

STRESZCZENIE

Wstęp: Terapia fotodynamiczna (PDT) oprócz bezpośredniego efektu cytotoksycznego, wtórnego – naczyniowego, posiada mechanizm działania immunologicznego, wpływający na odpowiedź układu odpornościowego i aktywność sekrecyjną komórek nowotworowych. Właśnie w immunomodulującym wpływie PDT dopatruje się przyczyn nie tylko miejscowej remisji guza, lecz również zmian przerzutowych. Rozwijające się podczas akcji fotodynamicznej niedotlenienie jest istotnym czynnikiem modulującym, mogącym ograniczać efekty PDT. Celem pracy było określenie wpływu terapii fotodynamicznej z zastosowaniem kwasu 5-aminolewulinowego (ALA-PDT) w warunkach niedotlenienia środowiska na sekrecję wybranych czynników wzrostu: GM-CSF (czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów), G-CSF (czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów) i FGF (czynnik wzrostu fibroblastów) wydzielanych przez komórki eksperymentalnego modelu kultur komórkowych raka jelita grubego.

Metodyka: Dwie linie komórkowe gruczolakoraka jelita grubego, różniące się potencjałem złośliwości: SW480 (złośliwość miejscowa) i SW620 (wysoka aktywność metastatyczna) poddano ALA-PDT (1000 μ M ALA, powierzchniowa gęstość energii 10 J/cm², powierzchniowa gęstość mocy 1,5 mW/cm², 600-720 nm) w warunkach normoksji i hipoksji mikrośrodowiska, indukowanej obecnością chlorku kobaltu. Celem oceny stężeń badanych czynników wzrostu w supernatantach z poszczególnych hodowli zastosowano zestaw Bio-Plex ProTM Assay oraz aparaturę Bio-Plex Suspension System.

Wyniki: ALA-PDT spowodowała wzrost wydzielania przez komórki obydwu linii GM-CSF. W komórkach linii SW620 odnotowano obniżenie sekrecji G-CSF i FGF. Komórki linii SW620 wydzielały wyższe stężenia FGF i G-CSF, a komórki linii SW480 uwalniały aktywniej GM-CSF. Nie zaobserwowano różnic w sekrecji powyższych czynników w środowisku niedotlenienia w porównaniu do normoksji.

Podsumowanie: ALA-PDT zwiększyła sekrecję czynnika GM-CSF, stymulującego obronę przeciwnowotworową a zmniejszyła FGF i G-CSF, odpowiedzialnych za progresję nowotworu. Brak istotnych różnic w oddziaływaniu ALA-PDT w środowisku niedotlenienia potwierdza tezę o możliwości zachowania korzystnego efektu PDT również w późniejszych etapach reakcji, kiedy tlen jest zużywany a dostarczanie go do tkanki nowotworowej jest ograniczone w przebiegu wtórnego mechanizmu PDT.

Słowa kluczowe: terapia fotodynamiczna, niedotlenienie, kwas aminolewulinowy, G-CSF, GM-CSF, FGF.

ABSTRACT

Background: Photodynamic therapy (PDT), in addition to exerting a direct cytotoxic effect and indirect- vascular, causes an immunomodulatory one which affects the immune system and the tumor cells secretory activity. The immunomodulatory effect of PDT is believed to cause not only local tumor remission, but also metastatic lesions. Developing during the photodynamic action hypoxia is an important modulating factor, which may limit the effects of PDT. The aim of the study was to determine the effect of photodynamic therapy with aminolevulinic acid (ALA-PDT) in the hypoxic microenvironment on the secretion of selected growth factors: GM-CSF (granulocyte and macrophage colony stimulating factor), G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor) and FGF (fibroblast growth factor) secreted by the experimental models of colon cancer cells.

Material and methods: Two colorectal cancer cell lines with different potential of malignancy: SW480 (local malice) and SW620 (high metastatic activity) were subjected to ALA-PDT (ALA of 1000 μM density, irradiation with fluence 10 J/cm^2 , a surface power density of 1.5 mW/cm^2 , wavelength 600-720 nm) under normoxic and hypoxic microenvironment, induced by the presence of 100 μM cobalt chloride. In order to assess concentrations of the growth factors in supernatants from individual cell cultures Bio-Plex ProTM Assay and Bio-Plex Suspension System apparatus were used.

Results: ALA-PDT amplified the secretion of GM-CSF by both cell lines. In the SW620 cell line the decrease in secretion of G-CSF and FGF was noticed. Cells of SW620 line secreted higher levels of FGF and G-CSF, while SW480 cells more actively released GM-CSF. No differences in the secretion of these factors in a hypoxic environment were found.

Conclusion: ALA-PDT increased GM-CSF secretion, which stimulates anti-tumor defense and decreased secretion of FGF and G-CSF - factors responsible for tumor progression. No significant differences in the effects of ALA-PDT in the hypoxic environment reinforces the view that the beneficial results of PDT are also preserved in the later stages of the reaction, when oxygen is consumed and it's supply to the tumor tissue is limited in the course of the secondary mechanism of PDT.

Key words: photodynamic therapy, hypoxia, aminolevulinic acid, G-CSF, GM-CSF, FGF.