لیزر در پزشکی ۱۴۰۱/ دوره ۱۹ / شماره (۴) / صفحات ۳۴-۲۴

مقاله پژوهشی

مسیرهای سلولی درمان سرطان به روش فوتودینامیک‌تراپی

حسین امیری[۱]
منیژه مختاری دیزجی[۲*]
حسین مزدارانی[۳]

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

نویسندهٔ مسئول: منیژه مختاری دیزجی

پست الکترونیکی:

mokhtarm@modares.ac.ir

خلاصه

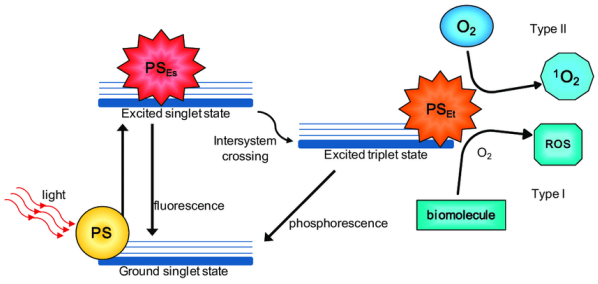
فوتودینامیک‌تراپی (PDT) یک روش نوظهور برای درمان سرطان است. سه مولفه اصلی این روش، ماده حساس به نور، نور و اکسیژن می‌باشد. واکنش‌های فوتوشیمیایی نور با ماده حساس به نور، باعث تولید گونه‌های اکسیژن‌های فعال می‌شود، که نتیجه آن مرگ سلول‌های تومورال است. ماده حساس به نور می‌تواند در اندامک‌های مختلف مانند میتوکندری، لیزوزوم، شبکه آندوپلاسمی، دستگاه گلژی و غشاهای پلاسما قرار گیرد. جایگزیدگی ماده حساس به نور در مکان‌های زیرسلولی، تعیین‌کننده سیگنالینگ‌های بعد از PDT است. بر اثر استرس فوتودینامیکی آبشارهای سیگنالینگ متعددی به‌طور همزمان در سلول‌های سرطانی، بسته به محل تخریب زیر سلولی توسط اکسیژن یگانه واکنشی فعال می‌شوند. این سیگنال‌ها به واکنش‌های انطباقی یا مرگ سلولی تبدیل می‌شوند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که PDT می‌تواند به‌طور مستقیم سلول‌های سرطانی را با القاء موثر مسیرهای مرگ سلولی به روش‌های آپوپتوتیک و غیر آپوپتوتیک (اتوفاژی و نکروز) از بین ببرد. شناسایی تأثیرات مولکولی تنظیم‌کننده مرگ سلولی پس از PDT یکی از موضوعات مورد علاقه تحقیقات در حوزه درمان سرطان است. این مقاله مروری علاوه‌بر بیان پیچیدگی مکانیسم‌های مولکولی دخیل در پاسخ تومور به فوتودینامیک‌تراپی، جنبه‌های مختلف اکسیژن واکنشی (ROS) ناشی از PDT را نیز بررسی می‌کند. به‌طور خاص، در مورد تأثیر ROS بر روی اجزای سلول و مکانیسم‌های اصلی مرگ سلول ناشی از PDT بحث خواهد شد.

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

مقـدمه

فوتودینامیک‌تراپی، 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 می‌توانند 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. درنتیجه انتقال انرژی از ماده حساس به نور در حالت سه‌گانه برانگیخته به اکسیژن سه گانه پایه، اکسیژن یگانه تولید می‌گردد که یک گونه بسیار واکنش‌پذیر است[۳]. این اکسیژن یگانه می‌تواند با اجزای سلول وارد واکنش‌شده و موجب ازبین‌رفتن سلول شود. این فرایند در اکثر مواد حساس به نور شناخته‌شده، فرآیند غالب به‌شمار می‌رود به‌طوری 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 [٤] (شکل۱).



شکل۱: واکنش نوع I و واکنش نوع II فوتودینامیک‌تراپی[٤]

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 ازطریق تخریب به‌وسیله ROS است و شواهد مربوط به دو فرآیند آپوپتوز و نکروز در بیوپسی‌های تومور پس از اعمال PDT موجود می‌باشد [۱۰-۹].

اثر سمیت سلولی PDT درنتیجه 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 منجربه مرگ سلولی پس از PDT شود، وجود ندارد [۱۱-۱۲]. در این مقاله مروری، پیچیدگی مکانیسم‌های مولکولی دخیل در پاسخ تومور به فوتودینامیک‌تراپی (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 اندامک‌های مختلف مانند میتوکندری، لیزوزوم، شبکه آندوپلاسمی، دستگاه گلژی و غشاهای پلاسما قرار گیرد. جایگزیدگی ماده حساس به نور در مکان‌های زیرسلولی تعیین‌کننده سیگنالینگ‌های بعد از PDT است. بر اثر استرس فوتودینامیکی آبشارهای 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 پلاسماء 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 به‌طورکلی توانایی بسیار کمتری در ایجاد آسیب به DNA، جهش‌ها و سرطان‌زایی در مقایسه با اشعه X دارد [۸]. به‌طورکلی 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

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 علاوه‌بر مکان اولیه، تخریب نوری می‌تواند به سرعت در سایر مکان‌های زیرسلولی گسترش یابد. ماهیت مولکولی اهداف اکسیدشده با نور، تأثیر زیادی بر مسیرهای سیگنالینگ و نحوه مرگ سلولی که پس از PDT آغاز می‌شود، دارد [۱٤-۱٦].

حداقل ٤ پارامتر در جایگزیدگی 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 فعال‌سازی آنها و د) ویژگی‌های بیوشیمیایی و مورفولوژیکی تومور

در مورد خواص شیمیایی، بار، چربی دوست بودن و ساختار سه‌بعدی ماده حساس به نور، عوامل مهمی می‌باشند. به‌طورکلی، مواد حساس به نور آبگریز 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 آبگریز با بار بزرگتر از ۲- توسط اندوسیتوز جذب شده و عمدتاً در لیزوزوم‌ها 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 غیرکاتیونی نشان می‌دهند، زیرا توسط بارهای منفی فسفولیپیدهای غشاء پلاسماء و میتوکندری به‌طور الکترواستاتیکی جذب می‌شوند. علاوه‌بر بار خالص، موقعیت بار و زنجیره‌های آلکیل جانبی در مولکول مواد حساس به نور نیز بر جذب آنها تأثیر می‌گذارد [۱۸-۲۰].

همچنین نسبت آبگریز به آبدوست‌بودن 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. علاوه‌براین، 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. درواقع، هر هدف خاص زیر سلول می‌تواند مسیرهای 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].

به‌طورکلی، ترکیبات حساس به نور جایگزیده در میتوکندری یا ER با آستانه معینی از استرس اکسیداتیو باعث آپوپتوز می‌شوند، درحالی‌که 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].

جدول۱: محل تجمع موضعی و اهداف مولکولی مواد حساس به نور [۲۲]

ماده حساس به نور	نام تجاری	محل تجمع	هدف مولکولی
Aluminium phthalocyanine	Alpc	میتوکندری	Bcl-2
Silicon phthalocyanine	Pc4	شبکه آندوپلاسمی، میتوکندری	Bcl-2، Bcl-XL و کاردیولیپین
Zinc(II)phthalocyanine	ZnPc	دستگاه گلژی، غشاء پلاسما	تعیین نشده
Monocationic porphyrin	MCP	غشاء پلاسما، سیتوزول	کاسپاز۳، کاسپاز۹
٥ آمینولیوولینیک اسید	ALA	میتوکندری، سیتوزول، غشاء سیتوزولیک	PBR، P53 و کاردیولیپین
13,17-bis (1-carboxypropionyl) carbamoylethyl-8-etheny-2-hydroxy-3-hydroxyiminoethylidene-2,7,12,18-tetraethyl porphyrin sodium	ATX-s10	میتوکندری، لیزوزوم	Bcl-2
Porifimer sodium	Photofrin®	دستگاه گلژی، غشاء پلاسما	تعیین نشده
بنزوپورفیرین	BPD	شبکه آندوپلاسمی، میتوکندری	ANT و SERCA
Meta-tetrahydroxyphenylchlorin	m-THPC	شبکه آندوپلاسمی، میتوکندری	Bcl-2

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. علاوه‌براین PDT همچنین می‌تواند یک حالت اتوفاژیک 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.

علاوه‌براین، شواهد اخیر نشان می‌دهد که اتوفاژی ممکن است توسط PDTدر تلاش برای ترمیم و زنده ماندن از تخریب نوری به اندامک‌های کلیدی القاء شود و در صورت عدم‌موفقیت، 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 اندوتلیال همراه است همچنین مطالعه‌ای در مورد توصیف پاسخ پاراپوتیک 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، بااین‌حال 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 پاراآپتوزیس ناشی از PDT [۲۷]

مشخصه مورفولوژیکی مرگ	آپوپتوز	نکروز	پاراآپتوز
واکولیزاسیون سیتوپلاسمي	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 کاردیولیپین 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 ذخیره‌شده به سیتوزول و متعاقب آن میتوکندری است. مواد حساس به نور جایگزیده در لیزوزوم‌ها باعث تخریب نوری غشای لیزوزومی و باعث آزاد شدن کاتپسین‌ها 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 می‌توانند در اثر آزادشدن لیگاندهای گیرنده های 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 میتوکندري جایگزیده می‌شوند در مقایسه با آنهایی که در لیزوزوم یا غشاي پلاسمایی جایگزیده می‌گردند، القاکننده‌هاي آپوپتوز سریع‌تري هستند. به‌طورکلی مواد حساس به نور جایگزیده در میتوکندري باعث می‌شوند سیتوکرم c از میتوکندري آزاد گردد که یک سیگنال حیاتی براي القاي آپوپتوز است. علاوه‌براین، ازبین‌رفتن سریع غشای میتوکندري در حین PDT نیز مشاهده شده است. در فوتودینامیکی‌تراپی تخریب پروتئین Bcl-2 می‌تواند سیگنال مجازی برای نفوذپذیرشدن غشای خارجی میتوکندری ایجاد کند و متعاقب آن موجب آزاد شدن فعال‌کننده‌های کاسپاز، مانند سیتوکروم c و smac/DIABLO یا مولکول‌های پرواپوپتوتیکی (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 توصیف‌شده است که بخش‌های زیادی از جمعیت سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد، با تورم سیتوپلاسمی، تخریب اندامک‌ها و اختلال در غشاء پلاسما مشخص می‌شود و منجربه آزادشدن محتوای داخل سلول و التهاب آن می‌شود. نکروز به عنوان مرگ تصادفی سلول ناشی از آسیب فیزیکی یا شیمیایی شناخته شده است و به‌طور کلی یک فرآیند بدون برنامه درنظر گرفته می‌شود. مشخصه آن یک هسته پیکنوتیک، تورم سیتوپلاسمی و تجزیه تدریجی غشاهای سیتوپلاسمی است که همگی منجربه تکه‌تکه‌شدن سلول و آزادشدن مواد در محفظه خارج سلول می‌شود. در نکروز، تجزیه عمدتاً ناشی از فعالیت پروتئولیتیک است، اما هویت دقیق پروتئازها و سوبسترای آنها به خوبی تعیین نشده‌اند [۳۳-۳٤].

مطالعه عوامل و پارامترهای ایجادکننده نکروز سلولی پس از PDT به آسانی مطالعه عواملی که منجربه 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 هردو آنها) احتمال مرگ سلول در اثر نکروز را افزایش می‌دهد، درحالی‌که PDT در دوزهای پایین‌تر مستعد آپوپتوزیس 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 به‌نظر می‌رسند. یک ویژگی مشترک برنامه آپوپتوزیس آغازشونده توسط PDT، آزادسازی سریع سیتوکروم c میتوکندری در سیتوزول و به‌دنبال آن فعال شدن آپوپتوزوم و پروکاسپاز ۳ است. تمایل مرگ سلولی در فوتودینامیک‌تراپی با مواد حساس به نور جایگزیده در غشاء پلاسما به سمت مرگ سلول نکروتیک است که احتمالاً به‌دلیل ازبین‌رفتن یکپارچگی غشاء پلاسما و تخلیه سریع ATP داخل سلولی می‌باشد [۳٦]. همچنین ممکن است دوزهای بالای PDT بتواند آنزیم‌های ضروری و سایر اجزای آبشار آپوپتوزیس مانند کاسپازها را به صورت فوتوشیمیایی غیرفعال کند. به‌عنوان مثال، لاوی و همکاران با استفاده از ماده حساس به نور perylenequinones دریافتند که PDT در دوزهای بالا باعث مهار آپوپتوز با تداخل در فسفوریله‌شدن لامین یا کراس لینک فوتودینامیکی لامین می‌شوند [۳۷].

PDT و آتوفاژی

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 به‌طور 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 به‌عنوان مکانیسم زنده‌مانی یا سازگاری به منظور حفظ عملکردهای حیاتی در شرایط محدودکننده مواد مغذی می‌باشد. همچنین در سلول‌های پستانداران اتوفاژی با ازبین‌بردن اندامک‌های آسیب دیده، متابولیت‌های سمی و یا عوامل بیماری‌زا درون سلولی ممکن است باعث زنده‌ماندن سلول شود. بااین‌حال، اتوفاژی همچنین می‌تواند باعث مرگ سلول ازطریق 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. به‌طورکلی 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 ادغا 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].

مطالعات اخیر نشان می‌دهد که PDT ممکن است منجربه مرگ سلولی غیراپوپتوتیکی در ارتباط با القاء اتوفاژی شود. با توجه به واکنش‌پذیری بالای ROS درفرآیند PDT، تعجب آور نیست که اتوفاژی در تلاش برای از بین بردن اندامک‌های آسیب دیده از طریق اکسیداسیون یا تخریب پروتئین‌های کراس لینک شده بزرگ تولیدی توسط واکنش‌های فتوشیمیایی باشد، که توسط سیستم پروتئازوم-یوبی کوئیتین 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. ازطرف‌دیگر، 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].

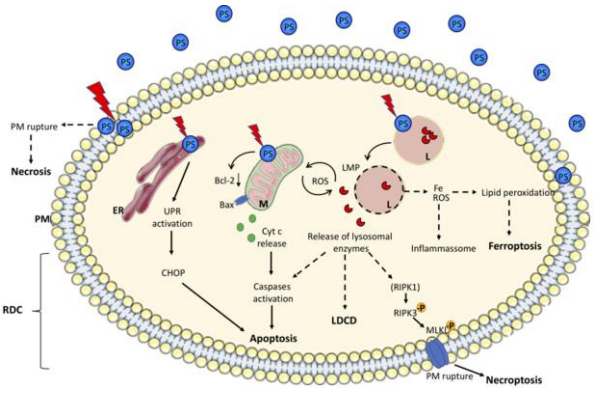
هنوز ارتباط PDT با اتوفاژی دقیقاً مشخص نشده است. به‌طورکلی، سلول‌های پستانداران از اتوفاژی با پاکسازی سلول از اندامک‌های آسیب‌دیده به عنوان دفاعی در برابر آسیب ناشی از ROS استفاده می‌کنند. بسته به نوع ROS و درجه آسیب اکسیداتیو، PDT ممکن است اتوفاژی را تحریک کند که نتیجه آن می‌تواند محافظت از سلول و یا 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 خاموش‌کردن 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 می‌باشند، 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 درحین PDT می‌شود. به‌طورکلی، القاء اتوفاژی در سلول‌های تحت درمان با PDT به‌طور مستقل از نتیجه آپوپتوز اتفاق 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 آتوفاژی 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 منجربه 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 به عنوان اثرات مستقیم و تخریب مستقیم ناشی از PDT به‌شمار می‌آید. شکل ۲ نشان‌دهنده چگونگی جایگزیدگی مواد حساس به نور در اندامک های 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 پلاسما (PM)، شبکه آندوپلاسمی (ER)، میتوکندری (M) یا لیزوزوم (L) باشد. مواد حساس به نور پس از فعال‌شدن توسط نور، بسته به جایگزیدگی آنها، مستقیماً باعث نکروز و یا آپوپتوز می‌شوند [۴۷]

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

فوتودینامیک‌تراپی به‌شمار می‌آیند. تأثیر PDT بر روی سیستم عروقی بستگی به خصوصیات فارموکنتیک ماده حساس به نور دارد که می‌تواند با فاصله تجویز دارو و اعمال تابش نور[1] (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 فعال‌شدن مواد حساس به نور [۲٦] منجربه هدف‌گیری فعال نشان‌گرهای مختلف اندوتلیال و سلولی تومور (ED-B domain of fibronectin، گیرنده VEGF-2 و نوروپیلین۱) می‌شود [٤٨-٤٩].

با توجه به نقش PDT در سیستم ایمنی، یکی از اولین اتفاقاتی که در تومور پس از آسیب اکسیداتیو ناشی از PDT رخ می‌دهد، تولید سیگنال‌هایی به نام الگوهای مولکولی وابسته به آسیب[2] (DAMP) است که به‌عنوان سیگنال‌های هشدار دهنده در ایمنی ذاتی عمل می‌کنند. DAMP مولکول‌های درون‌زایی[3] هستند، که معمولاً در سلول‌های زنده "پنهان" می‌باشند و پس از ترشح از سلول‌های درحال مرگ و یا آسیب‌دیده، خاصیت تحریک ایمنی را به‌دست می‌آورد. به‌طورکلی آنها از سلول‌های توموری که توسط PDT ازطریق نکروز یا آپوپتوز کشته می‌شوند، آزاد می‌شوند. DAMPها توسط سیستم ایمنی بدن به عنوان آنتی‌ژن‌های "خود تغییریافته[4]" شناخته می‌شوند که باعث ایجاد پاسخ ایمنی قوی می‌شوند [٥٠-٥١].

بلافاصله پس از PDT، نوتروفیل‌ها به محل تومور مهاجرت می‌کنند و باعث تنظیم دیگر سلول‌های ایمنی می‌شوند. تعیین شده است که PDT با دوز کم می‌تواند ماکروفاژها را با افزایش فعالیت فاگوسیت آنها و آزادسازی اکسیدنیتریک (NO) تحریک کند. سپس، آنتی‌ژن‌های تومور آزادشده توسط سلول‌های توموری پس از PDT توسط سلول‌های دندریتیک (DC) که پس از فعال‌شدن فاگوسیته می‌شوند، به غدد لنفاوی محلی می‌روند و در آنجا بالغ می‌شوند و پپتیدهای مشتق‌شده از آنتی‌ژن را به لنفوسیت‌های T ارائه می‌دهند که باعث فعال‌سازی سلول‌های T کمک‌کننده (+CD4) و لنفوسیت T (+CD8) ، لنفوسیت B و دستگاه ایمنی تطبیقی می‌شوند [٥٢]. در جدول ۳ مکانیسم‌های اصلی مرگ سلولی (روش مستقیم و غیرمستقیم) که توسط درمان فوتودینامیکی فعال می‌شود، به صورت خلاصه ارائه شده است[٥٣].

جدول ۳. مکانیسم اصلی مرگ سلولی فعال‌شونده توسط فوتودینامیکی‌تراپی [٥٣]

مکانیسم‌های ضدتوموری PDT		
فرآیند	اندامک‌ها	
آپوپتوز	میتوکندریایی: آزادسازی سیتوپلاسم تخریب Bcl-2	تخریب مستقیم سلول
	سیتوپلاسم: تخریب NFkB	
آتوفاژی	شبکه آندوپلاسمی: Beclin 1 فعال‌سازی mTOR	
نکروز	متلاشی‌شدن غشاء سلولی	
آپوپتوز نکروز آتوفاژی	کاهش موضعی اکسیژن و مواد مغذی	تخریب عروق
گرانزیم القاءکننده آپوپتوز	سلول T سیتوتوکسیک	فعال‌سازی پاسخ ایمنی

مکانیسم‌های مولکولی دخیل در پاسخ تومور به فوتودینامیک‌تراپی

تاکنون حداقل پنج مکانیسم مختلف پاسخ تومور به PDT شامل، الف) مکانیسم آنتی‌اکسیدانی ناشی از Nrf2 (فاکتور هسته‌ای اریتروئید۲ p45 مرتبط با فاکتور ۲، ب) پاسخ هیپوکسی به HIF-1 (فاکتور القاشونده به وسیله هیپوکسي، ج) پاسخ پیش‌التهابی و رگ‌زایی ناشی از NF-kB د) پاسخ استرس پروتوتوکسیک با واسطه عوامل مختلف رونویسی (مانند HSF-1، پروتئین اتصال (XBP1) X-box 1، عامل رونویسی فعال‌کننده ATF6 و ATF4) و ه) واکنش استرس حاد با واسطه سیگنال آپوپتوز تنظیم‌کننده کیناز ۱ (ASK1) با پروتئین کیناز فعال‌شده میتوژن (MAPK) شناسایی شده است (شکل۳) [٤١].

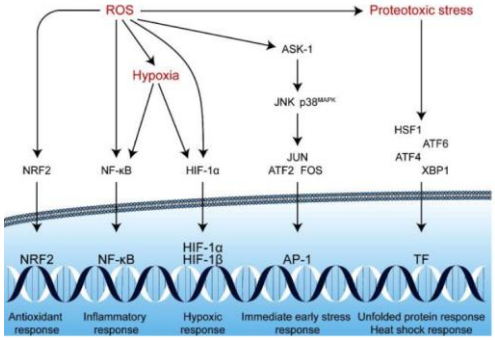
Nrf2 یک عامل رونویسی است که مسئول پاسخ آنتی‌اکسیدانی اولیه می‌باشد. گزارش شده است که ازطریق مهار فعالیت Nrf2، کارایی PDT افزایش می‌یابد، بنابراین Nrf2 می‌تواند یک هدف اساسی برای PDT باشد [٥٤]. بیان NF-kB نقش مهمی در آپوپتوز، التهاب و تکثیر دارد و ارتباط مستقیمی با پاسخ HIF-1 دارد. به‌طورکلی، در دزهای پایین‌تر از حالت بهینه PDT (پایین بودن سطح ROS) افزایش NF-kB و بقای سلول‌های تومور مشاهده می‌شود. در مقابل، یک استرس شدید PDT (سطح بالای

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

ROS) فعالیت NF¬kB 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 اتوفاژی به‌واسطه HIF-1 شوند تا در یک میکرومحیط خصمانه زنده بمانند [۵۵-۵۷].

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. به‌دنبال PDT، سطح ROS درون سلولی افزایش‌یافته و به DNAها، RNAها، پروتئین‌ها و فسفولیپیدها آسیب می‌رساند و باعث تکه‌تکه‌شدن DNA، پیوند عرضی، بازشدن و تجمع می‌شود. در این شرایط، شپرون‌ها بیان می‌شوند (به‌عنوان مثال HSP90، HSP70، HSP60 و HSPهای کوچک) و پروتئین‌های تانشده را شناسایی و کمک به تاشدگی مجدد پروتئین‌های آسیب‌دیده می‌کنند. اگر تاشدن مجدد امکان‌پذیر نباشد، شپرون‌ها ازطریق سیستم پروتئولیتیک باعث تخریب این پروتئین‌ها می‌شوند. هنگامی که PDT باعث تجمع زیاد پروتئین‌های بازشده شود، سیستم شپرون و یا پروتئولیتیک قادر به ترمیم آسیب نمی‌باشند. در این حالت سیستم اتوفاژی - لیزوزومی و اتوفاژی ناشی از شپرون (CMA) پروتئین تجمع یافته در سیتوزول را حذف می‌کند [۵۸-۵۹]. مطالعات دیگر نشان می‌دهند که خانواده‌های ۶۰، ۷۰، ۹۰، HSPs۲۷ که اجزای مسیرهای انتقال سیگنال یا فعالیت ضدآپوپتوز 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 MAPKاست. مشخص شده است که فوتودینامیک‌تراپی با ماده حساس به نور TPCS2a در سلول‌های سرطانی پستان MA11 مسیر P38 MAPKباعث مرگ سلولی می‌شود، درحالی‌که در سلول‌های MA11/TR (مقاوم در برابر TPCS2a-PDT)، فسفوریلاسیون p38 سیگنالینگ مرگ‌ومیر خود را سرکوب‌کرده و باعث لغو فعال‌سازی مسیر P38 MAPKAKPK2 می‌شود [۶۱].



شکل ۳: مسیرهای انتقال سیگنال در سلول‌های سرطانی پس از درمان فتودینامیکی [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 منجربه مرگ سلول که شامل مرگ سلولی آپوپتوز، نکروز و اتوفاژی است شود. مطالعات نشان می‌دهد که آپوپتوز احتمالاً راه ترجیحی برای مرگ سلولی است، اما راه منحصربه‌فرد نیست. علاوه‌براین، 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 علاوه‌بر 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 به‌نظر می‌رسد خاموش‌کردن یا تنظیم تنها یک مکانیسم قادر به افزایش کارایی PDT نمی‌باشد). تنوع در پاسخ تومور به PDT به‌دلیل ارتباط بین مسیرهای پاسخ‌دهنده به اکسیداسیون منجر به عود، متاستاز و مقاومت در مقابل درمان می‌شود. درک آبشاری از وقایع که باعث ایجاد تخریب سلول به‌وسیله فرآیند PDT است هنوز کامل نشده است. امید می‌رود شناسایی دقیق این وقایع منجربه طراحی پروتکل‌های PDT بهتر، به‌منظور افزایش راندمان این روش که توانایی گسترده در درمان سرطان دارد، شود.

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. Periodontology2000 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, Azevedob R, Zhanga H, Muehlmann L .An updated overview on the development of new photosensitizers for anticancer photodynamictherapy: A review. Acta Pharm Sin B 2018; 8: 137–146.
9- Castano AP, Mroz P, Hamblin MR. Photodynamic therapy and anti-tumour immunity. Nat Rev Cancer 2006;6:535-545.
10-Iinuma 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 photodynamictherapy, Photochem. Photobiol. Sci 2002;1: 837–840.
16-Marchal S, Francois A, Dumas D, Guillemin F, Bezdetnaya F. Relationship between subcellular localisation of Foscan and caspase activation in photosensitised 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.Autophagy2015;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, Molkentin 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, Vandenabeele 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, Mlkvy 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 tetrahydroxyhelianthrone and hypericin in leukaemic cells: possible relevance to photodynamic therapy. Br. J. Cancer 1999; 79: 423-432.

38-Petiot A. Ogier-Denis E, Blommaart 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, Lavandero 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 Al. 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.