Arch Clin Exp Med 2017;2(2):45-48. e-ISSN: 2564-6567

DOI: 10.25000/acem.306444 Research article / Araştırma makalesi

Chlorine e6 tabanlı Fotodinamik Terapinin MiaPaCa-2 ve MRC-5 hücreleri üzerindeki etkisi

Effects of Chlorine e6 mediated Photodynamic Therapy on MiaPaCa-2 and MRC-5 cells

Tuğba Kiriş Aydoğan [1], Saadet Akbulut [1], Ayşenur Kiriş [1], Elif Sinem Bireller [2], Bedia Çakmakoğlu [3], Haşim Özgür Tabakoğlu [4]

Öz

Amaç: Pankreas kanseri, güncel tedavi yöntemlerine karşın halen yüksek mortalitesi olan önemli bir sağlık sorunudur. Bu yüzden yeni tedavi metotlarının geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Fotodinamik terapi (PDT), ışığa duyarlı (PS) bir ajanın önceden verilmesi ve lokal olarak tümör dokusunda birikmesi sonrasında ajanın absorpsiyon yapacağı dalga boyunda bir ışık kaynağı ile uyarılması esasına dayanır. Bu çalışmanın amacı MIAPaCa-2 pankreas epitelyal kanser hücreleri ile MRC-5 normal akciğer (kanserli olmayan) epitelyal hücreler üzerinde chlorine e-6 tabanlı fotodinamik terapinin sitotoksik etkisini belirlemektedir.

Yöntemler: MIAPaCa-2 pankreas epitelyal kanser hücreleri ile MRC-5 normal epitelyal hücreleri 10μM Ce6 ile 60 dakika boyunca inkübe edildikten sonra 670 nm dalgaboyuna sahip bir diyot lazer ile 5 J/cm^2 ile uyarılmıştır. Tedaviden 4 – 24- 48 ve 72 saat sonra WST-1 ile hücre proliferasyonu testi yapılmıştır.

Bulgular: Ce6 tabanlı fotodinamik terapinin MIAPaCa-2 grubunda diğer tedavi gruplarına kıyasla hücre canlılığını anlamlı bir oranda azalttığı bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer yandan Ce6 tabanlı PDT'nin MRC-5 hücreleri üzerinde %33 sitotoksik olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: Işığa duyarlı ajan Ce6 konsantrasyonu, inkübasyon süresi ve lazer parametresi her hücre hattı için ayrı ayrı belirlenmelidir. Ce6 tabanlı fotodinamik tedavi pankreas kanserinde tümörü küçültmede ve/veya palyatif bir tedavi seçeneği olarak umut vaat etmektedir.

Anahtar Kelimeler: PDT, Ce6, pankreas kanseri, MIA PaCa-2, MRC-5

Abstract

Aim: Pancreatic cancer is an important health problem with high mortality despite current treatment methods. Therefore, new methods for treatment are needed to be developed. Photodynamic therapy (PDT) is based on firstly pre-treatment of tumor region with a light-sensitive (PS) agent, following local accumulation in tumor loci irradiation with appropriate wavelength light source. The aim of this study is to determine the cytotoxic effects of chlorine e-6 based photodynamic therapy on MIA PaCa-2 pancreatic epithelial cancer cells and MRC-5 normal lung (non-cancerous) epithelial cells.

Methods: MIA PaCa-2 pancreatic epithelial cancer cells and MRC-5 normal epithelial cells were incubated with 10 μM Ce6 during 60 min and followed by irradiated with a diode laser (λ =670nm) at 5 J/cm^2. Cell proliferation test was performed with WST-1 assay 4 - 24- 48 and 72 hours after post treatment.

Results: Ce6-based photodynamic therapy significantly reduced cell viability in the MIAPaCa-2 group compared to other treatment groups ($p <0.05$). On the other hand, it was determined that Ce6-based PDT was 33% cytotoxic on MRC-5 cells.

Conclusion: Ce6 concentration, incubation time and laser parameters should be determined separately for each cancer cell line. Ce6 based photodynamic therapy is promising as a palliative treatment option and / or minimizing tumor in pancreatic cancer.

Keywords: PDT, Ce6, pancreatic cancer; MIA PaCa-2, MRC-5

[1] **İstanbul Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü.**
Istanbul University, Deparment of Biomedical Engineering, Institute of Science Engineering and Technology.
[2] **İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi.**
Istanbul Yeni Yuzyil University, Faculty of Pharmacy.
[3] **İstanbul Üniversitesi, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Aziz Sancar DETAE.**
Istanbul University, Faculty of Molecular Medicine, Aziz Sancae DETAE.
[4] **Bağımsız araştırmacı, Researcher.**

Etik Kurul: Çalışma insan ve hayvan çalışmasıolmadığı için etik kurul onayı alınmamıştır.
Ethical approval: Due to the fact that the study was no human or animal study, no ethical approval has been taken.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.
Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors

Finansal Destek: Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu tarafından desteklenmiştir (TUBITAK 1003 programı, Proje No: 213E011). Chlorine e6 maddesi proje kapsamında bedelsiz olarak Apocare Pharma GMBH tarafından sağlanmıştır.
Financial Disclosure: This work was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK 1003 program, Project No: 213E011). Chlorine e6 was provided free of charge under the project by Apocare Pharma GMBH.

Geliş Tarihi / Received
15.04.2017

Kabul Tarihi / Accepted
08.05.2017

Yayın Tarihi / Published
15.08.2017

Sorumlu yazar / Corresponding author
Tuğba Kiriş Aydoğan
Adres: İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı, 34320 Avcılar / İstanbul, TÜRKİYE
Tel: +905527337926
E-mail: tugbakiris9@gmail.com

Copyright 2017 ACEM

Giriş

Pankreas kanseri, hastalığa yakalananların %7'sinden azında 5 yıllık sağ kalım oranına sahiptir. Özelikle pankreas başı yerleşimli tümörlerde uygulanan pankreatikoduodenektomi (whipple prosedürü) etkili olan tek tedavi yaklaşımı olarak görülmektedir [1). Bununla birlikte rezeksiyon sonrası ortalama sağ kalım oranı sadece 10- 20 ay arasındadır. Cerrahi tedavi uygulanan hastaların sadece %12-35'inde 5 yıllık sağ kalım oranı görülmüştür [2). Fakat hastaların büyük bir çoğunluğuna, cerrahi tedavi yapma imkanı bulunmamaktadır. Pankreasın retroperitoneal yerleşimli olması, pankreas kanserinde erken tanı belirtilerinin olmaması ve erken dönemde teşhisinde etkili olacak bir görüntüleme yönteminin olmaması nedeniyle hastalık ancak ileri evrelerinde teşhis edilebilmektedir. Palyatif tedavi seçenekleri cerrahi, kemoterapi ve radyasyon tedavisidir fakat başarı oranı düşüktür ve yaşam süresini arttırmada yeterince etkili değildirler [3].

Bu durum göstermektedir ki, minimal girişimsel bir tedavi yöntemi ile tümör dokusunun lokal olarak yok edilmesi ve/veya küçültülmesi tedavi edilemez olarak görülen pankreas kanserinde uygulanabilir bir yöntem olacaktır.

Fotodinamik terapi (PDT), bir ışığa duyarlı (PS) ajanın önceden verilmesi ve lokal olarak tümör dokusunda birikmesi sonrasında ajanın absorpsiyon yapacağı dalga boyunda bir ışık kaynağı ile uyarılması esasına dayanır. Serbest oksijenin varlığında dokuda hücre ölümü meydana gelir. PDT ile gerçekleştirilen etki fotokimyasaldır [4]. Başarılı klinik uygulamalar için PS'in taşıması gereken belirli özellikler vardır. Bunlar, PS'in dokuya daha derin nüfuz etmesi için görünür ve yakın kızılötesi spektrumda absorpsiyon yapması ve serbest oksijen oluşturma kapasitesinin yüksek olması, düşük sitotoksititesi olması, seçici olarak tümör dokuda birikmesi ve vücuttan hızlı temizlenmesidir [5].

BPD, NPe6, Ce6, SnET2 ve CASPc gibi 2. kuşak PS'lar 660-690nm arasında ışık aktivasyonu, porfimer sodyuma göre daha fazla kırmızı ışık absorbsiyonu, tedavi sonrası fotosensitivitesinin sıklıkla bir haftadan az sürmesi gibi özelliklere sahiptirler. Bu çalışmada MIA PaCa-2 pankreas epitelyal kanser hücreler ile MRC-5 normal akciğer epitelyal hücreleri üzerinde chlorine e6 tabanlı PDT uygulamasının sitotoksik etkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Hücre Kültürü

Çalışmada kullanılan MIA PaCa-2 pankreas epitelyal tümör ve MRC-5 normal akciğer epitelyal hücre hattı Amerikan Tür Kültür Koleksiyonundan (ATCC) temin edilmiştir. MIA PaCa-2 tümör hücreleri %10 fetal bovin serum (FCS), 100 u/ml penisilin ve 100 µg/ml streptomisin içeren $NaHCO_3$ solüsyonu, 2 µM L-glutamin ile desteklenmiş Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI) besiyerinde, %5 CO_2'li inkübatörde 37°C'de çoğaltılmıştır.

MRC-5 sağlıklı epitelyal hücreler %10 FCS, 100 u/ml penisilin ve 100 µg/ml streptomisin içeren $NaHCO^3$ solüsyonu, 2 µM L-glutamin ile desteklenmiş Dulbecco tarafından modifiye edilen MEM (DMEM) besiyerinde, %5 CO_2'li inkübatörde 37°C'de çoğaltılmıştır. Hücrelerin 2 gün ara ile besi ortamı yenilenmiştir. Yeterli hücre yoğunluğuna ulaşan kültürler tripsin ile kaldırılarak 96'lık hücre plakalarına (10.000 hücre/kuyu) ekilip 24 saat inkübe edilmiştir

Fotodinamik Terapi Uygulaması

Öncelikle sadece Ce6 nın MIA PaCa-2 tümör hücreleri üzerinde farklı dozlardaki etkisi araştırılmıştır. Hücre plakalarındaki tümör hücrelerine 9 farklı konsantrasyonda Ce6 uygulanmıştır. Uygulanan konsantrasyonlar; 100µM, 50µM, 25µM, 20µM, 12,5µM, 10µM, 6,25µM, 5µM ve 2,5 mikromolardır.

96'lık hücre kültür plakalarındaki hücreler 4 gruba ayırılmıştır (Tablo 1). 2 ve 4 no'lu gruplardaki hücreler 10µM konsantrasyonda Ce6 ile, 1 ve 3 no'lu gruplar ise sadece besiyer ile 60 dakika inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresinin bitimini takiben tüm kuyulardaki besiyer çekilip, taze besiyer verilmiştir. 3 ve 4 no'lu gruplar 5 j/cm^2 ile 670 nm dalgaboyunda sürekli (cw) modda diyot lazer kaynağı ile uyarılmıştır.1 ve 2 no'lu gruplar ışıma süresince karanlıkta bekletilmiştir.

Tablo 1: Çalışmadaki deney grupları.

Grup Numarası	Grup Adı	Açıklama
1	Kontrol	Sadece Hücre
2	Ce6	Hücre + Ce6
3	Lazer	Hücre + Lazer
4	PDT	Hücre + Ce6 + Lazer

Hücre Canlılık Analizi

Ce6'nın yalnız başına farklı konsantrasyonlardaki etkisi (doz optimizasyonu) WST-1 testi ile değerlendirilmiştir.

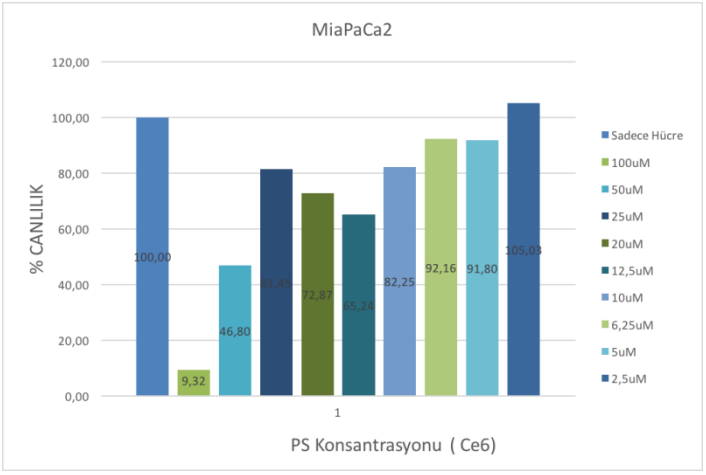
Tedavi gruplarının uygulanması sonrası metabolik aktivite temelli proliferasyon testlerinden olan 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)- 2H-tetrazolyum (WST-1) testi ile 4 saat, 24 saat, 48 Saat ve 72 saat olmak üzere dört farklı sürede yapılmıştır. İlgili tedavilerin uygulanmasının ardından her kuyucuğa 10 µl WST-1 çözeltisi ilave edilmiştir. 37ºC'de 4 saat inkübasyondan sonra hücre canlılığının tespiti için 96 kuyucuklu platelerin absorbans yoğunluk değerleri ELİSA plate okuyucuda 440 nm'de okunmuştur. Canlı hücreler sarı renk oluştururken, ölü hücrelerde renk oluşumu gözlenmemiştir. Kontrol grubu baz alınarak yüzde canlılık hesaplanmıştır.

İstatistik Analizi

Veriler ortalama± standart sapma şeklinde sunulmuştur. Gruplar arasındaki istatistik farklılık ANOVA ve Student's t test ile SPSS programında değerlendirilmiştir. Tüm deneyler 3 kez tekrarlanmıştır (n = 3). P değeri <0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular

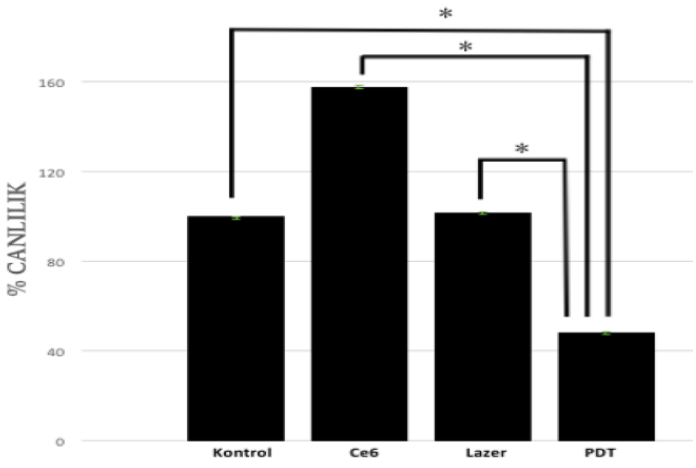
Ce6'nın yüksek dozda uygulandığında (100- 50µM) hücreler üzerinde toksik etkiye sahip olduğu ölçülmüştür. Dozdaki azalmayı takiben canlılık üzerine etkisinin azaldığı grafikten (Şekil 1) anlaşılmaktadır. Çok düşük dozlarda uygulandığında (2,5µM) ise hücrede proliferasyona neden olduğu ölçülmüştür.



Şekil 1: 100µM, 50µM, 25µM, 20µM, 12,5µM, 10µM, 6,25µM, 5µM ve 2,5µM olmak üzere 9 farklı konsantrasyonda Ce6'nın tümör hücrelerine verildikten 24 saat sonra yapılan WST-1 analizi grafikte verilmiştir.

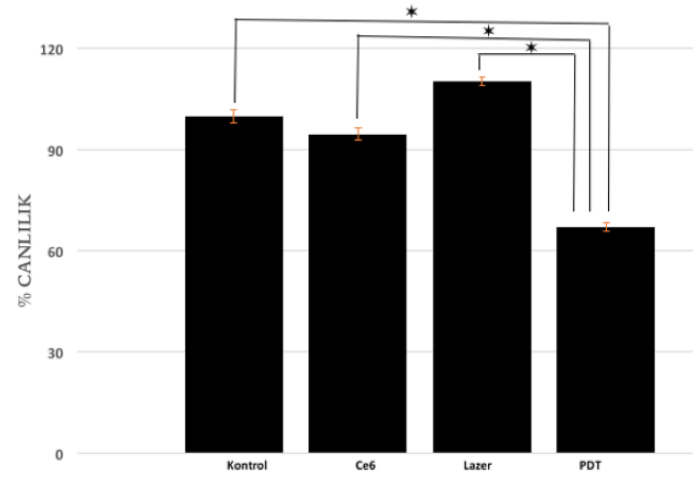
MIA PaCa-2 pankreas epitelyal karsinoma hücre hattına ait tedaviden 4 saat sonra yapılan WST-1 testi sonuçları Şekil-2 de gösterilmiştir.

MIA PaCa-2 pankreas epitelyal karsinoma hücrelerinin sadece 10µM konsantrasyonda Ce6 ile 60 dakika boyunca inkübasyonu sonucunda hücre canlılığı %158 olarak ölçülmüştür. Uygulanan Ce6 dozunun hücreler üzerinde toksik etki oluşturmadığı aksine proliferatif bir etkiye sebep olduğu görülmüştür. Sadece lazer uygulanan grupta canlılığın %102 olduğu ve fototoksik bir etki oluşturmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 2). PDT grubunda ise tedavi sonrası canlılığın %48,5'a düştüğü görülmüştür.



Şekil 2: Tedaviden 4 saat sonra MIA PaCa-2 tümör hücrelerinin canlılık analizi. Kontrol; Sadece Hücre, Ce6; Hücre+Chlorine e6, Lazer; Hücre+Lazer, PDT; Hücre+Ce6+Lazer. PDT tedavi grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur (*P<0.05).

MRC-5 normal akciğer epitelyal hücre hattına ait tedaviden 4 saat sonra yapılan WST-1 testi sonuçları Şekil-3 de gösterilmiştir.



Şekil 3: Tedaviden 4 saat sonra MRC-5 epitelyel hücrelerinin canlılık analizi. Kontrol; Sadece Hücre, Ce6; Hücre+Ce6, Lazer; Hücre+Lazer, PDT; Hücre+Ce6+Lazer. PDT tedavi grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur (*P<0.05).

MRC-5 akciğer epitelyal hücrelerinin 10µM konsantrasyonda Ce6 ile 60 dakika boyunca inkübasyonu sonucunda canlılık %94 olarak ölçülmüştür. Sadece lazer uygulanan grupta hücre canlılığının %110 olup herhangi bir fototoksik bir etki oluşturmadığı gibi proliferatif bir etkisi olduğu belirlenmiş olup kontrol grubuyla arasında anlamlı fark olmadığı belirlenmiştir. PDT grubunda ise canlılık %67 olarak ölçülmüştür (Şekil 3).

Tartışma

Bu çalışmada PDT'nin MIA PaCa-2 pankreas epitelyal karsinoma ve MRC-5 akciğer epitelyal hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi WST-1 testi kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada MRC-5 akciğer epitelyal hücre hattının seçilmesinin amacı, reaktif oksijen türleri tarafından oluşturulan hasarın normal hücreler üzerindeki etkisinin gösterilmesidir. MRC-5 akciğer epitelyal hücre hattı kültür çalışmalarında diğer normal hücrelere kıyasla iyi üreme yeteneğine sahip olması sayesinde tedaviden sonra proliferasyon kapasitesi ölçülebilmektedir [6].

Öncelikle Ce6'nın MIA PaCa-2 pankreas epitelyal karsinoma hücreleri üzerindeki yalnız uygulanmasının etkisinin tespiti için doz optimizasyonu yapılmıştır. 9 farklı dozda yapılan sonuçlara göre Ce6 yalnız başına uygulandığında toksik etki göstermediği 10µM PS konsantrasyonu tedavide kullanılacak doz olarak seçilmiştir (Şekil 1). MIA PaCa-2 hücre hattına ait tedaviden 4 saat sonra yapılan WST-1 testi sonuçları Şekil-2 de gösterilmiştir. MIA PaCa-2 pankreas epitelyal karsinoma hücrelerinin sadece 10µM konsantrasyonda Ce6 ile 60 dakika boyunca inkübasyonu sonucunda canlılığın %158 lere arttığı ve hücreler üzerinde toksik etki oluşturmadığı gözlemlenmiş aksine proliferatif bir etkiye sebep olduğu görülmüştür. Üçüncü tedavi grubunda uygulanan sadece 5 J/cm^2 lazer kaynağı ile uyarılması sonucunda MIA PaCa-2 pankreas epitelyal karsinoma hücrelerinin canlılığının %102 olduğu ve fototoksik bir etki oluşturmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 2). Ana deney grubu olan 4. grupta (PDT) ise tedavi sonrası canlılığın %48,5'a düştüğü görülmüştür. PDT'nin hücre canlılığını büyük oranda azalttığı tespit edilmiştir ve tüm gruplarla arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu belirlenmiştir (P<0.05).

MRC-5 hücre hattına ait tedaviden 4 saat sonra yapılan WST-1 testi sonuçları Şekil-3 de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; MRC-5 akciğer epitelyal hücrelerinin 10µM konsantrasyonda Ce6 ile 60 dakika boyunca inkübasyonu sonucunda canlılığın %94 olduğu ve hücreler üzerinde toksik etki oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte üçüncü tedavi grubunda uygulanan 5 J/cm^2 lazer ışınlaması sonucunda MRC-5 akciğer epitelyal hücre canlılığının % 110 lara çıktığı ve herhangi bir fototoksik bir etki oluşturmadığı, aksine proliferatif bir etkisi olduğu belirlenmiş olup kontrol grubuyla arasında anlamlı fark olmadığı belirlenmiştir. Ana tedavi gurubu olan PDT (4. Grup)'nin MRC-5 akciğer epitelyal hücre hattı üzerindeki etkisi tüm gruplarla karşılaştırıldığında canlılığın %67 olduğu ve tüm gruplarla arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu belirlenmiştir (P<0.05).

Sara Abdel Hamid ve arkadaşlarının glioma hücrelerinde Ce6 tabanlı PDT uygulaması yaptığı bir çalışmada Ce6'nın LD_{50} dozunu 10µM bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada 4 saatlik 10µM Ce6 inkübasyonunun ardından glioma hücrelerine 665 nm diyot lazer uygulaması yaptıklarında glioma hücrelerinde tedavinin %100 hücre ölümüne sebeb olduğunu göstermişlerdir [7]. İnsan kolon kanseri hücresi olan SW480 üzerinde yapılan bir çalışmada Ce6'nın endoplazmik retikulum ve lizozomda birkimi tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada 650 nm dalgaboyunda [6 J/cm$^{2)}$ lazer uygulaması ile yapılan Ce6 tabanlı PDT'nin uygulanan 1 µg/ml ve üzerindeki konsantrasyonlarda hücre canlılığını inhibe ettiği, reaktif oksijen türlerinin üretimine ve apoptoza sebeb olduğu gösterilmiştir. Düşük dozlarda uygulanan Ce6'nın (0.125 ve 0.25 µg/ml) koloni oluşumu ve hücre proliferasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir [8]. Fare kolerektal kanser hücresi olan C26 ile yapılan çalışmada 0.5 µg/mL konsantrasyonda Ce6 ile 662 nm dalgaboyunda ışık kaynağı ile farklı güç değerleri uygulanarak PDT uygulması yapılmıştır. PDT uygulamasının CLIC4 (chloride intracellular channel 4) ve MMP9 (matrix metalloproteinase) ekpresyon seviyelerini azaltarak tümör hücrelerinin migrasyonunu baskıladığı gösterilmiştir [9]. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada denek başına intraperitonel 7,5 mg/kg Ce6 ve 652 nm dalgaboyunda100 J/cm ^{2} lazer uygulanarak yapılan PDT'nin malign melanomların yok edilmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir [10].

Yapılan bu çalışma ve literatür verileri uygun PS konsantrasyonu ve inkübasyon süresi ile uygulanan lazer parametrelerinin her hücre tipinde farklılık gösterdiği sonucunu desteklemektedir.

MRC-5 akciğer epitelyal ve MIAPaCa-2 pankreas epitelyal karsinoma hücre hatları üzerinde yaptığımız çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde Ce6 tabanlı PDT'nin MIA PaCa-2 pankreas epitelyal karsinoma hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin MRC-5 akciğer epitelyal hücrelerinden daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Buradan yola çıkarak *in vivo* olarak

uygulanacak PDT'nin tümör doku üzerinde oluşturduğu sitotoksik etkinin tümör çevresindeki sağlıklı bölgedeki hücrelere kıyasla daha fazla olacağı söylenebilir. Böylece PDT sayesinde geleneksel kanser tedavilerinin en önemli dezavantajı olan sağlıklı doku harabiyetinin de önüne geçilebilir.

Bu çalışmanın devamı niteliğinde PDT'nin tümör hücreleri üzerinde meydana getirdiği sitotoksik etkinin kaynağının belirlenmesi için Annexin-V ve Kaspaz/BCA protein aktivitesinin incelenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Özellikle caspase 3, 9 ve BCA protein seviyeleri ile apoptoz ve/ veya nekroz tayini ile PDT'nin sebep olduğu hücresel ölüm tipinin araştırılması gereklidir.

Teşekkür

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu tarafından desteklenmiştir (TUBITAK 1003 programı, Proje No: 213E011). Chlorine e6 fotoduyarlı madde proje kapsamında bedelsiz olarak Apocare Pharma GMBH tarafından sağlanmıştır.

Kaynakça

1. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer Statistics, 2000. CA Cancer J Clin 2000;50:7–33.
2. DiMagno EP, Reber HA, Tempero MA. AGA Technical review on the epidemiology, diagnosis, and treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. Gastroenterology 1999; 11:1464–84.
3. Barr H, Tralau CJ, Boulos PB, MacRobert AJ, Tilly R, Bown SG. The contrasting mechanisms of colonic collagen damage between photodynamic therapy and thermal injury. Photochem Photobiol 1987;46: 795–800.
4. Agostinis P, Berg K, Cengel KA, Foster TH, Girotti AW, Gollnick SO, et al. Photodynamic therapy of cancer: an update. CA Cancer J Clin 2011;61:250-81.
5. O'Connor AE, Gallagher WM, Byrne AT. Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: preclinical and clinical advances in photodynamic therapy. Photochem Photobiol 2009;85:1053-74.
6. Hadjur C, Richard MJ, Parat MO, Favier A, Jardon P. Photodynamically induced cytotoxicity of hypericin dye on human fibroblast cell line MRC5. J Photochem Photobiol B 1995;27:139-46.
7. Hamid SA, Zimmermann W, et al. In vitro Study for Photodynamic Therapy using Fotolon® in Glioma Treatment. Proc. SPIE 9542, Medical Laser Applications and Laser-Tissue Interactions VII, 2015; pp. 95420B-95420B-13.
8. Li Y, Yu Y, Kang L, Lu Y. Effects of chlorin e6-mediated photodynamic therapy on human colon cancer SW480 cells. Int J Clin Exp Med 2014;7; 4867.
9. Li PT, Ke E S, Chiang P C, Tsai T. ALA-or Ce6-PDT induced phenotypic change and suppressed migration in surviving cancer cells. J Dent Sci 2015;10: 74-80.
10. Deng J, Long C, Hao F. Therapeutic effect of photodynamic therapy with chlorin e6 and 5-aminolevulinic acid on malignant melanoma in mice. Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae 2006;16:010.