بیست و یکمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران
و هفتمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران
۲۳ تا ۲۵ دی ماه ۱۳۹۳، دانشگاه شهید بهشتی

اثر پارامترهای لیزر در فوتودینامیک تراپی با روی فتالوسیانین

فرزانه نوایی پور[۱و۲]، حبیب تجلی[۳] ، محمدرضا رشیدی[۴] ، محمود ملاباشی[۲] ، فریده رنجبری[۴] و هادی افشاران[۲]
[۱]مرکز مطالعات و تحقیقات سلول های بنیادی بند ناف دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز
[۲]دانشکده فیزیک ، دانشگاه علم و صنعت ایران ، تهران
[۳] قطب علمی فوتونیک ، پژوهشکده فیزیک کاربردی و ستاره شناسی دانشگاه تبریز ، تبریز
[۴] دانشکده داروسازی ، دانشگاه علوم پزشکی تبریز ، تبریز

چکیده – در این مقاله از روش درمانی فوتودینامیک برای نابودی سلولهای سرطانی استفاده کردیم. ترکیب حساس به نور روی فتالوسیانین به عنوان داروی فوتودینامیک تراپی و دیود لیزری با طول موج ۶۷۰ نانومتر به عنوان منبع نور استفاده شده است، تابش نور بر این دارو، ذرات اکسیژن فعالی تولید می کند که منجر به نابودی بافت سرطانی می شود. سلولهای سرطانی در حضور دارو با غلظتهای مختلف، تحت تابش لیزر با توانهای مختلف و مدت زمان های متفاوت قرار گرفتند. معلوم شد که لیزر با توان ۸۰ میلی وات و زمان تابش ۶۰ ثانیه بهترین بازده را در نابودی سلول های سرطانی دارد.

کلید واژه- فوتودینامیک تراپی ، ترکیب حساس به نور ، ذرات اکسیژن فعال

The effect of laser parameters on photodynamic therapy by Zinc Phthalocyanine

F.Navaeipour[۱،۲] , H.Tajalli[۳] , M.Rashidi[۴] , M.Mollabashi[۲] , F.Ranjbari[۴] , H.Afsharan[۲]

[۱]Umbilical Cord Stem Cell Research Center Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz
[۲] Faculty of Physics, Iran University of Science and Technology, Tehran
[۳]Photonic excellence, Institute for applied physics and astronomy, University of Tabriz, Tabriz
[۴] Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz

Abstract- In this paper we have used photodynamic therapy for destruction of cancer cells. The Zinc Phthalocyanine (ZnPc) has been used as a photosensitizing drug and a laser diode with λ= ۶۷۰ nm as a light source. The light irradiation on Zinc Phthalocyanine produses reactive oxygen species (ROS) that destroy the cancerous tissue. The cancer cells in the presence of various concentrations of drug, were irradiated by laser with various powers and irradiatin times. It was found that, laser with a power of ۸۰ mW and exposure time of ۶۰ seconds has the best efficiency of destruction of cancer cells.

Keywords: photodynamic therapy , photosensitizer , Reactive Oxygen Species (ROS)

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

[Downloaded from opsi.ir on 2024-03-29]

۱- مقدمه

سرطان یکی از علل اصلی مرگ و میر بشر است که می تواند با جراحی، شیمی درمانی، رادیوتراپی و یا سایر روش ها درمان شود. فوتودینامیک تراپی که شامل تجویز داروهای حساس به نور و در معرض تابش قرار دادن بافت بدن می باشد، به عنوان یک رویکرد بالینی جدید برای درمان تومورهای مختلف پدید آمده است[۱،۲]. با توجه به انتخاب و جذب دارو[۳] و کنترل تابش نور، فوتودینامیک تراپی قادر به القاء سمیت سلولی موثر در بافت بدخیم و آسیب محدود به بافت های سالم اطراف می شود. فوتودینامیک تراپی دارای خواص برتر در مقایسه با روش های متداول درمانی سرطان همچون شیمی درمانی و رادیو تراپی است که شامل انتخابی بودن، غیر تهاجمی و عوارض جانبی بسیار کم است. در طول سال های گذشته، فوتودینامیک تراپی به طور موفقیت آمیزی برای درمان انواع مختلف سرطان از جمله سرطان های اولیه ریه[۴،۵]، تومور مغزی[۶،۷]، سر و ضایعات گردن[۸،۹] بکار برده شده است. برخی از داروهای فوتودینامیک تراپی برای استفاده های بالینی تایید شده اند.

اعتقاد بر این است که اثر درمانی فوتودینامیک تراپی به طور عمده از گونه های اکسیژن فعال تولید شده توسط واکنش مولکول های برانگیخته ماده حساس نوری با اکسیژن، حاصل می شود. در سطح سلولی و بافت، گونه های اکسیژن فعال می تواند منجر به آسیب های سلولی، عروق و اثرات ایمنی شود[۱۰]. با این حال، در سطح مولکولی، مکانیسم عمل دارو، به ویژه واکنش های فوتوشیمیایی اولیه که منجر به تولید اکسیژن فعال می شوند، کمتر شناخته شده است. ضمن اینکه، راندمان داروهای مورد استفاده کنونی، توسط عمق نفوذ نور در بافت محدود شده اند، زیرا جذب این داروها در محدوده مرئی نور با طول موج (۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر) نهفته است، که در آن تضعیف نور توسط بافت قوی است[۱۱].

در این مقاله با استفاده از ترکیب روی فتالوسیانین به عنوان داروی فوتودینامیک تراپی و دیود لیزری ، سلول های سرطانی پوست انسان تحت درمان قرار گرفتند. هدف، بهینه نمودن پارامترهای برای کارایی بیشتر این نوع روش درمانی می باشد.

۲- مواد و روش ها

سلول های سرطانی پوست انسان، SW ۸۷۲، در این مقاله استفاده شدند. سلول ها در محیط کشت DMEM که شامل ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) و ۱٪ پنی سیلین (آنتی بیوتیک) کشت داده شده و در دمای ۳۷۰^{c} و هوای حاوی ۹۵٪ رطوبت و ۵٪ کربن دی اکسید نگهداری شدند.

ماده حساس به نور روی فتالوسیانین(Zinc Phthalocyanine) از شرکت Sigma-Aldrich تهیه شده است. این ماده دارای پیک جذبی ضعیفی در ۳۴۰ و پیک جذبی قوی در ۶۷۰ نانومتر می باشد.

محلول ۲۵ µg/ml روی فتالوسیانین با استفاده از حلال دی متیل سولفواکسید(DMSO) و محیط کشت DMEM که غلظت نهایی DMSO در محلول ۲٪ می باشد، تهیه شده و برای حل شدن کامل به مدت ۳۰ الی ۴۰ دقیقه داخل سونیکاتور قرار گرفت. با رقیق کردن متوالی محلول در DMEM غلظت های مختلف (۲، ۵ ،۱۰ µg/ml) تهیه شدند.

برای مطابقت نور لیزر با پیک جذبی دارو از دیود لیزری با طول موج ۶۷۰ نانومتر مدوله شده در توان های ۸۰، ۵۰ و ۲۵ میلی وات در مد پیوسته استفاده شده است.

انکوباسیون سلولی: سلول ها در پلیت های ۹۶ خانه ای با تعداد تقریبی ۲۰۰۰ سلول در هر خانه، تقسیم شده و یک شبانه روز داخل انکوباتور قرار گرفتند. سلول ها در چهار گروه طبقه بندی شدند. گروه کنترل (بدون دارو و بدون تابش لیزر)، گروه کنترل دارو (بدون تابش لیزر)، گروه کنترل لیزر (بدون دارو) و گروه چهارم (با دارو و تحت تابش لیزر). پس از ۲۴ ساعت، محیط کشت سلول های گروه دوم و چهارم تخلیه و با غلظت های مختلف دارو در دمای ۳۷۰^{c} وهوای مرطوب با ۵٪ CO_2 و در تاریکی به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. پس از ۲۴ ساعت از انکوباسیون سلول ها با سرم PBS شستشو شده و تحت تابش لیزر قرار گرفتند.

در هر آزمایش با توان ثابت لیزر، مدت زمان تابش تغییر داده شد. بدین ترتیب که سلول های گروه های سوم و چهارم به مدت ۲۰، ۴۰ و ۶۰ ثانیه تحت تابش قرار

[Downloaded from opsi.ir on 2024-03-29]

گرفتند. تابش لیزر در تاریکی و در دمای اتاق صورت گرفت.

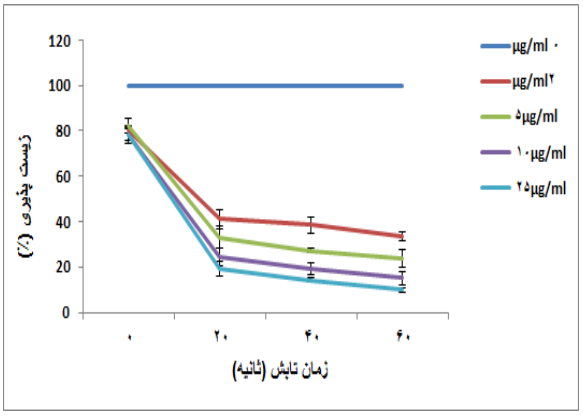
پس از ۲۴ ساعت از تابش لیزر، تست MTT برای اندازه گیری میزان مرگ و میر سلول ها انجام شد. بدین ترتیب که ابتدا محلول رویی سلول ها تخلیه شده و با افزودن محلول MTT به مدت ۴ ساعت انکوبه شدند. در این مدت زمان کریستال هایی در میتوکندری سلول های زنده تشکیل می شود. در پایان ساعت چهارم، محلول MTT تخلیه شده و سلول ها به مدت ۱۵ الی ۲۰ دقیقه با DMSO انکوبه شدند. در نتیجه واکنش DMSO با کریستال های تشکیل شده، رنگ محلول عوض می شود. میزان نور جذب شده توسط هر وِل در بازه طول موجی ۵۷۰-۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه Elisa Reader (Bio Tek,Elx ۸۰۸,USA) مشخص می شود. تعداد سلول های زنده در هر وِل از تقسیم میزان نور جذب شده توسط سلول های زنده بر میزان نور جذب شده توسط سلول های گروه کنترل به دست می آید.

۳- نتایج و بحث

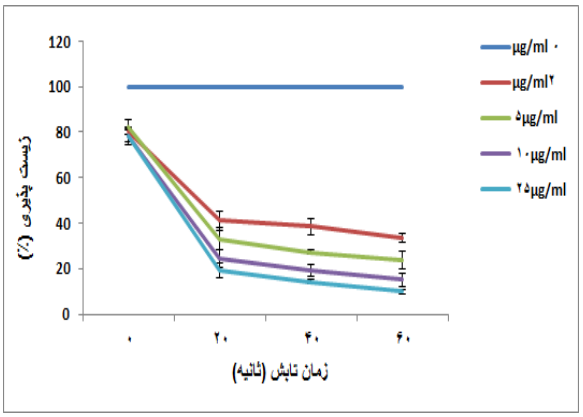
نحوه رفتار سلولها در برابر پدیده فوتودینامیک تراپی به میزان غلظت دارو و پارامترهای لیزر وابسته خواهد بود. در این مقاله به بررسی میزان تاثیر این عوامل پرداختیم، به گونه ای که با ثابت نگه داشتن یک عامل، و تغییر دو عامل دیگر، بررسی ها انجام گرفت. سلولها در حضور ماده حساس به نور و بدون تابش لیزر، همینطور با تابش لیزر با توانهای ۸۰- ۵۰- ۲۵ میلی وات و به مدت ۲۰، ۴۰ و ۶۰ ثانیه ای قرار گرفتند.

نمودارهای شکل ۱، ۲ و ۳ تأثیر غلظت های مختلف دارو و زمان تابش متفاوت بر میزان مرگ و میر سلول ها را به ترتیب در سه توان مختلف لیزر، ۸۰، ۵۰ و ۲۵ میلی وات نشان می دهد. همان گونه که از نمودارها پیداست لیزر به تنهایی تأثیری در مرگ و میر سلول ها ندارد. هم چنین میزان سمیت سلول ها در حضور دارو بدون تابش لیزر بسیار کمتر از میزان آن طی فوتودینامیک تراپی است. با توجه به نتایج، با افزایش غلظت دارو و زمان تابش لیزر، میزان مرگ و میر سلول ها نیز افزایش می یابد.

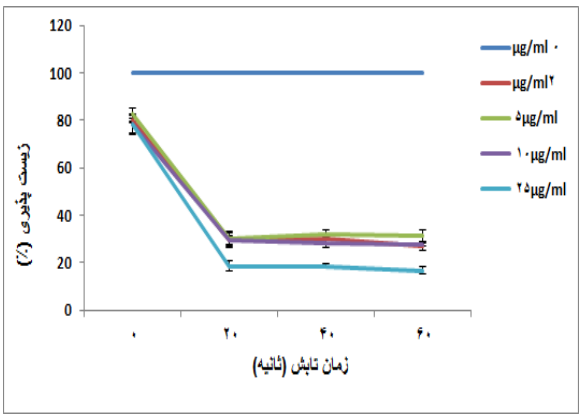
نمودار شکل ۴ نشان دهنده تأثیر توان لیزر در غلظت مشخصی از دارو می باشد. با توجه به نتایج، لیزر با توان ۸۰ میلی وات توانایی بیشتری برای مرگ سلول های سرطانی دارد.



شکل ۱: درصد سلول های زنده پس از فوتودینامیک تراپی با لیزر ۸۰ میلی وات

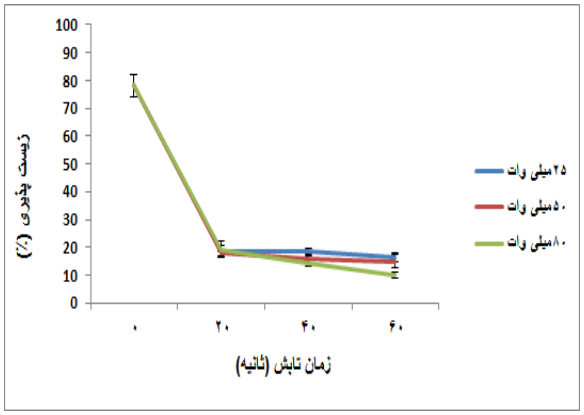


شکل ۲: درصد سلول های زنده پس از فوتودینامیک تراپی با لیزر ۵۰ میلی وات



شکل ۳: درصد سلول های زنده پس از فوتودینامیک تراپی با لیزر ۲۵ میلی وات

[Downloaded from opsi.ir on 2024-03-29]



شکل ۴: تأثیر توان های مختلف لیزر در غلظت ثابت ۲۵ µg/ml

۴- نتیجه‌گیری

در این مقاله با انجام فوتودینامیک تراپی روی سلول های سرطانی پوست انسان، با اعمال تغییرات در پارامترهای موثر در این روش، توانستیم شرایط بهینه برای بیشترین بازده فوتودینامیک تراپی را به دست آوریم.

بهترین بازده مربوط به حالتی بود که سلول ها در حضور داروی ZnPc با غلظت ۲۵ µg/ml و تحت تابش دیود لیزری با توان ۸۰ میلی وات به مدت ۶۰ ثانیه بود. در این حالت میزان سلولهای زنده تا ۱۰٪ کاهش یافت.

سپاسگزاری

از همکاری خانم دکتر آزاده منتصری صمیمانه تشکر می کنیم.

مراجع

[۱] R. Ackroyd, C. Kelty, N. Brown, and M. Reed, "*The History of Photodetection and Photodynamic Therapy*", **Photochem. Photobiol.,** ۷٤(۲۰۰۱), ٦٥٦_٦٦٩.

[۲] M. R. Detty, S. L. Gibson, and S. J. Wagner, "*Current Clinical and Preclinical Photosensitizers for Use in Photodynamic Therapy*", **J. Med. Chem.,** ٤٧ (۲۰۰٤), ۳۸۹۷_۳۹۱٥.

[۳] T. J. Dougherty, G. B. Grindey, R. Fiel, K. R. Weishaupt, and D. G. Boyle, "*Photoradiation Therapy. II. Cure of Animal Tumors with Hematoporphyrin and Light*", **J. Natl. Cancer Inst.**, ٥٥ (۱۹۷٥), ۱۱٥_۱۲۱.

[٤] Y. Hayata, H. Kato, C. Konaka, J. Ono, and N. Takizawa,"*Hematoporphyrin Derivative and Laser Photoradiation in the Treatment of Lung Cancer*", **Chest**, ۸۱ (۱۹۸۲), ۲٦۹_۲۷۷.

[٥] D. A. Cortese and J. H. Kinsey, "*Hematoporphyrin Derivative Phototherapy in the reatment of Bronchogenic Carcinoma*", **Chest**, ۸٦ (۱۹۸٤), ۸_۱۳.

[٦] E. R. Laws, D. A. Cortese, J. H. Kinsey, R. T. Eagan, and R. E. Anderson, "*Photoradiation Therapy in the Treatment of Malignant Brain Tumors: Phase I (feasibility) Study*", **Neurosurgery**, ۹ (۱۹۸۱), ٦۷۲_٦۷۸.

[۷] J. S. Hill, A. H. Kaye, W. H. Sawyer, G. Morstyn, P. D. Megison, and S. S. Stylli, "*Selective Uptake of Hematoporphyrin Derivative into Human Cerebral Glioma*" **Neurosurgery**, ۲٦ (۱۹۹۰), ۲٤۸_۲٥٤.

[۸] V. G. Schweitzer, "*Photodynamic Therapy for Treatment of Head and Neck Cancer*", **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, ۱۰۲ (۱۹۹۰), ۲۲٥_۲۳۲.

[۹] B. L. Wenig, D. M. Kurtzman, L. I. Grossweiner, M. F. Mafee, D. M. Harris, R. V. Lobraico, R. A. Prycz, and E. L. Appelbaum, "*Photodynamic Therapy in the Treatment of Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck*", **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, ۱۱٦ (۱۹۹۰), ۱۲٦۷_۱۲۷۰.

[۱۰] P. N. Prasad, *Introduction to Biophotonics (John Wiley & Sons,* ۲۰۰۳), pp. ٤۳۳_ ٤٦۱.

[۱۱] J. Eichler, J. Knof, and H. Lenz, "*Measurements on the Depth of Penetration of Light (۰,۳٥- ۱,۰ mm) in Tissue", Radiat*. **Environ. Biophys.**, ۱٤ (۱۹۷۷), ۲۳۹_۲٤۲.

[Downloaded from opsi.ir on 2024-03-29]