لیزر در پزشکی 1402/ دوره 20 / شماره (2) / صفحات 30-22.

بررسی زنده‌مانی سلول‌های سرطان گلیوبلاستوما با تغییر پارامترهای جت پلاسمای فشار اتمسفری

مهدیه بختیاری رمضانی[1*]
ابوتراب نعیم‌آبادی[1]
فاطمه شاکری[1]

1. عضو هیئت علمی پژوهشکده پلاسما و گداخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران
2. گروه مهندسی انرژی و فیزیک، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران
3. شرکت توسعه فناوری پلاسما، تهران، ایران

نویسنده مسئول : مهدیه بختیاری

پست الکترونیکی:
mahdiyeh.bakhtiyari@gmail.com

شماره تماس: 09125716583

چکیده

اهداف: تومورهای مغز حاصل رشد غیرعادی سلول‌هاست که بنا به ماهیت سلول‌های تشکیل‌دهنده، ممکن است خوش‌خیم یا بدخیم باشند. گلیوبلاستومای چندشکلی (GBM) یکی از رایج‌ترین انواع تومورهای عصبی مرکزی بشمار می‌رود. به‌دلیل مقاومت تومور گلیوبلاستوم به شیمی‌درمانی و رادیوتراپی و عملی‌نبودن برداشت کامل تومور به‌دلیل ماهیت تهاجمی آن، یافتن درمان‌های جدید همواره مورد توجه است. مطالعات انجام‌شده در شرایط آزمایشگاهی نشان می‌دهد، پلاسمای سرد سلول‌های سرطانی را بدون آسیب‌رساندن به سلول‌های طبیعی تخریب می‌کند. با توجه به ماهیت پیچیده پلاسما، اثرات بیولوژیکی آن به مشخصات منبع و نوع هدف تحت تیمار بستگی دارد. بنابراین در این مطالعه دو موضوع اساسی شامل بهینه‌سازی ولتاژ، زمان و فاصله جت پلاسما برای تیمار رده سلول سرطان گلیوبلاستوما و اثر مخلوط 5 درصد گاز ملکولی اکسیژن با گاز کاری هلیوم و آرگون بر زنده‌مانی این سلول‌ها بررسی شد.

مواد و روش‌ها: رده سلولی سرطان گلیوبلاستوم انسانی U-87 MG از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد. به‌منظور بهینه‌سازی، 5 ولتاژ کاری، 3 فاصله نازل پلاسما تا سلول و یک مدت زمان تیمار در نظر گرفته شد و زنده‌مانی سلول‌های تیمارشده با تست MTT و براساس پروتکل سازنده اندازه‌گیری شد. پس از پیکربندی آزمایش در شرایط مطلوب، 5 مدت زمان تیمار مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایش بررسی اثر نوع گاز کاری جت پلاسما بر زنده‌مانی سلول‌های سرطانی، 5 درصد گاز اکسیژن به گاز کاری هلیوم یا آرگون اضافه و نتایج مقایسه شد. تمام تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS و Statistica انجام شد.

یافته‌ها: نتایج بهینه‌سازی ولتاژ و فاصله نشان داد که ولتاژ کاری 4/5 کیلوولت و فاصله 4 سانتی‌متری اثر بهتری در مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول‌های U-87 MG برای پیکربندی جت پلاسمای انتخابی دارد. علاوه‌براین، نتایج وابستگی معکوس زمان تیمار و زنده‌مانی سلول‌های U-87 MG را نشان داد. ترکیب 5 درصد گاز ملکولی اکسیژن با هلیوم و آرگون منجر به افزایش زنده‌مانی و درنتیجه کاهش بازده اثربخشی پلاسما شد.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی مطالعه حاضر نشان داد پارامترهای مختلف جت پلاسما شامل ولتاژ، مدت زمان تیمار، فاصله و نوع گاز کاری بر زنده‌مانی سلول‌های U-87 MG اثر گذار است و شرایط بهینه تیمار هر رده سلولی با توجه به نوع دستگاه اختصاصی می‌باشد.

کلید واژه‌ها: پلاسمای سرد؛ سرطان گلیوبلاستوما؛ بهینه‌سازی، پارامترهای پلاسما

مقدمه

در میان انواع سرطان، تومورهای مغزی جزء کشنده‌ترین سرطان‌ها محسوب می‌شوند. توانایی درمان این تومورها تا حدودی به خصوصیات منحصربه‌فرد سلول‌های ذاتی و ریزمحیطی بافت‌های عصبی مربوط می‌شود (1, 2). تومورهای مغز حاصل رشد غیرعادی سلول‌هاست که بنابه ماهیت سلول‌های تشکیل‌دهنده، ممکن است خوش‌خیم یا بدخیم باشند. گلیوبلاستوما شایع‌ترین تومور بدخیم مغز است که معمولاً به‌طور گسترده در مغز پخش می‌شوند و امکان جراحی را به‌شدت سخت می‌کنند (2).

در دهه‌های اخیر توسعه در علم فیزیک و مهندسی منجربه پیشرفت‌های مهمی در پزشکی شده است. رویکرد اصلی بهره‌گیری از فنآوری‌های جدید ازجمله تابش‌های یونیزان، لیزر، فراصوت، مغناطیس و پلاسما در پزشکی درمان، تسکین و افزایش کیفیت زندگی بیماران می‌باشد. در این میان، پلاسما از جدیدترین فنآوری‌ها در پزشکی است که با نام "پلاسماپزشکی" در سراسر دنیا شناخته می‌شود (3).

به‌طورکلی پلاسما حالت چهارم ماده، گاز یونیزه‌شده حاوی الکترون، یون، ذرات خنثی، فوتون و میدان‌های الکترومغناطیسی است (4). پلاسما می‌تواند در محدوده وسیعی از دما و چگالی تولید شود و بنابراین کاربردهای گسترده‌ای داشته دارد (5). اگر تخلیه پلاسما در فشار اتمسفر سریع باشد، الکترون‌ها و ذرات سنگین در حالت عدم‌تعادل حرارتی قرار می‌گیرند که این نوع پلاسماها، پلاسمای سرد اتمسفری (CAP[1]) یا پلاسمای غیرحرارتی (NTP[2]) نامیده می‌شوند. دو نوع مختلف از دستگاه‌های CAP که به‌طور گسترده در پلاسماپزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند، جت پلاسما و تخلیه‌های سد دی‌الکتریک (DBD[3]) می‌باشد (6, 7).

تاکنون مطالعات بسیاری درخصوص اثرات ضدسرطانی پلاسمای سرد در رده‌های مختلف سلولی منتشر شده است (8-13). گونه‌های فعال اکسیژن (ROS[4]) تولید شده توسط پلاسما به‌عنوان اجزای کلیدی در القای آپوپتوز درنظر گرفته می‌شوند (14). تولید ROS مانند سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، اتم اکسیژن (O) و رادیکال هیدروکسیل (OH) در پلاسماهای فشار اتمسفر ممکن است بر غلظت ROS در داخل سلول‌ها در مدت برهمکنش پلاسما با سلول تأثیر بگذارد. اگرچه افزایش متوسط ROS ممکن است باعث تکثیر سلولی شود، مقادیر بیش‌ازحد ROS می‌تواند باعث آسیب به لیپیدها، پروتئین‌ها، DNA و انواع پاسخ‌های سلولی ازجمله توقف چرخه سلولی، پیری و القای آپوپتوز شود (15,14). به‌طور جالب توجهی پلاسمای سرد توانایی بازگرداندن حساسیت سلول‌های سرطانی مقاوم به شیمی درمانی، برای نمونه سلول‌های گلیوبلاستومای مقاوم به تموزولومايد، را نشان داده است (16).

باتوجه به ماهیت پیچیده پلاسما، پارامترهای متنوعی شامل پیکربندی الکترودها، ترکیب گازی، توان، زمان تیمار، فرکانس، فاصله تا هدف و نوع و ماهیت سلول تحت تیمار در ایجاد خاصیت ضدسرطانی پلاسما نقش دارند(6). بنابراین در این پژوهش اثر پارامترهای مختلف شامل ولتاژکاری، فاصله جت پلاسما تا سلول یا هدف و نوع گاز کاری در اثربخشی پلاسمای تولیدشده توسط جت مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت و تلاش شد شرایط بهینه دستگاه جت پلاسما برای القای مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده در رده سرطانی U-87 MG پیدا شود. بدین‌منظور در ابتدا ولتاژ و فاصله جت پلاسما، زمان تیمار بررسی و سپس اثر 5 درصد گاز اکسیژن در مخلوط با گاز هلیوم یا آرگون بر زنده‌مانی سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما رده U-87 MG تعیین شد.

مواد و روش‌ها

روش مطالعه و دستگاه جت پلاسما

در این مطالعه دو موضوع اساسی شامل بهینه‌سازی شرایط تیمار پلاسمایی رده سلول سرطان گلیوبلاستوما و اثر مخلوط 5 درصد گاز اکسیژن با گاز هلیوم یا آرگون در زنده‌مانی این سلول‌ها بررسی شد.

1. Cold atmospheric plasma
2. Non thermal plasma
3. Dielectric Barrier Discharge
4. Reactive oxygen species

برای آزمون بهینه‌سازی، 5 ولتاژ کاری (به ترتیب 3/5، 4/5 ،5/5، 6/5 و 7/5 کیلوولت)، 3 فاصله نازل پلاسما تا سلول (2، 3 و 4 سانتی‌متر) و یک مدت زمان تیمار (60 ثانیه) در نظر گرفته شد و سپس در شرایط فیزیکی مطلوب حاصل‌شده، 5 مدت زمان تیمار (90، 120، 150، 180، 210 ثانیه) مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایش بررسی اثر ترکیب گاز نجیب هلیوم یا آرگون با گاز ملکولی بر زنده‌مانی سلول‌های سرطانی U-87 MG، 5 درصد گاز اکسیژن به گاز کاری اضافه شد. شکل 1 نمایی از تنظیمات آزمایش را نشان می‌دهد.



شکل 1: تیمار سلول‌ها با جت پلاسما

کشت سلولی

طبق گزارشات موجود در بانک سلولی ATCC رده U-87 MG، سلول‌های انسانی مربوط به بافت مغز با مورفولوژی اپیتلیالی از نوع چسبنده می‌باشند که از یک فرد با بیماری گلیوبلاستوما حاصل گشته است. این رده از بانک سلولی انستیتو پاستور (تهران، ایران) تهیه شد. سلول‌ها در محیط کامل متشکل از Dulbecco's Modified Eagle/F-12 (DMEM, Life Technologies, USA) همراه با 10 درصد سرم جنین گاو (FBS, Sigma-Aldrich, USA) و یک درصد محلول آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین (Life Technologies, USA) تحت شرایط استاندارد کشت سلولی(دمای 37 درجه سانتی‌گراد، 5 درصد کربن دی‌اکسید و 95 درصد رطوبت) کشت داده شدند.

تست MTT

یکی از پایه‌ترین تست‌های سمیت‌سنجی، سنجش زنده‌مانی سلول‌ها به‌واسطه متابولیسم سلولی می‌باشد که از این تست عموماً تحت عنوان MTT یاد می‌شود. در هر چاهک معادل 5×10^3 سلول کشت شد. پس از تیمار سلول‌ها با متغیرهای مختلف پلاسما، سلول‌ها براساس پروتکل سازنده در مجاورت ماده مؤثره MTT (Sigma-Aldrich, M2128) قرار گرفتند و با نفوذ آن به درون سلول و کاهش به‌واسطه هیدروژن NADH سلولی، ترکیب زرد رنگ MTT تبدیل به بلور بنفش رنگ فورمازان گردید. تعداد سلول‌های زنده با متابولیسم فعال را در دوزهای مختلف و نسبت به گروه کنترل که تیمار نشده‌اند، با خوانش جذب در 570 نانومتر مورد بررسی قرار گرفت (17).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها پس از تعیین نرمال‌بودن در سه تکرار آنالیز واریانس شدند. برای بررسی اثر متقابل ولتاژ و فاصله پلاسما بر زنده‌مانی سلول‌های گلیوبلاستوما از آزمون تحلیل تک متغیره[1] در سطح 1 درصد ($P<0.01$) و مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. برای مقایسه میانگین پلاسمای هلیوم و آرگون با هلیوم و آرگون + به‌علاوه 5 درصد اکسیژن بر زنده‌مانی سلول‌های گلیوبلاستوما نیز از آزمون تحلیل تک متغیره در سطح 1 درصد ($P<0.01$) و مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. تمام تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS و Statistica انجام شد. حروف غیرمشابه در نمودارها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است.

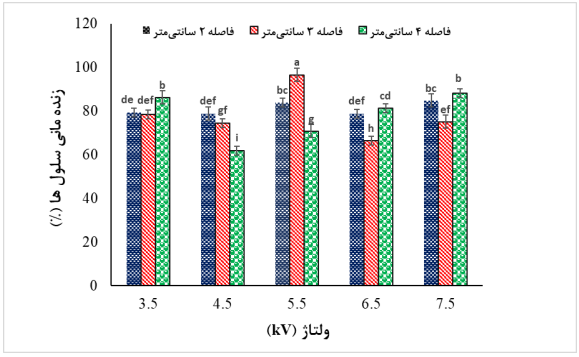
یافته‌ها

بررسی زنده‌مانی سلول U-87 MG با تغییر پارامترهای فاصله و ولتاژ راه‌اندازی جت پلاسما

برای بررسی بهترین فاصله و ولتاژ اثرگذاری پلاسما، تیمار سلول‌های U-87 MG به‌مدت 60 ثانیه و با تغییر دو پارمتر ولتاژ (3/5، 4/5،

1 .Univariate analysis

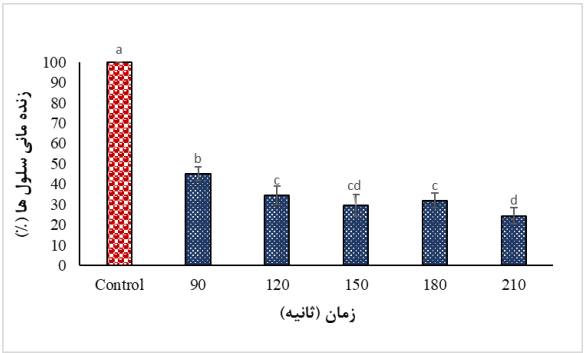
5/5، 6/5 و 7/5 کیلوولت) و فاصله (2، 3 و 4 سانتی‌متر) انجام شد. شکل 2 درصد زنده‌مانی سلول را 48 ساعت بعد از تیمار با پلاسما نشان می‌دهد. همان‌طورکه ملاحظه می‌شود پلاسما در ولتاژ 4/5 کیلوولت و فاصله 4 سانتی‌متر، منجربه کاهش زنده‌مانی سلول‌ها تا 61/96% شد.



شکل 2: نمودار درصد زنده‌مانی برحسب ولتاژ و فاصله‌ی پلاسما در 48 ساعت پس از تیمار، برای تعیین بهترین ولتاژ و فاصله‌ی اثرگذاری.

بررسی زنده‌مانی سلول U-87 MG با تغییر پارامتر زمان تیمار

پس از تعیین بهینه ولتاژ و فاصله (ولتاژ 4/5 kV و در فاصله 4 cm)، این دو پارامتر ثابت نگه داشته و مدت زمان تیمار تغییر کرد تا زمان اثرگذاری مورد ارزیابی قرار گیرد. شکل 3 نمودار درصد زنده‌مانی برحسب زمان تیمار پس از 48 ساعت نشان می‌دهد. همان‌طورکه در نمودار دیده می‌شود تمامی زمان‌های تیمارهای پلاسمایی، زنده‌مانی سلول‌ها را کاهش داده‌اند. به‌علاوه نتایج نشان می‌دهد که افزایش زمان تیمار پلاسمایی با زنده‌مانی رابطه معکوس دارد.

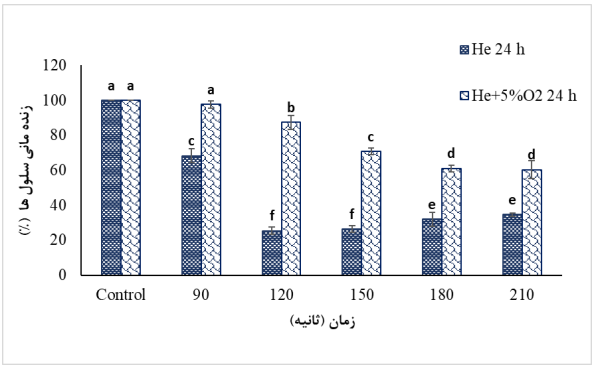


شکل 3: نمودار درصد زنده‌مانی برحسب زمان تیمار در 48 ساعت پس از تیمار، برای تعیین بهترین بازه‌ی زمانی اثرگذاری.

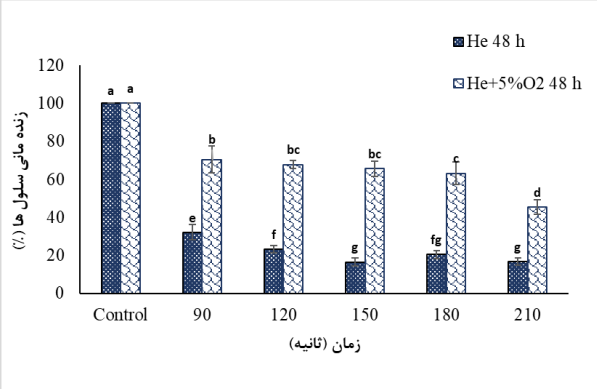
بررسی اثر 5 درصد گاز اکسیژن در ترکیب با گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل جت پلاسما

به‌منظور مطالعه اثر نوع گاز حامل جت پلاسما بر زنده‌مانی سلول‌های U-87 MG، مقدار 5 درصد گاز اکسیژن با گاز هلیوم ترکیب شد. سلول‌ها در زمان‌های 90، 120، 150، 180، 210 ثانیه با جت پلاسما تیمار شدند و زنده‌مانی پس از 24، 48 و 72 ساعت بررسی شد. این نتایج با درصد زنده‌مانی سلول‌های U-87 MG که تنها با پلاسمای هلیوم در تنظیمات آزمایشگاهی یکسان انجام‌شده، مقایسه شد (17).

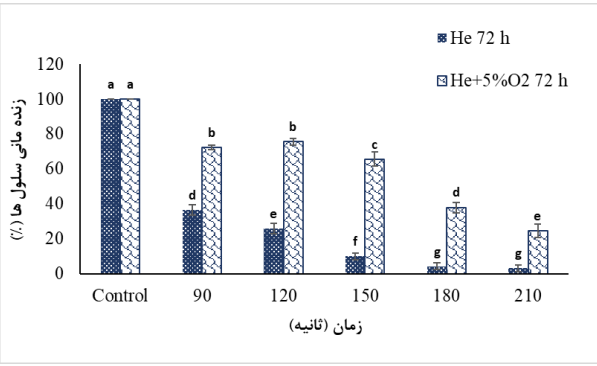
شکل 6-4، نمودارهای درصد زنده‌مانی سلول‌های تیمار شده با پلاسمای هلیوم و پلاسمای هلیوم به همراه 5 درصد اکسیژن در زمان‌های مختلف تیمار را نشان می‌دهد.



شکل 4: درصد زنده‌مانی در زمان‌های مختلف تیمار در اثر اعمال مستقیم پلاسمای هلیوم و پلاسمای هلیوم به همراه 5 درصد اکسیژن در 24 ساعت پس از تیمار.



شکل 5: درصد زنده‌مانی در زمان‌های مختلف تیمار در اثر اعمال مستقیم پلاسمای هلیوم و پلاسمای هلیوم به همراه 5 درصد اکسیژن در 48 ساعت پس از تیمار.



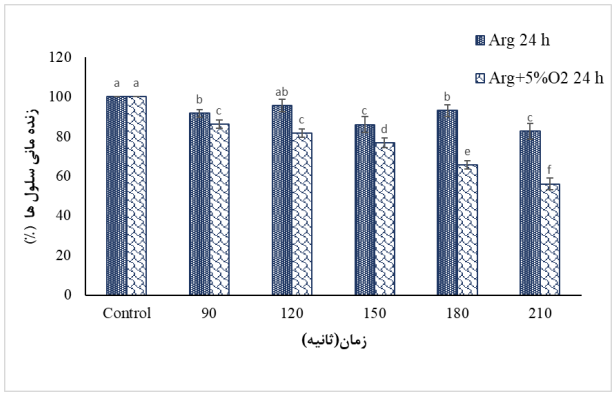
شکل 6: درصد زنده‌مانی در زمان‌های مختلف تیمار در اثر اعمال مستقیم پلاسمای هلیوم و پلاسمای هلیوم به همراه 5 درصد اکسیژن در 72 ساعت پس از تیمار.

آنالیز آماری داده‌ها نشان می‌دهد که درصد زنده‌مانی در حضور گاز اکسیژن توانایی سمیت پلاسما را به‌مقدار قابل توجه و معنی‌داری کاهش داد.

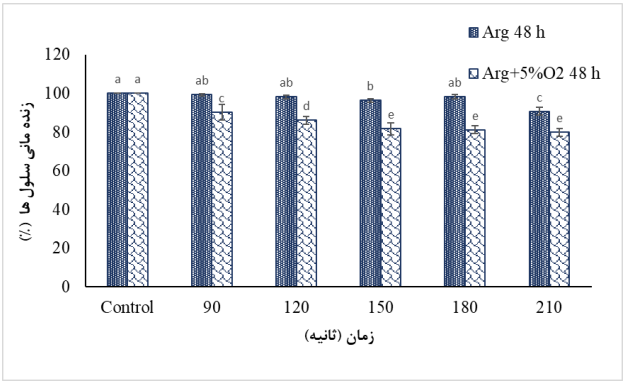
بررسی اثر 5 درصد گاز اکسیژن در ترکیب با گاز آرگون به‌عنوان گاز حامل جت پلاسما

برخی از مقالات از گاز کاری آرگون برای تیمار سلول‌های سرطانی استفاده کرده‌اند. بنابراین، اثر ترکیب گاز آرگون با 5 درصد اکسیژن بر زنده‌مانی سلول‌های U-87 MG نیز بررسی شد. مشابه با قبل، سلول‌ها در زمان‌های 90، 120، 150، 180، 210 ثانیه با پلاسمای آرگون ترکیب‌شده با 5 درصد اکسیژن به عنوان گاز کاری تیمار شدند و زنده‌مانی پس از 24، 48 و 72 ساعت بررسی شد. این نتایج با درصد زنده‌مانی سلول‌های U-87 MG که تنها با پلاسمای آرگون و در تنظیمات آزمایشگاهی یکسان تیمار شده‌اند (17)، مقایسه شد.

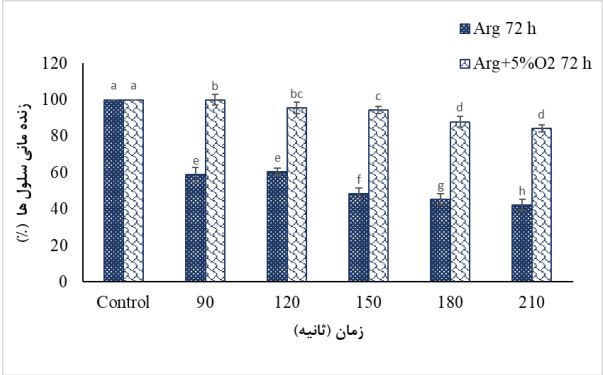
شکل 9-7، نمودار درصد زنده‌مانی سلول‌های تیمار شده با پلاسمای آرگون و پلاسمای آرگون به همراه 5 درصد اکسیژن در زمان‌های مختلف را نشان می‌دهد.



شکل 7: درصد زنده‌مانی در زمان‌های مختلف تیمار در اثر اعمال مستقیم پلاسمای آرگون و پلاسمای آرگون به همراه 5 درصد اکسیژن در 24 ساعت پس از تیمار.



شکل 8: درصد زنده‌مانی در زمان‌های مختلف تیمار در اثر اعمال مستقیم پلاسمای آرگون و پلاسمای آرگون به همراه 5 درصد اکسیژن در 48 ساعت پس از تیمار.



شکل 9: درصد زنده‌مانی در زمان‌های مختلف تیمار در اثر اعمال مستقیم پلاسمای آرگون و پلاسمای آرگون به همراه 5 درصد اکسیژن در 72 ساعت پس از تیمار.

درصد زنده‌مانی سلول‌های U-87 MG پس از تیمار با پلاسمای آرگون در مقایسه با ترکیب 5 درصد اکسیژن در زمان‌های 90، 120، 150، 180، 210 ثانیه نشان داد که حضور اکسیژن باعث افزایش سمیت پلاسمای آرگون بر این رده سلولی پس از 24 و 48 ساعت انکوباسیون شده است. این درحالی است که پس از 72 ساعت، نتایج MTT حاکی از کاهش اثربخشی این پلاسما و به عبارتی افزایش درصد زنده‌مانی در مقایسه با پلاسمای آرگون در همان زمان انکوباسیون است.

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات درون سلولی نشان می‌دهد که پلاسمای سرد، سلول‌های سرطانی را بدون آسیب رساندن به سلول‌های طبیعی تخریب می‌کند یا به‌عبارتی خاصیت انتخابی دارد (18, 19). در سلول‌های سرطانی تحت تیمار با پلاسما، افزایش انتخابی گونه‌های اکسیژن فعال درون‌سلولی ممکن است موجب چنین آپوپتوز سلولی انتخابی شود (6).

ویژگی‌های تاثیرگذار در اثرات زیستی پلاسما عبارتند از مشخصات دستگاه (پیکربندی الکترودها، ترکیب گازی، توان، زمان تیمار، فرکانس و فاصله تا هدف) و نوع و ماهیت سلول‌های هدف می‌باشد (6).

یان[1] و همکاران نشان دادند که یک راه آسان و موثر برای تعدیل تولید پراکسید هیدروژن درون سلولی، کنترل ولتاژ تخلیه الکتریکی است (20). در مطالعه دیگری، جیکا[2] و همکاران اثر ولتاژ تخلیه الکتریکی را بر زنده‌ماندن سلول‌های سرطان سینه و گلیوبلاستوما بررسی کردند (21). نتایج نشان داد که علی‌رغم روند زنده‌مانی سلولی مشابه در ساعت اولیه پس از تیمار، در بازه زمانی 6 تا 48 ساعت انکوباسیون پاسخ سلول‌های گلیوبلاستوما تا حد زیادی با پاسخ سلول‌های سرطان سینه متفاوت بود (21). Cheng و همکاران بر نرخ جریان گاز، اختلاف ولتاژ الکترودها و مدت زمان اعمال پلاسما به عنوان عوامل تاثیرگذار در پلاسما تاکید کردند و نشان دادند تغییر این سه مولفه بر زنده‌مانی سلول‌های سرطانی اثر قابل توجهی دارد (22). نتایج آنها همچنین نشان داد که افزودن مقدار کمی اکسیژن (از 0٪ تا 0.21٪) منجر به دمپ سریع جت، به‌ویژه گونه‌های موجود در محدوده 300 تا 450 نانومتر شد و گونه‌های مبتنی‌بر نیتروژن تقریباً ازبین رفتند. با افزودن اکسیژن بیشتر (از 0.21٪ به 0.42٪ و 0.63%)، شدت هر گونه به همان میزان کاهش یافت.

بهینه‌سازی شرایط تیمار پلاسمایی رده سلول سرطان گلیوبلاستوما و اثر مخلوط 5 درصد گاز اکسیژن با گاز هلیوم یا آرگون در زنده‌مانی این سلول‌ها دو محور اصلی این پژوهش را تشکیل می‌دهند.

در این پژوهش، آزمون بهینه‌سازی دستگاه جت پلاسما جهت افزایش بهره‌وری دستگاه در القای مرگ سلولی انجام شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اثرات ضدسرطانی پلاسما بر رده سلولی U-87 MG به پارامترهای جت پلاسما و به عبارتی به تنظیمات آزمایش وابسته است و بنابراین نیاز کنترل و تنظیم اختصاصی را به روشنی بیان می‌کند. شرایط بهینه برای این رده سلولی و دستگاه جت پلاسمای مذکور، ولتاژ 4/5 کیلوولت و فاصله 4 سانتی‌متر است که منجر به کاهش زنده‌مانی سلول‌ها تا 61/96% شد. همچنین تمامی

1. Yan
2. Gjika

زمان‌های تیمارهای پلاسمایی، زنده‌مانی سلول‌ها را کاهش داده و افزایش زمان تیمار پلاسمایی با زنده‌مانی رابطه معکوس دارد.

بسیاری از گروه‌های تحقیقاتی به منظور افزایش غلظت ROS، از ترکیب گاز نجیب با اکسیژن بهره گرفته‌اند (23) و اعتقاد دارند که پلاسماهای He/O_2 منبع خوبی از گونه‌های فعال اکسیژن هستند (24). مطالعه‌ی آزمایشگاهی مین جو[1] و همکاران نشان داد با افزودن گاز ملکولی اکسیژن به هلیوم در جت پلاسمای فشار اتمسفری، طول ستون پلاسما، جریان کل و شدت انتشار نوری کاهش یافت و همچنین تیمار پلاسمای He/O_2 روی سلول‌های A549 (سرطان ریه انسان) منجربه تجمع بیان و وضعیت فسفوریلاسیون p53 شد (24).

در مقابل نتایج زنده‌مانی سلول‌های سرطان گلیوبلاستوما (U-87 MG) تیمار شده با پلاسمای هلیوم مخلوط با 5 درصد اکسیژن در این مطالعه نشان داد، زنده‌مانی در تمامی زمان‌های تیمار و زمان‌های انکوباسیون نسبت به گاز کاری نجیب هلیوم به مقدار قابل توجهی افزایش داشت و این موضوع می‌تواند به ماهیت سلول و پیکربندی دستگاه مورد استفاده در این مطالعه مربوط شود که این نتایج با مطالعه Cheng و همکاران مطابقت دارد. علاوه‌براین آنها تأثیر کسر حجمی اکسیژن در ترکیب با گاز هلیوم بر زنده‌مانی سلول‌های گلیوبلاستوما (U87) مطالعه کردند و نشان دادند که افزودن اکسیژن به منبع گاز هلیوم، اثر درمانی پلاسمای سرد را روی سلول‌های سرطانی تضعیف می‌کند (23).

Asghar و همکاران تخلیه آرگون و تخلیه ترکیبی اکسیژن / آرگون با جریان‌های مختلف را مورد مطالعه قرار دادند، نتایج آنها نشان داد که با کاهش سرعت جریان گاز، دمای پلاسما کاهش یافت (25). در مطالعه دیگری، محققان اکسیژن با درصدهای مختلف (0.2 تا 1.2%) را با آرگون مخلوط کردند تا تولید گونه‌های واکنش‌دهنده و درنتیجه کارایی استریل‌سازی پلاسما در فشار اتمسفر آرگون را افزایش دهند. نتایج آنها نشان داد بیشترین کاهش کلونی (CFU) مربوط به کمترین درصد ترکیب O_2 است.

نتایج زنده‌مانی در زمان‌های مختلف اعمال پلاسمای آرگون به‌علاوه 5% اکسیژن در زمان‌های انکوباسیون 24 و 48 ساعت زنده‌مانی سلول‌های گلیوبلاستوما پایین‌تر از پلاسمای آرگون بود. این در حالی است که زنده‌مانی سلول‌ها در اعمال تیمار پلاسمای آرگون به‌علاوه 5% اکسیژن در زمان اندازه‌گیری 72 ساعت بالاتر از پلاسمای آرگون به تنهایی بود، به عبارت دیگر در زمان انکوباسیون 72 ساعت، پلاسمای آرگون تاثیر بهتری در مرگ و میر سلول‌های سرطانی داشته است.

بطورکلی این پژوهش اهمیت و نیاز بهینه‌سازی دستگاه جت پلاسما را براساس ماهیت هدف تحت تیمار نشان داد. همچنین نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از آن است که پارامترهای مختلف جت پلاسما مورد بررسی در این تحقیق شامل ولتاژ، مدت زمان تیمار، فاصله و نوع گاز کاری بر زنده‌مانی سلول‌های U-87 MG موثر است و شرایط بهینه تیمار هر رده سلولی می‌بایست منطبق بر نوع دستگاه مهیا و اعمال گردد. علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهد افزایش ناخالصی 5 درصد گاز اکسیژن، اثر سمیت پلاسما را کاهش داده و زنده‌مانی را به طور کلی در بازه‌های زمانی طولانی افزایش داده است.

1. Min Joh

References:

1. Nakada M, Kita D, Watanabe T, Hayashi Y, Teng L, Pyko IV, et al. Aberrant signaling pathways in glioma. Cancers. 2011;3(3):3242-78.
2. Holland EC. Glioblastoma multiforme: the terminator. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2000;97(12):6242-4.
3. Laroussi M. Plasma medicine: a brief introduction. Plasma. 2018;1(1):47-60.
4. Chen FF. Introduction to plasma physics and controlled fusion: Springer; 1984.
5. Fridman AA, Friedman GG. Plasma medicine. 2013.
6. Keidar M, Yan D, Sherman JH. Cold plasma cancer therapy: Morgan & Claypool Publishers; 2019.
7. Fridman G, Friedman G, Gutsol A, Shekhter AB, Vasilets VN, Fridman A. Applied plasma medicine. Plasma processes and polymers. 2008;5(6):503-33.
8. Tanaka H, Mizuno M, Katsumata Y, Ishikawa K, Kondo H, Hashizume H, et al. Oxidative stress-dependent and-independent death of glioblastoma cells induced by non-thermal plasma-exposed solutions. Scientific reports. 2019;9(1):13657.
9. Wang M, Holmes B, Cheng X, Zhu W, Keidar M, Zhang LG. Cold atmospheric plasma for selectively ablating metastatic breast cancer cells. PloS one. 2013;8(9):e73741.
10. Guerrero-Preston R, Ogawa T, Uemura M, Shumulinsky G, Valle BL, Pirini F, et al. Cold atmospheric plasma treatment selectively targets head and neck squamous cell carcinoma cells. International journal of molecular medicine. 2014;34(4):941-6.
11. Keidar M, Walk R, Shashurin A, Srinivasan P, Sandler A, Dasgupta S, et al. Cold plasma selectivity and the possibility of a paradigm shift in cancer therapy. British journal of cancer. 2011;105(9):1295-301.
12. Chang JW, Kang SU, Shin YS, Kim KI, Seo SJ, Yang SS, et al. Non-thermal atmospheric pressure plasma induces apoptosis in oral cavity squamous cell carcinoma: Involvement of DNA-damage-triggering sub-G1 arrest via the ATM/p53 pathway. Archives of biochemistry and biophysics. 2014;545:133-40.
13. Gümbel D, Daeschlein G, Ekkernkamp A, Kramer A, Stope MB. Cold atmospheric plasma in orthopaedic and urologic tumor therapy. GMS Hygiene and Infection Control. 2017;12.
14. Pelicano H, Carney D, Huang P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. Drug resistance updates. 2004;7(2):97-110.
15. Trachootham D, Alexandre J, Huang P. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? Nature reviews Drug discovery. 2009;8(7):579-91.
16. Köritzer J, Boxhammer V, Schäfer A, Shimizu T, Klämpfl TG, Li Y-F, et al. Restoration of sensitivity in chemo—resistant glioma cells by cold atmospheric plasma. PloS one. 2013;8(5):e64498.
17. Bakhtiyari-Ramezani M, Nohekhan M, Akbari ME, Abbasvandi F, Bayat M, Akbari A, et al. Comparative assessment of direct and indirect cold atmospheric plasma effects, based on helium and argon, on human glioblastoma: an in vitro and in vivo study. Scientific Reports. 2024;14(1):3578.
18. Yan D, Horkowitz A, Wang Q, Keidar M. On the selective killing of cold atmospheric plasma cancer treatment: Status and beyond. Plasma Processes and Polymers. 2021;18(10):2100020.
19. Duan J, Lu X, He G. The selective effect of plasma activated medium in an in vitro co-culture of liver cancer and normal cells. Journal of Applied Physics. 2017;121(1).

20. Yan D, Cui H, Zhu W, Talbot A, Zhang LG, Sherman JH, et al. The strong cell-based hydrogen peroxide generation triggered by cold atmospheric plasma. Scientific reports. 2017;7(1):10831.
21. Gjika E, Pal-Ghosh S, Tang A, Kirschner M, Tadvalkar G, Canady J, et al. Adaptation of operational parameters of cold atmospheric plasma for in vitro treatment of cancer cells. ACS applied materials & interfaces. 2018;10(11):9269-79.
22. Cheng X, Sherman J, Murphy W, Ratovitski E, Canady J, Keidar M. The effect of tuning cold plasma composition on glioblastoma cell viability. PloS one. 2014;9(5):e98652.
23. Young Kim J, Lee D-H, Ballato J, Cao W, Kim S-O. Reactive oxygen species controllable non-thermal helium plasmas for evaluation of plasmid DNA strand breaks. Applied Physics Letters. 2012;101(22).
24. Joh HM, Choi JY, Kim SJ, Chung T, Kang T-H. Effect of additive oxygen gas on cellular response of lung cancer cells induced by atmospheric pressure helium plasma jet. Scientific reports. 2014;4(1):6638.
25. Asghar AH, Galaly AR. The Effect of oxygen admixture with argon discharges on the impact parameters of atmospheric pressure plasma jet characteristics. Applied Sciences. 2021;11(15):6870.