DOI: 10.48305/jims.v40.i669.0272

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهلم/شماره‌ی ۶۶۹/هفته‌ی اول تیر ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۴ تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۴/۷

# ارزیابی خاصیت ضد سرطانی درمان جدید پلاسمای اتمسفری سرد با حساس‌کننده‌ی نوری ایندوسیانین گرین در مهار سلول‌های ملانوما

سارا مومنی[۱]، احمد شانئی[۲]، آمنه سازگارنیا[۳]، ندا عطاران[۴]، سید امیر آل داود[۵]

مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** ملانوما، یکی از کشنده‌ترین سرطان‌های پوست می‌باشد که اثربخشی درمان‌های رایج بر روی آن، چشمگیر نمی‌باشد. پلاسمای اتمسفری سرد، راهکاری جدید در درمان سرطان محسوب می‌شود. این مطالعه با هدف ارزیابی اثر فوتودینامیک پلاسمای سرد در حضور حساس‌کننده‌ی نوری ایندوسیانین گرین بر رده‌ی سلولی ملانوما انجام شد.

**روش‌ها:** در این مطالعه، از دستگاه پلاسما با گاز هلیوم در حضور ایندوسیانین گرین جهت تیمار رده‌ی سلولی ملانوما (DFW) استفاده شد. بدین منظور، ابتدا غلظت بهینه‌ی ایندوسیانین گرین پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون با استفاده از تست MTT مشخص گردید. سپس سلول‌ها با و بدون حضور ایندوسیانین گرین تحت تابش پلاسمای سرد در زمان‌های مختلف ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ ثانیه قرار گرفتند. درصد بقای سلول‌ها ۴۸ ساعت بعد از درمان با پلاسمای سرد با استفاده از آزمون MTT ارزیابی شدند.

**یافته‌ها:** درمان پلاسمای سرد اثر سمیتی وابسته به زمان ایجاد می‌کند. درصد بقای سلول‌های تیمار شده با پلاسمای سرد در حضور ایندوسیانین گرین به طور معنی‌داری نسبت به سلول‌های تیمار نشده کاهش یافت. بیشترین کاهش درصد بقا در گروه درمانی، ۹۰ ثانیه پلاسمای سرد و غلظت ۲۰ میکرومولار (Indocyanine green) ICG مشاهده گردید.

**نتیجه‌گیری:** مطالعه‌ی حاضر، خاصیت ضدسرطانی پلاسمای اتمسفری سرد را در درمان سلول‌های ملانوما تأیید کرد. همچنین نشان داد که پلاسما می‌تواند جایگزین مناسبی در درمان فوتودینامیک باشد و ایندوسیانین گرین حساس‌کننده‌ی نوری مناسبی در درمان با پلاسما خواهد بود.

**واژگان کلیدی:** ملانوما؛ فوتودینامیک تراپی؛ پلاسمای سرد؛ ایندوسیانین گرین

**ارجاع:** مومنی سارا، شانئی احمد، سازگارنیا آمنه، عطاران ندا، آل داود سید امیر. **ارزیابی خاصیت ضد سرطانی درمان جدید پلاسمای اتمسفری سرد با حساس‌کننده‌ی نوری ایندوسیانین گرین در مهار سلول‌های ملانوما.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۶۹): ۲۷۷-۲۷۲

## مقدمه

ملانوما، یکی از شایع‌ترین انواع سرطان پوست و ناشی از رشد بدخیم سلول‌های ملانوسیت است. ملانوما در رده‌ی سرطان‌های پوست، از کشنده‌ترین انواع سرطان‌ها بوده و با وجود جزئی از ۳ درصد از کل سرطان پوست، میزان مرگ و میر بالایی داشته و حدود ۷۵ درصد از مرگ و میرهای ناشی از سرطان پوست را شامل می‌شود (۱).

روش‌های درمان ملانوما بسته به مرحله‌ی بیماری می‌تواند جراحی، شیمی‌درمانی، پرتودرمانی و یا ترکیبی از آن‌ها باشد. با وجود پیشرفت‌های اخیر در درمان سرطان، ملانوما به خاطر مقاومت پرتوی، دارویی، متاستاز بالا و از طرف دیگر، عملکرد غیر انتخابی روش‌های رایج درمان، به سختی درمان می‌گردد. لذا محققان به دنبال یافتن درمان‌های جایگزین و یا ترکیبی همراه با کارآیی بالا و عوارض

۱- دانشجوی دکترای تخصصی فیزیک پزشکی، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، اصفهان، ایران

۲- استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، مرکز تحقیقات فیزیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۴- استادیار، گروه نانوتکنولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات بیوفوتونیک، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۵- دانشیار، گروه انکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

**نویسنده‌ی مسؤول:** احمد شانئی: استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: shanei@med.mui.ac.ir

جانبی کمتر می‌باشند. از جمله این درمان‌ها می‌توان به درمان فوتودینامیک که روشی غیرتهاجمی است، اشاره کرد (۲). در این روش از یک حساس‌کننده‌ی نوری و یک منبع نور با طول موج مناسب مانند لیزر جهت فعال‌سازی حساس‌کننده استفاده می‌گردد که البته با مشکلاتی از جمله محدودیت در درمان تومورهای عمقی، ایجاد هایپوکسی در تومور به سبب آسیب عروقی و آسیب به بافت‌های سالم اطراف تومور به علت عدم انتخاب‌پذیری همراه می‌باشد (۳).

پلاسمای اتمسفری سرد (Cold atmospheric plasma) CAP به عنوان روشی جدید در درمان سرطان در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است که می‌تواند عوارض درمان فوتودینامیک را رفع و حتی جایگزین مناسبی گردد، جهت اثبات این مدعا Wang و همکاران از حساس‌کننده‌ی نوری PPIX (٤) و Karami و همکاران از 5-ALA (٥) در درمان با CAP استفاده نمودند و به نتایج قابل قبولی دست یافتند.

پلاسما، حالتی از ماده است که در دمای بسیار بالا به وجود می‌آید و در این وضعیت ساختار مولکولی خود را از دست می‌دهد. پلاسما، گازی یونیزه شامل ذرات باردار، یون، اتم، رادیکال آزاد و مولکول‌های برانگیخته می‌باشد که دائم در حال برهم‌کنش با یکدیگر هستند و به دو نوع پلاسمای سرد و گرم تقسیم می‌گردد. پلاسمای سرد با تخلیه‌ی الکتریکی تولید شده و کاربرد درمانی دارد (٦). علاوه بر این، قابلیت تولید رادیکال‌های آزاد و اثرات ضد سرطانی آن به اثبات رسیده است؛ به این صورت که رادیکال‌های تولید شده توسط پلاسما با تغییر نسبت بیان ژن‌های BAX/BCL-2 سلول را در مسیر آپپتوز سلولی قرار می‌دهند (۷).

Young و همکاران اثر پلاسمای سرد را بر روی رده‌های سلولی کارسینومای ریه بررسی کردند و نشان دادند که این نوع پلاسما، اثرات ضد تکثیری و القای آپپتوزی دارد (۸).

ایندوسیانین گرین (Indocyanine green) ICG، یک حساس‌کننده‌ی نوری مناسب در PDT (Photodynamic therapy) و مورد تأیید سازمان غذا و داروی آمریکا (Food and Drug Administration) FDA به علت حداقل سمیت و ایمنی بالا می‌باشد (۹). علاوه بر این، موارد طیف جذبی نسبتاً پهنی در ناحیه‌ی مرئی و فروسرخ نزدیک ایجاد می‌کند که مطابقت بسیار خوبی با طول موج‌های گسیلی پلاسمای سرد خواهد داشت. لذا در این مطالعه، ICG به عنوان حساس‌کننده‌ی نوری و پلاسمای اتمسفری سرد هلیوم، به عنوان منبع نوری جدید در درمان فوتودینامیک مورد استفاده قرار خواهد گرفت. در این مطالعه سعی بر آن بوده است که به بررسی تأثیر درمانی پلاسمای اتمسفری با و بدون حضور حساس‌کننده‌ی نوری ICG بر روی رده‌ی سلولی DFW در شارش زمان‌های مختلف بپردازیم.

## روش‌ها

این مطالعه‌ی درون آزمایشگاهی، طی فروردین تا شهریور ماه ١٤٠٠ در مرکز تحقیقات فیزیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد.

*رده‌ی سلولی و شرایط کشت آن‌ها:* سلول‌های سرطانی ملانوما رده‌ی DFW از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط کشت RPMI-1640 و ١٠ درصد FBS (Fetal bovine serum) در دمای ٣٧ درجه‌ی سانتی‌گراد و ٥ درصد $CO_2$ نگهداری شدند. محیط کشت، هر ٤٨ ساعت تعویض گردید.

RPMI-1640 و FBS از شرکت Gibco، Trypsin-EDTA، MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) و Trypan blue از شرکت Sigma Aldrich و ICG از شرکت Merck خریداری شدند.

*مشخصات دستگاه پلاسمای سرد:* دستگاه پلاسمای مورد استفاده در پژوهش حاضر، پلاسما جت اتمسفری سرد می‌باشد که از جمله مزایای آن کاربری آسان، قیمت اقتصادی مناسب، سرعت بالا و باریک بودن نازل است، به طوری که شارش سوزنی آن امکان دسترسی پلاسما به کل فضای چاهک را ایجاد می‌کرد. برای ایجاد پلاسمای سرد، از گاز سبک هلیوم با خلوص ٩٩/٩٩ درصد استفاده شد. برای ایجاد میدان الکتریکی از یک منبع تغذیه با ولتاژ ورودی ٢٢٠ ولت شهری و خروجی ١٣ کیلوولت پیک تو پیک استفاده گردید. مخلوط گاز با فشار ٥-٤ لیتر در دقیقه وارد نازل دستگاه شد و در مجاورت سیم‌پیچ درون لوله‌ی پیرکس در حضور میدان الکتریکی، به پلاسما تبدیل و از نازل به رنگ بنفش پررنگ خارج گردید.

*طیف جذب پلاسما و ICG:* به منظور شناسایی محتوای خروجی CAP از دستگاه اسپکتروسکوپی نشری نوری (Optical emission spectroscopy) OES ساخت کشور هلند در طول موج‌های ٣٠٠ تا ١٠٠٠ نانومتر استفاده شد. همچنین جهت اندازه‌گیری طیف جذب ICG از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Visible ساخت شرکت UNICO آمریکا مدل UV-2100 در طول موج‌های ٤٠٠ تا ٨٥٠ نانومتر استفاده گردید.

*تست سمیت ICG:* زمانی که تراکم سلولی به ٨٠ درصد در هر فلاسک رسید، سلول‌ها تریپسینه (Trypsinization) و از کف فلاسک جدا شدند و با استفاده از رنگ تریپان‌بلو، لام نئوبار و میکروسکوپ نوری، تعداد $1\times10^4$ سلول به ازای هر چاهک پلیت ٩٦ خانه شمارش شده و درصد بقای سلولی تعیین شد. پس از ٤٨ ساعت انکوباسیون، سلول‌ها با غلظت‌های ٠، ٥، ١٠، ٢٠، ٤٠ و ٦٠ میکرومولار از ICG به مدت ٢٤ ساعت انکوبه و پس از

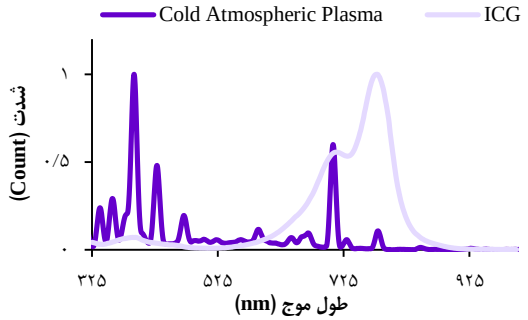
شستشوی سلول‌ها، درصد بقاء با آزمون MTT تعیین گردید.

*بررسی اثر پلاسمای سرد بر روی سلول‌ها با و بدون حضور ICG:* سلول‌ها پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون با غلظت‌های ۰، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار از ICG به عنوان گروه‌های درمانی، دو مرتبه با PBS شستشو داده شدند و سپس ۱۰۰ میکرولیتر محیط ۳ درصد به هر چاهک افزوده شد و سلول‌ها با و بدون حضور ICG تحت تابش CAP در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ ثانیه قرار گرفتند. فاصله‌ی پروب پلاسما جت تا کف چاهک ۲cm تنظیم شد. پس از اتمام درمان، مجدداً ۱۰۰ میکرولیتر محیط ۱۷درصد به هر چاهک افزوده شد تا غلظت نهایی ۱۰ درصد FBS به دست بیاید. در نهایت تست MTT پس از ۴ ساعت انکوباسیون بر روی آن‌ها انجام گرفت. برای هر گروه حداقل سه بار تکرار در نظر گرفته شد.

*سنجش بقای سلولی با استفاده از MTT:* جهت بررسی درصد بقای سلول‌های هدف با پلاسما و کنترل از آزمون MTT (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide) استفاده شد. در این روش، رنگ زرد تترازولیوم (Tetrazolium) محلول در آب توسط سوکسینات دهیدروژناز (Succinate dehydrogenase) میتوکندری سلول‌های زنده و فعال، احیاء و به ترکیب رنگی فورمازان نامحلول تبدیل می‌شود. این رنگ با حلال آلی DMSO (Dimethyl sulfoxide) حل شده و شدت رنگ در طول موج ۵۷۰ نانومتر متناسب با میزان سلول‌های زنده سنجیده می‌شود. بر این اساس، ۱۰۰ میکرولیتر محیط RPMI و ۱۰ میکرولیتر محلول MTT به هر چاهک پلیت افزوده شد. پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه و محیط تاریک برای تشکیل کریستال‌های فورمازان انکوبه گردیدند. در مرحله‌ی بعد، محیط رویی هر چاهک خارج شده و ۲۰۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک افزوده شد. جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر به وسیله‌ی دستگاه ELISA reader (AWARENESS) مدل ۳۲۰۰، اندازه‌گیری و درصد بقای سلولی در هر نمونه در مقایسه با گروه شاهد محاسبه گردید. نتایج حاصل توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) و روش آماری آنالیز واریانس (ANOVA) در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تحلیل شد.

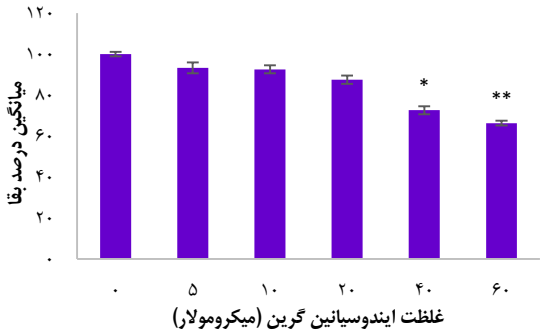
## یافته‌ها

*طیف جذب گسیلی پلاسما و ICG:* طیف پلاسمای سرد و ایندوسیانین گرین با استفاده از اسپکتروفوتومتر UV-Visible و اسپکترومتر اندازه‌گیری شده در شکل ۱ نشان داده شده است.




**شکل ۱. هم‌پوشانی قله‌ی جذب ICG (Indocyanine green) و قله‌ی نشر مولد پلاسمای اتمسفری سرد با گاز هلیوم**

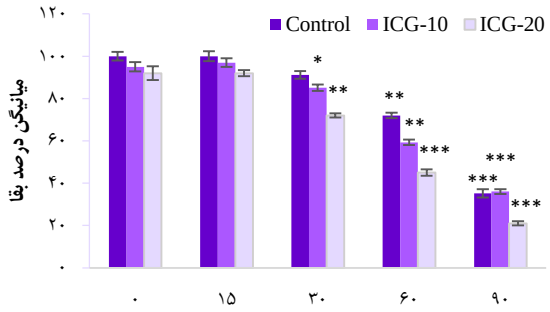
*اثر سمیت ICG بر سلول‌های ملانوما:* نتایج تست MTT برای سلول‌های DFW با غلظت‌های مختلف ICG در شکل ۲، نشان دهنده‌ی کاهش بقای سلول‌ها با افزایش غلظت ICG می‌باشد. به طوری که در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میکرومولار، درصد بقای سلول‌ها به ترتیب ۹۳، ۹۲، ۸۶، ۷۲ و ۶۶ درصد اندازه‌گیری گردید. به این ترتیب غلظت $IC_{10}$ و $IC_{15}$ (غلظتی که به ترتیب منجر به ۱۰ و ۱۵ درصد مرگ و میر در سلول‌های کشت داده شده می‌گردد) از داروی ICG در حدود ۱۰ و ۲۰ میکرومولار به دست آمد که به عنوان غلظت بهینه جهت درمان با پلاسما انتخاب گردیدند.




**شکل ۲. میانگین و انحراف معیار درصد بقاء سلول‌ها با غلظت‌های مختلف ایندوسیانین گرین (**: P < ۰/۰۱، *: P < ۰/۰۵)**

*اثر سمیت پلاسما در حضور ICG بر روی سلول‌های سرطانی ملانوما:* میزان بقای سلول‌های ملانوما در زمان‌های مختلف تابش‌دهی با پلاسما و غلظت‌های مختلف ICG در شکل ۳ نشان داده شده است. از مقایسه‌ی بقای سلول‌ها در زمان تابش ۱۵ ثانیه اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد (P > ۰/۰۵) ولی با افزایش زمان تابش پلاسما، درصد بقای سلول‌ها کاهش معنی‌داری پیدا کرد به گونه‌ای که پس از ۹۰ ثانیه درمان در گروه بدون دارو، درصد بقا به ۳۵ درصد رسید (P < ۰/۰۵). همچنین میزان بقاء سلول‌ها در درمان

پلاسما با حضور ICG نسبت به گروه بدون دارو، کاهش معنی‌داری پیدا کرد که این نتیجه می‌تواند مهر تأییدی بر حساس‌کنندگی نوری ICG در درمان فوتودینامیک با پلاسمای سرد باشد. این کاهش بقا با افزایش میزان غلظت ICG به ۲۰ میکرومولار و زمان درمان ۹۰ ثانیه به بیشترین میزان یعنی ۲۱ درصد رسیده است که دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد می‌باشد ($P < ۰/۰۱$) (شکل ۳).




**شکل ۳. میانگین و انحراف معیار درصد بقاء سلول‌ها در غلظت‌های مختلف ICG (Indocyanine green) و زمان‌های مختلف تابش پلاسمای سرد**
**(***: $P < ۰/۰۰۱$، **: $P < ۰/۰۱$، *: $P < ۰/۰۵$)**

## بحث

مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی خاصیت ضد سرطانی درمان با پلاسمای اتمسفری سرد هلیوم و همچنین اثرات فوتودینامیک آن با استفاده از حساس‌کننده‌ی نوری ICG بر روی رده‌ی سلولی ملانوما می‌باشد. ملانوما، یکی از کشنده‌ترین انواع سرطان‌های پوست محسوب می‌شود که نسبت به درمان‌های رایج نیز بسیار مقاوم است. محققان به دنبال یافتن درمان‌های جایگزین و یا مکمل با کارآیی بالاتر و عوارض جانبی کمتر می‌باشند. فوتودینامیک‌تراپی یکی از درمان‌های غیر تهاجمی است که در کنار مزایای فراوان با مشکلاتی از جمله محدودیت در درمان تومورهای عمقی، ایجاد هایپوکسی در تومور به سبب آسیب عروقی و آسیب به بافت‌های سالم اطراف تومور به علت عدم انتخاب‌پذیری درمان همراه می‌باشد (۳). پلاسمای اتمسفری سرد به عنوان روشی جدید در درمان سرطان در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است که می‌تواند عوارض درمان فوتودینامیک را رفع و حتی جایگزین مناسبی گردد. ماهیت پلاسما به خاطر وجود رادیکال‌های آزاد فراوان می‌تواند منجر به مرگ سلول‌های توموری گردد (۱۰) و تفاوت در عملکرد سلول‌های سالم و تومور در مکانیسم آنتی‌اکسیدانی سبب انتخاب‌پذیری بیشتر درمان پلاسمای سرد گردیده است. علاوه بر آن می‌توان به استفاده از روش غیرمستقیم جهت درمان تومورهای عمقی‌تر استفاده نمود (۱۱).

با توجه به شکل ۳، در درمان سلول‌ها بدون حضور ICG، یک روند نزولی در درصد بقای سلول‌ها با افزایش زمان تابش پلاسما مشاهده می‌گردد که در زمان‌های ۱۵ و ۳۰ ثانیه تابش پلاسما، این تفاوت معنی‌دار نبوده است ولی در زمان‌های بالاتر ۶۰ و ۹۰ ثانیه به ترتیب درصد بقای سلول‌ها کاهشی در حدود ۷۲ و ۳۵ درصد داشته است.

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، پیک نشری پلاسمای سرد هلیوم و حساس‌کننده‌ی نوری ICG، مطابقت خوبی باهم دارند و با توجه به نتایج این مطالعه مشخص شده است، ICG سبب مهار رشد سلول‌های ملانوما و افزایش اثرات پلاسمای سرد می‌گردد. روند کاهشی درصد بقای سلول‌ها در درمان پلاسما در حضور ICG نمود بیشتری پیدا کرد، طوری که در غلظت ۱۰ میکرومولار و ۳۰ ثانیه تابش پلاسما تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده گردید که با افزایش زمان تابش، این تفاوت بیشتر شد. با افزایش غلظت ICG به ۲۰ میکرومولار، میزان بقا نسبت به گروه شاهد و غلظت کمتر، کاهش معنی‌داری در درصد بقای سلول‌ها اندازه‌گیری شد. در این غلظت پس از ۶۰ ثانیه تابش پلاسما باعث کاهش بقای سلول‌ها به کمتر از ۵۰ درصد منجر گردید و پس از ۹۰ ثانیه به ۲۱ درصد کاهش یافت که این نتایج مطابقت خوبی با نتایج مطالعه‌ی Vejdani Noghreiyan و همکاران داشت (۱۲)؛ لذا پلاسمای سرد به همراه ICG در مقایسه با سایر داروهای ضدتوموری مانند دی سولفیرام و یا ایزوفلاون جنیستئین که معمولاً حداکثر ۳۰ درصد سلول‌ها را دچار آپپتوز می‌کنند، کارآیی بسیار بالاتری دارد (۱۳). به علاوه در مقایسه‌ی درمان پلاسما در بازه‌ی زمانی مشابه ولی بدون حضور ICG، تأثیر سمیت کمتری مشاهده گردید که این اثباتی بر اثر فوتودینامیک در درمان با پلاسمای سرد است که ICG به عنوان یک حساس‌کننده‌ی نوری مناسب در افزایش اثربخشی این درمان مؤثر می‌باشد. با این وجود، مکانیسم‌های مولکولی سمیت پلاسما، بررسی اثر سایر حساس‌کننده‌های نوری در درمان با پلاسما و توانایی انتخاب‌پذیری آن نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

## نتیجه‌گیری

در این مطالعه، به منظور مهار عوامل محدودکننده‌ی کارآیی فتودینامیک‌تراپی و در راستای بهبود روش‌های درمانی سرطان ملانوما، مطالعه بر روی اثر فتودینامیک ICG در درمان با پلاسمای اتمسفری سرد بر روی رده‌ی سلولی DFW طراحی شد. نتایج حاکی از آن بود که پلاسمای سرد، خاصیت ضد سرطانی ایجاد می‌کند و این اثر با افزایش زمان تابش تقویت می‌گردد. همچنین افزایش اثربخشی درمان در حضور حساس‌کننده‌ی نوری ICG اثباتی بر اثر فوتودینامیک ناشی از درمان پلاسمای سرد می‌باشد، لذا می‌توان از آن

به عنوان منبع نوری جدیدی در درمان فوتودینامیک استفاده نمود که مزایای بیشتر و عوارض کمتری نسبت به سایر منابع لیزری ایجاد خواهد کرد. فرایندهای مؤثر در بهبود کارآیی درمان مورد مطالعه را می‌توان شامل تأثیر مستقیم پلاسما به واسطه‌ی تولید رادیکال‌های آزاد و اثر فوتودینامیک حاصل از ICG با استفاده از منبع نوری پلاسمای هلیوم دانست. به طور خلاصه، این مطالعه شواهد اولیه‌ی مؤثری در مورد درمان CAP با ICG را ارائه می‌دهد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دکترای تخصصی فیزیک پزشکی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره پایان‌نامه‌ی ۳۹۹۸۲۵ می‌باشد. کلیه‌ی مراحل این مطالعه در دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام گردیده است. بدین‌وسیله از سرکار خانم سودمند کارشناس مرکز تحقیقات فیزیک پزشکی مشهد که در انجام این پژوهش همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

## References

1. Steglich RB, de Paula Alves Coelho KM, Cardoso S, da Costa Naumann Gaertner MH, Cestari TF, Franco SC. Epidemiological and histopathological aspects of primary cutaneous melanoma in residents of Joinville, 2003-2014. An Bras Dermatol 2018; 93(1): 45-53.
2. Lo PC, Rodríguez-Morgade MS, Pandey RK, Ng DKP, Torres T, Dumoulin F. The unique features and promises of phthalocyanines as advanced photosensitisers for photodynamic therapy of cancer. Chem Soc Rev 2020; 49: 1041-56.
3. Lin L, Wang L, Liu Y, Xu C, Tu Y, Zhou J. Non-thermal plasma inhibits tumor growth and proliferation and enhances the sensitivity to radiation in vitro and in vivo. Oncol Rep 2018; 40(6): 3405-15.
4. Wang M, Geilich BM, Keidar M, Webster TJ. Killing malignant melanoma cells with protoporphyrin IX-loaded polymersome-mediated photodynamic therapy and cold atmospheric plasma. Int J Nanomedicine 2017; 12: 4117-27.
5. Karami-gadallo L, Ghoranneviss M, Ataie-fashtami L, Pouladian M. Author's Accepted Manuscript. Clin Plasma Med 2017; 17: 4007
6. von Woedtke T, Schmidt A, Bekeschus S, Wende K, Weltmann KD. Plasma medicine: A field of applied redox biology. In Vivo 2019; 33(4): 1011-26.
7. Almeida-ferreira C, Silva-teixeira R, Gonçalves AC, Marto CM, Sarmento-Ribeiro AB, Caramelo F, et al. Cold atmospheric plasma apoptotic and oxidative effects on MCF7 and HCC1806 human breast cancer cells Int J Mol Sci 2022; 23(3): 1698.
8. Kim JY, Ballato J, Foy P, Hawkins T, Wei Y, Li J, et al. Biosensors and Bioelectronics Apoptosis of lung carcinoma cells induced by a flexible optical fiber-based cold microplasma. Biosens Bioelectron 2011; 28(1): 333-8.
9. Caesar J, Shaldon S, Chiandussi L, Guevara L, Sherlock S. The use of indocyanine green in the measurement of hepatic blood flow and as a test of hepatic function. Clin. Sci 1961; 21: 43-57.
10. Schuster M, Rutkowski R, Hauschild A, Shojaei RK, von Woedtke T, Rana A, et al. Side effects in cold plasma treatment of advanced oral cancer—Clinical data and biological interpretation. Clin Plasma Med 2018; 10: 9-15.
11. Saadati F, Mahdikia H, Abbaszadeh HA, Abdollahifar MA, Khoramgah MS, Shokri B. Comparison of direct and indirect cold atmospheric-pressure plasma methods in the $B_{16}$ $F_{10}$ melanoma cancer cells treatment. Sci Rep 2018; 8(1): 7689.
12. Vejdani Noghreiyan A, Imanparast A, Shayesteh Ara E, Soudmand S, Vejdani Noghreiyan V, Sazgarnia A. In-vitro investigation of cold atmospheric plasma induced photodynamic effect by Indocyanine green and Protoporphyrin IX. Photodiagnosis Photodyn Ther 2020; 31: 101822.
13. Weiss M, Gümbel D, Hanschmann EM, Mandelkow R, Gelbrich N, Zimmermann U, et al. Cold atmospheric plasma treatment induces anti-proliferative effects in prostate cancer cells by redox and apoptotic signaling pathways. PLoS One 2015; 10(7): e0130350.

DOI: *10.48305/jims.v40.i669.0272*

**Journal of Isfahan Medical School** **Vol. 40, No. 669, 1st Week, July 2022**

Received: 05.02.2022 Accepted: 05.03.2022 Published: 28.06.2022

# Evaluation of Anti-Cancer Effect of Cold Atmospheric Plasma as a New Treatment and Indocyanine Green as a Photosensitizer in Inhibition of Melanoma Cell Line

Sara Momeni[1], Ahmad Shanei[2], Ameneh Sazgarnia[3], Neda Attaran[4], Seyed Amir Aledavood[5]

**Original Article**

## Abstract

**Background:** Melanoma is one of the deadliest types of skin cancers. The efficacy of current treatments is not significant. Cold atmospheric plasma (CAP) is a new modality for cancer treatment. This study aimed to evaluate the photodynamic effects of Indocyanine green in cold plasma on melanoma cell line.

**Methods:** In this study, helium based cold plasma and Indocyanine green were used to treat DFW cells. In this respect, at first the optimal concentration of Indocyanine green was determined by MTT test after an overnight incubation. Then cells were treated to cold plasma with and without Indocyanine green in different times such as 15, 30, 60 and 90 s. The cell survival rate was evaluated by MTT test 48 h after CAP treatment.

**Findings:** Cold plasma treatment produces cytotoxic cell with a time dependent decline. The survival rate was significantly reduced in treated cells to cold plasma and Indocyanine green compared to untreated cells. The viability decreased significantly in the cells treated to cold plasma. The most reduction in survival rate was observed in treated cells to cold plasma for 90 s and Indocyanine green with 20µM concentration.

**Conclusion:** This study approved anti-cancer effect of cold plasma on melanoma cells. In addition, it showed that CAP can be a good alternative to photodynamic therapy and Indocyanine green also a great photosensitizer at cold plasma treatment.

**Keywords:** Melanoma; Photodynamic therapy; Cold plasma; Indocyanine green

**Citation:** Momeni S, Shanei A, Sazgarnia A, Attaran N, Aledavood SA. **Evaluation of Anti-Cancer Effect of Cold Atmospheric Plasma as a New Treatment and Indocyanine Green as a Photosensitizer in Inhibition of Melanoma Cell Line.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(669): 272-7.

1- PhD Student, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences Isfahan, Iran
2- Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Professor, Medical Physics Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
4- Assistant Professor, Department of Medical Nanotechnology, Applied Biophotonics Research Center, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
5- Associate Professor, Department of Radiation Oncology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
**Corresponding Author:** Ahmad Shanei, Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: shanei@med.mui.ac.ir