اثرات تزریق سلول‌های استرومال عروقی اتولوگ بر جوان‌سازی پوست ناحیه اطراف چشم

سونا زارع[1]، رحیم احمدی[2*]، محمّدسروش انصاری[3]، الهه علی‌حیدری[4]

۱- دکترا، مرکز تحقیقات پوست و سلول های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- دانشیار، گروه بیولوژی، کالج بین‌المللی اویسینا، بوداپست، مجارستان

۳- دانشجوی کارشناسی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم‌پایه، واحد مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۴- دانشجوی دکترا، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم‌پایه، واحد شهرری، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران

یافته / دوره ۲۶ / شماره ۴ / زمستان ۱۴۰۳ / مسلسل ۱۰۲

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۶/۹ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۹/۱۳

مقدمه: مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که تزریق سلول استرومال عروقی می‌تواند سبب ترمیم پوست گردد؛ در عین حال اطلاعات محدودی درباره اثرات تزریق سلول استرومال عروقی بر بهبود پیری دور چشم وجود دارد. بر این اساس، مطالعه حاضر به بررسی اثرات تزریق سلول استرومای عروقی بافت چربی اتولوگ بر درمان پیری دور چشم پرداخته است.

مواد و روش‌ها: طی این تحقیق کارآزمایی بالینی بر روی افراد میانسال دارای پیری دور چشم، تزریق سلول‌ها به صورت زیرجلدی انجام شد، سنجش داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 25 برآورد گردید و از روش آزمون آماری t-test و ANOVA جهت تجزیه‌وتحلیل داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق سلول‌های استرومال عروقی به طور معناداری موجب کاهش حجم و مساحت چین و چروک‌های اطراف چشم می‌شود ($p< ۰/۰۵$). همچنین، سنین ۴۴ و ۴۵ بیشترین میزان بهبود در علائم پیری چشم را در مقایسه با سایر سنین داشته‌اند.

بحث و نتیجه‌گیری: به طور کلی، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تزریق سلول‌های استرومال عروقی تأثیر قابل‌توجهی در ترمیم و بهبود علائم پیری در ناحیه اطراف چشم دارد. این روش همچنین پتانسیل تبدیل شدن به یک رویکرد بالینی و درمانی مؤثر برای ترمیم پوست و کاهش چین‌وچروک‌های اطراف چشم را نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: پیری دور چشم، سلول استرومال عروقی، بافت چربی اتولوگ.

*آدرس مکاتبه: مجارستان، بوداپست، کالج بین‌المللی اویسینا، گروه بیولوژی.

پست الکترونیک: drrhmahmadi@gmail.com

مقدمه

پیری دور چشم عمدتاً به دلیل تجمع عوامل دژنراتیو ترشح‌شده از سلول‌های پیر، مانند رادیکال‌های آزاد، پروتئازها، سیتوکین‌ها و عوامل اکسیداتیو رخ می‌دهد که با نازک‌شدن فیبرهای عضلانی و کاهش مویرگ‌ها مرتبط است (۱-۳). آسیب سلولی ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد، تغییرات در ترمیم و پایداری DNA، اختلال در عملکرد میتوکندری، چرخه سلولی و آپوپتوز، و پروتئولیز ناشی از یوبیکوئیتین، به همراه عوامل محیطی مانند نور خورشید، آلودگی، حالات چهره، پلک‌زدن مکرر، مصرف دخانیات، آلرژی، سوءمصرف الکل و تغذیه نامناسب، به پیری چشم کمک می‌کنند (۴،۵).

سلول‌های بنیادی استرومایی-عروقی که از بافت چربی استخراج می‌شوند، منبع غنی از سلول‌های بنیادی مزانشیمی چندتوان هستند که نقش مهمی در بازسازی بافت دارند. این سلول‌ها حاوی مجموعه‌ای از سلول‌های بنیادی مزانشیمی، سلول‌های اندوتلیال، ماکروفاژها و سایر سلول‌ها هستند که برای درمان‌های بازسازی بافتی و جوان‌سازی پوست به‌کار می‌روند. سلول‌های بنیادی مشتق‌شده از چربی با ترشح فاکتورهای رشد، سیتوکین‌های ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدان‌ها و پروتئین‌های خارج‌سلولی به تحریک بازسازی بافت کمک می‌کنند (۶،۷).

فرکشن عروقی به دست آمده از بافت چربی منبعی غنی از سلول‌های استرومال عروقی است که می‌تواند به راحتی استخراج شود. این سلول‌ها با تحریک کلاژن و الاستین، از آتروفی پوست جلوگیری می‌کنند (۸-۱۰). تزریق سلول‌های بنیادی به درم، تراکم و ظاهر پوست را بهبود بخشیده و قابلیت جذب آب پوست و پتانسیل رگ‌زایی بافت را افزایش می‌دهد (۱۱). این سلول‌ها می‌توانند به دودمان‌های چربی‌زا، غضروفی، ماهیچه‌ای و استخوان‌زا تمایز یابند و در درمان مشکلاتی نظیر روماتیسم مفصلی، آرتروز، زخم‌های پوستی، دیابت نوع دوم و بیماری‌های قلبی و ریوی به‌کار روند (۱۲-۱۴).

برخی مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های استرومال عروقی بهبودهای محسوسی در پوست و جوان‌سازی پلک پایین چشم ایجاد می‌کنند. در این راستا، تزریق این سلول‌ها بهبود کیفیت پوست، رنگدانه‌ها، بافت و خطوط ریز را به‌همراه دارد (۱۵-۱۹) روش‌های دیگر مانند فرکانس رادیویی فرکشنال میکرونیدل نیز برای جوان‌سازی پوست به‌کار می‌روند (۲۰). به‌علاوه، سلول‌های بنیادی مشتق‌شده از چربی با پرکردن سلول‌های مرده و تحریک فیبروبلاست‌ها، به بازسازی زخم‌های پوستی و جوان‌سازی پوست کمک می‌کنند (۲۱). همچنین این سلول‌ها با ترشح پروتئین‌ها، فاکتورهای رشد و وزیکول‌های خارج‌سلولی، نتایج مؤثری در پزشکی احیاکننده داشته‌اند (۲۲).

برخی یافته‌ها نشان می‌دهند که استفاده از سلول‌های بنیادی ممکن است با عوارضی مانند ریسک تومورزایی همراه باشد و باید در کارآزمایی‌های بالینی با دقت انجام شود (۲۳،۲۴). همچنین، تزریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی به تومورها از طریق تمایز به سلول‌های اندوتلیال و استرومایی، ممکن است به شکل‌گیری عروق و استرومای تومور کمک کند (۲۵-۳۰).

با توجه به کاربردهای گوناگون سلول‌های استرومال در سلول‌درمانی، ترمیم زخم، و ترمیم بافتی، و با نظر به عوارض پیری پوست و آسیب دور چشم (۳۱،۳۲)، مطالعه پیرامون این سلول‌ها اهمیت دارد. از آنجا که اکثر مطالعات پیشین بر تأثیر تزریق سلول‌های استرومال بر پوست تمرکز کرده‌اند و تحقیقات کمتری بر درمان پیری پوست صورت گرفته، بررسی پتانسیل درمانی این سلول‌ها برای جوان‌سازی دور چشم اهمیت ویژه‌ای دارد. این پژوهش به بررسی تأثیر تزریق سلول‌های استرومال عروقی مشتق از بافت چربی اتولوگ بر سلول‌های دور

چشم می‌پردازد و می‌تواند در حوزه درمان و بهبود اثرات پیری پوست مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش مجوز کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی از طرف انجمن بین‌المللی دانشمندان (IAS) دریافت شد. در طی این پژوهش تجربی- آزمایشگاهی که طی سال ۱۴۰۱ انجام گرفت، تمامی اطّلاعات جمع‌آوری گردیده و به صورت محرمانه و بدون نام مشخّص نگه‌داری و تجزیه‌وتحلیل شدند. همچنین افراد حاضر در طرح، به کلیّه اصول اخلاقی- بهداشتی پای‌بند بودند.

جمع آوری نمونه بافت چربی

در این تحقیق کارآزمایی بالینی از نوع پیش‌آزمون- پس‌آزمون، در ابتدای مطالعه اطلاعات زمینه‌ای بیماران جمع‌آوری شده و در چک‌لیست مطالعه ثبت گردید. در کلیه بیماران، درجه چین‌وچروک دور چشم به‌طور کیفی تعیین شد. با عکس‌برداری از چین‌وچروک مورد مطالعه، مساحت سطح چروک مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین، قبل از انجام مداخله، سونوگرافی از ناحیه مربوطه انجام شد. در این بیماران پس از گرفتن ۵۰cc چربی از ناحیه ران، تهیه SVF صورت پذیرفت. همچنین پیش از انجام مداخله، رضایت‌نامه کتبی از بیماران تهیه و به آن‌ها اطمینان داده شد که مداخلات درمانی با عوارضی همراه نبوده و هزینه‌ای نیز برای آن‌ها در بر نخواهد داشت.

حجم نمونه

حجم نمونه با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵٪ و توان آماری ۸۰٪، و بر اساس مطالعات مشابه طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 (S_1^2 + S_2^2)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

در این فرمول، $Z_{1-\alpha/2}$ ضریب مربوط به سطح اطمینان (۱/۹۶ برای سطح اطمینان ۹۵٪)، و $Z_{1-\beta}$ ضریب توان آماری (۰/۸۴ برای توان ۸۰٪) است S1 و S2 انحراف معیارهای دو گروه و μ_1 و μ_2 میانگین نتایج پیش‌بینی‌شده برای هر گروه است. با توجه به محدودیت‌های مطالعات بالینی و با توجه به داده‌های پیشین، حجم نمونه برای این کارآزمایی ۲۲ بیمار (زن و مرد) تعیین شد.

معیارهای ورود و خروج

معیارهای ورود برای این مطالعه محدوده سنی ۳۰ تا ۶۰ سال، تکمیل رضایت‌نامه کتبی توسط داوطلبان، عدم ابتلا به نارسایی‌های ناحیه دور چشم در یک سال گذشته، عدم بارداری و شیردهی، عدم مصرف دخانیات، عدم سابقه بیماری‌های مزمن، سرطان، نقص ایمنی و اختلالات انعقادی و عدم حساسیت به داروها و واکنش‌های آلرژیک شدید بوده و معیارهای خروج عبارت بودند از: بروز واکنش‌های آلرژیک حاد به مواد تزریق‌شده، ناتوانی بیمار در تکمیل روند درمان یا شرکت در مراحل پس از مداخله و تمایل بیمار به انصراف از ادامه مطالعه در هر مرحله از کارآزمایی.

روش نمونه‌گیری

نمونه‌گیری به‌صورت هدفمند از بین داوطلبانی که معیارهای ورود را دارا بودند انجام شد. داوطلبانی که به‌صورت داوطلبانه آمادگی شرکت در مطالعه را اعلام کردند، پس از ارزیابی و تأیید شرایط توسط تیم پژوهشی، وارد مطالعه شدند. در این مطالعه، طراحی به‌صورت مقایسه‌ای قبل و بعد از درمان صورت گرفته است، به‌گونه‌ای که وضعیت قبل از درمان به‌عنوان گروه کنترل برای ارزیابی اثرات درمانی پس از مداخله مورد استفاده قرار گرفته است. پی گیری بیماران ۴ تا ۶ هفته پس از تیمار جهت بررسی هر گونه عوارض جانبی زودرس انجام گرفت.

جمع‌آوری نمونه بافت چربی

ابتدا، اطلاعات اولیه بیماران تهیه و ثبت شد. با تهیه عکس‌های پیش از مداخله و ارزیابی کیفی چین‌وچروک‌های دور چشم و سونوگرافی ناحیه، از هر بیمار حدود ۵۰ سی‌سی چربی از ناحیه ران گرفته و جهت تهیه فرکشن عروقی سلولی (SVF) استفاده شد. رضایت‌نامه کتبی از بیماران اخذ و به آن‌ها اطمینان داده شد که مطالعه بدون هزینه و عارضه خواهد بود.

بیماران

معاینات لازم برای تکمیل پرونده پزشکی داوطلبان و ثبت کلیه اطلاعات بیومتری قبل از مداخله توسط تیم محقّق و انجام آزمایش‌های پاراکلینیکی (PT/PTT، CBC/Diff، FBS، HBS Ag، HBS Ab، HCV Ab، HBC Ab وHIV Ab) و تکمیل فرم رضایت‌نامه آگاهانه توسط بیماران انجام گردید. هیچ‌کدام از بیماران در طیّ یک‌سال گذشته هیچ‌گونه نارسایی در نواحی مورد نظر تزریق نداشتند و یا شیرده و یا باردار نبودند، دخانیات مصرف نمی‌کردند، به بیماری‌های مزمن، سرطان، حساسیّت دارویی و واکنش‌های آلرژیک شدید، نقص ایمنی، پیوند عضو یا درمان با استروئید و اختلال انعقادی دچار نبودند.

نمونه‌برداری

نمونه پوست با پانچ بیوپسی شماره ۵ از پشت گوش برداشته شد و در لوله حاوی محیط کشت DMEM با حفظ دمای ۴ درجه به آزمایشگاه فرستاده شد.

جداسازی، کشت، تکثیر و نگه‌داری سلول‌های فیبروبلاست

نمونه بافت با شست‌وشو در الکل ۷۰٪ و PBS استریل شد. سلول‌های فیبروبلاست با روش Explantation در محیط کشت کنترل Dulbecco's modified Eagle media: DMEM, 10% fetal human serum کشت شد. هنگامی‌که سلول‌ها به Confluency ۸۰٪ رسیدند با استفاده از تریپسین ۰/۲۵ پاساژ داده شدند. سلول‌ها در پاساژ ۴ فریز و در نیتروژن مایع تا زمان تزریق نگه‌داری شدند.

تزریق سلول‌های فیبروبلاست

سلول‌های فیبروبلاست در سرم فیزیولوژیک به صورت سوسپانسیون درآمدند و در ۳ نوبت با فاصله دو هفته و طی هر نوبت در ناحیه دور چشم (به تعداد ۱۰ میلیون سلول) در ناحیه دِرم در دو طرف صورت تزریق گردید.

معیار درجه‌بندی چین‌وچروک دور چشم

درجه‌بندی چین‌وچروک دور چشم با استفاده از معیار استاندارد Glogau انجام شد. این معیار بر اساس شدت چین‌وچروک‌ها و نشانه‌های بالینی پیری پوست به چهار سطح تقسیم می‌شود: سطح I (چین‌وچروک‌های ظریف)، سطح II (چین‌وچروک‌های متوسط)، سطح III (چین‌وچروک‌های عمیق)، و سطح IV (چین‌وچروک‌های شدید). این طبقه‌بندی بر اساس بررسی چروک‌ها در عکس‌برداری‌های قبل و بعد از مداخله انجام شد و توسط متخصص پوست تأیید گردید.

بررسی تغییرات پوست بیماران و بررسی‌های آماری

قبل از تزریق و پس از هر بار پیوند، ۳ و ۶ ماه پس از آخرین پیوند سلول‌های HDF به زیرپوست دور چشم بیماران، ناحیه مورد نظر توسط دستگاه‌های VisioFace® 1000 D، Dermatoscope، MPA9، Cotometer و Skin scanner-DUB در دِرمال لب مورد آنالیز قرار گرفت تا با مقایسه نتایج به‌دست آمده، میزان بهبودی و کاهش چین‌های پوستی بررسی گردد. ویزیت توسط پزشک متخصص انجام و توسط دوربین دیجیتال نیز عکس‌برداری دقیق در جای معیّن صورت گرفت. همچنین با خود بیمار در ارتباط با میزان رضایت او صحبت شد و تمامی موارد از جمله میزان

التهاب، خارش و کبودی ثبت گردید. تمامی اطلاعات توسط اپیدمیولوژیست و با استفاده از نرم‌افزار آماری مورد ارزیابی قرار گرفت.

سنجش و ارزیابی

ارزیابی بعد از درمان از بیماران سه ماه بعد از مداخله به شرح زیر انجام شد: ۱) ارزیابی تغییر بر اساس عکس‌برداری مجدد دیجیتال، ۲) ارزیابی ازطریق سونوگرافی، تعیین سطح رضایت‌مندی پزشک معالج از روند بهبود علائم اسکار شامل: پاسخ کم (کمتر از ۳۰)، پاسخ متوسط (۳۰ تا ۵۰)، پاسخ خوب (۵۰ تا ۷۰)، پاسخ عالی (بالای ۷۰) ، ۳) تعیین سطح رضایت بیمار از نتایج درمان شامل: پاسخ کم (کمتر از ۳۰)، پاسخ متوسط (۳۰ تا ۵۰)، پاسخ خوب (۵۰ تا ۷۰)، پاسخ عالی (بالای ۷۰) بود. در نهایت، پیامدهای مذکور بین اسکارهای دو سمت صورت مورد مقایسه قرار گرفت. داده‌ها با کمک چک لیست‌های از قبل آماده شده جمع‌آوری شدند.

جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۵ استفاده شد. متغیرهای کمّی به صورت میانگین و انحراف استاندارد (Mean ± SD) و متغیرهای کیفی طبقه‌ای به صورت درصد بیان گردید. جهت مقایسه میانگین‌های قبل و بعد از آزمون t-زوجی استفاده شد؛ همچنین به منظور بررسی میزان همبستگی بین متغیرهای کمی از ضریب همبستگی استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۲۰ نفر (۹۲ ٪) از افراد زن بودند. همچنین بیشتر افراد (۴۵ ٪) در گروه سنی ۴۰ تا ۵۰ سال و کمترین (۵ ٪) آنها در گروه سنی ۷۰ تا ۸۰ سال قرار داشتند. سایر اطلاعات در جدول ۱ قرار داده شده است.

جدول ۱. توزیع فراوانی سن و جنسیت در افراد مطالعه

متغیر	نوع	تعداد	فراوانی
جنس	مرد	۲	۸
	زن	۲۰	۹۲
سن	۲۰-۳۰	۱	۴
	۳۰-۴۰	۲	۹
	۴۰-۵۰	۱۰	۴۵
	۵۰-۶۰	۵	۲۳
	۶۰-۷۰	۳	۱۴
	۷۰-۸۰	۱	۵

نتایج حاصل از بررسی تزریق سلول‌های استرومال عروقی به بافت پوست دور چشم نشان دادند که در مجموع میانگین میزان چین‌وچروک دور چشم افراد پس از تزریق (۲۱/۹۱ ± ۶۰/۹۱)، نسبت به قبل از تزریق (۲۳/۴۲ ± ۸۱/۴۳) کاهش معناداری یافت (P< ۰/۰۵) (جدول ۲).

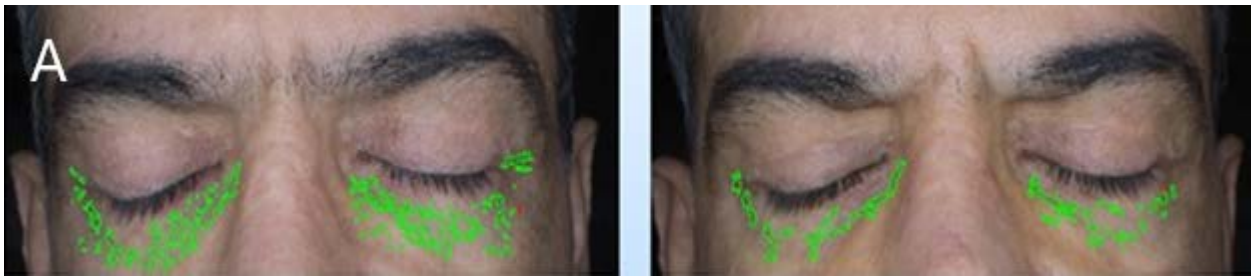
جدول ۲. مشخصات افراد مراجعه کننده برای تزریق سلول‌های فیبروبلاست، و میزان اثر آن‌ها بر چین‌وچروک دور چشم افراد پس از تزریق، نسبت به قبل از تزریق.

شماره	جنس	سن	Visioface (چروک)	
			قبل از تزریق	بعد از تزریق
۱	مونث	۵۳	۱۰۲/۶	۹۸/۳۵
۲	مونث	۵۷	۹۸/۶۹	۸۷/۳۵
۳	مونث	۴۵	۶۶/۱	۴۶/۵۸
۴	مونث	۲۹	۷۵/۲۸	۵۹/۳۵
۵	مذکر	۴۹	۶۹/۲۱	۴۷/۹
۶	مونث	۴۷	۸۲/۷	۵۴/۶۸
۷	مونث	۳۴	۶۴/۲	۴۲/۱۹
۸	مونث	۶۴	۱۱۸/۶۵	۸۸/۴۳
۹	مذکر	۷۳	۱۴۳/۷۱	۱۰۳/۹۸
۱۰	مونث	۶۵	۹۴/۲۸	۷۱/۸
۱۱	مونث	۶۷	۱۰۷/۳۱	۸۸/۴۸
۱۲	مونث	۵۳	۷۹/۳۵	۵۶/۲۸
۱۳	مونث	۴۰	۴۴/۵۹	۳۲/۱۴
۱۴	مونث	۴۵	۵۴/۲۸	۳۸/۸۱
۱۵	مونث	۴۷	۷۹/۴۶	۵۳/۱۸
۱۶	مونث	۳۸	۴۷/۱۹	۲۹/۴۹

۱۷	مونث	۴۶	۹۲/۱۸	۷۷/۳۸
۱۸	مونث	۴۲	۵۹/۲۱	۴۱/۹
۱۹	مونث	۵۱	۶۶/۴۹	۴۸/۳۱
۲۰	مونث	۴۴	۶۵/۸۱	۳۹/۴۸
۲۱	مونث	۵۴	۸۸/۳۹	۶۴/۲۸
۲۲	مونث	۴۷	۹۱/۷	۶۹/۶۵
	کل		± ۲۳/۴۲	± ۲۱/۹۱
	انحراف معیار±میانگین		۸۱/۴۳	۶۰/۹۱

نتایج جدول فوق نشان می‌دهند که سن ۴۴ و سن ۴۵ بیشترین کاهش پیری چشم را در مقایسه با سایر سنین نشان می‌دهند. این امر ممکن است به دلیل نیاز بیشتری به درمان در این سنین باشد که می‌تواند به تأثیر درمان‌ها بر روی پوست و کاهش چروک‌ها منجر شود. از سویی، ضریب همبستگی بین سن و تغییرات ایجاد شده در چین و چروک‌ها (تفاوت بین قبل و بعد از تزریق) برابر با ۰/۰۴- (P= ۰/۰۶۴) است، که نشان‌دهنده یک همبستگی منفی ضعیف و غیرمعنی‌دار است.

نتایج حاصل از بررسی تزریق سلول‌های فیبروبلاست اتولوگ در جوان‌سازی دور چشم نشان دادند که میزان چین و چروک اطراف چشم پس از تزریق، نسبت به قبل از تزریق کاهش یافته و افزایش جوانی دور چشم مشهود است (P< ۰/۰۵). همچنین شاخص‌های حجم، مساحت و ضخامت، قبل از تزریق، به‌ترتیب ۲۳۲/۷۱۲ px3، ۲۳/۲۵۲ px2، و ۱۰ px بوده و بعد از تزریق نیز این شاخص‌ها به‌ترتیب ۱۷۰/۰۳۶ px3، ۱۵/۴۹۲ px2، و ۱۰ px شده است (جدول ۳)؛ ناحیه چروک اطراف چشم نیز قبل از تزریق ۱/۸۸۲٪ بوده و بعد از تزریق سلول‌های فیبروبلاست اتولوگ به ۱/۲۵۴٪ کاهش یافته است (شکل ۱).



شکل ۱. چین و چروک دور چشم قبل از تزریق (A) و بعد از تزریق (B) در یک نمونه مورد بررسی

جدول ۳. میانگین حجم، مساحت، ضخامت و درصد مساحت افراد قبل و بعد از تزریق سلول‌های فیبروبلاست اتولوگ

متغیر	قبل از تزریق انحراف معیار±میانگین	بعد از تزریق انحراف معیار±میانگین	P-مقدار
حجم	۲۳۲/۷۱۲ ± ۴/۵۶۲ px^3	۱۷۰/۰۳۶ ± ۵/۸۰۳ px^3	۰/۰۴۶
مساحت	۲۳/۲۵۲ ± ۱/۰۶۶ px^2	۱۵/۴۹۲ ± ۱/۸۴۲px^2	۰/۰۰۷
ضخامت	۱۰ ± ۰/۴۵۶ px	۱۰ ± ۰/۰۳۷۵px	>۰/۹۹۹
درصد مساحت	۱/۸۸۲ ± ۰/۰۱۱	۱/۲۵۴ ۰/۰۰۸±	۰/۰۴۳

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند که تزریق سلول‌های استرومال عروقی بافت چربی اتولوگ تأثیر مثبتی بر درمان علائم پیری در ناحیه دور چشم دارد. این یافته‌ها با نتایج سایر مطالعات که نشان‌دهنده تأثیر این سلول‌ها بر بهبود روند پیری و کاهش اثرات ناشی از آن بر روی پوست هستند، هم‌راستا است. تحقیقات متعدد حاکی از آنند که تزریق سلول‌های استرومال عروقی استخراج‌شده از بافت چربی اتولوگ می‌تواند به جوان‌سازی سلول‌های پوست در ناحیه دور چشم و بهبود علائم پیری در این ناحیه منجر شود (۳۶, ۳۵, ۶,۱۱,۳۳,۳۴). همچنین نتایج حاصل از مطالعه انجام گرفته در خصوص استفاده از

سلول‌های ASC انسان بیانگر آن است که تزریق این سلول‌های استرومال عروقی بقای فلپ‌های پوستی را کاهش می‌دهد و پیرو آن واکنش‌های التهابی و افزایش نئوواسکولاریزاسیون را درپی دارد (۳۷). ارزیابی تأثیر تزریق سلول‌های استرومال عروقی انسان بر بقای فلپ‌های پوستی و واکنش‌های التهابی به‌طور عمده از طریق تجزیه و تحلیل‌های فنوتیپیک و بررسی‌های مورفولوژیک انجام شده است. این مشاهدات شامل ارزیابی‌های میکروسکوپی، اندازه‌گیری‌های نئوواسکولاریزاسیون و تحلیل‌های بافت‌شناسی برای بررسی تغییرات بافتی در ناحیه مورد نظر می‌باشند، گرچه ممکن است مطالعات پاتولوژیک نیز در این زمینه صورت گرفته باشد که به تشخیص و تفسیر دقیق‌تر تغییرات بافتی و پاسخ‌های التهابی کمک می‌کند. بنابراین، اگر اطلاعات بیشتری در مورد طراحی مطالعه و نوع ارزیابی‌ها وجود داشته باشد، می‌توان نتیجه‌گیری دقیق‌تری ارائه کرد. همچنین در مطالعه‌ای دیگر در خصوص سلول‌های استرومال عروقی بیان می‌دارد که تزریق داخل درمی سلول‌های استرومال عروقی باعث کاهش زمان لازم برای درمان زخم‌های پوستی از طریق افزایش خون‌رسانی و تسریع زمان بلوغ سلول‌های پوستی می‌شود (۳۸). علاوه بر آن نتایج مطالعه‌ای نشان می‌دهد که از سلول‌های ASC می‌توان برای درمان برخی بیماری‌های پوستی، خشکی پوست و التهاب بافت پوست نیز استفاده نمود (۳۹). بررسی‌های پژوهش دیگری نشان می‌دهد که استفاده از سلول‌های استرومال عروقی بهبود زخم را تسریع می‌کنند، ملانوژنز را مهار می‌کند، چین‌وچروک را بهبود می‌بخشند و رشد مو را تقویت می‌کنند (۴۰).

در مقابل برخی یافته‌های پژوهشی نشان داده‌اند که درمان با سلول‌های بنیادی ممکن است به DNA سلول‌ها آسیب بزند و زمان لازم برای کشت سلول را افزایش دهد (۲۹). در این خصوص نتایج حاصل از مطالعه انجام گرفته درباره سلول‌های بنیادی مشتق شده از چربی که باعث شروع تومور و تسریع رشد آن با تولید اینترلوکین ۶ می‌شوند، بیانگر آن است که تاثیرات اساسی و مهم سلول‌های بنیادی مزانشیمی با منشاء مختلف با چالش‌هایی مواجه است. همچنین مشاهداتی نشان می‌دهند که ADSCها باعث رشد تومور و متاستاز سرطان‌های مختلف نیز می‌شوند (۴۱-۴۳). همچنین گزارش‌ها و مستنداتی ارائه شدند که ضد تومورزایی بودن ADSCها یعنی ضد تکثیر و پروآپوپتوزی بودن آن‌ها را نشان داده‌اند (۴۴،۴۵). ASCها تکثیر فیبروبلاست پوستی انسانی (HDF) را از طریق تماس مستقیم سلول به سلول افزایش می‌دهند، و موجب فعّال شدن عوامل ترشحی پاراکرین می‌شوند. همچنین ASCها باعث افزایش آزادسازی کلاژن نوع I، III در HDFs از طریق تنظیم بیان mRNAهای مربوط به پروتئین‌های مایع خارج سلولی می‌شوند و نیز باعث تنظیم پایین ژن MMP-1 شده و در افزایش مهاجرت HDFs در پوست آسیب‌دیده نقش دارند. به علاوه با توجّه به یافته‌های این پژوهش در مورد بررسی اثرات تزریق سلول استرومال عروقی بافت چربی اتولوگ بر درمان پیری دور چشم، احتمالاً تزریق سلول‌های استرومال عروقی باعث بهبود چین‌وچروک دور چشم شده است (۴۶).

درباره مکانیسم اثر تزریق سلول استرومال عروقی بافت چربی اتولوگ بر درمان پیری دور چشم باید گفت از آنجا که مطابق تحقیقات پیشین ASCها موجب افزایش رهاسازی کلاژن نوع I و III در فیبروبلاست پوستی انسانی می‌شوند (۴۶) و نیز باعث جذب آب توسط پوست و افزایش پتانسیل رگ‌زایی بافت هدف نیز در سلول‌های درم می‌گردند (۱۵)، بنابراین احتمالاً در مطالعه حاضر با تحریک کردن فیبروبلاست‌ها باعث ترشح کلاژن، الاستین و سنتز اسید هیالورونیک می‌شوند، همچنین باعث رها شدن فاکتورهای رشد فیبروبلاست‌ها (FGF-فاکتور رشد

فیبروبلاست)، PDGFs (فاکتور رشد مشتق از پلاکت)، TGFβ (فاکتور رشد تبدیل کننده)، EGF (فاکتور رشد اپیدرمی)، و VEGF (فاکتور رشد اندوتلیال عروقی) نیز می شوند (۴۷،۴۸)؛ اگرچه مطالعات بیشتری جهت آشکارسازی مکانیسم دقیق اثر سلول استرومال عروقی بافت چربی بر درمان پیری دور چشم لازم است.

این مطالعه در راستای بررسی اثرات تزریق سلول‌های بنیادی استرومال عروقی در کاهش چین‌وچروک‌های پوست دور چشم انجام شده است. با این حال، محدودیت‌هایی در ارزیابی‌های سطح سلولی، مولکولی و بافت‌شناسی، به ویژه در بررسی‌های پاتولوژیک وجود دارد. محققین این طرح امیدوارند که در مراحل آینده تحقیق، بتوانند به بررسی دقیق‌تری از فرایندهای سلولی و مولکولی مؤثر بر بهبود پیری پوست بپردازند. علاوه بر این، توسعه روش‌های تحقیقاتی نوین در آینده می‌تواند به افزایش دقت و اعتبار داده‌های به‌دست‌آمده کمک کند و نتایج قابل‌اعتمادتری در زمینه تأثیرات این سلول‌ها بر پیری و بهبود پوست فراهم آورد.

در مجموع نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادند که تزریق سلول‌های استرومال عروقی روش مناسبی برای کاهش اثرات پیری و نیز چین‌وچروک دور چشم می‌باشد. یافته‌های این پژوهش می‌توانند در حوزه صنایع درمانی، پزشکی، سلول درمانی، جراحی پلاستیک و زیبایی کاربرد داشته باشند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مرکز پوست و سلولهای بنیادی دانشگاه تهران که در اجرای این تحقیق یاری‌گر محقّقان این پژوهش بوده‌اند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام میدارند هیچگونه تعارض منافعی در نگارش این پژوهش ندارند.

حمایت مالی

نویسندگان برای انجام این پژوهش از هیچ حمایت مالی استفاده نکرده‌اند.

مشارکت نویسندگان

طراحی مطالعه و ایده اولیه: سونا زارع، جمع‌آوری داده ها: سونا زارع، آنالیز آماری و نگارش دستنویس اولیه: رحیم احمدی، محمّدسروش انصاری و الهه علی‌حیدری، تائید نسخه نهایی مقاله: تمامی نویسندگان.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه مورد تایید انجمن بین المللی دانشمندان قرار گرفته است (کد: Ref. IASPP.22.2SA).

References

1. Kołodziejczak AM, Rotsztejn H. Mexametric and cutometric assessment of the signs of aging in the skin area around the eyes after the use of non-ablative fractional laser, non-ablative radiofrequency, and intense pulsed light. Dermatol Ther. 2017;30(2)
2. Liu HY, Huang CF, Lin TC, Tsai CY, Chen SY, Liu A, et al. Delayed animal aging through the recovery of stem cell senescence by platelet rich plasma. Biomaterials. 2014;35(37):9767-76.
3. Puizina-Ivic N. Skin aging. Acta Dermatovenerologica Alpina Panonica Et Adriatica. 2008;17(2):47.
4. Vierkötter A, Krutmann J. Environmental influences on skin aging and ethnic-specific manifestations. Dermato-endocrinology. 2012;4(3):227-31.
5. Makrantonaki E, Zouboulis CC. Molecular mechanisms of skin aging: state of the art. Annals of the New York Academy of Sciences. 2007;1119(1):40-50.
6. Gimble JM, Bunnell BA, Chiu ES, Guilak F. Concise review: Adipose-derived stromal vascular fraction cells and stem cells: let's not get lost in translation. Stem cells. 2011;29(5):749-54.
7. Gentile P, Garcovich S. Concise review: adipose-derived stem cells (ASCs) and adipocyte-secreted exosomal microRNA (A-SE-miR) modulate cancer growth and promote wound repair. Journal of clinical medicine. 2019;8(6):855.
8. Andia I, Maffulli N, Burgos-Alonso N. Stromal vascular fraction technologies and clinical applications. Expert opinion on biological therapy. 2019;19(12):1289-305.
9. Suh A, Pham A, Cress MJ, Pincelli T, TerKonda SP, Bruce AJ, Zubair AC, Wolfram J, Shapiro SA. Adipose-derived cellular and cell-derived regenerative therapies in dermatology and aesthetic rejuvenation. Ageing Research Reviews. 2019;54:100933.
10. Chen A, Zhang L, Chen P, Zhang C, Tang S, Chen X. Comparison of the efficacy and safety of cell-assisted lipotransfer and platelet-rich plasma assisted lipotransfer: what should we expect from a systematic review with meta-analysis?. Cell transplantation. 2021;30:0963689721989607.
11. Surowiecka A, Strużyna J. Adipose-Derived Stem Cells for Facial Rejuvenation. Journal of Personalized Medicine. 2022;12(1):117.
12. Gentile P, Sterodimas A. Adipose stem cells (ASCs) and stromal vascular fraction (SVF) as a potential therapy in combating (COVID-19)-disease. Aging and disease. 2020;11(3):465-9.
13. Stachura A, Paskal W, Pawlik W, Mazurek MJ, Jaworowski J. The use of adipose-derived stem cells (ADSCs) and stromal vascular fraction (SVF) in skin scar treatment—a systematic review of clinical studies. Journal of clinical medicine. 2021;10(16):3637.

14. Mehranfar S, Abdi Rad I, Mostafavi E, Akbarzadeh A. The use of stromal vascular fraction (SVF), platelet-rich plasma (PRP) and stem cells in the treatment of osteoarthritis: an overview of clinical trials. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology. 2019;47(1):882-90.
15. Jeon YK, Jang YH, Yoo DR, Kim SN, Lee SK, Nam MJ. Mesenchymal stem cells' interaction with skin: Wound-healing effect on fibroblast cells and skin tissue. Wound repair and regeneration. 2010;18(6):655-61.
16. Lu F, Mizuno H, Uysal CA, Cai X, Ogawa R, Hyakusoku H. Improved viability of random pattern skin flaps through the use of adipose-derived stem cells. Plastic and reconstructive surgery. 2008;121(1):50-8.
17. Liang ZJ, Lu X, Li DQ, Liang YD, Zhu DD, Wu FX, et al. Precise intradermal injection of nanofat-derived stromal cells combined with platelet-rich fibrin improves the efficacy of facial skin rejuvenation. Cellular Physiology and Biochemistry. 2018;47(1):316-29.
18. Gaur M, Dobke M, Lunyak VV. Mesenchymal stem cells from adipose tissue in clinical applications for dermatological indications and skin aging. International Journal of Molecular Sciences. 2017;18(1):208.
19. Surowiecka A, Piekarski M, Pototschnig H. Stromal vascular fraction and emulsified fat as regenerative tools in rejuvenation of the lower eyelid area. Dermatologic Therapy. 2021;34(3):e14937.
20. Wu X, Zhu J, Liu Y, Cen Q, Shang Y, Yu W, et al. Prospective trial of microneedle fractional radiofrequency in the hand rejuvenation treatment. Journal of Cosmetic Dermatology. 2022;21(6):2475-80.
21. Salahat MA, Al Hadid L. Autologous adipose stem cells use for skin regeneration and treatment in humans. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare. 2013;(1):135-42.
22. Trzyna A, Banaś-Ząbczyk A. Adipose-derived stem cells secretome and its potential application in “stem cell-free therapy”. Biomolecules. 2021;11(6):878.
23. Chandler EM, Seo BR, Califano JP, Andresen Eguiluz RC, Lee JS, Yoon CJ, et al. Implanted adipose progenitor cells as physicochemical regulators of breast cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2012;109(25):9786-91.
24. Surowiecka A, Strużyna J. Adipose-Derived Stem Cells for Facial Rejuvenation. Journal of Personalized Medicine. 2022;12(1):117.
25. Hung SC, Deng WP, Yang WK, Liu RS, Lee CC, Su TC, et al. Mesenchymal stem cell targeting of microscopic tumors and tumor stroma development monitored by noninvasive in vivo positron emission tomography imaging. Clinical cancer research. 2005;11(21):7749-56.
26. Wei HJ, Zeng R, Lu JH, Lai WF, Chen WH, Liu HY, et al. Adipose-derived stem

cells promote tumor initiation and accelerate tumor growth by interleukin-6 production. Oncotarget. 2015;6(10):7713.
27. Ahn JO, Lee HW, Seo KW, Kang SK, Ra JC, Youn HY. Anti-tumor effect of adipose tissue derived-mesenchymal stem cells expressing interferon-β and treatment with cisplatin in a xenograft mouse model for canine melanoma. PloS one. 2013;8(9):e74897.
28. Sun Z, Wang S, Zhao RC. The roles of mesenchymal stem cells in tumor inflammatory microenvironment. Journal of hematology & oncology. 2014;7(1):1-0.
29. Chu DT, Nguyen Thi Phuong T, Tien NL, Tran DK, Minh LB, Thanh VV, et al. Adipose tissue stem cells for therapy: an update on the progress of isolation, culture, storage, and clinical application. Journal of Clinical Medicine. 2019;8(7):917.
30. Jo H, Brito S, Kwak BM, Park S, Lee MG, Bin BH. Applications of mesenchymal stem cells in skin regeneration and rejuvenation. International journal of molecular sciences. 2021;22(5):2410.
31. Bhat S, Kumar A. Biomaterials and bioengineering tomorrow's healthcare. Biomatter. 2013;3(3):e24717.
32. Pourang A, Rockwell H, Karimi K. New frontiers in skin rejuvenation, including stem cells and autologous therapies. Facial Plastic Surgery Clinics. 2020;28(1):101-17.
33. Gounari E, Komnenou A, Kofidou E, Nanaki S, Bikiaris D, Almpanidou S, et al. Intravitreal Administration Effect of Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cells Combined with Anti-VEGF Nanocarriers, in a Pharmaceutically Induced Animal Model of Retinal Vein Occlusion. Stem cells international. 2022;2022(1):2760147.
34. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, March KL, et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). Cytotherapy. 2013;15(6):641-8.
35. Nae S, Bordeianu I, Stăncioiu AT, Antohi N. Human adipose-derived stem cells: definition, isolation, tissue-engineering applications. Rom J Morphol Embryol. 2013;54(4):919-24.
36. Andia I, Maffulli N, Burgos-Alonso N. Stromal vascular fraction technologies and clinical applications. Expert opinion on biological therapy. 2019;19(12):1289-305.
37. Feng CJ, Perng CK, Lin CH, Tsai CH, Huang PH, Ma H. Intra-arterial injection of human adipose-derived stem cells improves viability of the random component of axial skin flaps in nude mice. Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery. 2020;73(3):598-607.

38. Rodriguez J, Boucher F, Lequeux C, Josset-Lamaugarny A, Rouyer O, Ardisson O, et al. Intradermal injection of human adipose-derived stem cells accelerates skin wound healing in nude mice. Stem Cell Research & Therapy. 2015;6(1):1-1.
39. Cho BS, Kim JO, Ha DH, Yi YW. Exosomes derived from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis. Stem cell research & therapy. 2018;9(1):1-5.
40. Yang JA, Chung HM, Won CH, Sung JH. Potential application of adipose-derived stem cells and their secretory factors to skin: discussion from both clinical and industrial viewpoints. Expert opinion on biological therapy. 2010;10(4):495-503.
41. Rezaeifard S, Razmkhah M, Robati M, Momtahan M, Ghaderi A. Adipose derived stem cells isolated from omentum: a novel source of chemokines for ovarian cancer growth. Journal of Cancer Research and Therapeutics. 2014;10(1):159.
42. Muehlberg FL, Song YH, Krohn A, Pinilla SP, Droll LH, Leng X, et al. Tissue-resident stem cells promote breast cancer growth and metastasis. Carcinogenesis. 2009;30(4):589-97.
43. Wei HJ, Zeng R, Lu JH, Lai WF, Chen WH, Liu HY, et al. Adipose-derived stem cells promote tumor initiation and accelerate tumor growth by interleukin-6 production. Oncotarget. 2015;6(10):7713.
44. Zhu Y, Sun Z, Han Q, Liao L, Wang J, Bian C, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit cancer cell proliferation by secreting DKK-1. Leukemia. 2009;23(5):925-33.
45. Sun B, Roh KH, Park JR, Lee SR, Park SB, Jung JW, et al. Therapeutic potential of mesenchymal stromal cells in a mouse breast cancer metastasis model. Cytotherapy. 2009;11(3):289-98.
46. Kim WS, Park BS, Sung JH, Yang JM, Park SB, Kwak SJ, et al. Wound healing effect of adipose-derived stem cells: a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. Journal of dermatological science. 2007;48(1):15-24.
47. Maisel-Campbell AL, Ismail A, Reynolds KA, Poon E, Serrano L, Grushchak S, et al. A systematic review of the safety and effectiveness of platelet-rich plasma (PRP) for skin aging. Archives of dermatological research. 2020;312(5):301-15.
48. Alves R, Grimalt R. A review of platelet-rich plasma: history, biology, mechanism of action, and classification. Skin appendage disorders. 2018;4(1):18-24.

Effects of Autologous Adipose-Derived Stromal Vascular Cell Injections on Rejuvenating Periorbital Skin Aging

Zare S[1], Ahmadi R[2*], Ansari MS[3], Aliheydari E[4]

1. PhD, Department of Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2.Associate Professor, Department of Biology, Avicenna International College, Budapest, Hungary, drrhmahmadi@gmail.com

3. BSc Student, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Mashhad Branch, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

4. PhD Candidate, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahr-Rey Branch, Payame Noor University, Tehran, Iran

Received: *2024/8/30* Accepted: *2024/12/3*

Abstract

Background: Many studies have shown that vascular stromal cell injection can lead to skin repair; however, there is limited information about the effects of vascular stromal cell injection on the improvement of peri-ocular aging. Based on this, the present study investigated the effects of vascular stromal cell injection of autologous adipose tissue on the treatment of aging around the eyes.

Materials and Methods: In this clinical trial, cells were injected subcutaneously into middle-aged people with aging around the eyes. Data were analyzed in SPSS 25 software using t-test and ANOVA.

Results: The results of this study indicated that the injection of vascular stromal cells significantly reduced the volume and area of wrinkles around the eyes ($P<0.05$). Furthermore, individuals aged 44 and 45 showed the greatest improvement in signs of eye aging compared to other age groups.

Conclusion: In conclusion, it can be stated that the injection of vascular stromal cells has a significant impact on the repair and improvement of aging signs in the periocular area. This method also shows the potential to become an effective clinical and therapeutic approach for skin rejuvenation and the reduction of wrinkles around the eyes.

Keywords: *Autologous adipose tissue, Periorbital skin aging, Vascular stromal cell.*

Citation: Zare S, Ahmadi R, Ansari MS, Aliheydari E. Effects of Autologous Adipose-Derived Stromal Vascular Cell Injections on Rejuvenating Periorbital Skin Aging. Yafte. 2024; 26(4):66-78.