JAMS
Journal of Arak University of Medical Sciences
2019; 22(3)
Journal Homepage: http://jams.arakmu.ac.ir

ORIGINAL RESEARCH

Cytotoxicity Co-Effect of Laser with Graphene Oxide on Cancer Cell Line *In Vitro*

Mohammad Khalili Kelaki[1], Ruholah Karimzadeh [1], Neda Soleimani[2*], Seyed Masoud Hosseini[2], Maghsud Arshadi[1]

1. Department of Physics, Faculty of Physics, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

2. Department of Microbiology and Microbial Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

ARTICLE INFORMATION

Article history

Received: *03 December 2018*

Accepted: *27 April 2019*

Published online: *18 August 2019*

Keywords

Graphene oxide

Low power laser

MCF-7 cell line

Photodynamic therapy

Photosensitizer

**** Corresponding Author:***

Neda Soleimani; P.O. Box 1983969411, Department of Microbiology and Microbial Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Fax: *+98 21 2990 5922*

Email: *N_soleimani@sbu.ac.ir*

ABSTRACT

Background and Aim: Background and Aim: Photodynamic therapy is a minimally invasive approach to cancer, which is used to combine non-toxic photosensitizer and visible light to produce reactive oxygen species and destroy tumors. This study aimed to investigate the cytotoxicity effect of Graphene Oxide (GO)as an organic matter with many oxygen groups on photodynamic on destroying cancer cells.

Materials and Methods: This study was performed on breast cancer cells (MCF-7) *in vitro*. The study groups included the first group of drug with different concentrations of graphene oxide (333.3, 285.7, 230.7, 166.6, 90.9, 47.6 µg/ml), the second group co-drug and laser light irradiation and the control group consisted of cells treated only with laser irradiation and the control group was treated with no treatment. Cells were exposed to visible laser irradiation (405 nm) at 0.1 W / cm^2. Cell viability was determined by MTT assay.

Ethical Considerations: This study with research ethics code SBU/S.1397.46A has been approved by research ethics committee at Shahid Behesht University of Tehran, Iran.

Findings: The results of *in vitro* experiments showed that the dark toxicity of graphene oxide at concentrations of less than the 90.9 µg / ml concentration had no significant effect on cancer cells. Also, laser light alone don't has toxic effect on cells. But graphene oxide-mediated dynamic light therapy has reduced the bioavailability of cancer cells on average by 21% over dark toxicity. Results are presented as mean of three independent replications, standard error, and $p< 0.05$ was considered significant.

Conclusion: In this study, graphene oxide is fully biodegradable at concentrations below a certain value, but with increasing concentration, the toxicity effect increases. With exposure to light and graphene oxide, viability decreses that it is more effective for in vivio studies.

© Copyright (2019) Arak University of Medical Sciences

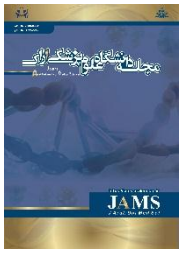
Use your device to scan and read this article online:

Khalili Kelaki M., Karimzadeh R., Soleimani N., et al. Cytotoxicity Co-Effect of Laser with Graphene Oxide on Cancer Cell Line *In Vitro*. J Arak Uni Med Sci. 2019; 22(3): 36-44.

This open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution NonCommercial 4.0 License (CC BY-NC 4.0).

www.SID.ir

JAMS
مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک
دوره بیست و دو، شماره سه، مرداد و شهریور ۱۳۹۸
journal homepage: http://jams.arakmu.ac.ir



مقاله پژوهشی

ارزیابی میزان سمیت گرافن اکساید به‌همراه اثر همزمان تابش لیزر بر رده سلول‌های سرطانی در شرایط برون‌تنی

محمد خلیلی کلاکی[۱]، روح الله کریم‌زاده[۱]، ندا سلیمانی[۲*]، سید مسعود حسینی[۲]، مقصود ارشدی[۱]

۱. گروه فیزیک، دانشکده فیزیک، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

۲. گروه میکروبیولوژی و زیست فن‌آوری میکروبی، دانشکده علوم و فن‌آوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۱۲

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۲/۰۷

تاریخ انتشار: ۹۸/۰۵/۲۷

واژگان کلیدی

رده‌ی سلول سرطانی MCF-7

گرافن‌اکساید

لیزر مرئی

مواد حساس به نور

نور درمانی پویا

***نویسنده مسئول:**

ندا سلیمانی

آدرس پستی: ایران، تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم و فن‌آوری زیستی، گروه میکروبیولوژی و زیست فن‌آوری میکروبی، کد پستی ۱۹۸۳۹۶۹۴۱۱.

نمابر: +98 21 2990 5922

Email: N_soleimani@sbu.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: نوردرمانی پویا روشی با حداقل تهاجم در از بین بردن سلول‌های سرطانی است که از ترکیب مواد حساس به نور غیرسمی و نور مرئی برای تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تخریب تومورها استفاده می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی اثر گرافن‌اکساید به‌عنوان یک ماده آلی که دارای گروه‌های اکسیژنی زیادی است جهت از بین بردن سلول‌های سرطان MCF-7 انجام شد.

مواد و روش‌ها: این بررسی در شرایط برون‌تنی تجربی بر روی سلول‌های سرطان پستان (MCF-7) انجام شد. گروه‌های موردمطالعه عبارت بودند از: گروه اول) تاثیر دارو با غلظت‌های متفاوت گرافن‌اکساید (۴۷/۶، ۹۰/۹، ۱۶۶/۶، ۲۳۰/۷، ۲۸۵/۷ و ۳۳۳/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، گروه دوم) اثر همزمان دارو و تحت تابش نور لیزر، گروه کنترل) شامل سلول‌هایی صرفا تحت تابش لیزر و گروه شاهد بدون تیمار در نظر گرفته شد. سلول‌ها در معرض تابش لیزر مرئی (۴۰۵ نانومتر) با توان ۰/۱ W/cm^2 قرار گرفتند. توان زیستی سلول‌ها با استفاده از روش MTT تعیین شد.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه با کد SBU/S.1397.46A به تصویب کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه شهید بهشتی تهران رسیده است.

یافته‌ها: نتایج آزمایشات در شرایط برون‌تنی نشان داد که سمیت تاریکی گرافن‌اکساید در غلظت‌های کمتر از ۹۰/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اثر قابل توجهی بر سلول‌های سرطانی نداشت. هم‌چنین نور لیزر به تنهایی فاقد اثر سمی بر سلول‌ها است. اما نوردرمانی پویا با واسطه گرافن‌اکساید، توان زیستی سلول‌های سرطانی را به‌طور میانگین به میزان ۲۱ درصد نسبت به سمیت تاریکی کاهش داده است. نتایج به‌صورت میانگین سه تکرار مستقل± خطای استاندارد نمایش داده شده و $p < ۰/۰۵$ معنی‌دار درنظر گرفته شده است.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، گرافن اکساید در غلظت‌های کم کاملاً زیست‌پذیر است، ولی با افزایش غلظت، اثر سمیت افزایش می یابد. با اعمال تابش نور به همراه گرافن اکساید، مقدار زنده‌مانی کاهش یافته که جهت پژوهش‌هایی در زمینه درون‌تنی اثربخشی بیشتری خواهد داشت.

تمامی حقوق انتشار این اثر، متعلق به دانشگاه علوم پزشکی اراک می‌باشد.

www.SID.ir

۱. مقدمه

سرطان یکی از بیماری‌های وخیم در سراسر جهان بوده که افراد مبتلا با چالش‌های متعددی در جهت درمان مواجه می‌باشند (۱). روش‌های متداول درمانی گوناگونی وجود دارد که هر کدام معایب خود را دارند. امروزه روش‌های درمانی به سمتی می‌روند که کمترین میزان اثر جانبی را داشته باشند. نور درمانی پویا (PDT)، روشی فتوشیمیایی و کم‌تهاجم است که آینده خوبی برای کاربردهای درمانی در سرطان‌های خاص دارد (۲). این روش مبتنی بر سه عامل نور، ماده حساس به نور و اکسیژن است؛ هیچ‌یک از این عامل‌ها به‌تنهایی سمی نیستند، اما ترکیب آن‌ها باهم باعث تولید اکسیژن یگانه (O_2^1)، با اثر سمیت سلولی می‌شود. آسیب ناشی از PDT در سلول‌های سرطانی با القای مرگ برنامه‌ریزی‌شده (آپوپتوز) از طریق مسیر سیگنال‌دهی شامل کاسپازها، اعضای خانواده Bcl-2 و فاکتور القای آپوپتوز انجام می‌شود (۳). هم‌چنین از طریق القای نکروز و خودخواری منجربه مرگ سلولی می‌شود. نتایج بسیاری از تحقیقات حاکی از آن است که این روش، غشا پایه رگ‌های خونی تومور را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۴، ۵). هم‌چنین در روش‌های متداول مثل جراحی، شیمی‌درمانی و پرتودرمانی که اغلب سبب سرکوب سیستم ایمنی می‌شوند، نور درمانی پویا باعث بیان پروتئین‌های شوک حرارتی، تهاجم و نفوذ لکوسیت‌ها به تومور و افزایش ارائه آنتی ژن T می‌شود (۶). هم‌چنین می‌تواند سبب تخریب DNA و RNA سلولی شود و بر مسیر استرس اکسیداتیو و تکثیر سلولی اثرگذار باشد. در سال‌های اخیر، روش PDT به‌طور موفقیت‌آمیزی برای درمان سرطان ریه، سرطان سر و گردن (۷) به‌کار گرفته شده است. این روش صرفا برای تومورهایی که به‌صورت موضعی و جامد باشند و هم‌چنین تومورهایی که در مرحله متاستاز نباشند و خوش‌خیم باشند به‌کار گرفته می‌شود. با توجه به عمق نفوذ محدود نور در بافت‌های زیستی مناسب‌تر است که روی بافت‌های سرطانی سطحی تمرکز شود. هرچند با انتقال نور از طریق فیبر نوری می‌تواند برای بافت‌های درون بدن نیز استفاده شود. یکی از مولفه‌های اصلی این روش، ماده حساس به نور است که در این پژوهش، گرافن‌اکساید (GO) عهده‌دار این نقش است. این ماده از یک صفحه دو بعدی و تک‌لایه گرافن تشکیل شده است که گروه‌های عاملی زیست‌پذیری مثل اپوکسی و هیدروکسیل را شامل می‌شود.GO معمولا در زیست‌پزشکی در زمینه‌های دارورسانی، درمان سرطان، تصویربرداری و سنسورهای زیستی و غیره کاربرد دارد (۸). سمیت GO با مقدار غلظت به‌کار گرفته شده برای درمان رابطه مستقیم دارد و کمتر از یک غلظت معین، اثر سمیت از خود نشان نمی‌دهد. با توجه با گروه‌های اکسیژنی فراوانی که در GO وجود دارد، می‌تواند منبع خوبی برای تولید O_2^1 باشد. لیو و همکاران از PDT به واسطه گرافن‌اکساید برای درمان سلول سرطانی U78 استفاده کردند (۹). شاهین و همکاران در مطالعه خود از PDT با واسطه کامپوزیت گرافن‌اکساید و نقره MCF-7 استفاده نمودند. نتایج آن‌ها نشان داد که سمیت این ترکیب با غلظت تغییر می‌کند و همراه با تابش نور، تعداد بیشتری از سلول‌ها از بین می‌روند (۱۰). جیانگ و همکاران از ترکیب گرافن‌اکساید با مزوپروس سیلیکا و اسید هیالورونیک برای نورگرما درمانی و افزایش اثر PDT برای سلول‌های متفاوت استفاده نمودند (۱۱). عوامل مختلفی مثل نوع و غلظت ماده حساس به نور، مدت زمان تماس دارو با سلول، منبع نوری مورد استفاده، طول موج و انرژی نور و غیره در میزان بازده و موفقیت روش PDT بسیار مؤثر هستند. بنابراین ضروری است که قبل از اجرای این روش درمانی، حالت بهینه در شرایط درون‌تنی تعیین شوند. آزمایش‌های متعددی در زمینه بررسی جنبه اثربخشی PDT با موادی هم‌چون پورفرین‌ها انجام شده است. در سال‌های اخیر، توجه بیشتری به استفاده از GO به‌عنوان ماده حساس به نور جهت بررسی نابودی رده‌های سلولی مختلف ازجمله سلول‌های سرطانی پستان انجام شده است. علت این توجه هم به‌خاطر خواص ویژه‌ای هم‌چون زیست‌پذیری و زیست‌سازگاری GO و توانایی بالای آن در اتصال به عامل‌های شیمیایی درمانی دیگر است که سبب می‌شود عوامل شیمیایی متفاوت را به‌طور همزمان بررسی کرد. بنابراین ترغیب شده‌ایم که روش PDT با GO انجام شود. هرچند لازم است که

Archive of SID
www.SID.ir

تحقیقات بیشـــتری در این زمینه صورت گیرد، به‌خصوص که اکثر روش‌ها مبتنی‌بر تابش نور لامپ‌هایی با پهنای طیفی وسیع بوده است (۱۲). در این راســـتا، هدف از این مطالعه بررســـی و مقایسه اثر غلظت‌های متفاوت GO و تاثیر اعمال تابش لیزر مرئی بر میزان سیتوتوکسیسیتی سلول‌های سرطانی (MCF-7) در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، سلول‌های سرطان پستان (MCF-7) از مرکز ذخایر ژنتیک ایران خریداری شـــدند. محیـــط کشت (DMEM high glucose)، ســـرم جنیـــن گاوی (FBS) و ۵،۴،۳ دی‌متیل‌تیازول۲-ایل۵،۲دی‌فنیل تترازولیوم (MTT)، پنی سیلین و استرپتومایسین محصول شرکت سیگما استفاده شد. مطالعه در شرایط آزمایشگاهی (برون‌تنی) انجام می‌گیرد. از لیزر پیوسته دیودی (MLL-III-12047113) ساخت کشور چین با طول موج نشری ۴۰۵ نانومتر (بنفش) و حداکثر توان خروجی ۱۰۰ میلی‌وات جهت بررسی نوردرمانی پویا استفاده شد (۱۲، ۱۳).

در این مطالعه ابتدا سوسپانســـیون سلولی MCF-7 در محیط کشـــت DMEM به همراه فســـفات بافر ســـالین (FBS) ۱۰ درصد تهیه شـــد. در هر چاهک از پلیت‌های کشـــت سلولی ۹۶ خانه‌ای، ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانســـیون سلولی (1×10^5 سلول در هر چاهک) ریخته شد و پلیت‌ها در انکوباتـــور (۳۷ درجه ســـانتی‌گراد و ۵ درصد CO2) قرار گرفتند. ۲۴ ســـاعت بعد از کشت، سلول‌ها در چهار گروه مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه‌های موردمطالعه عبارت‌اند از GO در غیاب نور (سمیت تاریکی)، تابش نور لیزر، بررسی سمیت نوری القا شده توسط PDT و گروه چهارم هم به عنوان گروه کنترل منفی در نظر گرفته شد که صرفا در محیط کشت (فاقد GO و عدم تابش نور) بود. گروه اول در تاریکی با غلظت‌های ۴۷/۶، ۹۰/۹، ۱۶۶/۶، ۲۳۰/۷، ۲۸۵/۷ و ۳۳۳/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر از GO به‌مدت ۲۴ ســـاعت انکوبه شدند. سپس میزان مرگ‌ومیر سلولی با استفاده از تست MTT بررسی گردید.

در گروه دوم جهت بررســـی اثر ســـمیت ناشی از تابش نور لیزر، در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه‌ای، ۲۰۰ میکرولیتر از این سوسپانســـیون سلولی ریخته شد. ۲۴ ساعت بعد، ســـلول‌ها با محیط کشـــت DMEM فاقد FBS تعویض و هر چاهک به مدت ۵ دقیقه در معرض نور لیزر با توان ۰/۱ W/cm^2 قرارگرفت. ســـپس محیط کشت ســـلول‌ها با محیط کشت DMEM حاوی FBS ۱۰ درصد تعویض و بعد از ۲۴ ساعت توان زیستی سلول‌ها از طریق سنجش MTT بررسی شد. در گروه سوم که برای بررسی سمیت نوری القا شده توسط PDT بود همانند گروه دوم عمل شد، ولی با این تفاوت که مثل گروه اول شامل غلظت‌های مذکور GO نیز بودند. گروه چهارم هم به عنوان گروه کنترل منفی درنظر گرفته شد که صرفا در محیط کشت (فاقد GO و عدم تابش نور) بودند. این گروه معیاری از نابودی یا رشد سلول‌ها می‌باشد.

جهت بررسی توان زیستی سلول‌ها به روش MTT، ۲۴ ساعت بعد از هر تست موردنظر، محیط رویی دور ریخته شـــد و سلول‌ها با PBS شست‌وشـــو داده شدند. سپس به هر چاهک محلول ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از محلول MTT افزوده شـــد و پلیت به‌مدت ۴ ســـاعت در انکوباتور ۳۷ درجه ســـانتی‌گراد قرار گرفت. ســـپس محتویات چاهک‌ها تخلیه و ۱۰۰ میکرولیتر محلول دی‌متیل‌سولفوکساید (DMSO) به هر چاهک اضافه شـــد (۱۳). سنجش جذب نوری مربوط به هر چاهک در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزاریدر شرکت بایوتک آمریکا (مدل Elx800) در مقایسه با جذب نوری (OD) کنترل منفی تعیین شـــد. در ایـــن مطالعه همه آزمایش‌ها ســـه‌بار تکرار شـــدند و نتایج به‌صورت میانگین ســـه بار تکرار± خطای اســـتاندارد نشان داده شد. تحلیل آماری داده‌هـــا بـــا نرم افزار GraghPad prism با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (آنوا) و تی تست انجام شـــد و داده‌ها با ارزش $p<0/05$ از نظر آماری معنی‌دار درنظر گرفته شد. برای محاسبه میزان درصد زنده ماندن از فرمول زیر استفاده شد (۱۴):

$$\text{درصد توان زیستی سلول‌ها هر چاهک} = \frac{\text{میزان OD خوانده شده سلول‌های هر چاهک}}{\text{میزان OD خوانده شده سلول‌های چاهک کنترل}} \times 100$$

Archive of SID

www.SID.ir

۳. ملاحظات اخلاقی

این مطالعه با کد SBU/S.1397.46A به تصویب کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه شهید بهشتی تهران رسیده است.

۴. یافته‌ها

اثر سمیت گرافن اکساید بدون تابش لیزر برتوان زیستی سلول‌ها

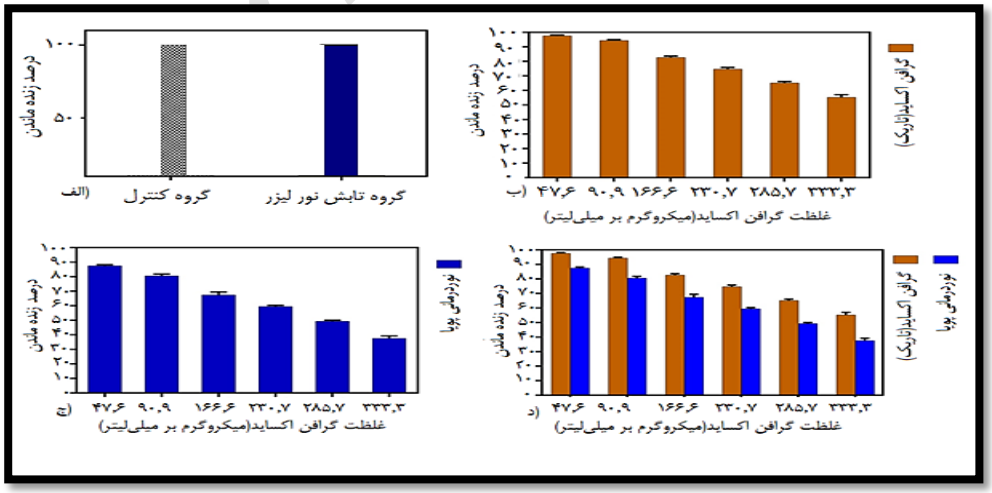
همان‌طور که در شکل ۱ (ب) نشان داده شده است، سمیت تاریکی ترکیب GO در غلظت‌های کمتر از ۹۰/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر بسیار کم می‌باشد. می‌توان این غلظت را غلظت آستانه نامید و هر غلظتی از GO که کمتر از این مقدار باشد، هیچ‌گونه اثر مخربی بر سلول‌ها ندارد. ولی با افزایش غلظت، میزان توان زیستی کاهش یافته، به‌طوری‌که در بیشینه غلظت یعنی ۳۳۳/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر به مقدار ۴۵ درصد کاهش یافته است. از این‌رو، رابطه غلظت GO با میزان مرگ‌ومیر سلولی رابطه مستقیم دارد و در مقدارهای کمتر از آستانه این ماده زیست‌پذیر است.

اثرسمیت نوری لیزر دیودی بر توان زیستی سلول‌های MCF-7

نتایج حاصل از مطالعه بر سلول‌ها (شکل ۱(الف)) بیان‌گر آن است که تابش نور لیزر با شدت نوری مورد مطالعه در شکل ۱ در بازه زمانی ارزیابی شده منجر به مرگ سلولی نمی‌شود. بنابراین در آزمایش‌ها می‌توان از اثر مخرب لیزر چشم‌پوشی کرد و این موضوع نگران‌کننده نیست.

کارایی PDT با واسطه گرافن اکساید به‌همراه تابش لیزر

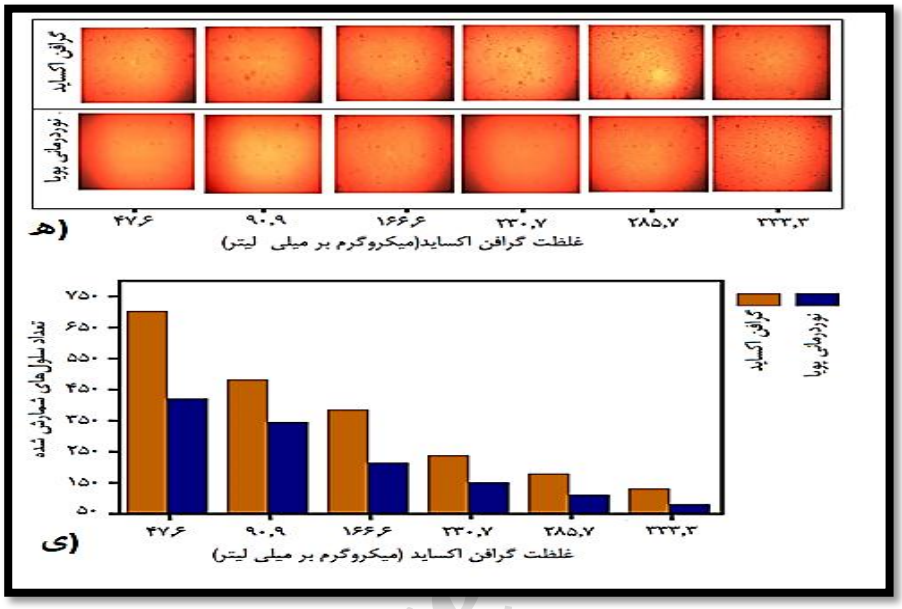
در شکل ۱(ج) نتایج آزمایش‌های PDT با استفاده از GO و لیزر نشان می‌دهد که نسبت به حالت تاریکی مرگ بیشتری وجود داشته است. با مقایسه میزان مرگ‌ومیر متوجه می‌شوید که PDT به‌طور میانگین ۲۱ درصد بیشتر سبب نابودی سلول‌ها شده است و در بیشینه غلظت، ۶۳ درصد از سلول‌ها نابود شدند. در شکل ۱(د)، نتایج مربوط به سمیت تاریکی و سمیت PDT باهم مقایسه شدند که روند نزولی میزان زنده ماندن با افزایش غلظت در هر دو کاملا مشخص است، ولی با این تفاوت که شیب این نمودار برای روش PDT بیشتر است. هم‌چنین جهت بررسی بیشتر این موضوع، آزمایش کیفی انجام شد. در این آزمایش، جهت بررسی میزان مرگ‌ومیر از روش MTT استفاده نشد. بعد از اتمام هر تست، چاهک‌ها توسط PBS شست‌وشو شدند و محیط کشت جدید ریخته شد. سپس هر چاهک توسط میکروسکوپ بررسی و عکسی از سلول‌های چسبیده به کف چاهک گرفته شد.



شکل ۱. ارزیابی سیتوتوکسیسیتی به روش MTT لیزر و گرافن اکساید بر سلول سرطانی. الف) بررسی سمیت ناشی از تابش لیزر در مقایسه با گروه کنترل منفی. ب) بررسی سمیت تاریک (بدون لیزر) GO. ج) بررسی سمیت سلول‌های تحت لیزر PDT. د) مقایسه سمیت تاریک GO و PDT.

www.SID.ir

تصاویر شکل۲(ه) از سلول چاهک‌ها در حالت زمینه روشن توسط میکروسکوپ گرفته شده که کاهش در تعداد سلول‌ها با افزایش غلظت GO و مقایسه آن با حالت PDT را نشان می‌دهد. جهت بررسی دقیق‌تر این آزمایش بصری از پردازش تصویر استفاده شد. با توجه به مساحت میانگین هر سلول، کد موردنظر در نرم‌افزار متلب نوشته شد و تعداد سلول‌های تصویر شکل۲(ه) شمارش شدند و در نمودار شکل ۲(ی) فراوانی تعداد آن‌ها نشان داده شد که همان شیب کاهشی تعداد زنده ماندن نسبت به غلظت را نشان می‌دهد و شبیه به نمودار شکل۱(د) است.



شکل ۲. بررسی تصویر سلول‌ها بعد از نور درمانی پویا. ه) عکس‌برداری زمینه روشن از سلول‌ها بعد از PDT متناسب با هر غلظت که ردیف بالایی ناشی از سمیت تاریک GO و ردیف پایین ناشی از PDT. ی) تعداد سلول‌های شمارش شده زنده در هر چاهک.

۵. بحث

در مطالعه حاضر، اثر لیزر بر بازده PDT جهت از بین بردن سلول‌های سرطانی MCF-7 بررسی شد. نتایج نشان داد که تابش نور توسط لیزر با شدت ۰/۱ W/cm^2 به‌تنهایی تأثیری بر توان زیستی سلول‌ها نداشت. داروی GO در غلظت‌های کمتر از ۹۰/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با گروه کنترل (بدون دارو) سمیت قابل توجهی را ایجاد نمی‌کند، به‌طوری که بیش از ۹۰ درصد سلول‌ها زنده ماندند. اما در غلظت ۳۳۳/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر، حدود ۴۵ درصد کاهش در توان زیستی سلول‌ها مشاهده شد. در PDT میزان مرگ‌ومیر بیشتر از حالت سمیت تاریکی بود. در غلظت‌های ۳۳۳/۳ و ۴۷/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب ۶۳/۵ و ۵/۱۲ درصد مرگ وجود داشته است. در غلظت ۹۰/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر ۹۳/۴۵ درصد سلول‌ها زنده است که با اعمال تابش نور این مقدار به ۸۰ درصد می‌رسد که غلظتی مناسب برای پژوهش‌های درون‌تنی و مواردی که پارامتر غلظت ثابت است، می‌باشد. جانگ و همکاران (۱۵) از لیزر ۸۰۸ نانومتر (۰/۸ W/cm^2) (در مدت زمان ۱۵ دقیقه) استفاده کردند که طول موج ناحیه فروسرخ سبب گرم شدن و التهاب بافت می‌شود و استفاده از توان بالا موجب می‌شود که خود نور لیزر سبب مرگ سلولی شود و افزایش مدت زمان تابش، شرایط بررسی برون تنی را سخت‌تر می‌کند؛ چرا که محیط سلولی بعد از مدتی که خارج از انکوباتور می‌ماند، اسیدی می‌شود و موجب مرگ سلولی می‌گردد که در میزان مرگ و میر سلولی خطای غیرقابل اغماضی به‌وجود می‌آورد. لیزر مورد استفاده در این پژوهش به‌گونه‌ای انتخاب شده است که هیچ‌گونه اثر گرمایی و تخریبی ندارد و میزان شدت کم و زمان تابش لیزر کوتاه است.

Archive
www.SID.ir

البیتر و همکارن (۱۶) از GO و لامپ زنون برای درمان استفاده کردند، ولی در این پژوهش از لیزری تک‌بسامدی استفاده شده که در ناحیه بیشینه جذب ماده GO است و سبب کاهش توان مورد استفاده، برانگیختگی سریع‌تر و قوی‌تر ماده حساس به نور شده است. هم‌چنین به‌خاطر واگرایی بسیار کم لیزر و استفاده از فیبر نوری، هدایت نور به داخل چاهک‌ها راحت‌تر و دقیق‌تر است. بوکزیک و همکاران در سال ۲۰۰۱ توسط PDT با ماده ALA و پرتوی UV با طول موج ۳۲۰ تا ۴۰۰ نانومتر توانستند سلول‌های فیبروبلاست پوست را به میزان زیادی از بین ببرند (۱۷). اسپوری و همکاران اثرات ALA-5 و پرتوی لیزر آرگون با طول موج ۴۰۰ نانومتر، شدت نوری ۸ J/cm^2 را بر سلول‌های سرطان تخمدانی TEC و سلول‌های اندوتلیال عروقی HUVEC در شرایط برون‌تنی بررسی کردند و نتایج بالینی خوبی را به‌دست آوردند و اعمال مستقیم ماده حساس به نور را در بهبود نتایج موثر دانستند (۱۸).

نتایج حاصل از اثر PDT با دو ماده MAL-Thermogel و ALA-Thermogel بر کارسینوم سلول بازل BCC نشان می‌دهد که در این پژوهش ۶۱ درصد از تومورهای با ALA درمان شده و ۵۸ درصد با MAL به درمان پاسخ نشان دادند. هم‌چنین میزان بازگشت ضایعه در روش ALA کمتر از MAL بوده است (۱۹). مقایسه بین روش‌های درمانی PDT با MAL و هم‌چنین اثر مواد imiquimod و fluorouracil به‌تنهایی پس از ۱۲ ماه پیگیری نشان می‌دهد که درصد پاکسازی تومور در بیماران به‌ترتیب ۷۲/۸، ۸۳/۴ و ۸۰/۱ درصد بوده است که میزان بهبود MAL نسبت به دو روش دیگر کمتر می‌باشد (۲۰). گوستاو و همکاران به بررسی سلول‌های هلا پس از تاثیر فتالوسیانین کلروآلومینیوم بر آن‌ها پرداختند. در این بررسی از نور دیود لیزری ۶۷۰ نانومتر برای فعال نمودن ماده حساس به نور استفاده شد. آنالیزها نشان‌دهنده مرگ سلولی به علت ایجاد تغییرات مشاهده‌شده در پتانسیل غشای اسکلت سلولی و شبکه آندوپلاسمی بود (۲۱). رابرتسون و همکاران در سال ۲۰۰۹ PDT وابسته به تمایز را در سلول‌های ملانومایی B16 بررسی کردند. این محققان از دو ترکیب بوتیرات و هگزامتیلن‌بیس‌استامید به‌عنوان عامل القاکننده تمایز استفاده کرده و گزارش نمودند که کارایی PDT با استفاده از آمینوولولنیک اسید می‌تواند با کاربرد ابعاد ترکیب درمانی افزایش یابد (۲۲).

۶. نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق بیان‌گر مؤثر بودن این روش در کاهش و مهار رشد سلول‌های سرطانی پستان رده MCF-7 می‌باشد. سمیت GO با افزایش غلظت زیاد می‌شود و کمتر از یک غلظت خاصی کاملا زیست‌پذیر است. تابش نور لیزر ۴۰۵ نانومتر بر سلول‌ها هیچ‌گونه اثر مخربی ندارد و تنها زمانی که با ماده حساس به نور GO همراه می‌شود، قادر به نابودی سلول‌ها می‌شود. لیزرهای متناسب که توانایی بالایی برای برانگیختن نوری GO دارند، متعاقبا مرگ بیشتری برای سلول‌های سرطانی در پی خواهند داشت. می‌توان با استفاده از مواد پلیمری، آپتامر، آنتی‌بادی و غیره میزان سمیت را کاهش داد و با هدف‌مند کردن GO، مقدار داروی بیشتری جذب سلول نمود که برای انجام ازمایش در شرایط درون‌تنی و بالینی مناسب‌تر شود. هم‌چنین می‌توان میزان وابستگی سمیت گرافن اکساید با اندازه ذرات GO را بررسی کرد.

۷. تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله، از حمایت‌ها و همکاری دانشکده علوم و فن‌آوری زیستی و دانشکده فیزیک برای انجام این پروژه کمال تشکر و سپاس‌گزاری را دارند. این تحقیق حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد و دانشگاه شهید بهشتی حامی مالی آن بوده است.

۸. سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادات کمیته بین المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

۹. تضاد منافع

بدین‌وسیله نویسندگان تصریح می‌نمایند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

Archive of SID
www.SID.ir

References

1. Soleimani N, Farhangi B, Yaraki MT. The Effect of Recombinant HopH Protein of Helicobacter pylori on the VEGF Expression in Metastatic Breast Cancer Model. Acta Medica Iranica. 2017:744-50.
2. Yoo J-O, Ha K-S. 4 ,"New Insights into the Mechanisms for Photodynamic Therapy-Induced Cancer Cell Death". IntRev Cell Mol Biol. 2012; 295-139.
3. Moserova I, Kralova J. Role of ER stress response in photodynamic therapy: ROS generated in different subcellular compartments trigger diverse cell death pathways. PloS one. 2012; 7(3):e32972.
4. Andrzejak M, Price M, Kessel DH. Apoptotic and autophagic responses to photodynamic therapy in 1c1c7 murine hepatoma cells. Autophagy. 2011; 7(9):979-84.
5. Gyenge EB, Hiestand S, Graefe S, Walt H, Maake C. Cellular and molecular effects of the liposomal mTHPC derivative Foslipos in prostate carcinoma cells in vitro. Photodiagnosis and photodynamic therapy. 2011; 8(2):86-96.
6. Schweitzer VG. Photodynamic therapy for treatment of head and neck cancer. Otolaryngology—Head and Neck Surgery. 1990; 102(3):225-32.
7. Wenig BL, Kurtzman DM, Grossweiner LI, Mafee MF, Harris DM, Lobraico RV, Prycz RA, Appelbaum EL. Photodynamic therapy in the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck. Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery. 1990; 116(11):1267-70.
8. Zhou L, Jiang H, Wei S, Ge X, Zhou J, Shen J. High-efficiency loading of hypocrellin B on graphene oxide for photodynamic therapy. Carbon. 2012; 50(15):5594-604.
9. Liu J, Liu K, Feng L, Liu Z, Xu L. Comparison of nanomedicine-based chemotherapy, photodynamic therapy and photothermal therapy using reduced graphene oxide for the model system. Biomaterials science. 2017; 5(2):331-40.
10. Shaheen F, Hammad Aziz M, Fakhar-e-Alam M, Atif M, Fatima M, Ahmad R, Hanif A, Anwar S, Zafar F, Abbas G, Ali S. An in vitro study of the photodynamic effectiveness of GO-ag nanocomposites against human breast Cancer cells. Nanomaterials. 2017; 7(11):401.
11. Jiang W, Mo F, Jin X, Chen L, Xu LJ, Guo L, Fu F. Tumor-Targeting Photothermal Heating-Responsive Nanoplatform Based on Reduced Graphene Oxide/Mesoporous Silica/Hyaluronic Acid Nanocomposite for Enhanced Photodynamic Therapy. Advanced Materials Interfaces. 2017; 4(20): 1700425.
12. Yousofi A, Daneshmandi S, Soleimani N, Bagheri K, Karimi MH. Immunomodulatory effect of Parsley (Petroselinum crispum) essential oil on immune cells: mitogen-activated splenocytes and peritoneal macrophages. Immunopharmacology and Immunotoxicology. 2012; 34(2):303-8.
13. Soleimani N, Mohabati Mobarez A, Teymournejad O, Borhani K. Cytotoxicity Effect of Recombinant Outer Membrane Inflammatory Protein (oipA) of Helicobacter pylori on a Breast Cancer Cell line. Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology. 2014: 17 (3), 57-66.
14. Daneshmandi S, Hajimoradi M, Soleimani N, Sattari M. Modulatory effect of Acetobacter xylinum cellulose on peritoneal macrophages. Immunopharmacology and immunotoxicology. 2011: 33 (1), 164-168.
15. Jang Y, Kim S, Lee S, Yoon CM, Lee I, Jang J. Graphene oxide wrapped SiO2/TiO2 hollow nanoparticles loaded with photosensitizer for photothermal and photodynamic combination therapy. Chemistry–A European Journal. 2017; 23(15):3719-27.
16. Albiter E, Alfaro S, Valenzuela MA. Photosensitized oxidation of 9, 10-dimethylanthracene with singlet oxygen by using a safranin O/silica composite under visible light. Photochemical & Photobiological Sciences. 2015; 14(3):597-602.
17. Buchczyk DP, Klotz LO, Lang K, Fritsch C, Sies H. High efficiency of 5-aminolevulinate-photodynamic treatment using UVA irradiation. Carcinogenesis. 2001; 22(6):879-83.
18. Spörri S, Chopra V, Egger N, Hawkins HK, Motamedi M, Dreher E, Schneider H. Effects of 5-aminolaevulinic acid on human ovarian cancer cells and human vascular endothelial cells in vitro. Journal of photochemistry and Photobiology B: Biology. 2001; 64(1):8-20.
19. Schleier P, Berndt A, Kolossa S, Zenk W, Hyckel P, Schultze-Mosgau S. Comparison of aminolevulinic acid (ALA)-thermogel-PDT with methyl-ALA-thermogel-PDT in basal cell carcinoma. Photodiagnosis and photodynamic therapy. 2007; 4(3):197-201.

Archive of SID

www.SID.ir

20. Arits AH, Mosterd K, Essers BA, Spoorenberg E, Sommer A, De Rooij MJ, van Pelt HP, Quaedvlieg PJ, Krekels GA, van Neer PA, Rijzewijk JJ. Photodynamic therapy versus topical imiquimod versus topical fluorouracil for treatment of superficial basal-cell carcinoma: a single blind, non-inferiority, randomised controlled trial. The lancet oncology. 2013; 14(7):647-54.
21. Maftoum-Costa M, Naves KT, Oliveira AL, Tedesco AC, da Silva NS, Pacheco-Soares C. Mitochondria, endoplasmic reticulum and actin filament behavior after PDT with chloroaluminum phthalocyanine liposomal in HeLa cells. Cell biology international. 2008; 32(8):1024-8.
22. Robertson CA, Evans DH, Abrahamse H. Photodynamic therapy (PDT): a short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2009; 96(1):1-8.

Archive of SID

www.SID.ir