Republic of Iraq Ministry of Higher Education and Scientific Research University of Baghdad Institute of Laser For Postgraduate Studies



A Diode Laser Therapy for Cancer Cells *In vitro* and *In vivo*

A thesis submitted to the Institute of Laser for postgraduate studies, University of Baghdad in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Laser / Veterinary Medicine

> By Rajaa Saihood Abbas Saleh ^{B.V.M S.} 1996

2012 A.D.

1433 A.H.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate Photodynamic therapy PDT using diode laser at wavelength (650 nm) with methylene blue MB as a photosensitizer *in vitro* and *in vivo*.

The cytotoxic effect of PDT with MB was investigated *in vitro* on murine leiomyosarcoma (L20B) and rhabdomyosarcoma (RD) cell lines .In this study the cell lines seeded separately ,they were divided into two main groups : control group (A) left without any treatment while the second group (B) group of test which subdivided into seven groups (B1,B2 and B3) which treated with MB diluted with MEM to final concentrations (1% ,0.1% and 0.01%) respectively then irradiated with laser for different exposure times (10,20 and 30 min) for each group, the groups (B4 ,B5 and B6) treated with MB diluted with MEM (1% ,0.1% and 0.01%) only without irradiation and group(B7) irradiated with laser without MB.

The results showed maximum growth inhibition rate(80.46%) for (L20B) cell line and (74.16%) for (RD)cell line for group of PDT (B1) which photosensitized with 1%MB then irradiated with diode laser at power density 0.052 W\cm² for 30 min exposure time ,while the results of group B7 showed a minimum growth inhibition rate (10.78%) for (L20B) cell line and (12.35%) for (RD)cell line .

To evaluate apoptosis after PDT, DNA fragmentation percentages for L20B and RD cell lines were calculated for each exposure time using MB 1% only + diode laser at power density 0.023 W/cm^2 .

جمهورية العراق وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة بغداد معهد الليزر للدراسات العليا



علاج ليزر الثنائي الصمام لخلايا السرطان خارج وداخل الجسم الحي رسللة مقدمة الى معهد الليزر للدراسات العليا جامعة بغداد كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الليزر/ طب بيطري

مقدمة من قبل

رجاء صيهود عباس صالح

بكالوريوس طب وجراحة بيطرية ١٩٩٦

٢٠١٢ميلادية

١٤٣٣ هجرية

الخلاص_ة

كان الهدف من هذه الدراسة لتقييم العلاج الديناميكي الضوئي PDT باستخدام الليزر الثنائي الصمام ذو الطول الموجي (٦٥٠ نانومتر) مع الميثيلين الأزرق باعتباره متحسس ضوئي في التجارب داخل وخارج الجسم الحي.

وكان التحقيق في تأثير العلاج الديناميكي الضوئيPDT السام للخلايا مع المثيلين الازرق خارج الجسم الحي(في المختبر) على ساركومة العضلات الملساء (L20B)، وخطوط الخلايا للمصنفة على الخلايالساركومة العضلات المخططة (RD) في هذه الدراسة على خطوط الخلايا المصنفة على حدة، تم تقسيمهم إلى مجموعتين رئيسيتين هما: مجموعة السيطرة (أ) تركت من دون أي علاج في حين أن المجموعة الثانية (B) مجموعة الاختبارالةي يتقسم إلى مجموعات تأثير العلاج الديناميكي الضوئيتين هما: مجموعة السيطرة (أ) تركت من دون أي علاج في حين أن المجموعة الثانية (B) مجموعة الاختبارالةي يتقسم إلى مجموعات تأثير العلاج أي حين أن المجموعة الثانية (B) مجموعة الاختبارالةي تقسم إلى مجموعات تأثير العلاج مي حين أن المجموعة الثانية (B) مجموعة الاختبارالةي تقسم إلى مجموعات تأثير العلاج الديناميكي الضوعي(B1, 10, 1.0%) على التوالي شم التشعيع بال ليزر لاوقات التعريض المختلفة (1.%، 1.0%) على التوالي معان أي المختلفة (1.%، 1.0%) مجموعة، ومجموعات (B3, 26) تعامل مع المثيلين الازرق المخفف مع المثيلين المخلوقات التعريض المختلفة (1.%، 1.0%) على التوالي ما التشعيع بال ليزر لاوقات التعريض المختلفة (1.%، 1.0%) على التوالي م مجموعات (1.%) معامل مع المثيلين الازرق المخفف مع المثيلين الازرق المخفف مع المؤلين المختلفة (1.%، 1.0%) على التوالي ما التشعيع بال ليزر لاوقات التعريض المختلفة (1.%، 1.0%) على التوالي م أم التشعيع بال ليزر لاوقات التعريض المختلفة (1.%، 1.0%) محموعة، ومجموعات (81) معامل مع المثيلين الازرق المخفف مع المثيلين الازرق المخفف مع محمولية الازرق المخفف مع محمولي المخلون مرابي المختلفة (1.%) ما مع محموعة، ومجموعة، ومجموعة، ومجموعة (1.%) ما مع محمولين معامل مع المثيلين الازرق المخلولي ما مع المثيلين الازرق المخلولي ما مع المثيلين المخلولي ما مع محمولي مع المثيلين الازرق المخلولي ما مع المثيلين المخلولي ما مع محمولي المخلولي ما مع محمولي مع محمولي ما مع محمولي معامل مع المثيلين المخلولي ما مع محمولي ما مع محمولي مع محمولي معالي مع محمولي مع محمولي مع محمولي معامل مع محمولي مع محمولي معالي مع محمولي مع محمولي معالي مع محمولي مع محمولي معالي مع محمولي مع محمولي ما محمولي مع محمولي مع محمولي مع محمولي ما مع محمولي ما محمولي ما محمولي معالي مع محمولي ما محمولي معالي مع محمولي ما م

أظهرت النتائج أقصى نسبة تثبيط للنمو (٤٦. ٨٠٪) في خط الخلايا (L20B) و (٢٤.١٦٪) لخط الخ لايا (RD) لمجموعة العلاج الديناميكي الضوئي PDT (B1) مع المثيلين الازرق ١٪ ثم التشعيع مع ليزر الثنائي الصمام في كثافة الطاقة ٥٠،٠٠ واط /سم٢ لمدة ٣٠ دقيقة من وقت التعريض، بينما في B7 المجموعة التي عولجت بالليزر فقط أظهرت النتائج في تثبيط النمو أدنى معدل (١٠.٧٪) لخط الخلايا (L20B) و (١٢.٣٠٪) لخط الخلايا (RD).

لتقييم موت الخلايا المبرمج بعد PDT، حسبت النسب المئوية لتفتيت الحمض النووي لخط الخلايا L20B وخط الخلايا RD في كل وقت تعرض باستخدام المثيلين الازرق بتركيز ١٪ فقط + ليزر الثنائي الصمام في كثافة الطاقة ٠،٠٢٣ واط /سم .

وكشفت نتائج خط الخلايا L20B أن مجموعة العلاج الديناميكي الضوئي (T2) المعاملة مع ١٪ المثيلين الازرق + ليزر عند (٣٠ دقيقة من زمن التعرض) أظهرت زيادة كبيرة في قيمة متوسط نسبة تفتيت الحمض النووي تصل إلى (٢٧٢.٧٧٪) مقارنة مع مجموعة الهيطرة (T1) والتي أظهرت نسبة (٤٤.٤٧٪)، بينما في خط الخلايا RD اظهرت المجموعة (T2) مجموعة العلاج الديناميكي الضوئي المعاملة مع ١٪ المثيلين الازرق + ليزر عند (٣٠ دقيقة من زمن التعرض زيادة كبيرة (٢٠. ٨٠٪) مقارنة مع مجموعة السيطرة (T1) التي كانت

ان العلاج الديناميكي الضوئي PDT باستخدام الليزر الثنائي الصمام في كثافة الطاقة PDT واط /سم٢ يحث على تثبيط اصطناع الحمض النووي مما يؤدي إلى موت الخلايا المبر مج

في الدراسة داخل الجسم الحي، استخدمت ٦٠ فأر من إناث الفئران البالغة BALB / ج تم تقسيمها الى مجموعتين رئيسية مجموعتي السيطرة G1 مجموعة السيطرة السالبة (-VE) الفئران خالية من الورم G2 مجموعة السيطرة الموجبة (V +) فئران تحمل الورم،