‌توان مورد بررسی قرار گرفته است.[۱و۲] لیزرهای کم‌توان، لیزرهایی

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-04]

هستند که اثر حرارتی بر روی بافت نمی‌گذارند و با تحریک نوری بر روی سلول، باعث واکنش‌های نوری در بافت می‌شوند که به آن تحریک زیست‌نوری (Optical biostimulation) می‌گویند.[۱] تحریک‌زیستی با نور به‌وسیله لیزرهای کم‌توان دیرزمانی است که در جوامع پزشکی مطرح شده و تاکنون تاثیر لیزر کم‌توان در درمان بسیاری از بیماری‌ها، به‌ویژه بیماری‌های مربوط به پوست و مو مورد بررسی قرار گرفته است.[۳]

مطالعات نشان داده است که تحریک زیست‌نوری با استفاده از منابع نوری لیزرهای کم‌توان در طول موج‌های قرمز و مادون قرمز موجب افزایش فعالیت میتوکندری به صورت افزایش سنتز ATP، افزایش گرادیان پروتونی (ΔpH)، تغییر پتانسیل غشای میتوکندری (ΔΨ) و افزایش میزان ROS می‌گردد. لیزر کم‌توان می تواند باعث افزایش در عملکرد مکانیسم‌های تنفس سلولی، افزایش فسفریلاسیون ADP و تولید ATP، سنتز DNA و RNA، تکثیر سلولی، سنتز کلاژن گردد و همین امر می‌تواند توجیه‌گر افزایش مقاومت سلول‌ها به عوامل آسیب‌رسان باشد.[۴و۶]

مطالعه پاپیلای فولیکول مو از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، از سلول پاپیلای فولیکول مو به‌عنوان مدل سیستم سلول‌های پاپیلای پوستی اولیه استفاده می‌شود.[۷] سلول‌های پاپیلای پوستی به‌عنوان سلول‌های بنیادی پرتوان (Multipotent) هستند که قابلیت القای تشکیل فولیکول مو را دارا می‌باشند.[۸و۱۰] سلول‌های پاپیلا در انتهای فولیکول و در لامینین و کلاژن چهار غنی از ماتریکس خارج سلولی جای گرفته و برای القای رشد مو ضروری هستند. مو از دو قسمت اصلی ریشه و ساقه تشکیل شده و در میان سه لایه پوست قرار گرفته است. مو از داخل کیسه‌ای به نام فولیکول رشد می‌کند. انتهای فولیکول‌ها در لایه مرکزی پوست متصل به مویرگ‌های خونی است. این مویرگ‌های خونی منبع مهمی برای تهیه اکسیژن و مواد مغذی برای رشد مو هستند.[۸] فولیکول مو در پستانداران سیستم ترمیم‌شونده‌ی دینامیک و بی نظیری است که در سرتاسر حیاتش چرخه‌های تکراری متشکل از فاز رشد (Anagen) ، فاز پسرفت (Catagen) و فاز استراحت (Telogen) را پشت‌سر می‌گذراند.[۱۱]

مطالعات مختلفی در مورد اثرات لیزر بر روی سلول‌های بنیادی انجام شده است به طوری که مقاله‌ای در سال ۲۰۱۷ تاثیر نور لیزر کم‌توان را در سلول‌های بنیادی مشتق شده از بافت چربی موشی بررسی کرد حاکی از بهبود تکثیر بود. به‌طوری که تابش نور لیزر با انرژی‌های نیم و یک باعث افزایش تکثیر نسبت به نمونه کنترل شده بود.[۱۲] همچنین مطالعه‌ای بر روی سلول‌های فیبروبلاست انسانی که توسط Naderi انجام شده بود نشان داد که نور لیزر کم‌توان با انرژی پنج J/cm^2 باعث افزایش تکثیر و کاهش زمان دو برابر شدن سلول می‌شود.[۱۳] تاثیر لیزر کم‌توان بر سلول‌های بنیادی مشتق شده از بافت چربی در سال ۲۰۱۳ نشان دهنده افزایش چشمگیری در مارکرهای سلول‌های بنیادی در اثر مجاورت با نور لیزر بود.[۱۴]

مقاله‌ای در سال ۲۰۲۰ نشان داد که لیزردرمانی منجربه افزایش بقا و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست می‌شود که این امر بستگی به توان لیزر دارد به طوری که بیشترین تکثیر در گروه یک وات و دو وات بود.[۱۵]

با توجه به موارد ذکر شده در مورد پاپیلای فولیکول مو و با توجه به اینکه افزایش بقا سلول‌های بنیادی فولیکول مو در کاربردهای مربوط به سلول درمانی و کاشت مو بسیار دارای اهمیت می‌باشد و همچنین اثرات لیزر کم‌توان اطلاعات کمی در دسترس است، بنابراین این مطالعه با هدف بررسی اثر لیزر کم‌توان بر بقا و تکثیر سلول‌های بنیادی فولیکول موی انسانی و همچنین میزان تولید رادیکال آزاد اکسیژن طراحی گردید.

روش بررسی

ابتدا پس از انتخاب داوطلب مورد نظر توسط متخصص پوست از محل (Safe Donor Area, SDA) که حاوی فولیکول‌های سالم و مقاوم در مردان است، دو نمونه پانچ بیوپسی به ابعاد ٤ mm برداشته شد، سپس به منظور کاهش ریسک اسکار توسط نایلون ۰-۳ بخیه گردید. نمونه بیوپسی اخذ شده با بافر فسفات و الکل ۷۰٪ شستشو داده شد و سپس در فالکون حاوی محیط کشت سلولی قرار داده شد و با سرعت به آزمایشگاه کشت سلولی انتقال داده شد. برای استخراج سلول‌های بنیادی چندتوان فولیکول مو از دو روش مکانیکی و آنزیمی استفاده گردید. به این صورت که ابتدا با روش مکانیکی، بافت هم‌بند اطراف فولیکول برداشته شد و با اسکالپل نمونه‌ها به قطعات کوچک تقسیم شد. در روش آنزیمی، نمونه‌های حاصل از مرحله مکانیکی در محلول آنزیمی کلاژناز و دیسپاز (Collagenase

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-04]

(and Dispase) **به** مدت زمان نیم‌ساعت و در دمای ۳۷ °C انکوبه گردید.

جهت اثبات سلول‌های بنیادی چندتوان، از مارکرهای سطحی استفاده شد که این سنجش از طریق فلوسایتومتری (BD FACS Calibur (BD biosciences, San Jose, CA, USA انجام شد.[۱۶] به منظور آماده‌سازی سلول‌های مزانشیمی جهت انجام ایمنوفنوتایپ در مرحله اول پس از جداسازی سلول‌ها از فلاسک، با اضافه کردن ۲ µl از محلول PBS در ۱۵۰۰ rpm به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ کرده و شستشو داده شد.

پس از شستشو حجم نهایی رسوب سلولی به وسیلهPBS به ml ۱ رسانده شد. تعداد ۱۰ لوله فلوسایتومتری انتخاب کرده و به هرکدام ۱۰۰ µl از سوسپانسیون سلولی اضافه شد. به‌طور جداگانه به لوله‌ها آنتی‌بادی منوکلونال اضافه گردید. پس از مخلوط کردن لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤ °C انکوبه می‌کنیم. سپس جهت شستشو ۵۰۰ µl از محلول PBS به لوله‌ها اضافه کرده و در دور ۱۵۰۰ rpm به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شد. به رسوب سلولی ۲۵۰ µl محلول PBSاضافه شد و نمونه در دستگاه فلوسایتومتری خوانش گردید.

بررسی اثر لیزر بر سلول‌های بنیادی فولیکول مو: جهت بررسی اثر لیزر کم‌توان، سلول‌های بنیادی کشت داده شده، در معرض لیزر با طول‌موج ٦٨٥ nm و با انرژی‌های یک تا ۲۰ J/cm² قرار گرفتند.

بررسی تکثیر و بقای سلول‌ها: برای بررسی اثر لیزر کم‌توان بر روی تکثیر و توان زیستی سلول‌ها از تست 2-5 Dimethylthiazol-2yl diphenyl tetrazolium bromide (MTT) که یک تست رنگ‌سنجی به شمار می‌آید استفاده شد. براساس اطلاعات به‌دست آمده از MTT می‌توان میزان تکثیر و بقای سلول‌ها را پیش و پس از تابش لیزر کم‌توان بررسی کرد. به این ترتیب که بعد از گذشت ٤٨ ساعت از تابش لیزر کم‌توان، پلیت سلول‌ها از انکوباتور خارج کرده و میزان یک‌دهم محیط رویی سلول‌ها به هر چاهک محلول MTT اضافه شد و پلیت به مدت ٤ ساعت در انکوباتور قرار داده شد.

پس از سپری شدن چهار ساعت، با خارج کردن محیط رویی به چاهک ها محلول DMSO اضافه گردید تا کریستال‌های بنفش (فورمازان) (Formazan) ایجاد شده در سلول‌هایی که زنده مانده‌اند، حل شده و مایع رنگی یکنواختی ایجاد شود. این مایع رنگی به چاهک‌های پلیت الایزا منتقل و جذب آن در طول‌موج ۵۷۰ nm با استفاده از دستگاه (Elisa reader Metertech Inc. M965/965+, version 1.11) با فیلتر رفرانس ٦٢٠ خوانده شد و درصد سلول‌های زنده در هر نمونه مورد بررسی قرار گرفت.

سنجش میـزان ROS: در مرحلـه اول پـس از جداسـازی سـلول‌ها از فلاسک، با اضافه کردن ml ۲ از محلول PBS در rpm ۱۵۰۰ به مـدت پنج دقیقه سـانتریفیوژ و سـپس شستشـو داده شـد. پـس از شستشـو رسوب سلولی به وسیله PBS به حجم ٤٠٠ µl رسـانده شـد. بـه‌دلیل اینکه رنـگ DCFH-DA و PI بـا یکـدیگر همپوشـانی دارنـد، بـرای تصحیح و تنظیم، نمونه در چهار لوله تقسیم گردید. (یک لولـه بـدون رنگ، یک لوله حاوی رنگ DCFH-DA، یک لوله حاوی رنـگ PI و لوله آخر حاوی هر دو رنگ DCFH-DA و PI) لولـه اول کـه همـان سلول بدون رنگ است به همراه لوله سوم در چهار درجـه قـرار داده شد.

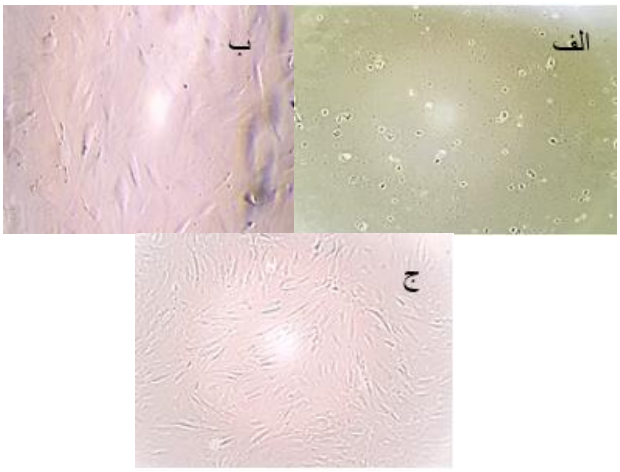
به لوله دوم و چهارم 5µl، DCFH-DA اضافه کرده و به مدت ٤٥ دقیقه در دمای ۳۷ °C انکوباتور قرار داده شد. پس از اتمام زمان انکوباسیون به لوله‌ها ml ۱ از محلول PBS اضافه و در دور rpm ۱۵۰۰ به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شد سپس به رسوب سلولی مجددا ۵۰۰ µl PBS اضافه گردید. در هنگام خوانش نمونه‌ها، به لوله سوم و چهارم ۳ µl رنگ PI اضافه شد.

یافته‌ها

فولیکول مو پس از کسب رضایت از داوطلب از بافت پوست سر جدا شد. سلول‌ها پس از جداسازی به فلاسک حاوی محیط کشت و آنتی‌بیوتیک منتقل و داخل انکوباتور قرار داده شد. این سلول‌ها شبیه فیبروبلاست در محیط آزمایشگاهی تکثیر و رشد پیدا می‌کنند. شکل ۱ نشان دهنده سلول‌های بنیادی جدا شده است.

در روز اول و بلافاصله بعد از استخراج ناخالصی‌های زیادی همراه با این سلول‌ها بود. بعد از تعویض محیط کشت و حذف سلول‌های شناور، سلول‌های چسبیده به کف فلاسک قابل مشاهده بود. تصاویر مربوط به سلول‌های بنیادی در روز سوم و همچنین بعد از پاساژ در زیر نشان داده شده است.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-04]

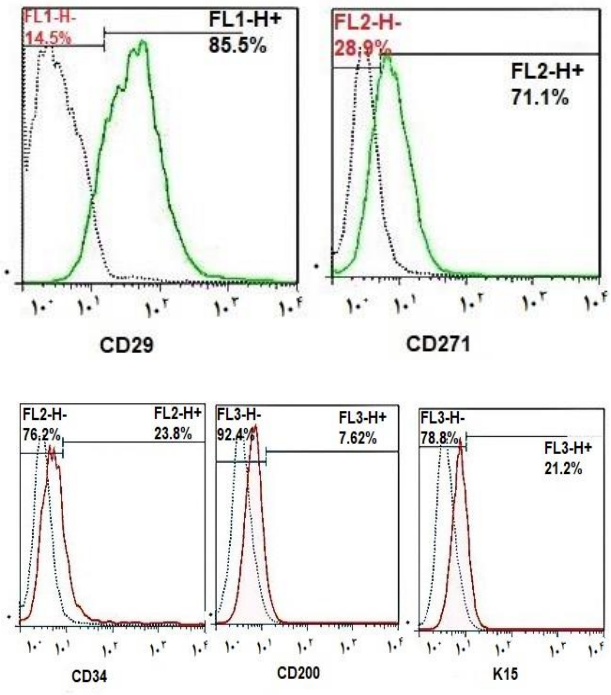


شکل ۱: تصویر سلول‌های بنیادی استخراج شده. الف: در روز اول. ب: در روز سوم. ج: پس از پاساژ.

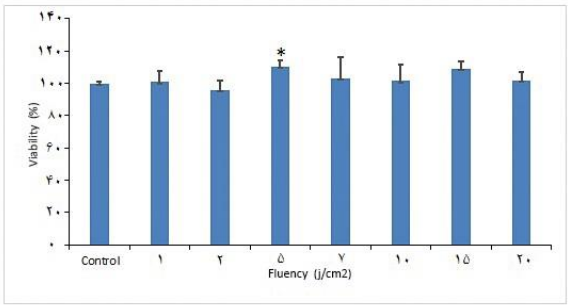
بررسی بیان مارکرهای مولکولی سلول‌های بنیادی چندتوان استخراج شده از فولیکول موی انسانی: جهت اثبات سلول‌های بنیادی چند توان، از مارکرهای سطحی و از طریق فلوسایتومتری انجام شد (نمودار ۲). با توجه به اینکه نتایج فلوسایتومتری و بررسی بیومارکرهای سطحی انجام شده در مورد CD34، CD200 و K15 منفی و CD29 و CD271 مثبت بود بنابراین سلول‌های بنیادی استخراج شده مربوط به ناحیه Bulb هستند و مرفولوژی شبه فیبروبلاستی نشان داده شده در شکل ۱ حاکی از بنیادی بودن این سلول های استخراج شده است.[۱۶]

نتایج بررسی تکثیر و بقای سلول‌ها: برای بررسی اثر لیزر کم‌توان بر روی تکثیر و توان زیستی سلول‌ها از تست MTT که یک تست رنگ‌سنجی به شمار می‌آید، استفاده شد. نمودار ۳ میزان تکثیر و بقای سلول‌ها را پیش و پس از تابش لیزر کم‌توان با دوزهای مختلف از یک تا J/cm^2 ۲۰ نشان می‌دهد.

با توجه به نمودار مشاهده می‌شود که میزان بقا سلول‌ها بعد از تابش لیزر افزایش می‌یابد به طوری که میزان بقا سلول‌ها در دوز پنج J/cm^2 به‌طور معناداری افزایش یافته است ($P<۰/۰۱$) و به بیشترین حد خود رسیده است. ۳- بررسی میزان ROS سلولی: میزان تولید ROS سلولی در سلول‌های بنیادی فولیکول موی انسانی تحت تاثیر لیزر کم‌توان در



نمودار ۲: بررسی بیومارکرهای سطحی سلول‌های بنیادی استخراج شده با فلوسایتومتری



نمودار ۳: میزان بقا سلول‌ها بعد از تابش لیزر در دوزهای یک تا J/cm^2 ۲۰. در دوز پنج بالاترین میزان بقا نسبت به کنترل مشاهده گردید.

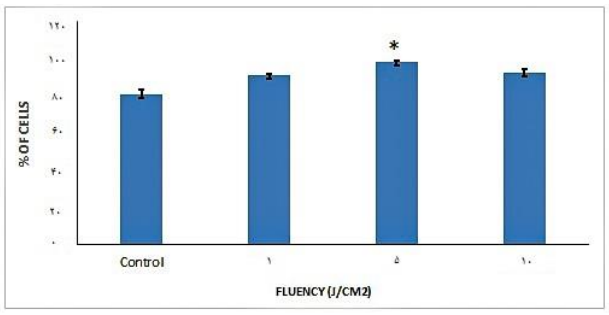
دوزهـای مـختلف یک، پنج و J/cm^2 ۱۰ بررسی شد. نمودار ٤ مقایسه میزان تولید ROS تحت تاثیر دوز های مختلف لیزر کم‌توان را نشان می‌دهد. نتایج حاکی از افزایش چشمگیر میزان تولید ROS تحت تاثیر لیزر کم‌توان بادوز انرژی J/cm^2 ۵ بود.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-04]

بحث

امروزه، استخراج، کشـــت، تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی مشـــتق از بـافت‌هـای مـختلف به ویـژه بافـت چربی و فولیکول مو یکی از موضوعات جالب توجه در زمینه تحقیقات پزشکی و سلول درمانی است.[۱۷] این مســـئله باعث گردیده است که محققان نگاه ویژه‌ای در ارتباط با به کارگیری این سلول‌ها در فرآیند درمان بیماری‌های خاص داشته باشند. سلول‌درمانی با استفاده از سلول‌های بنیادی فولیکول موی پوستی می‌تواند رویکرد جدیدی را در زمینه کاشت مو ایجاد کند. قابل توجه است که سلول‌های پاپیلای پوستی، سلول‌های بنیادی پرتوان هستند که می‌توانند منجر به القای تشکیل فولیکول مو شوند.[۱۸]

ریزش مو و طاسی از شایع‌ترین مشکلات جوامع امروزی بوده و اثرات بسیار اقتصادی و روانی برجای می‌گذارد.[۱و۲] در سال‌های اخیر تلاش‌های بسیاری جهت درمان این مشکل صورت گرفته که در برخی از موارد موفقیت‌هایی نیز دربر داشته است. در برخی مطالعات جهت درمان آلوپسی آندروژنیک اثر لیزر کم‌توان مورد بررسی قرار گرفته است. تابش لیزرکم‌توان می‌تواند باعث تحریک سلول و افزایش تکثیر سلولی در برخی سلول ها گردد به طوری که لیزر کم‌توان می‌تواند منجر به افزایش تکثیر سلولی گردد.[۳] مطالعات مختلف نشان داده است که تحریک زیست‌نوری با استفاده از منابع نوری لیزرهای کم‌توان در طول‌موج‌های قرمز و مادون قرمز موجب افزایش فعالیت



نمودار ٤: میزان ROS سلولی در حالت کنترل و تیمار لیزر یک، پنج و ۱۰ J/cm²

مقاله‌ای توسط Ginani نشان داده است که لیزرکم‌توان در سلول‌های بنیادی مشتق شده از بافت چربی موشی می‌تواند منجر به میتوکندری به‌صورت افزایش سنتز ATP، افزایش گرادیان پروتونی (ΔpH)، تغییر پتانسیل غشای میتوکندری (ΔΨ) و افزایش میزان ROS می‌گردد.[۶] بهبود تکثیرشود. به‌طوری که تابش لیزر با انرژی‌های نیم و یک J/cm² باعث افزایش تکثیر نسبت به نمونه کنترل گردید.[۱۲] همچنین مطالعه‌ای بر روی سلول‌های فیبروبلاست انسانی که توسط Naderi انجام شده بود نشان داد که لیزر کم‌توان با انرژی ۵ J/cm² باعث افزایش تکثیر و کاهش زمان دو برابر شدن سلول می‌شود.[۱۳]

تاثر لیزر کم‌توان بر روی سلول‌های بنیادی مشتق شده از بافت چربی در سال ۲۰۱۳ نشان‌دهنده افزایش چشمگیری در مارکرهای سلول‌های بنیادی در اثر مجاورت با نور لیزر بود.

مطالعه‌ای توسط Kar نشان داد که لیزردرمانی منجر به افزایش القای بقا و تکثیر در سلول‌های فیبروبلاست می‌شود که این امر بستگی به توان لیزر دارد به طوری که بیشترین تکثیر در گروه یک وات و دو وات بود.[۱۵]

مطالعه‌ای توسط de Villiers در مورد اثر لیزر با طول‌موج nm ٦٣٩ بر سلول‌های بنیادی مشتق شده از چربی نشان داد که لیزر منجر به افزایش بقا و تکثیر این سلول‌ها می‌شود.[۱۹] در مطالعه‌ای دیگری توسط Baharvand در مورد تاثیر لیزر بر روی سلول‌های بنیادی جنینی انسانی انجام شد. نتیجه نشان دهنده تاثیرات وابسته به دوز لیزر بر روی ویژگی‌های مورفولوژی و قابلیت تمایزی بود که داده‌های این مطالعه می‌تواند کمک موثری در مورد درمان سلولی بعد از پیوند باشد.[۲۰] همچنین مطالعه دیگری در مورد تاثیرات لیزر کم‌توان بر تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت مغز استخوان و چربی نشان‌دهنده رفتار وابسته به دوز بود به طوری که رشد و تکثیر بیشتر مشاهده شده با انرژی های J/cm² ۱ مرتبط بود. تحریک زیست نوری سلول‌های بنیادی مزانشیمی توسط لیزر می‌تواند ابزاری مهم برای مهندسی بافت و پزشکی بازساختی باشد.[۲۱]

به طور کلی از سلول‌های بنیادی فولیکول مو به‌عنوان مدل سیستم سلول های پاپیلای پوستی اولیه استفاده می‌شود.[۱٤] تا زمانی که در یک منطقه فولیکول مو وجود داشته باشد سعی بر آن است که با تحریک و تقویت و ایجاد شرایط مناسب منجر به رشد موها گردد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-04]

لیزر کم‌توان برای کاربردهای بسیاری در پزشکی از جمله ترمیم زخم و همچنین درمان ریزش مو استفاده می شود.

در این پژوهش ابتدا سلول‌های بنیادی فولیکول موی انسانی استخراج شد و پس از تایید بنیادی بودن این سلول‌ها، اثر لیزر کم‌توان در دوزهای مختلف انرژی مورد بررسی قرارگرفت. نتایج به‌دست آمده حاکی از افزایش بقا این سلول‌ها در معرض لیزر با برخی از دوزها بود به‌طوری که در دوز J/cm^2 ۵ افزایش معناداری را نشان می‌داد. نتایج به‌دست آمده از این مطالعه با نتایج حاصل از مطالعات پیشین که حاکی از افزایش بقا و تکثیر سلولی بود مطابقت داشت.

در مطالعه‌ای که مربوط به تاثیر لیزر کم‌توان در میزان ROS سلولی در رده سلولی فیبروبلاست انسانی بود نشان داده شد که لیزر کم‌توان تاثیر افزایشی بر تولید ROS سلولی دارد و افزایش میزان ROS سلولی می تواند سیگنال‌های سلولی مختلفی را فعال کند.[۱۶و۶] در این پژوهش سنجش ROS نیز تحت تاثیر لیزر کم‌توان انجام گرفت که با نتایج حاصل از بررسی بقا سلول مطابقت داشت، به طوری که سلول‌های بنیادی تحت تابش لیزر J/cm^2 ۵ بیشترین میزان ROS را از خود نشان داده بودند.

نتایج به‌دست آمده از این مطالعه می‌تواند گامی موثر در جهت بهبود روش‌های سلول‌درمانی محسوب شود. با آگاهی از مکانیسم سلولی و مولکولی تاثیر لیزر کم‌توان می‌توان به روش بهتر درمانی به ویژه در کاشت مو و رویش فولیکول مو دست یافت. تدوین پروتکل‌های درمانی آینده بر مبنای استفاده از لیزرهای کم‌توان به گونه‌ای که نیاز به تکرار استفاده از تابش را کم کند یکی از چالش‌های امروز در درماتولوژی است. با توجه به کاربرد بالینی لیزرهای کم‌توان در زمینه درماتولوژی برای اندیکاسیون‌های مختلف شناخت مکانیسم اثر و تغییر شرایط سلول‌های موجود در بافت پوست اعم از سلول‌های بنیادی فولیکول مو می‌تواند نویدبخش تدوین پروتکل‌های درمانی جدید یا به کار بردن لیزر به‌عنوان یک درمان مکمل در بیماری‌های پوست باشد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی تحت عنوان بررسی اثر لیزرکم‌توان بر ویژگی‌های Stemnes و تکثیر سلول‌های بنیادی فولیکول موی انسانی مصوب جهاد دانشگاهی در سال ۱۳۹۶ به کد ۳۰۱۵ می‌باشد که با حمایت سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی اجرا شده است.

References

1. van Gemert MJ, Welch A. Clinical use of laser-tissue interactions. *IEEE Eng Med Biol Mag* 1989;8(4):10-3.
2. ORĂSAN M, Bolfa P, Coneac A, Mitrea D, Moldovan R, Mihu C, et al. stimulation of hair regrowth using low level laser treatment in a rat model of alopecla. *Dig J Nanomater Biostruct* 2013;8(4): 1571-80.
3. Karu T. Photobiology of low-power laser effects. *Health phys* 1989;56(5):691-704.
4. Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J Photochem Photobiol B* 1999;49(1):1-17.
5. Baxter G, Bell A, Allen J, Ravey J. Low level laser therapy: Current clinical practice in Northern Ireland. *Physiotherapy* 1991;77(3):171-8.
6. Lubart R, Eichler M, Lavi R, Friedman H, Shainberg A. Low-energy laser irradiation promotes cellular redox activity. *Photomed Laser Therapy* 2005;23(1):3-9.
7. Chase HB. Growth of the hair. *Physiol Rev* 1954;34(1):113-26.
8. Yoo B-Y, Shin Y-H, Yoon H-H, Seo Y-K, Park J-K. Hair follicular cell/organ culture in tissue engineering and regenerative medicine. *Biochem Eng J* 2010;48(3):323-31.
9. Stenn K, Paus R. Controls of hair follicle cycling. *Physiol Rev* 2001;81(1):450-81.
10. Schneider MR, Schmidt-Ullrich R, Paus R. The hair follicle as a dynamic miniorgan. *Curr Biol* 2009;19(3):R132-R42.
11. Cotsarelis G. Epithelial stem cells: a folliculocentric view. *J Invest Dermato* 2006;126(7):1459-68.
12. Ginani F, Soares DM, Rocha HAdO, Barboza CAG. Low-level laser irradiation promotes proliferation of cryopreserved adipose-derived stem cells. *Einstein (Sao Paulo)* 2017;15(3):334-8.
13. Naderi MS, Razzaghi M, Djavid GE, Hajebrahimi Z. A comparative study of 660 nm low-level laser and light emitted diode in proliferative effects of fibroblast cells. *J Lasers Med Sci* 2017;8(Suppl 1):S46-S50.
14. Shen C-C, Yang Y-C, Chiao M-T, Chan S-C, Liu B-S. Low-level laser stimulation on adipose-tissue-derived stem cell treatments for focal cerebral ischemia in rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013;2013.
15. Kara N, Selamet H, Benkli YA, Beldüz M, Gökmenoğlu C, Kara C. Laser Therapy Induces Increased Viability and Proliferation in Isolated Fibroblast Cells. *Wounds* 2020;32(3):69-73.
16. Inoue K, Aoi N, Sato T, Yamauchi Y, Suga H, Eto H, et al. Differential expression of stem-cell-associated markers in human hair follicle epithelial cells. *Lab Invest* 2009;89(8):844-56.
17. Soheilifar MH, Javeri A, Amini H, Taha MF. Generation of dopamine-secreting cells from human adipose tissue-derived stem cells in vitro. *Rejuvenation Res* 2018;21(4):360-8.
18. Schneider MR, Schmidt-Ullrich R, Paus R. The hair follicle as a dynamic miniorgan. *Curr Biol* 2009;19(3):R132-R42.
19. de Villiers JA, Houreld NN, Abrahamse H. Influence of low intensity laser irradiation on isolated human adipose derived stem cells over 72 hours and their differentiation potential into smooth muscle cells using retinoic acid. *Stem Cell Rev Rep* 2011;7(4):869-82.
20. Baharvand H, Soleimani M , Gourabi H . The Effect Of Low Level Laser Irradiation On Human Embryonic Stem Cells. *Cell J (Yakhteh)* 2005;7(2):56-125.
21. Barboza CA, Ginani F, Soares DM, Henriques AC, Freitas Rde A. Low-level laser irradiation induces in vitro proliferation of mesenchymal stem cells. *Einstein (Sao Paulo)* 2014;12(1):75-81.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-04]

TUMJ Tehran University Medical Journal, April 2021; Vol. 79, No. 1: 26-32 Original Article

Evaluation of the effect of low-level laser irradiation on viability and ROS production in human hair follicle stem cells

Mina Sadat Naderi Ph.D.[1,2]
Seyed Mehdi Tabaie M.D.[1*]
Mohammad Hasan Soheilifar Ph.D.[1]
Majid Pornour Ph.D.[3]

1- Department of Medical Laser, Medical Laser Research Center, Yara Institute, ACECR, Tehran, Iran.
2- Department of Biophysics, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran.
3- Department of Photo Healing and Regeneration, Medical Laser Research Center, Yara Institute, ACECR, Tehran, Iran.

[*]Corresponding author: Department of Medical Laser, Medical Laser Research Center, Yara Institute, ACECR, Tehran, Iran.
Tel: +98-21-66402020
E-mail: smtabaie@yahoo.com

Abstract

Received: 1 Sep. 2020 Revised: 8 Sep. 2020 Accepted: 13 Mar. 2021 Available online: 21 Mar. 2021

Background: Low-level lasers are used for various medical applications including wound healing and hair loss treatment. Cell Therapy using skin stem cells could be a novel approach to hair transplantation. However, there is no study on the effect of low-level laser on the hair follicle stem cells. So, in this study, we investigated the effect of low level laser irradiation on viability and ROS production in the hair follicle stem cells.

Methods: This study was performed in the cell culture laboratory of Medical Laser Research Center, Yara Institute in 2020 (June 2020 to February 2020). The hair follicle was isolated from the Safe Donor Area (SDA) using the 4mm punch method. In the laboratory, after separating the follicular units, the bulb region of each follicle was isolated via mechanical and enzymatic methods and cultured in FBS+F12-DMEM. Afterward, the stem cells were characterized via flow cytometry. The effect of low-level laser (685 nm) with different doses (1-20 J/cm^2) was investigated on cell proliferation, viability and ROS production.

Results: The stem cells were confirmed via flow cytometry and also morphological tests. The results indicated that the viability of the stem cells under laser irradiation was different. comparison of the cell viability before and after laser irradiation showed that the highest viability was related to 5 J/cm^2 dose energy of laser irradiation. However, the viability of the cells in most dose energy of laser irradiation increased compared with the control group. Moreover, ROS production had a significant increase on 5 J/cm^2 energy density of laser irradiation. We can be achieved better treatment in hair transplantation and hair follicle growth by knowing the effect of low-level laser irradiation on the viability of the hair follicle stem cells.

Conclusion: The result of this study could be useful in cell therapy and hair transplantation due to the improvement of cell viability and increase in ROS production under the influence of laser irradiation.

Keywords: hair follicle, low level laser, stem cells, viability.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-04]