

اثر درمان فتودینامیکی داروی حساس به نور ۵-ALA بر توان زیستی سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما (C6)

چکیده

اهداف: گلیوبلاستوما، یکی از انواع تومورهای مغزی با بالاترین درجه بدخیمی و عود بالا است. روش‌های کنونی درمان شامل جراحی، پرتو درمانی و شیمی‌درمانی است که هر یک عوارض بسیاری را به دنبال دارند. فتودینامیک درمانی (PDT)، روش جدید القای مرگ سلولی میتنی بر واکنش متقابل سه عامل داروی حساس به نور، منبع نور و اکسیژن است که انتخابی و کم‌تهاجمی بوده و عوارض جانبی کمتری نسبت به روش‌های متداول دارد. در این روش، ترکیب داروی حساس به نور و پرتو لیزر از طریق برهم‌کنش‌های فوتوشیمیایی سبب تولید اکسیژن سمی (سیتوتوکسیک) فعال و رادیکال‌های آزاد شده که به‌طور انتخابی، مرگ سلولی را به همراه دارد. هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر PDT در زنده‌مانی رده سلولی گلیوبلاستوما (C6) با استفاده از ماده حساس به نور ۵-ALA در غلظت‌های مختلف است.

روش بررسی: ابتدا سلول‌های رده C6 در محیط کشت DMEM کشت داده شده است. سپس، تیمار سلول‌های سرطانی توسط لیزر دیود پیوسته کم توان در طول موج ۶۳۵ nm با توان ۲۰ mW، در دزهای نوری ۵۶/۴ J/cm^۲ و ۱۱۲/۸ J/cm^۲ و غلظت‌های مختلف دارو (۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ μg/ml) با روش تست MTT بررسی شده است.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهند که در روش PDT سلول‌های C6 با ماده حساس به نور ۵-ALA، کاهش چشمگیری در تعداد سلول‌های گروه درمان فتودینامیکی در مقایسه با گروه ۵-ALA بدون لیزر و لیزر بدون ۵-ALA دیده می‌شود. اعمال داروی ۵-ALA سبب افزایش تولید ماده حساس به نور اصلی PPIX و در نتیجه افزایش مرگ سلولی می‌شود.

نتیجه‌گیری: تیمار فتودینامیکی سلول‌های سرطانی C6 با داروی ۵-ALA در غلظت ۷۵ μg/ml و زمان انکوباسیون ۴ h به همراه تابش لیزر دایود در طول موج ۶۳۵ nm با دز نوری ۱۱۲/۸ J/cm^۲ بهینه است و بیشترین اثربخشی را در مرگ سلول‌های سرطانی به همراه دارد. در این حالت، توان زیستی سلول‌ها تا ۳۷٪ کاهش می‌یابد. نتایج حاصل، بیانگر حساسیت سلول‌های سرطانی بدخیم گلیوبلاستوما به این روش درمانی است.

واژه‌های کلیدی: فتودینامیک درمانی؛ داروی حساس به نور؛ اکسیژن فعال؛ گلیوبلاستوما.

مریم ایلچی قرآنی^{۱*}
شیما نظام‌الاسلامی^۲
بتول سجادی^۲
محسن منتظرالقائم^۱

۱. پژوهشکده فوتونیک و فناوری‌های کوانتومی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران
۲. گروه فیزیک اتمی مولکولی، دانشکده فیزیک، دانشگاه الزهراء، تهران

نویسنده مسئول: مریم ایلچی قرآنی

پست الکترونیکی:

maryam.ilchi2010@gmail.com

مقدمه

اصطلاح گلیوما، شامل تمام تومورهایی است که از سلول‌های گلیال در مغز و نخاع سرچشمه می‌گیرند. گلیوم‌ها براساس ویژگی‌های بافتی (آناپلازی، آتیپی، شاخص تکثیر و نتوواسکولاریزاسیون) به گلیومای درجه پایین^۱ (LGG) و گلیومای درجه بالا^۲ (HGG) درجه‌بندی می‌شوند. LGGها، سرعت رشد و تکثیر کمی دارند و شامل گلیومای درجه ۱ و نفوذی درجه ۲ هستند. گلیوماهای ارتشاحی آناپلاستیک^۳ درجه ۳ و ۴، HGG به حساب می‌آیند که بدخیم‌ترین آنها، آستروسیتومای گرید ۴ است و گلیوبلاستومای مولتی‌فرم^۴ (GBM) نامیده می‌شود (۱، ۲).

GBM، نتوپلاسم بدخیم سیستم عصبی مرکزی، شایع‌ترین و بدخیم‌ترین شکل تومور مغزی اولیه و یکی از مرگ‌بارترین سرطان‌های انسان با پیش‌آگهی بسیار ضعیف است (۳). روش متداول درمان^۵، برداشت حداکثری تومور به کمک جراحی کرانیوتومی و به دنبال آن، رادیوتراپی و شیمی‌درمانی با تموزولوماید^۶ (TMZ) است. با وجود بهبود بقای کلی بیمار در این روش، به دلیل ماهیت تهاجمی و نفوذی GBM، همچنان عود تومور در ناحیه اطراف حفره برداشت اجتناب‌ناپذیر است (۴). از این رو، به منظور تخریب سلول‌های باقیمانده و مبارزه با نفوذ بیشتر به پارانشیم طبیعی مغز، به درمان‌های تکمیلی نیاز است. بنابراین در حال حاضر، درمان‌های غیرتهاجمی و یا کم‌تهاجمی به طور فزاینده‌ای در حال گسترش هستند که منجر به ظهور رویکردهای درمانی با مواد حساس به نور^۷ (PS) مختلف شده است.

فوتودینامیک درمانی^۸ (PDT)، یک روش نورشیمیایی است که از آن برای درمان انواع مختلف بیماری‌ها از جمله سرطان استفاده

می‌شود و نسبت به روش‌های مرسوم درمان از عوارض کمتری برخوردار است. مؤلفه‌های اساسی PDT، نور با طول موج مشخص، داروی حساس به نور و اکسیژن است. اکسیژن به تنهایی سمی نیست اما، واکنش‌های شیمیایی نور با ماده PS سبب تولید گونه‌های اکسیژن منفرد یا گونه‌های فعال اکسیژن^۹ (ROS) با اثر سمیت سلولی می‌شود که نتیجه آن تخریب بافت سرطانی از طریق القای نکروز و آپوپتوز است.

با توجه به ویژگی‌های فیزیکی - شیمیایی و سازوکار جذب، حساس‌گرهای نوری می‌توانند با غلظت‌های مختلف در بخش‌های مختلف سلول تجمع یابند. به‌طورکلی، غلظت حساس‌کننده‌های نوری مختلف در گلیوما بین ۴ تا ۳۰۰ برابر بیشتر از بافت طبیعی (نرمال) مغز گزارش شده است (۵).

تابش فوتون به مولکول‌های مواد PS سبب برانگیختگی آنها از حالت پایه به حالت یگانه برانگیخته و انتقال آن به حالت سه‌گانه برانگیخته از طریق گذار بین سیستمی است (شکل ۱). فروافت به تراز پایه در حالت یگانه از طریق تبدیل داخلی^{۱۰} و متعاقب آن تبدیل انرژی به گرما یا گسیل فلورسانس است. برگشت ماده PS از حالت‌های سه‌گانه برانگیخته به حالت پایه، با ایجاد ROS و رادیکال‌های هیدروکسیل آزاد (واکنش نوع I) و یا تولید اکسیژن منفرد (O_2^{\cdot}) (واکنش نوع II) دنباله‌ای از واکنش‌های فوتوشیمیایی را به همراه دارد (۶).

در واکنش نوع اول، مولکول‌های تحریک‌شده ماده PS می‌توانند در تماس مستقیم با بیو مواد اکسید شونده و احیاشونده واکنش دهند، اما واکنش نوع دوم شامل برهم‌کنش مستقیم ماده PS تحریک‌شده با مولکول اکسیژن موجود در بافت و تبدیل آن به اکسیژن منفرد است. اکسیژن یگانه بسیار واکنش‌پذیر است و می‌تواند با ساختارهای بیولوژیکی مهم اکسیداتیو انجام داده و باعث مرگ سلولی بر اثر آپوپتوز، نکروز و پاسخ‌های ایمنی شود. در اکثر مواد PS واکنش نوع دوم، فرآیند غالب به شمار می‌رود به طوری که از فرآیندهای نوع اول

1 Low-grade gliomas

2 high-grade gliomas

3 anaplastic infiltrative gliomas

4 glioblastoma multiforme

5 current standard-of-care

6 temozolomide

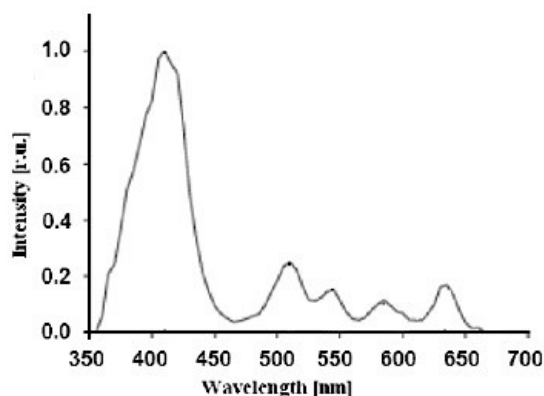
7 photosensitizer

8 photodynamic therapy

9 reactive oxygen species

10 internal conversion

۳۷۵ تا ۴۴۰ nm رخ می‌دهد که متعاقب آن گسیل فلورسانس قرمز در ۶۳۱ nm است (۱۱). شکل ۲، قله‌های جذب PpIX در طول موج‌های مختلف را نشان می‌دهد. انتخاب طول موج بلندتر نور قرمز (۶۳۵ nm)، ۳ تا ۴ برابر بیشتر در بافت مغز نفوذ می‌کند، اما به وضوح بازده تحریک در طول موج آبی ۴۰۵ nm کاهش می‌یابد (۱۲). با مصالحه بین جذب و نفوذ نور در بافت، طول موج ۶۳۵ nm به عنوان طول موج درمان استفاده می‌شود.



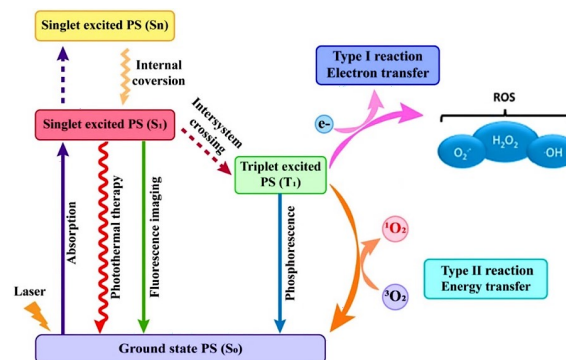
شکل ۲. طیف جذب داروی ۵-ALA.

مواد و روش‌ها

کشت سلولی

ابتدا، سلول‌های گلیوبلاستوما رده C6 (موش‌های صحرایی بالغ، رت ویستار^۴) (۱۳) در فلاسک با محیط کشت کامل (high glucose DMEM) محتوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی^۵ (FBS) و ۲٪ آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین - استرپتومایسین^۶ (Gibco) کشت داده شدند (شکل ۳) و پس از پاساژدهی، در یک پلیت ۹۶ چاهکی به مدت ۲۴ انکوبه شدند. ۳۰۰۰ سلول در هر چاهک پلیت در نظر گرفته شد. پس از اینکه تعداد سلول مورد نظر در چاهک‌ها ریخته شد، حجم نهایی با استفاده از محیط کشت بدون سرم، متناسب با پلیت مورد استفاده پر شده است. به‌منظور انکوبه سلول‌ها و چسبیدن آنها

صرف‌نظر می‌شود، ولی با توجه به نوع ماده PS، ممکن است درصد مشارکت فرآیندهای نوع اول در تخریب قابل ملاحظه باشد.



شکل ۱: سازوکارهای اصلی PDT با نمودار انرژی ساده‌شده پاسخ فوتودینامیکی وابسته به اکسیژن (۳).

آمینولولینیک اسید-۵ (۵-ALA)، یک داروی پرکاربرد در PDT است که در زمینه تشخیص و درمان، پژوهش‌های گسترده‌ای بر روی آن در حال انجام است. در واقع، ALA به عنوان یک پیش‌دارو، یک حساس‌کننده نوری نیست، ولی بعد از تجویز در بدن در مسیر بیوسنتزی هم تبدیل به ماده حساس به نور PpIX می‌شود. PpIX به‌طور انتخابی در سلول‌های بافت تومور تجمع می‌یابد و میل ترکیبی بالایی در تومورهای مغزی HGG دارد.

تأییدیه اخیر سازمان غذا و داروی ایالات متحده^۲ (FDA) از ۵-ALA برای برداشت GBM با هدایت فلورسانس تومورها، تمایل برای استفاده از ۵-ALA در PDT را افزایش داد (۷-۹). انتظار می‌رود ALA-PDT، پیشرفتی برای درمان گلیوم بدخیم به‌عنوان یک درمان کم‌تهاجمی انتخابی سلول تومور برای ناحیه عملکردی نفوذ یافته^۳ در مغز باشد (۱۰).

موج تابش چشمه نور برای PDT باید با قله‌های جذب ماده PS همخوانی داشته باشد. حداکثر جذب PpIX در ناحیه طول‌موجی nm

⁴ Wistar-Furth

⁵ Fetal Bovine Serum

⁶ Pen-strep

¹ 5-Aminolevulinic acid

² Food and Drug Administration

³ infiltrated functional brain area

پس از آماده‌شدن سلول‌ها، ابتدا ۵۰ mg پودر ۵-ALA در ۱ ml محیط کشت حل شده است. با توجه به اینکه گروه‌های مورد آزمایش در پلیت شامل ۶۰ چاهک است و حجم هر کدام نیز ۱۰۰ μl است، حجم نهایی ۶۰۰۰ μl برای غلظت ۱۲۵ μg/ml در نظر گرفته شده است. مقدار دارو و حجم محیط کشت مورد نیاز برای تهیه محلول با غلظت ۱۲۵ μg/ml از رابطه زیر به دست می‌آید:

$$n_1 v_1 = n_2 v_2 \quad (1)$$

که n_1 چگالی کل داروی مصرفی برابر ۵۰ mg/ml، n_2 چگالی در غلظت ۱۲۵ μg و v_2 حجم نهایی برابر ۶۰۰۰ μl است. به این ترتیب، حجم مقدار داروی مورد نیاز (v_1) برای این غلظت، ۱۵ و حجم محیط کشت برابر ۵۹۸۵ μl به دست می‌آید.

بررسی اثر پرتودهی لیزر بر داروی حساس به نور ۵-ALA

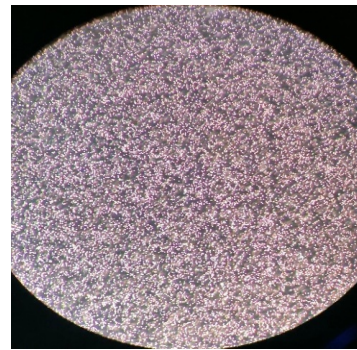
سلول‌های کشت داده شده در پلیت‌های تاریک و روشن، توسط دارو در غلظت‌های مختلف ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ μg/ml نشاندار شدند و گروه‌های پلیت روشن، تحت تابش لیزر دایود در طول موج ۶۳۵ nm با توان ۲۰ mW (چگالی توان یا دز نوری mW/cm^2 ۲۳۵) قرار گرفتند. ویژگی‌های پرتودهی لیزر در جدول ۱ خلاصه شده است.

جدول ۱. مشخصه‌های پرتودهی لیزر.

طول موج (nm)	توان خروجی (mW)	سطح مقطع پلیت (cm^2)	شدت یا چگالی توان (mW/cm^2)	زمان پرتودهی (s)	شاریدگی یا چگالی انرژی (J/cm^2)
۶۳۵	۲۰	۰٫۰۸۵	۲۳۵	۲۴۰	۵۶٫۴
				۴۸۰	۱۱۲٫۸

در این آزمایش، برای دو زمان پرتودهی ۴ min و ۸ min، به ترتیب، شاریدگی‌های ۵۶٫۴ و ۱۱۲٫۸ J/cm^2 به دست آمده است که با توجه به چگالی توان‌های مربوط به برهم‌کنش‌های مختلف لیزر بافت، در محدوده برهم‌کنش‌های فوتوشیمیایی است.

به کف چاهک، پلیت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای C ۳۷ حاوی ۵٪ گاز CO_2 در رطوبت ۸۰٪ نگهداری شده است.

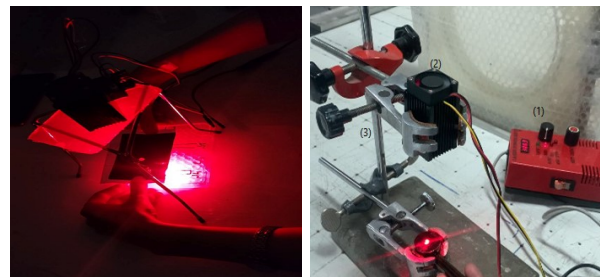


شکل ۳. تصویری از سلول‌های C6 کشت داده شده در فلاسک ۲۵T در زیر میکروسکوپ اینورت.

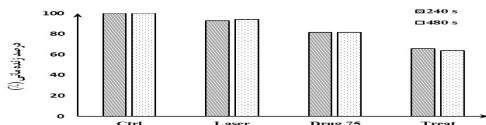
چهار گروه تیمار شامل؛ کنترل، دارو، لیزر و درمان (ترکیب دارو + لیزر) در ۵ غلظت با ۳ تکرار انتخاب شده‌اند. سلول‌ها در دو پلیت تاریک و روشن آماده شدند و از صفحه خاموشی به منظور عدم تابش دهی چاهک‌های تاریک در پلیت استفاده شده است.

چیدمان آزمایشگاهی

برای پرتودهی نمونه‌ها، از چیدمان آزمایشگاهی شامل یک لیزر دایود با طول موج ۶۳۵ nm در مد موج پیوسته (CW)، توان‌سنج، و پایه نگهدارنده استفاده شده است. نور از بالا به پلیت تابیده می‌شود و فاصله لیزر نسبت به هر چاهک، به گونه‌ای تنظیم می‌شود که سطح مقطع دهانه پلیت با تابش باریکه لیزر به طور کامل پرتودهی شود (شکل ۴).

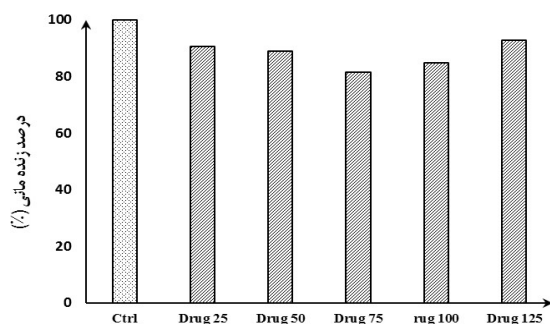


شکل ۴. (الف) چیدمان برپاشده در آزمایشگاه شامل؛ (۱) توان‌سنج، (۲) لیزر موج پیوسته، (۳) پایه نگهداری لیزر، (ب) پلیت روشن در حال پرتودهی.



نمودار ۱. مقایسه چهار گروه تیمار بندی در غلظت $75 \mu\text{g/ml}$ و زمان‌های پرتو دهی ۲۴۰ و ۴۸۰ s.

نتایج زنده‌مانی سلول‌های C6 با تزریق داروی 5-ALA در غلظت‌های مختلف و بدون تابش لیزر، در نمودار ۲ رسم شده است. میزان بقای سلولی در گروه فقط دارو نسبت به گروه کنترل که ۱۰۰٪ زنده‌مانی داشته است، در دزهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و $125 \mu\text{g/ml}$ دارو کاهش کمی داشته است. با افزایش غلظت، زنده‌مانی ابتدا کاهش می‌یابد ولی در دز $75 \mu\text{g/ml}$ به کمترین مقدار حدود ۱۹٪ رسیده است و پس از آن دوباره افزایش یافته است. در واقع، برای غلظت دارو در این حالت، مقدار بهینه $75 \mu\text{g/ml}$ به دست آمده است.



نمودار ۲. مقایسه گروه کنترل و داروی 5-ALA در غلظت‌های مختلف بدون تابش لیزر.

نتایج آزمایش MTT و زنده‌مانی مربوط به اثر پرتو دهی با لیزر بر روی سلول‌های C6 و داروی حساس به نور 5-ALA نسبت به گروه کنترل در جدول ۲ و نمودار ۳ آمده است.

آزمون زنده‌مانی MTT

در این پژوهش، از روش تست MTT که بر پایه تولید ماده رنگی توسط سلول‌های زنده است، برای بررسی توان زیستی و سنجش زنده‌مانی سلول‌های سلول C6 تیمار شده با غلظت‌های مختلف 5-ALA بعد از تابش دزهای مختلف لیزر استفاده شده است. نمک زرد رنگ MTT توسط آنزیم دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های فعال به ترکیب غیر محلول و ارغوانی فورمازان تبدیل می‌شود. جذب نوری این ترکیب پس از حل شدن در DMSO به کمک دستگاه خوانشگر الیزا در طول موج 570 nm قابل اندازه‌گیری است. به این ترتیب، درصد بقای سلولی توسط رابطه چگالی نوری (OD) به صورت زیر محاسبه می‌شود:

$$\% OD = \frac{\text{میانگین میزان نور جذب شده توسط سلول‌های زنده}}{\text{میانگین میزان نور جذب شده توسط سلول‌های گروه کنترل}} \times 100 \quad (2)$$

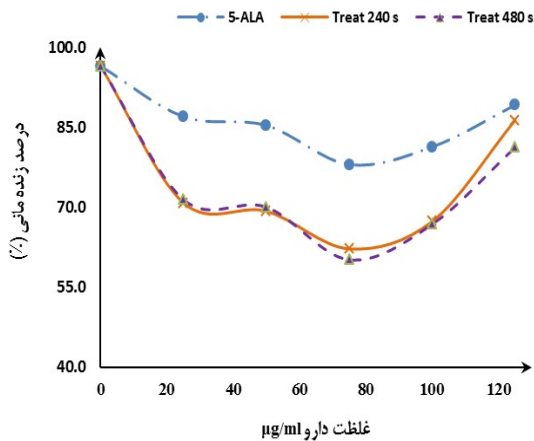
در این مطالعه، آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شدند. مقایسه گروه‌های مختلف درمانی با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و با سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد. آنالیز آماری توسط نرم‌افزار SPSS و رسم داده‌ها با نرم‌افزار EXCEL انجام شد. در تمام بررسی‌ها، سطح معناداری آزمون‌ها $p < 0.05$ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

اثر PDT در غلظت‌های مختلف داروی PS بر رده سلولی گلیوبلاستوما C6 به کمک روش MTT مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است. اثر هر غلظت دارو بر روی رده سلولی ۳ بار تکرار شد و داده‌های به دست آمده، میانگین درصد پاسخ‌ها در مهار رشد سلولی است.

در مرحله اول، به منظور بررسی اثر PDT در میزان مرگ و میر سلولی و تخمین درصد زنده‌مانی، نتایج ۴ گروه تیمار بندی (کنترل، دارو، لیزر و درمان) در غلظت $100 \mu\text{g/ml}$ و زمان‌های پرتو دهی ۴ و ۸ min در نمودار ۱ آمده است. همانطور که انتظار می‌رفت، گروه PDT (دارو + لیزر) بیشترین مرگ سلولی را به همراه دارد.

PS است. به عبارت دیگر، غلظت PS یک عامل مهم در تعیین اثربخشی و نتیجه درمان PDT است.



شکل ۵. درصد زنده‌مانی گروه دارو و درمان در غلظت‌های مختلف دارو برای دو زمان پرتودهی مختلف.

اگر غلظت ماده PS خیلی کم باشد، ممکن است مولکول‌های کافی برای جذب و انتقال موثر انرژی نور وجود نداشته باشد، که به تولید ناکافی ROS و کاهش اثربخشی درمان منجر می‌شود. برعکس، اگر غلظت ماده PS خیلی زیاد باشد، می‌تواند سبب تولید بیش از حد ROS شود و به‌طور بالقوه به بافت‌های سالم اطراف ناحیه مورد نظر آسیب برساند. بنابراین، در PDT غلظت دارو باید بهینه باشد تا درمان موجب مرگ سلول‌های سالم نشود.

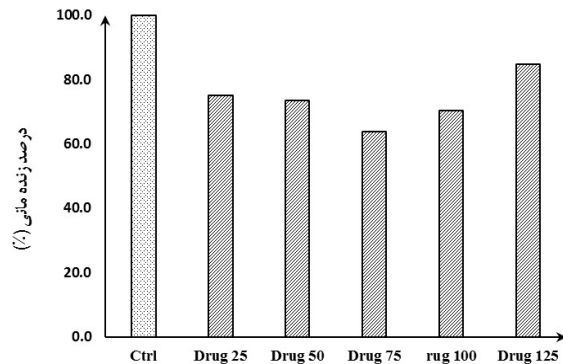
علاوه‌براین، اکسیژن منفرد یک‌گونه بسیار واکنش‌پذیر و سمی است که در طی PDT تولید می‌شود. با این حال، در غلظت‌های بالای حساس‌کننده به نور، اکسیژن منفرد می‌تواند توسط خود مولکول‌های ماده PS اضافی غیرفعال شود. این پدیده زمانی اتفاق می‌افتد که اکسیژن منفرد قبل از اینکه به سلول‌های هدف آسیب برساند، با مولکول ماده PS دیگری روبرو می‌شود. در نتیجه، برای ایجاد تعادل بین تولید اکسیژن منفرد کافی و اجتناب از خاموش شدن بیش از حد، به غلظت بهینه از ماده PS نیاز است.

جدول ۲. مقایسه درصد زنده‌مانی گروه‌های دارو+ لیزر در دو

زمان پرتودهی

درصد زنده‌مانی سلول‌ها + دارو پس از پرتودهی لیزر		غلظت دارو (µg/ml)
۴۸۰ ثانیه	۲۴۰ ثانیه	
۷۵٫۰	۷۴٫۴	۲۵
۷۳٫۶	۷۲٫۹	۵۰
۶۳٫۷	۶۵٫۸	۷۵
۷۰٫۳۹	۷۱٫۰	۱۰۰
۸۴٫۸	۸۹٫۹	۱۲۵

طبق نمودار ۳، نتایج آزمایش MTT مربوط به اثر لیزر و داروی حساس به نور ۵-ALA بر روی سلول‌های C6 در کاهش زنده‌مانی مؤثرتر بوده است. همچنین، غلظت بهینه ۷۵ µg/ml در گروه درمان نیز تأیید شده است. در این غلظت، پرتودهی در زمان ۴۸۰ ثانیه منجر به کاهش ۳۶ درصدی توان زیستی سلول‌ها شده است.



نمودار ۳. مقایسه گروه کنترل با درمان در غلظت‌های مختلف با زمان پرتودهی ۸ min.

شکل ۵، تغییرات توان زیستی سلول‌ها را برحسب غلظت PS در گروه‌های دارو و درمان (با ۲ زمان پرتودهی) نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، غلظت بهینه در تمامی گروه‌ها µg/ml ۷۵ بوده است که نشان‌دهنده افزایش سنتز PPIX است. همچنین، در گروه درمان با دو برابر شدن زمان پرتودهی و شاریدگی، مشاهده می‌شود که غلظت بهینه در ۷۵ µg/ml بیشترین درصد کشندگی را داشته است. در نتیجه، نرخ زنده‌مانی سلول‌ها تحت تأثیر غلظت ماده

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه، ALA-PDT به‌عنوان یکی از مدالیته‌های درمان کم‌تهاجمی سرطان به‌شمار می‌رود که میزان اثربخشی آن به میزان دز نوری و نوع و غلظت ماده حساس به نور وابسته است. دز نوری توسط پارامترهای لیزر مانند انرژی، توان و زمان پرتودهی تعیین می‌شود.

در این مطالعه، اثر زمان پرتودهی چشمه نوری لیزر و غلظت ماده آلاینده ۵-ALA در نرخ زنده‌مانی سلول‌های سرطانی گلیوبلاستومای C۶ بررسی شده است. رده سلولی C۶ به‌این دلیل انتخاب شده است که گلیوبلاستومای انسانی را به خوبی شبیه‌سازی می‌کند. نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهند که ترکیب داروی ۵-ALA با لیزر در حضور اکسیژن سلولی، افزایش قابل توجهی در مرگ سلولی‌های سرطانی C۶ دارد. همچنین، سمیت سلولی ALA-PDT با افزایش غلظت PS و همچنین افزایش زمان پرتودهی، افزایش می‌یابد و تفاوت معناداری ($p < 0.05$) بین گروه کنترل و گروه‌های تیمار شده با ALA-PDT وجود دارد. بنابراین، نرخ واکنش فوتودینامیک تحت تاثیر غلظت داروی PS است. توجه به این نکته حائز اهمیت است که غلظت بهینه PDT به بافت هدف و پروتکل درمانی وابسته است.

نتایج حاصل از این پژوهش با داده‌های سایر گزارش‌ها مطابقت دارد که از آن جمله می‌توان به مقاله‌های Pitir Zelenkov در سال ۲۰۰۷ (14) و Xiaoming Zhang در ۲۰۱۴ (۱۵) اشاره کرد. در مقاله اول، از یک سیستم کشت سلولی سه بعدی، مدل کروی گلیوما C۶، برای مطالعه آثار PDT با واسطه ALA استفاده شده است که رشد کروی گلیومای C۶، منجر به نکروز سلولی سریع و قابل توجهی می‌شود.

از سوی دیگر، Zhang و همکارانش از ترکیب PDT با داروی شیمی‌درمانی TMZ در مدل حیوانی با استفاده از رده سلولی گلیومای C۶ استفاده کردند و نشان دادند که اثر هم‌افزایی این ترکیب، به‌طور قابل توجهی غلظت TMZ را در بافت‌های گلیوما و نرخ آپوپتوز را افزایش می‌دهد.

نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که تعیین غلظت بهینه اغلب شامل مطالعه‌های پیش‌بالینی و بالینی گسترده برای دستیابی به نتیجه درمانی مطلوب و درعین حال، به حداقل رساندن عوارض جانبی است.

References:

1. Vasilev A, Sofi R, Rahman R, Smith SJ, Teschemacher AG, Kasparov S. Using light for therapy of glioblastoma multiforme (GBM). *Brain Sciences*. 2020.
2. Perry A, Wesseling P. Histologic classification of gliomas. In: *Handbook of Clinical Neurology*. 2016.
3. Cramer SW, Chen CC. Photodynamic Therapy for the Treatment of Glioblastoma. Vol. 6, *Frontiers in Surgery*. 2020.
4. Kaneko S, Fujimoto S, Yamaguchi H, Yamauchi T, Yoshimoto T, Tokuda K. Photodynamic Therapy of Malignant Gliomas. *Prog Neurol Surg*. 2018;
5. Eljamel S. Photodynamic applications in brain tumors: A comprehensive review of the literature. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2010.
6. Trifonov I, Krylov V, Kozlikina E, Loschenov V. Photodynamic therapy for malignant brain tumors. *Brain and Spine*. 2022;
7. Stylli SS, Kaye AH, MacGregor L, Howes M, Rajendra P. Photodynamic therapy of high grade glioma - Long term survival. *J Clin Neurosci*. 2005;
8. Dubey SK, Pradyuth SK, Saha RN, Singhvi G, Alexander A, Agrawal M, et al. Application of photodynamic therapy drugs for management of glioma. In: *Porphyryn Science By Women (In 3 Volumes)*. 2020.
9. Ibarra LE, Vilchez ML, Caverzán MD, Milla Sanabria LN. Understanding the glioblastoma tumor biology to optimize photodynamic therapy: From molecular to cellular events. *Journal of Neuroscience Research*. 2021.
10. Akimoto J. Photodynamic therapy for malignant brain tumors. *Neurologia Medico-Chirurgica*. 2016.
11. Stummer W, Tonn JC, Goetz C, Ullrich W, Stepp H, Bink A, et al. 5-Aminolevulinic acid-derived tumor fluorescence: The diagnostic accuracy of visible fluorescence qualities as corroborated by spectrometry and histology and postoperative imaging. *Neurosurgery*. 2014;
12. Shimizu K, Nitta M, Komori T, Maruyama T, Yasuda T, Fujii Y, et al. Intraoperative photodynamic diagnosis using talaporfin sodium simultaneously applied for photodynamic therapy against malignant glioma: A prospective clinical study. *Front Neurol*. 2018;
13. Giakoumettis D, Kritis A, Foroglou N. C6 cell line: The gold standard in glioma research. *Hippokratia*. 2018.
14. Zelenkov P, Baumgartner R, Bise K, Heide M, Meier R, Stocker S, et al. Acute morphological sequelae of photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid in the C6 spheroid model. *J Neurooncol*. 2007 Mar;82(1):49-60.
15. Zhang X, Guo M, Shen L, Hu S. Combination of photodynamic therapy and temozolomide on glioma in a rat C6 glioma model. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2014 Dec 1;11(4):603-12.