

## مسیرهای سلولی درمان سرطان به روش فوتودینامیک تراپی

### خلاصه

فوتودینامیک تراپی (PDT) یک روش نوظهور برای درمان سرطان است. سه مولفه اصلی این روش، ماده حساس به نور، نور و اکسیژن می باشد. واکنش های فوتوشیمیایی نور با ماده حساس به نور، باعث تولید گونه های اکسیژن های فعال می شود، که نتیجه آن مرگ سلول های تومورال است. ماده حساس به نور می تواند در اندامک های مختلف مانند میتوکندری، لیزوزوم، شبکه آندوپلاسمی، دستگاه گلژی و غشاهای پلازما قرار گیرد. جایگزیدگی ماده حساس به نور در مکان های زیر سلولی، تعیین کننده سیگنالینگ های بعد از PDT است. بر اثر استرس فوتودینامیکی آبخارهای سیگنالینگ متعددی به طور همزمان در سلول های سرطانی، بسته به محل تخریب زیر سلولی توسط اکسیژن یگانه واکنشی فعال می شوند. این سیگنال ها به واکنش های انطباقی یا مرگ سلولی تبدیل می شوند. بررسی ها نشان می دهد که PDT می تواند به طور مستقیم سلول های سرطانی را با القاء موثر مسیرهای مرگ سلولی به روش های آپوپتوتیک و غیر آپوپتوتیک (اتوفازی و نکروز) از بین ببرد. شناسایی تأثیرات مولکولی تنظیم کننده مرگ سلولی پس از PDT یکی از موضوعات مورد علاقه تحقیقات در حوزه درمان سرطان است. این مقاله مروری علاوه بر بیان پیچیدگی مکانیسم های مولکولی دخیل در پاسخ تومور به فوتودینامیک تراپی، جنبه های مختلف اکسیژن واکنشی (ROS) ناشی از PDT را نیز بررسی می کند. به طور خاص، در مورد تأثیر ROS بر روی اجزای سلول و مکانیسم های اصلی مرگ سلول ناشی از PDT بحث خواهد شد.

حسین امیری<sup>۱</sup>  
منیژه مختاری دیزجی<sup>۲\*</sup>  
حسین مزدارانی<sup>۳</sup>

۱. دانشجو فیزیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس  
۲. استاد گروه فیزیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس  
۳. استاد گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

نویسنده مسئول: منیژه مختاری دیزجی  
پست الکترونیکی:

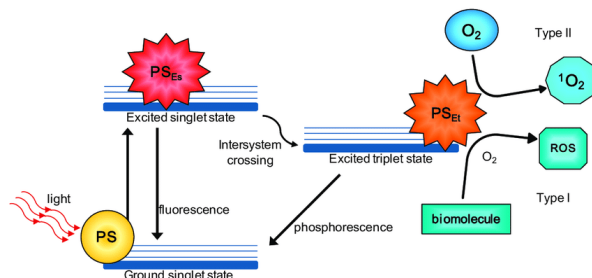
[mokhtarm@modares.ac.ir](mailto:mokhtarm@modares.ac.ir)

**کلید واژه:** فوتودینامیک تراپی، مواد حساس به نور، اکسیژن یگانه، مرگ سلولی، آپوپتوز

## مقدمه

فوتودینامیک تراپی، روش فوتوشیمیایی و کم تهاجم برای درمان انواع مختلفی از بیماری‌ها از جمله سرطان است. این روش درمانی مبتنی بر سه فاکتور نور، ماده حساس به نور و اکسیژن است. هیچ‌یک از این فاکتورها به تنهایی سمی نیستند، اما ترکیب آنها باعث تولید گونه‌های اکسیژن منفرد یا گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) با اثر سمیت سلولی می‌شود. انتقال موثر ماده حساس به نور از عرض غشاء و تجمع داخل سلولی آن از مهمترین عناصر در درمان فوتودینامیکی است [۱]. بسته به خواص فیزیکی - شیمیایی و مکانیسم جذب، حساس‌گرهای نوری می‌توانند با غلظت‌های مختلف در بخش‌های مختلف سلول تجمع یابند [۲].

مولکول‌های مواد حساس به نور در حالت پایه با تابش فوتون با انرژی مناسب به حالت برانگیخته می‌روند. برگشت مولکول تحریک‌شده به حالت پایه از طریق واکنش نوع I و واکنش نوع II انجام می‌گیرد. در فرآیند نوع اول مولکول تحریک‌شده حساس‌گر نوری می‌تواند در تماس مستقیم با بیو مواد اکسیدشونده و احیاشونده با آنها واکنش دهند، اما فرآیند نوع دوم شامل برهم‌کنش مستقیم حساس‌گرهای نوری تحریک‌شده با مولکول اکسیژن می‌باشند. در نتیجه انتقال انرژی از ماده حساس به نور در حالت سه‌گانه برانگیخته به اکسیژن سه‌گانه پایه، اکسیژن یگانه تولید می‌گردد که یک گونه بسیار واکنش‌پذیر است [۳]. این اکسیژن یگانه می‌تواند با اجزای سلول وارد واکنش شده و موجب از بین رفتن سلول شود. این فرآیند در اکثر مواد حساس به نور شناخته شده، فرآیند غالب به‌شمار می‌رود به طوری که از فرآیندهای نوع اول صرف‌نظر می‌شود، ولی با توجه به نوع حساس‌گر نوری، ممکن است درصد مشارکت فرآیندهای نوع اول در تخریب قابل ملاحظه باشد. مولکول اکسیژن واکنشی با ساختارهای بیولوژیکی مهم اکسیداتیو انجام داده و باعث تخریب این ساختارها می‌شود [۴] (شکل ۱).



شکل ۱: واکنش نوع I و واکنش نوع II فوتودینامیک تراپی [۴]

میزان تخریب و سمیت سلولی بعد از PDT در حالت درون‌تنی وابسته به چندین پارامتر از قبیل نوع ماده حساس به نور، جایگزیدگی درون سلولی ماده حساس به نور در زمان تابش، دوز تجویزی ماده حساس به نور، دوز نوری کل، نرخ شار نوری، فاصله زمانی بین تجویز دارو و تابش، نوع تومور و سطح اکسیژن بافت می‌باشد. این عوامل تعیین‌کننده مکانیسم موثر مرگ سلولی ناشی از PDT می‌باشند [۵-۸]. بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد که کنترل بلندمدت تومور ترکیبی از این فرایندها می‌باشد. نشان داده شده است که فرآیند درون تنی PDT باعث کاهش تعداد سلول‌های کلونوژنیک تومور از طریق تخریب به وسیله ROS است و شواهد مربوط به دو فرآیند آپوپتوز و نکروز در بیوپسی‌های تومور پس از اعمال PDT موجود می‌باشد [۹-۱۰].

اثر سمیت سلولی PDT در نتیجه برهم‌کنش نور با ماده حساس‌کننده (که غالباً در غشاهای سلولی است) و تولید ROS درون سلول می‌باشد که باعث ایجاد صدمات جبران‌ناپذیری می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که مسیر واحد مشخصی که منجر به مرگ سلولی پس از PDT شود، وجود ندارد [۱۱-۱۲]. در این مقاله مروری، پیچیدگی مکانیسم‌های مولکولی دخیل در پاسخ تومور به فوتودینامیک تراپی (PDT) توصیف می‌شود. همچنین در مورد تأثیر ROS بر روی اجزای سلول و مکانیسم‌های اصلی مرگ سلول ناشی از PDT بحث خواهد شد.

## پیامدهای جایگزیدگی سلولی مواد حساس نور در PDT

ماده حساس به نور می‌تواند در اندام‌های مختلف مانند میتوکندری، لیزوزوم، شبکه آندوپلاسمی، دستگاه گلژی و غشاهای پلازما قرار گیرد. جایگزیدگی ماده حساس به نور در مکان‌های زیرسلولی تعیین‌کننده سیگنالینگ‌های بعد از PDT است. بر اثر استرس فوتودینامیکی آبخارهای سیگنالینگ متعددی به‌طور هم‌زمان در سلول‌های سرطانی، بسته به محل تخریب زیرسلولی توسط اکسیژن یگانه واکنشی فعال می‌شوند. در فرآیند PDT و در سطح مولکولی، تخریب مستقیم سلول تومور توسط تخریب نوری اهداف حیاتی زیرسلولی ایجاد می‌شود، این اهداف شامل غشاء پلازما و غشاء داخل سلولی میتوکندری، لیزوزوم، دستگاه گلژی و شبکه آندوپلاسمی (ER) است. با توجه به اینکه محل تجمع مواد حساس به نور معمولاً در هسته سلول نمی‌باشد، PDT به‌طور کلی توانایی بسیار کمتری در ایجاد آسیب به DNA، جهش‌ها و سرطان‌زایی در مقایسه با اشعه X دارد [۸].

به‌طور کلی پذیرفته شده است که مکان درون سلولی ماده حساس به نور، محل تخریب اولیه می‌باشد. این بدان دلیل است که اکسیژن یگانه فعال دارای عمر بسیار کوتاه و انتشار بسیار محدودی در سیستم‌های بیولوژیکی

خاص سیگنالینگ و یا نظارتی را فعال کند که میزان و نوع پاسخ سلولی و همچنین حالت مرگ سلولی ناشی از PDT را تعیین می‌کند [۱۷، ۲۱]. به طور کلی، ترکیبات حساس به نور جایگزیده در میتوکندری یا ER با آستانه معینی از استرس اکسیداتیو باعث آپوپتوز می‌شوند، در حالی که PDT با مواد نور حساس جایگزیده در غشاء پلاسما یا لیزوزومها می‌تواند باعث تاخیر و یا توقف برنامه آپوپتوتیک شوند و سلول را مستعد نکروز کنند. در جدول ۱ محل ترجیحی زیر سلولی و اهداف مولکولی برخی از مواد حساس به نور ارائه شده است [۲۲].

جدول ۱: محل تجمع موضعی و اهداف مولکولی مواد حساس به نور [۲۲]

هدف مولکولی	محل تجمع	نام تجاری	ماده حساس به نور
Bcl-2	میتوکندری	Alpc	Aluminium phthalocyanine
Bcl-2، Bcl-XL و کاردیولپین	شبهه آندوپلاسمی، میتوکندری	Pc4	Silicon phthalocyanine
تعیین نشده	دستگاه گلژی، غشاء پلاسما	ZnPc	Zinc(II)phthalocyanine
کاسپاز ۳، کاسپاز ۹	غشاء پلاسما، سیتوزول	MCP	Monocationic porphyrin
P53، PBR و کاردیولپین	میتوکندری، سیتوزول، غشاء سیتوزولیک	ALA	۵ آمینولیوولینیک اسید
Bcl-2	میتوکندری، لیزوزوم	ATX-s10	13,17-bis (1-carboxypropionyl) carbamoyl ethyl-8-etheny-2-hydroxy-3-hydroxyiminoethylidene-2,7,12,18-tetraethyl porphyrin sodium
تعیین نشده	دستگاه گلژی، غشاء پلاسما	Photofrin®	Porifimer sodium
ANT و SERCA	شبهه آندوپلاسمی، میتوکندری	BPD	بنزوپورفرین
Bcl-2	شبهه آندوپلاسمی، میتوکندری	m-THPC	Meta-tetrahydroxyphenylchlorin

دارد. طول عمر اکسیژن واکنشی که در درمان فوتودینامیکی بوجود می‌آید بسیار کوتاه است و در مسافت‌های کوتاهی اثر می‌کنند (حدود ۳۰۰ نانومتر)، بنابراین نحوه جایگزینی مواد حساس به نور در تخریب سلولها مهم می‌باشد [۱۳]. برخی از مطالعات در مورد تغییر مکان برخی از مواد حساس به نور پس از تابش گزارش شده‌اند، و حاکی از آن است که علاوه بر مکان اولیه، تخریب نوری می‌تواند به سرعت در سایر مکان‌های زیر سلولی گسترش یابد. ماهیت مولکولی اهداف اکسید شده با نور، تأثیر زیادی بر مسیرهای سیگنالینگ و نحوه مرگ سلولی که پس از PDT آغاز می‌شود، دارد [۱۴-۱۶].

حداقل ۴ پارامتر در جایگزینی مواد حساس به نور در سلول موثر است [۱۷]: الف) خواص شیمیایی ماده حساس به نور، ب) نحوه انتقال و تحویل آن (به عنوان مثال مواد حساس به نور آزاد یا محصور در لیپوزومها و یا نانوذرات تجویز می‌شوند)، ج) فاصله زمانی بین تجویز ماده حساس به نور و فعال سازی آنها و د) ویژگی‌های بیوشیمیایی و مورفولوژیکی تومور در مورد خواص شیمیایی، بار، چربی دوست بودن و ساختار سه بعدی ماده حساس به نور، عوامل مهمی می‌باشند. به طور کلی، مواد حساس به نور آبریز با بار منفی کوچکتر و یا مساوی ۲- تمایل دارند در غشاء پلاسما پخش شوند، بنابراین می‌توانند در سایر غشاهای داخل سلولی مستقر شوند. همچنین، مواد حساس به نور آبریز با بار بزرگتر از ۲- توسط اندوسیتوز جذب شده و عمدتاً در لیپوزومها تجمع می‌یابند و مواد حساس به نور با بار مثبت (کاتیونی) معمولاً در میتوکندری و لیزوزومها جایگزیده می‌شوند. مواد حساس به نور کاتیونی میزان جذب بالاتری نسبت به مواد حساس به نور غیر کاتیونی نشان می‌دهند، زیرا توسط بارهای منفی فسفولیپیدهای غشاء پلاسما و میتوکندری به طور الکترواستاتیکی جذب می‌شوند. علاوه بر بار خالص، موقعیت بار و زنجیره‌های آلکیل جانبی در مولکول مواد حساس به نور نیز بر جذب آنها تأثیر می‌گذارد [۱۸-۲۰].

همچنین نسبت آبریز به آبدوست بودن ماده حساس به نور ممکن است PDT را تحت تأثیر قرار دهد، زیرا تجمع در یک محیط آبی باعث کاهش فلورسانس و کاهش بهره کوانتومی اکسیژن واکنشی می‌شود. علاوه بر این، حالت‌های تجمع همچنین می‌توانند فارماکوکینتیک ماده حساس به نور را در مقایسه با فرم مونومر تغییر دهند. بنابراین تعیین خواص فیزیکی و شیمیایی مواد نور حساس در توزیع زیر سلولی آنها، یک پیش‌بینی بهتری از اثرات PDT می‌دهد. در واقع، هر هدف خاص زیر سلول می‌تواند مسیرهای

## تخریب نوری سلول‌های سرطانی

با توجه به تخریب نوری در مکان‌های خاص درون سلولی ناشی از مواد حساس به نور، انواع مختلف مرگ سلولی مشخص شده است. به عقیده بسیاری از محققین مکانیسم‌های اصلی مرگ ناشی از PDT شامل آپوپتوز، نکروز، فاجعه میتوزی و نکروپتوز می‌باشد. علاوه بر این PDT همچنین می‌تواند یک حالت اتوفازیک را تعیین کند، که بسته به انواع پارامترها از جمله ماهیت ماده حساس به نور، دوز PDT و نوع سلول می‌تواند اثر محافظتی یا کشنده داشته باشد.

علاوه بر این، شواهد اخیر نشان می‌دهد که اتوفازی ممکن است توسط PDT در تلاش برای ترمیم و زنده ماندن از تخریب نوری به اندامک‌های کلیدی القاء شود و در صورت عدم موفقیت، این واکنش به سیگنال مرگ سلول تبدیل شود. اخیراً یک حالت مرگ سلولی به نام پاراپتوز که در پاسخ سلول‌ها به PDT نقش دارد، توسط کسل و اولینیک پیشنهاد شده است. به عقیده این محققین، مکانیسم پاراپتوز احتمالاً با پروتئین‌های معیوب در شبکه اندوتیلیال همراه است همچنین مطالعه‌ای در مورد توصیف پاسخ پاراپتوتیک به عنوان نتیجه هدف‌گیری هسته توسط Vanessa و همکاران انجام شده است [۲۶-۲۳]. تاکنون مشخصات این نوع مرگ سلولی به وضوح مشخص نشده است، با این حال برخی از ویژگی‌های مورفولوژیکی در مقایسه با مرگ ناشی از آپوپتوز و نکروز در جدول ۲ ارائه شده است [۲۷].

جدول ۲: مشخصات مورفولوژیکی آپوپتوز، نکروز و پاراپتوزیس ناشی از PDT [۲۷]

مشخصه مورفولوژیکی مرگ	آپوپتوز	نکروز	پاراآپتوز
واکولیزاسیون سیتوپلاسمی	ندارد	دارد	دارد
تراکم کروماتین	دارد	ندارد	ندارد
تکه تکه شدن هسته	دارد	ندارد	ندارد
اجسام آپوپتوتیک	دارد	ندارد	ندارد
تورم میتوکندریایی	برخی مواقع	ندارد	ندارد
مرگ سلولی برنامه ریزی شده	دارد	ندارد	دارد
فعالیت کاسپاز	دارد	برخی مواقع	ندارد

## PDT و آپوپتوز

PDT یک عامل موثر در آپوپتوز است و در بسیاری سلول‌ها با مواد حساس به نور مختلف نشان داده شده است. پس از القاء، آپوپتوز مسیرهای شناخته شده را دنبال می‌کند اما معمولاً مسیر داخلی (میتوکندری) مسیر غالب می‌باشد [۲۸]. جنبه‌های از آپوپتوز که منحصر به PDT است شامل اهداف مولکولی، انواع آسیب‌های اولیه سلولی و عواقب فوری این آسیب‌ها است. بسیاری از مواد حساس به نور میتوکندری را هدف قرار می‌دهند که نتیجه آن تغییر در منافذ انتقال، پروتئین‌های آپوپتوز Bcl-2 و Bcl-xL و یا فسفولیپیدها، به ویژه کاردیولپین است. بعضی از مواد حساس به نور همچنین شبکه آندوپلاسمی (ER) را هدف قرار می‌دهند که به پمپ‌های کلسیم آسیب می‌رسانند و نتیجه آن پخش کلسیم ذخیره شده به سیتوزول و متعاقب آن میتوکندری است. مواد حساس به نور جایگزیده در لیزوزوم‌ها باعث تخریب نوری غشای لیزوزومی و باعث آزاد شدن کاتسپین‌ها و سایر عواملی می‌شود که می‌توانند واسطه‌های آپوپتوز مانند Bid را که به نوبه خود باعث آپوپتوز میتوکندری می‌شوند، را فعال کنند. اگرچه غشای پلاسماء معمولاً هدف مستقیم اکثر مواد حساس به نور نیست، اما می‌تواند در اثر آزاد شدن لیگاندهای گیرنده‌های غشایی مانند لیگاند Fas تحت تأثیر قرار گیرند [۲۹-۳۰].

عموماً آپوپتوز، مسیر غالب مرگ سلولی ناشی از فوتودینامیک‌تراپی است. فوتودینامیک‌تراپی از چند طریق آپوپتوز را به سلول القاء می‌کند. مواد حساس به نوری که در میتوکندری جایگزیده می‌شوند در مقایسه با آنهایی که در لیزوزوم یا غشای پلاسمایی جایگزیده می‌گردند، القاکننده‌های آپوپتوز سریع‌تری هستند. به‌طور کلی مواد حساس به نور جایگزیده در میتوکندری باعث می‌شوند سیتوکرم c از میتوکندری آزاد گردد که یک سیگنال حیاتی برای القای آپوپتوز است. علاوه بر این، از بین رفتن سریع غشای میتوکندری در حین PDT نیز مشاهده شده است. در فوتودینامیک‌تراپی تخریب پروتئین Bcl-2 می‌تواند سیگنال مجازی برای نفوذپذیر شدن غشای خارجی میتوکندری ایجاد کند و متعاقب آن موجب آزاد شدن فعال‌کننده‌های کاسپاز، مانند سیتوکروم c و smac/DIABLO یا مولکول‌های پروآپوپتوتیکی (شامل فاکتور القاء‌کننده آپوپتوز) شود. تخریب نوری شدید غشاء میتوکندری یا تجمع زیاد درون سلولی ROS ممکن است باعث غلبه نکروز بر آپوپتوز گردد [۳۱-۳۲].

## PDT و نکروز

مرگ سلولی نکروتیک به عنوان نوعی تخریب سریع و خشن توصیف شده است که بخش‌های زیادی از جمعیت سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد، با تورم سیتوپلاسمی، تخریب اندامک‌ها و اختلال در غشاء پلازما مشخص می‌شود و منجر به آزاد شدن محتوای داخل سلول و التهاب آن می‌شود. نکروز به عنوان مرگ تصادفی سلول ناشی از آسیب فیزیکی یا شیمیایی شناخته شده است و به طور کلی یک فرآیند بدون برنامه در نظر گرفته می‌شود. مشخصه آن یک هسته پیکنوتیک، تورم سیتوپلاسمی و تجزیه تدریجی غشاهای سیتوپلاسمی است که همگی منجر به تکه‌تکه شدن سلول و آزاد شدن مواد در محفظه خارج سلول می‌شود. در نکروز، تجزیه عمدتاً ناشی از فعالیت پروتولیتیک است، اما هویت دقیق پروتئازها و سوبسترای آنها به خوبی تعیین نشده‌اند [۳۳-۳۴].

مطالعه عوامل و پارامترهای ایجادکننده نکروز سلولی پس از PDT به آسانی مطالعه عواملی که منجر به آپوپتوز می‌شوند نیست. عوامل حیاتی در تعیین نوع مرگ سلولی، به عنوان مثال، آپوپتوز و یا نکروز در PDT می‌تواند شامل نوع سلول، تراکم سلولی، محل قرار گرفتن زیر سلولی ماده حساس به نور، دوز نوری و فشار جزئی اکسیژن باشد. یکی از عوامل مورد توافق همه محققان در مورد روش مرگ سلولی با PDT این است که، PDT با دوز بالا (غلظت بالا ماده حساس به نور و یا دوز نوری بالا و یا هر دو آنها) احتمال مرگ سلول در اثر نکروز را افزایش می‌دهد، در حالی که PDT در دوزهای پایین‌تر مستعد آپوپتوز است. معمولاً افزایش شدت دوز PDT باعث القاء زیادی ROS است که نتیجه آن افت شدید در سطح ATP و مهار متابولیک و افزایش مرگ بر اثر نکروز می‌شود [۳۵].

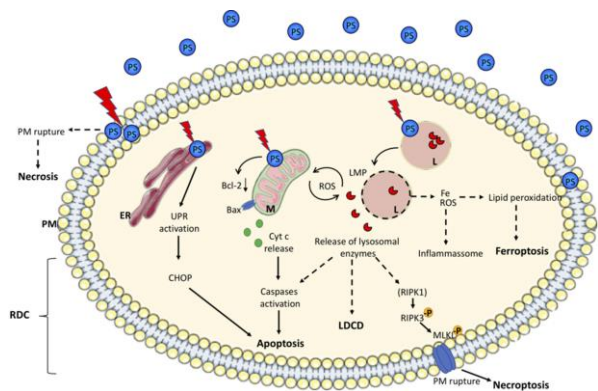
ناگاتا و همکاران با استفاده از ماده حساس به نور ATX-S10 (Na) و تاثیر آن بر روی سلول‌های ملانومای بدخیم انسانی، دریافتند که مرگ سلولی با دوزهای نوری با سمیت سلولی کمتر از ۷۰٪ عمدتاً ناشی از آپوپتوز است. در مقابل، بیشتر مرگ سلول‌ها با دوزهای که باعث ۹۹٪ سمیت آنها می‌شوند، نکروزان به نظر می‌رسند. یک ویژگی مشترک برنامه آپوپتوزیس آغازشونده توسط PDT، آزادسازی سریع سیتوکروم c میتوکندری در سیتوزول و به دنبال آن فعال شدن آپوپتوزوم و پروکاسپاز ۳ است. تمایل مرگ سلولی در فوتودینامیک تراپی با مواد حساس به نور جایگزیده در غشاء پلازما به سمت مرگ سلول نکروتیک است که احتمالاً به دلیل از بین رفتن یکپارچگی غشاء پلازما و تخلیه سریع ATP داخل سلولی می‌باشد [۳۶]. همچنین ممکن است دوزهای بالای PDT بتواند

آنزیم‌های ضروری و سایر اجزای آبشار آپوپتوزیس مانند کاسپازها را به صورت فوتوشیمیایی غیرفعال کند. به عنوان مثال، لایو و همکاران با استفاده از ماده حساس به نور perylenequinones دریافتند که PDT در دوزهای بالا باعث مهار آپوپتوز با تداخل در فسفوریله شدن لایوین یا کراس لینک فوتودینامیکی لایوین می‌شوند [۳۷].

## PDT و اتوفاژی

ماکرو اتوفاژی، که از این پس اتوفاژی نامیده می‌شود از کلمه‌های یونانی "اتو" به معنای خود و "فاژی" به معنی خوردن گرفته شده است و به طور گسترده به فرایندهای کاتابولیک سلولی اشاره می‌کند که در آن مواد سیتوپلاسمی برای تخریب به لیزوزوم‌ها منتقل می‌شوند. در مخمرها، جایی که این فرآیند به بهترین وجه بررسی شده است، عملکرد اتوفاژی به عنوان مکانیسم زنده‌مانی یا سازگاری به منظور حفظ عملکردهای حیاتی در شرایط محدودکننده مواد مغذی می‌باشد. همچنین در سلول‌های پستانداران اتوفاژی با از بین بردن اندامک‌های آسیب دیده، متابولیت‌های سمی و یا عوامل بیماری‌زا درون سلولی ممکن است باعث زنده ماندن سلول شود. باین حال، اتوفاژی همچنین می‌تواند باعث مرگ سلول از طریق هضم اجزای خود و تخریب ترکیبات اساسی سلول شود. اگرچه بسیاری از سوالات بی‌پاسخ در مورد عوامل مولکولی مرگ سلولی اتوفاژیک باقی مانده است، اما تصور می‌شود این برنامه سلولی در غیاب سیگنالینگ کاسپاز یا حتی در شرایط مهار کاسپاز فعال می‌شود. مرحله اولیه در اتوفاژی تشکیل یک ساختار دو غشایی است که اجزای سیتوپلاسمی و همچنین اندامک‌ها را توقیف می‌کند و واکوئل‌های اتوفاژیک یا اتوفاگوزوم‌های را شکل می‌دهد. در نهایت، اتوفاگوزوم‌ها با لیزوزوم‌ها ادغام می‌شوند و مواد سیتوپلاسمی آنها توسط هیدرولیزهای لیزوزومی تخریب می‌شود. خانواده‌ای از ژن‌های مربوط به اتوفاژی که به آنها پروتئین مرتبط با اتوفاژی (Atg) می‌گویند ابتدا در مخمر کشف شدند سپس هومولوگ آنها در پستانداران شناسایی شد. به طور کلی این مسیر، یک مسیر حفظ شده است و کلیات مسیر در مخمر و پستانداران شناسایی شده است. این مسیر شامل چند مرحله اصلی شامل مرحله القاء و آغاز اتوفاژی، هسته‌گذاری اتوفاگوزوم، امتدادیافتن و بلوغ اتوفاگوزوم و ادغام شدن با لیزوزوم و تجزیه محتویات اتوفاگوزوم می‌باشد. اتوفاژی توسط مسیرهای سیگنالینگ کلاس I و کلاس III فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ کیناز (PI3K) که به ترتیب مهار و تحریک اتوفاژی را ایجاد می‌کنند، تنظیم می‌شود [۳۸].

می‌افتد. درحالی‌که به‌نظر می‌رسد اتوفاژی در سلول‌های توموری که توانایی آپوپتوز را دارند، نقشی طرفدار بقاء را دارد، اما نشان داده شده است که باعث افزایش مرگ در سلول‌هایی می‌شود که نقص آپوپتوز دارند [۴۴]. به‌منظور درک اینکه PDT چگونه بر اتوفاژی تأثیر می‌گذارد، توجه به پروتئین‌های تحت تأثیر PDT که در این مکانیسم نقش دارند، مهم است. بسیاری از پروتئین‌ها و برخی از آنها که به‌طور مستقیم در روند اتوفاژی نقش دارند، توسط ROS ناشی از PDT آسیب می‌بینند. برخی از مواد حساس به نور جایگزیده در ER و میتوکندری باعث آسیب به Bcl-2 می‌شوند (که Beclin1 پروتئین طرفدار اتوفاژی به آن متصل می‌شود) [۴۵]. میزان اتوفاژی و آپوپتوز به نوع سلول سرطانی، ماده حساس به نور و دوز نور بستگی دارد. بسته به نوع سلول، اتوفاژی منجر به مرگ سلولی و یا مانع از مرگ آن در فرآیند PDT می‌شود. در سلول‌هایی که قادر به انجام آپوپتوز هستند، اتوفاژی با بازیافت اندامک‌های آسیب‌دیده، اثرات مخرب PDT را کاهش می‌دهد. این احتمال می‌رود که کارایی PDT با سرکوب پروتئین‌های طرفدار اتوفاژی افزایش یابد. اتوفاژی بر روی سلول‌هایی که دچار نقص آپوپتوز هستند اثر معکوس دارد و باعث مرگ سلول از طریق نکروز می‌شود [۴۶]. اثرات فوق‌الذکر به‌عنوان اثرات مستقیم و تخریب مستقیم ناشی از PDT به‌شمار می‌آید. شکل ۲ نشان‌دهنده چگونگی جایگزینی مواد حساس به نور در اندامک‌های سلولی و مسیر مرگ سلولی را نمایش می‌دهد.



شکل ۲: بررسی اجمالی مسیرهای مرگ سلولی ناشی از PDT. مکان‌های جایگزیده مواد حساس به نور می‌تواند، غشای پلازما (PM)، شبکه آندوپلاسمی (ER)، میتوکندری (M) یا لیزوزوم (L) باشد. مواد حساس به نور پس از فعال‌شدن توسط نور، بسته به جایگزینی آنها، مستقیماً باعث نکروز و یا آپوپتوز می‌شوند [۴۷]

علاوه‌بر روش‌های مستقیم، مکانیسم‌های غیرمستقیم فوتودینامیک‌تریابی شامل تأثیر آن بر عروق تومورال، سیستم ایمنی بدن و پاسخ التهابی نیز می‌باشد. عروق تومور و سلول‌های پارانشیم هر دو اهداف بالقوه

مطالعات اخیر نشان می‌دهد که PDT ممکن است منجر به مرگ سلولی غیرآپوپتوتیکی در ارتباط با القاء اتوفاژی شود. با توجه به واکنش‌پذیری بالای ROS در فرآیند PDT، تعجب آور نیست که اتوفاژی در تلاش برای از بین بردن اندامک‌های آسیب‌دیده از طریق اکسیداسیون یا تخریب پروتئین‌های کراس‌لینک شده بزرگ تولیدی توسط واکنش‌های فتوشیمیایی باشد، که توسط سیستم پروتازوم-یویی کوئنتین و یا ERAD قابل حذف نیستند [۳۹]. یکی از اولین بیماری‌های مرتبط با اتوفاژی سرطان بود. کشف شد که Beclin1 که یک پروتئین ضروری برای اتوفاژی است، یک سرکوب‌کننده تومور می‌باشد. مطالعات بیشتر در مورد نقش اتوفاژی در سرطان برخی از خواص این بیماری را نیز نشان داد. در ابتدا، اتوفاژی با تولید Beclin1 رشد تومور را سرکوب می‌کند. همچنین مشخص شد که اتوفاژی مسیرهای آپوپتوزیس را مسدود می‌کند، در نتیجه سلول‌های سرطانی را از درمان محافظت می‌کند. از طرف دیگر، در برخی از روش‌ها درمان سرطان با القاء مرگ اتوفاژیک درمان سلول را ایجاد می‌کنند. این اثر دو گانه اتوفاژی بر روی تومورها می‌تواند به‌عنوان گزینه درمان سرطان به منظور درمان بهتر سرطانی مورد استفاده قرار گیرد [۳۹-۴۰].

هنوز ارتباط PDT با اتوفاژی دقیقاً مشخص نشده است. به‌طورکلی، سلول‌های پستانداران از اتوفاژی با پاکسازی سلول از اندامک‌های آسیب‌دیده به‌عنوان دفاعی در برابر آسیب ناشی از ROS استفاده می‌کنند. بسته به نوع ROS و درجه آسیب اکسیداتیو، PDT ممکن است اتوفاژی را تحریک کند که نتیجه آن می‌تواند محافظت از سلول و یا مرگ اتوفاژیک سلولی باشد. اتوفاژی ممکن است در آپوپتوز ناشی از PDT نقش داشته باشد. علاوه‌برآن، این دو فرآیند می‌توانند به‌طور مستقل از یکدیگر عمل کنند. مطالعه‌ای که روی سلول‌های لوکمی موش L1210 انجام شد، نشان داد که موج اتوفاژی درست قبل از آپوپتوز اتفاق می‌افتد [۴۱-۴۲].

همچنین مشخص شد که با جلوگیری از اتوفاژی با خاموش کردن ژن Agt7، کشندگی نوری در دوزهای نوری کمتر رخ می‌دهد. این بررسی با تئوری مکانیسم دفاعی اتوفاژی در برابر ROS ناشی از PDT سازگار است [۴۳]. شرایط در مورد سلول‌های توموری که توانایی انجام آپوپتوز را از طریق نقص Bax و Bac که تنظیم‌کننده مسیر آپوپتوز می‌باشد، متفاوت است. در این سلول‌ها، اتوفاژی ناشی از PDT باعث نکروز، مرگ سلولی مستقل از کاسپاز می‌شود. سرکوب اتوفاژی در سلول‌های نقص آپوپتوز منجر به مهار مرگ سلولی در حین PDT می‌شود. به‌طورکلی، القاء اتوفاژی در سلول‌های تحت درمان با PDT به‌طور مستقل از نتیجه آپوپتوز اتفاق

جدول ۳. مکانیسم اصلی مرگ سلولی فعال شونده توسط فوتودینامیک تراپی [۵۳]

مکانیسم های ضد توموری PDT		
	اندامک ها	فرآیند
تخریب مستقیم سلول	میتوکندریایی: آزادسازی سیتوپلاسم Bcl-2 تخریب	آپوپتوز
	سیتوپلاسم: تخریب NF $\kappa$ B	
	شبکه آندوپلاسمی: Beclin 1 فعال سازی mTOR	آتوفازی
	متلاشی شدن غشاء سلولی	نکروز
تخریب عروق	کاهش موضعی اکسیژن و مواد مغذی	آپوپتوز نکروز آتوفازی
فعال سازی پاسخ ایمنی	سلول T سیتوتوکسیک	گرازیم القاء کننده آپوپتوز

### مکانیسم های مولکولی دخیل در پاسخ تومور به فوتودینامیک تراپی

تاکنون حداقل پنج مکانیسم مختلف پاسخ تومور به PDT شامل، الف) مکانیسم آنتی اکسیدانی ناشی از Nrf2 (فاکتور هسته ای اریترودید p45 مرتبط با فاکتور ۲، ب) پاسخ هیپوکسی به HIF-1 (فاکتور القاشونده به وسیله هیپوکسی، ج) پاسخ پیش التهابی و رگ زایی ناشی از NF- $\kappa$ B (د) پاسخ استرس پروتوتوکسیک با واسطه عوامل مختلف رونویسی (مانند HSF-1، پروتئین اتصال X-box 1 (XBP1)، عامل رونویسی فعال کننده ATF6 و ATF4) و ه) واکنش استرس حاد با واسطه سیگنال آپوپتوز تنظیم کننده کیناز ۱ (ASK1) با پروتئین کیناز فعال شده میتوزن (MAPK) شناسایی شده است (شکل ۳) [۴۱].

Nrf2 یک عامل رونویسی است که مسئول پاسخ آنتی اکسیدانی اولیه می باشد. گزارش شده است که از طریق مهار فعالیت Nrf2، کارایی PDT افزایش می یابد، بنابراین Nrf2 می تواند یک هدف اساسی برای PDT باشد [۵۴]. بیان NF- $\kappa$ B نقش مهمی در آپوپتوز، التهاب و تکثیر دارد و ارتباط مستقیمی با پاسخ HIF-1 دارد. به طور کلی، در ده های پایین تر از حالت بهینه PDT (پایین بودن سطح ROS) افزایش NF- $\kappa$ B و بقای سلول های تومور مشاهده می شود. در مقابل، یک استرس شدید PDT (سطح بالای

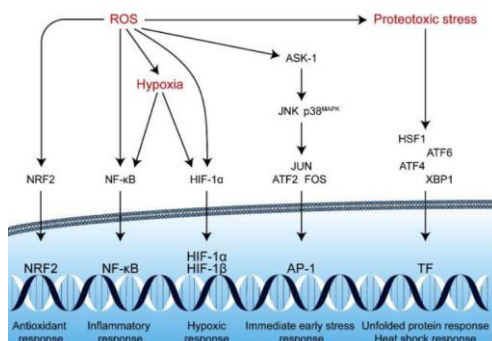
فوتودینامیک تراپی به شمار می آید. تأثیر PDT بر روی سیستم عروقی بستگی به خصوصیات فارموکنتیک ماده حساس به نور دارد که می تواند با فاصله تجویز دارو و اعمال تابش نور<sup>۱</sup> (DLI) تغییر کند. با DLI کوتاه (کمتر از ۳۰ دقیقه)، مواد حساس به نور هنوز در محفظه عروقی جریان دارند، بنابراین با اعمال تابش و فعال شدن مواد حساس به نور [۲۶] منجر به هدف گیری فعال نشان گرهای مختلف اندوتلیال و سلولی تومور (ED-B domain of fibronectin، گیرنده VEGF-2 و نوروپیلین<sup>۱</sup>) می شود [۴۸-۴۹].

با توجه به نقش PDT در سیستم ایمنی، یکی از اولین اتفاقاتی که در تومور پس از آسیب اکسیداتیو ناشی از PDT رخ می دهد، تولید سیگنال هایی به نام الگوهای مولکولی وابسته به آسیب<sup>۲</sup> (DAMP) است که به عنوان سیگنال های هشدار دهنده در ایمنی ذاتی عمل می کنند. DAMP مولکول های درون زایی<sup>۳</sup> هستند، که معمولاً در سلول های زنده "پنهان" می باشند و پس از ترشح از سلول های در حال مرگ و یا آسیب دیده، خاصیت تحریک ایمنی را به دست می آورد. به طور کلی آنها از سلول های توموری که توسط PDT از طریق نکروز یا آپوپتوز کشته می شوند، آزاد می شوند. DAMP ها توسط سیستم ایمنی بدن به عنوان آنتی ژن های "خود تغییر یافته"<sup>۴</sup> شناخته می شوند که باعث ایجاد پاسخ ایمنی قوی می شوند [۵۰-۵۱].

بالفاصله پس از PDT، نوتروفیل ها به محل تومور مهاجرت می کنند و باعث تنظیم دیگر سلول های ایمنی می شوند. تعیین شده است که PDT با دوز کم می تواند ماکروفاژها را با افزایش فعالیت فاگوسیت آنها و آزادسازی اکسیدانتریک (NO) تحریک کند. سپس، آنتی ژن های تومور آزاد شده توسط سلول های توموری پس از PDT توسط سلول های دندریتیک (DC) که پس از فعال شدن فاگوسیت می شوند، به عدد لنفاوی محلی می روند و در آنجا بالغ می شوند و پپتیدهای مشتق شده از آنتی ژن را به لنفوسیت های T ارائه می دهند که باعث فعال سازی سلول های T کمک کننده (CD4+) و لنفوسیت T (CD8+)، لنفوسیت B و دستگاه ایمنی تطبیقی می شوند [۵۲]. در جدول ۳ مکانیسم های اصلی مرگ سلولی (روش مستقیم و غیرمستقیم) که توسط درمان فوتودینامیکی فعال می شود، به صورت خلاصه ارائه شده است [۵۳].

- 1 Dose light interval
- 2 damage-associated molecular patterns
- 3 endogenous
- 4 self-altered

MA11/TR (مقاوم در برابر TPCS2a-PDT)، فسفوریلاسیون p38 سیگنالینگ مرگ‌ومیر خود را سرکوب کرده و باعث لغو فعال‌سازی مسیر P38 MAPKAKPK2 می‌شود [۶۱].



شکل ۲: مسیرهای انتقال سیگنال در سلول‌های سرطانی پس از درمان فوتودینامیکی [۲۷]

### نتیجه‌گیری

افزایش علاقه به PDT به عنوان یک روش امیدوارکننده درمان سرطان، با افزایش مقالات مربوط به مکانیسم مرگ سلولی بر اثر فعال‌سازی نوری مواد نور حساس متنوع، مشاهده می‌شود. شواهد اخیر نشان می‌دهد که PDT می‌تواند منجر به مرگ سلول که شامل مرگ سلولی آپوپتوز، نکروز و اتوفاجی است شود. مطالعات نشان می‌دهد که آپوپتوز احتمالاً راه ترجیحی برای مرگ سلولی است، اما راه منحصر به فرد نیست. علاوه بر این، شناخت بهتر از نحوه مرگ سلول‌های سرطانی پس از PDT به درک بهتری از تأثیر روش‌های مختلف مرگ سلولی در پاسخ‌های ایمنی ذاتی و سازگار و نتیجه درمانی کمک می‌کند. در این مقاله مروری علاوه بر ذکر اصول اساسی فوتودینامیک‌تراپی خلاصه‌ای از مسیرهای مولکولی در ارتباط با پاسخ تومور به درمان ارائه شده است. هر مسیر می‌تواند یک هدف درمانی احتمالی برای بهبود کارایی PDT باشد (اگرچه به نظر می‌رسد خاموش کردن یا تنظیم تنها یک مکانیسم قادر به افزایش کارایی PDT نمی‌باشد). تنوع در پاسخ تومور به PDT به دلیل ارتباط بین مسیرهای پاسخ‌دهنده به اکسیداسیون منجر به عود، متاستاز و مقاومت در مقابل درمان می‌شود. درک آشنایی از وقایع که باعث ایجاد تخریب سلول به وسیله فرآیند PDT است هنوز کامل نشده است. امید می‌رود شناسایی دقیق این وقایع منجر به طراحی پروتکل‌های PDT بهتر، به منظور افزایش راندمان این روش که توانایی گسترده در درمان سرطان دارد، شود.

ROS) فعالیت NF-κB را سرکوب می‌کند و باعث آپوپتوز می‌شود. در شرایط هیپوکسی حاد، سلول‌های توموری HIF-1 را فعال می‌کنند که تنظیم‌کننده اصلی مقاومت در برابر مرگ سلول و تکثیر سلول‌های سرطانی است. در دهه گذشته HIF-1 به عنوان یکی از اصلی‌ترین تأثیرات مولکولی ناشی از PDT و دخیل در مقاومت PDT پذیرفته شده است. نشان داده شده است که در پاسخ به هیپوکسی، سلول‌های تومور ممکن است باعث اتوفاجی به واسطه HIF-1 شوند تا در یک میکرومحیط خصمانه زنده بمانند [۵۷-۵۵].

مکانیسم دیگری که در پاسخ به PDT دخیل می‌باشد، براساس بیان پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) است، خانواده‌ای از پروتئین‌ها که در پاسخ به قرارگرفتن در معرض شرایط استرس‌زا ایجاد می‌شوند. به دنبال PDT، سطح ROS درون سلولی افزایش یافته و به DNAها، RNAها، پروتئین‌ها و فسفولیپیدها آسیب می‌رساند و باعث تکه‌تکه شدن DNA، پیوند عرضی، بازشدن و تجمع می‌شود. در این شرایط، شپرون‌ها بیان می‌شوند (به‌عنوان مثال HSP90، HSP70، HSP60 و HSPهای کوچک) و پروتئین‌های تان شده را شناسایی و کمک به تاشدگی مجدد پروتئین‌های آسیب‌دیده می‌کنند. اگر تاشدن مجدد امکان‌پذیر نباشد، شپرون‌ها از طریق سیستم پروتئولیتیک باعث تخریب این پروتئین‌ها می‌شوند. هنگامی که PDT باعث تجمع زیاد پروتئین‌های باز شده شود، سیستم شپرون و یا پروتئولیتیک قادر به ترمیم آسیب نمی‌باشند. در این حالت سیستم اتوفاجی - لیزوزومی و اتوفاجی ناشی از شپرون (CMA) پروتئین تجمع یافته در سیتوزول را حذف می‌کند [۵۹-۵۸]. مطالعات دیگر نشان می‌دهند که خانواده‌های ۶۰، ۷۰، ۹۰، HSPs۲۷، که اجزای مسیرهای انتقال سیگنال یا فعالیت ضد آپوپتوز هستند، در مقاومت در برابر PDT نقش دارند. بنابراین، CMA می‌تواند یک مکانیسم القاء HSP و مقاومت در برابر PDT باشد. همچنین برای این مسیر مولکولی، تفاوت تأثیرات HSP در ایجاد یا کاهش مرگ سلولی پس از PDT به شرایط درمان فوتودینامیکی، ماده حساس به نور و یا نوع سلول سرطانی وابسته است [۶۰].

پاسخ تومور به فوتودینامیک‌تراپی بسته به شرایط درمان تحت تأثیر P38 MAPK است. مشخص شده است که فوتودینامیک‌تراپی با ماده حساس به نور TPCS2a در سلول‌های سرطانی پستان MA11 مسیر P38 MAPK باعث مرگ سلولی می‌شود، در حالی که در سلول‌های

## References:

- 1- Yan K, Zhang Y, Mu C. Versatile Nanoplatforms with enhanced Photodynamic Therapy: Designs and Applications. *Theranostics* 2020;10:7287-7318.
- 2- Kurakina D, Khilov A, Shakhova M. Comparative analysis of single- and dual-wavelength photodynamic therapy regimes with chlorin-based photosensitizers: animal study. *J Biomed Opt* 2019;25:1-17.
- 3- Izumoto A, Nishimura T, Hazama H, Ikeda N, Kajimoto Y, Awazu K. Singlet oxygen model evaluation of interstitial photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid for malignant brain tumor. *J Biomed Opt* 2019;25:1-13.
- 4- Soukous N, Goodson J. Photodynamic therapy in the control of oral biofilms. *Periodontology* 2000 2011; 55: 143-163.
- 5- Buytaert E, Dewaele M, Agostinis P. Molecular effectors of multiple cell death pathways initiated by photodynamic therapy: a review. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1776:86-107.
- 6- Yoon I, Li J Z, Shim YK. Advance in Photosensitizers and light delivery for photodynamic therapy. *Clin Endosc* 2013; 46: 7-23.
- 7- Yoon I, Li J Z, Shim YK. Advance in Photosensitizers and light delivery for photodynamic therapy. *Clin Endosc* 2013; 46: 7-23.
- 8- Zhang J, Chengshi C, Longo J, Azevedo R, Zhanga H, Muehlmann L. An updated overview on the development of new photosensitizers for anticancer photodynamic therapy: A review. *Acta Pharm Sin B* 2018; 8: 137-146.
- 9- Castano AP, Mroz P, Hamblin MR. Photodynamic therapy and anti-tumor immunity. *Nat Rev Cancer* 2006;6:535-545.
- 10- Inuma S, Schomacker KT, Wagnieres G, Rajadhyaksha M, Bamberg M, Momma T, Hasan T. In vivo fluence rate and fractionation effects on tumor response and photobleaching photodynamic therapy with two photosensitizers in an orthotopic rat tumor model. *Cancer Res* 1999; 59: 6164-6170.
- 11- Garg AD, Nowis D, Golab J, Agostinis P. Photodynamic therapy: Illuminating the road from cell death towards anti-tumour immunity. *Apoptosis* 2010; 15: 1050-1071.
- 12- Nowis D, Makowski M, Stoklosa T, Legat M, Issat T, Golab J. Direct tumor damage mechanisms of photodynamic therapy. *Acta Biochim* 2005; 52:339-352.
- 13- van D, Mashayekhi V, de Bruijn HS, Oliveira S, Robinson DJ. Oncologic Photodynamic Therapy: Basic Principles, Current Clinical Status and Future Directions. *Cancers (Basel)* 2017;9(2):19.
- 14- Tsubone TM, Martins WK, Pavani C, Junqueira HC, Itri R, Baptista MS. Enhanced efficiency of cell death by lysosome-specific photodamage. *Sci Rep* 2017;7:6734.
- 15- Kessel D, Relocalization of cationic porphyrins during photodynamic therapy, *Photochem. Photobiol. Sci* 2002;1: 837-840.
- 16- Marchal S, Francois A, Dumas D, Guillemain F, Bezdetnaya F. Relationship between subcellular localisation of Foscan and caspase activation in photosensitized MCF-7 cells. *Br. J. Cancer* 2007;96: 944-951.
- 17- Castano AP, Demidova TN, Hamblin MR. Mechanisms in photodynamic therapy: part one- photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2004;1:279-293.
- 18- Benov L. Photodynamic Therapy: Current Status and Future Directions. *Med Princ Pract* 2015;24: 1:14-28.
- 19- Jensen TJ, Vicente MG, Luguya R, Norton J, Fronczek FR, Smith KM. Effect of overall charge and charge distribution on cellular uptake, distribution and phototoxicity of cationic porphyrins in HEP2 cells. *J Photochem Photobiol B* 2010;100 :100-111.
- 20- Kessel D, Poretz RD. Sites of photodamage induced by photodynamic therapy with a chlorin e6 triacetoxymethyl ester (CAME). *Photochem Photobiol* 2000; 71: 94-96.
- 21- Kessel D. Death pathways associated with photodynamic therapy. *Med Laser Appl* 2006;21:219-224.
- 22- Buytaert E, Dewaele M, Agostinis P. Molecular effectors of multiple cell death pathways initiated by photodynamic therapy: A review. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1776:86-107.
- 23- Kessel D, Reiners JJ Jr. Apoptosis and autophagy after mitochondrial or endoplasmic reticulum photodamage. *Photochem Photobiol* 2007;83:1024-1028.
- 24- Kessel D. Autophagic death probed by photodynamic therapy. *Autophagy* 2015;11:1941-1943.
- 25- Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, Alnemri ES, Altucci L, Amelio I, Andrews DW, Annicchiarico-Petruzzelli M, Antonov AV, Arama E, Baehrecke EH, Barlev NA, Bazan NG, Bernassola F, Bertrand MJM, Bianchi K, Blagosklonny MV, Blomgren K, Borner C, Boya P, Brenner C, Campanella M, Candi E, Carmona-Gutierrez D, Cecconi F, Chan FK, Chandel NS, Cheng EH, Chipuk JE, Cidlowski JA, Ciechanover A, Cohen GM, Conrad M, Cubillos-

- Ruiz JR, Czabotar PE, D'Angiolella V, Dawson TM, Dawson VL, De Laurenzi V, De Maria R, Debatin KM, DeBerardinis RJ, Deshmukh M, Di Daniele N, Di Virgilio F, Dixit VM, Dixon SJ, Duckett CS, Dynlacht BD, El-Deiry WS, Elrod JW, Fimia GM, Fulda S, García-Sáez AJ, Garg AD, Garrido C, Gavathiotis E, Golstein P, Gottlieb E, Green DR, Greene LA, Gronemeyer H, Gross A, Hajnoczky G, Hardwick JM, Harris IS, Hengartner MO, Hetz C, Ichijo H, Jäättelä M, Joseph B, Jost PJ, Juin PP, Kaiser WJ, Karin M, Kaufmann T, Kepp O, Kimchi A, Kitsis RN, Klionsky DJ, Knight RA, Kumar S, Lee SW, Lemasters JJ, Levine B, Linkermann A, Lipton SA, Lockshin RA, López-Otín C, Lowe SW, Luedde T, Lugli E, MacFarlane M, Madeo F, Malewicz M, Malorni W, Manic G, Marine JC, Martin SJ, Martinou JC, Medema JP, Mehlen P, Meier P, Melino S, Miao EA, Molkenin JD, Moll UM, Muñoz-Pinedo C, Nagata S, Nuñez G, Oberst A, Oren M, Overholtzer M, Pagano M, Panaretakis T, Pasparakis M, Penninger JM, Pereira DM, Pervaiz S, Peter ME, Piacentini M, Pinton P, Prehn JHM, Puthalakath H, Rabinovich GA, Rehm M, Rizzuto R, Rodrigues CMP, Rubinsztein DC, Rudel T, Ryan KM, Sayan E, Scorrano L, Shao F, Shi Y, Silke J, Simon HU, Sistigu A, Stockwell BR, Strasser A, Szabadkai G, Tait SWG, Tang D, Tavernarakis N, Thorburn A, Tsujimoto Y, Turk B, Vanden Berghe T, Vandenneele P, Vander Heiden MG, Villunger A, Virgin HW, Vousden KH, Vucic D, Wagner EF, Walczak H, Wallach D, Wang Y, Wells JA, Wood W, Yuan J, Zakeri Z, Zhivotovsky B, Zitvogel L, Melino G, Kroemer G. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ* 2018; 25: 486–541.
- 26-Kessel D, Oleinick NL. Cell Death Pathways Associated with Photodynamic Therapy: An Update. *Photochem. Photobiol* 2018; 94: 213–218.
- 27-Molecular pathways in cancer response to photodynamic therapy. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines* 2019; 23: 410-418.
- 28-Zhang ZJ, Wang KP, Mo JG, Xiong L, Wen Y. Photodynamic therapy regulates fate of cancer stem cells through reactive oxygen species. *World J Stem Cells* 2020;12:562-584.
- 29-Mao G, Qu F, St Croix CM, et al. Mitochondrial Redox Opto-Lipidomics Reveals Mono-Oxygenated Cardiolipins as Pro-Apoptotic Death Signals. *ACS Chem Biol* 2016;11:530-540.
- 30-Broekgaarden M, Weijer R, van Gulik TM, Hamblin MR, Heger M. Tumor cell survival pathways activated by photodynamic therapy: a molecular basis for pharmacological inhibition strategies. *Cancer Metastasis Rev* 2015; 34:643-690.
- 31-Messmann H, Milkvy P, Buonaccorsi G, Davies CL, MacRobert AJ, Bown SG. Enhancement of photodynamic therapy with 5-aminolaevulinic acid-induced porphyrin photosensitisation in normal rat colon by threshold and light fractionation studies. *Br J Cancer* 1995;72:589-594.
- 32-Chiu SM, Xue LY, Usuda J, Azizuddin K, Oleinick NL. Bax is essential for mitochondrion-mediated apoptosis but not for cell death caused by photodynamic therapy. *Br J Cancer* 2003;89 :1590-1597.
- 33-Danial N N, Korsmeyer S J. Cell death Cell death: critical control points. *Cell* 2004; 116: 205-219.
- 34-Mroz P, Yaroslavsky A, Kharkwal BG, Hamblin RM. cell death pathways in photodynamic therapy of cancer. *Cancers (Basel)* 2011;3:2516-39.
- 35-Buytaert E, Dewaele M., Agostinis P. Molecular effectors of multiple cell death pathways initiated by photodynamic therapy. *Biochim Biophys Acta* 2007;177:86-107
- 36-Nagata S, Obana A, Goth Y, Nakajima S. Necrotic and apoptotic cell death of human malignant melanoma cells following photodynamic therapy using an amphiphilic photosensitizer, ATX-S10 (Na). *Lasers Surg.Med* 2003, 33, 64-70.
- 37-Lavie G, Kaplinsky C, Toren A, Aizman I, Meruelo D, Mazur Y, Mandel M. A photodynamic pathway to apoptosis and necrosis induced by dimethyl tetrahydroxyhelianthron and hypericin in leukaemic cells: possible relevance to photodynamic therapy. *Br. J. Cancer* 1999; 79: 423-432.
- 38-Petiot A, Ogier-Denis E, Blommaert EF, Meijer AJ, Codogno P. Distinct classes of phosphatidylinositol 3'-kinases are involved in signaling pathways that control macroautophagy in HT-29 cells, *J. Biol. Chem* 2000; :275 992–998.
- 39-Buytaert E, Callewaert G, Vandenheede JR, Agostinis P. Deficiency in apoptotic effectors Bax and Bak reveals an autophagic cell death pathway initiated by photodamage to the endoplasmic reticulum. *Autophagy* 2006;2: 238–240.
- 40-Maiuri MC, Criollo A, Kroemer G. Crosstalk between apoptosis and autophagy within the Beclin 1 interactome. *EMBO J* 2010; 29: 515-516.
- 41-Kessel D, Vicente MG, Reiners JJ .Initiation of apoptosis and autophagy by photodynamic therapy. *Lasers Surg. Med* 2006; 38: 482-488.
- 42-Kessel D, Arroyo AS. Apoptotic and autophagic responses to Bcl-2 inhibition and photodamage. *Photochem. Photobiol. Sci* 2007; 6: 1290-1295.
- 43-Kessel D, Reiners JJ. Apoptosis and autophagy after mitochondrial or endoplasmic reticulum photodamage. *Photochem. Photobiol* 2007; 83: 1024-1028.

- 44-Buytaert E, Callewaert G, Hendrickx N, Scorrano L, Hartmann D, Missiaen L, Vandenheede JR, Heirman I, Grooten J, Agostinis P. Role of endoplasmic reticulum depletion and multidomain proapoptotic BAX and BAK proteins in shaping cell death after hypericin-mediated photodynamic therapy. *FASEB J* 2006; 20: 756-758.
- 45-Criollo A, Maiuri M.C, Tasdemir E, Vitale I, Fiebig AA, Andrews, D, Molgo J, Diaz J, Lavandro S, Harper F, Pierron G, di Stefano D, Rizzuto R, Szabadkai G, Kroemer G. Regulation of autophagy by the inositol trisphosphate receptor. *Cell Death Differ* 2007; 14:1029-1039.
- 46-Apel A, Herr I, Schwarz H, Rodemann HP, Mayer A. Blocked autophagy sensitizes resistant carcinoma cells to radiation therapy. *Cancer Res* 2008; 68: 1485-1494.
- 47-Dos Santos AF, de Almeida DRQ, Terra LF, Baptista MS, Labriola L. Photodynamic therapy in cancer treatment - an update review. *J Cancer Metastasis Treat* 2019;5:25.
- 48-Huang Z, Xu H, Meyers AD, Musani AI, Wang L, Tagg R, Barqawi AB and Chen YK. Photodynamic therapy for treatment of solid tumors-potential and technical challenges *Technol Cancer Res. Treat* 2008; 7: 309–320.
- 49-Chen B, Pogue BW, Hoopes PJ, Hasan T. Vascular and cellular targeting for photodynamic therapy. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr* 2006; 16: 279–305.
- 50-Kessel D. Apoptosis, Paraptosis and Autophagy: Death and Survival Pathways Associated with Photodynamic Therapy. *Photochem Photobiol* 2019; 95:119-125.
- 51-Reginato E, Wolf P, Hamblin MR. Immune response after photodynamic therapy increases anti-cancer and anti-bacterial effects. *World J Immunol.* 2014;4:1-11.
- 52-Wachowska M, Muchowicz A, Demkow U. Immunological aspects of antitumor photodynamic therapy outcome. *Cent Eur J Immunol* 2015; 40:481-485.
- 53-Mroz P, Yaroslavsky A, Kharkwal GB, Hamblin MR. Cell death pathways in photodynamic therapy of cancer. *Cancers (Basel)* 2011; 3:2516-2539.
- 54-Ferino A, Rapozzi V, Xodo LE. The ROS-KRAS-Nrf2 axis in the control of the redox homeostasis and the intersection with survival-apoptosis pathways: Implications for photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and photobiology. B, Biology* 2020; 202:111672.
- 55-Casas A, Di Venosa G, Hasan T, Batile AI. *Curr. Med. Chem* 2011; 18: 2486–2515.
- 56-Lamberti MJ, Pansa MF, Vera RE, Fernández-Zapico ME, Rumie Vittar NB and Rivarola VA. *PLoS One.* 2017; 12.
- 57-Yang X, Yu DD, Yan F. et al. The role of autophagy induced by tumor microenvironment in different cells and stages of cancer. *Cell Biosci* 2015; 5.
- 58-Chiu SM, Xue LY, Usuda J, Azizuddin K, Oleinick NL. Bax is essential for mitochondrion-mediated apoptosis but not for cell death caused by photodynamic therapy. *Br. J. Cancer* 2003; 89: 1590-1597.
- 59-Chiu S M, Xue L Y, Azizuddin K, Oleinick N L. Photodynamic therapy-induced death of HCT 116 cells: Apoptosis with or without Bax expression. *Apoptosis* 2005; 10: 1357-1368.
- 60-Buytaert E, Callewaert G, Vandenheede J R, Agostinis P. Deficiency in apoptotic effectors Bax and Bak reveals an autophagic cell death pathway initiated by photodamage to the endoplasmic reticulum. *Autophagy* 2006, 2, 238-240.
- 61-Varnes ME, Chiu S. M, Due L Y, Oleinick, N L. Photodynamic therapy-induced apoptosis in lymphoma cells: Translocation of cytochrome c causes inhibition of respiration as well as caspase activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999, 255, 673-679.