مجله پژوهش های معاصر در علوم و تحقیقات
سال ششم، شماره ۶۶، دی ۱۴۰۳
ISSN: ۲۶۷۶-۵۷۶٤
www.jocrisar.ir

اثر پاسخ های نوری میکروجلبک اسپیرولینا به عنوان عامل مولد اکسیژن و نوردرمانی در درمان تومورهای سرطانی هایپوکسیک

مهدی رحیمی مقدم [۱] ، علی بوالی [۲] ، نسرین حسینی [۳] ، مونا فرهادی [۴]، شاداب باقری [۵]

[۱] دانشجوی دانشکده فیزیک و مهندسی انرژی و فیزیک، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران
[۲] استادیار دانشکده فیزیک و مهندسی انرژی و فیزیک، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران (نویسنده مسئول)
[۳] استادیار مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
[۴] دانشیار گروه روانشناسی عمومی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران.
[۵] استادیار دانشکده فیزیک و مهندسی انرژی و فیزیک، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

چکیده

فوتوبیومودولاسیون یا لیزر درمانی با سطح پایین یک رویکرد سریع و غیر تهاجمی برای درمان، کاهش درد و ترمیم صدمات بافت بیولوژیکی که در پزشکی کاربرد دارد. علاوه بر این، طیف قرمز و نزدیک مادون قرمز با طول موج طولانی تر به دلیل افزایش قدرت نفوذ بافتی و تحریک مراکز واکنش، نتایج خوبی را بهمراه داشته است. اخیراً پیشنهاد شده است یک سیستم جمع‌آوری نور طبیعی زیست سازگار مانند میکروجلبک اسپیرولینا برای تبدیل نور لیزر تک رنگ به طیف فلورسانس با گستره ی چند صد نانومتری وجود دارد که دارای تاثیر مثبت برسلول‌ها است. بنابراین هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر میکرو جلبک اسپیرولینا به عنوان مولد اکسیژن برای تبدیل نور لیزر تک رنگ به یک طیف فلورسانس چند صد نانومتری، در درمان تومورهای سلولهای عصبی زیستی بر میزان تکثیر سلولهای توموری PC12 بود. گروه های آزمایشی شامل گروه کنترل، گروه ۳ دقیقه و گروه ۱۰ دقیقه بود. دو گروه ۳ دقیقه و گروه ۱۰ دقیقه به ترتیب ۳ دقیقه و ۱۰ دقیقه فلورسانس اسپیرولینا را دریافت کردند. پس از درمان سلولهای PC12 با طیف فلورسانس، از طیف سنجی MTT برای ارزیابی اثرات محافظت کننده عصبی طیف فلورسانس بر زنده ماندن سلول استفاده شد. در چایان، جذب میکروپلیت در طول موج ۵۷۰ نانومتر ثبت شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد فعالیت نوری کروموفورهای اصلی در میکروجلبک اسپیرولینا مربوط به کاروتنوئیدها و کلروفیل است که با پرتو لیزر به طور مستقیم تحریک می شوند. سپس انتشار فلورسانس کاروتنوئیدها، فیکوبیلیسوم ها را تحریک می کند و فلورسانس مربوطه با فلورسانس کلروفیل ها ترکیب می شود تا انتشار نهایی فلورسانس در محدوده طیفی ۶۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر (پیک ۶۸۵ نانومتر) برسدکه به طور قابل توجهی باعث افزایش زنده ماندن سلول در گروه های ۳ و گروه شد. ۱۰ دقیقه شده است. در نتیجه به نظر می رسد میکروجلبک اسپیرولینا دارای اثر محافظت کننده عصبی بر روی سلولهای PC12 می باشد.

واژه‌های کلیدی: میکروجلبک اسپیرولینا، لیزر درمانی، سلولهای PC12

نویسنده مسئول: علی بوالی، دانشکده فیزیک و مهندسی انرژی و فیزیک، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران. ایمیل alibavali@aut.ac.ir

۱. مقدمه

سلول‌های PC12 رده ای از سلول ها می باشند که از بافت تاج عصبی جنینی منشا می‌گیرند. این سلولها به دلیل داشتن قابلیت بالا برای دستکاری دارویی، سهولت کشت و دانش گسترده در مورد فرآیندهای تکثیر و تمایزشان، متمایز می باشند [۱]. این سلول ها در کنار مدل سلولی کرومافین آدرنال ایجاد شدند. سلول‌های PC12 به دلیل منشا جنینی خود و وجود سلول‌های نوروبلاستیک می‌توانند به سلول‌های نورونی تمایز پیدا کنند، هرچند که مشخصه بلوغ کامل نورون‌های کاملاً تمایز یافته را به دست نمی‌آورند. عنوان "شبه- نورون" نشان دهنده این واقعیت است که این سلول ها ویژگی هایی مانند نورون ها را نشان می دهند. هنگامی که سلول‌های PC12 در معرض فاکتور رشد عصبی یا دگزامتازون قرار می‌گیرند، تکثیرشان متوقف شده و تمایز می یابند و همین مسئله آنها را به مدلی ارزشمند برای بررسی تمایز عصبی و ترشح عصبی تبدیل می‌کند [۲، ۳]. فوتوبایومدولاسیون تکنیک نوظهور و پیشرفته برای تحریک زیستی است و در سال های اخیر به دلیل تأثیر آن بر رشد، تمایز و ترمیم سلول های عصبی مورد توجه قرار گرفته است [۴-۷]. مطالعات اخیر نشان می دهد که تابش لیزر کم توان سنتز ATP را افزایش می دهد، کارایی زنجیره انتقال الکترون را در میتوکندری بهینه می کند، فاکتورهای رونویسی سلولی را فعال می کند و پاسخ های التهابی را کاهش می دهد. این مکانیسم ها در کاهش درد، تحریک رشد سلولی، تسهیل تمایز و ترمیم اجزای حیاتی سلول های آسیب دیده مانند میلین دخالت دارند [۷، ۸]. در نتیجه، تحقیقات گسترده ای برای مشخص کردن اثرات پارامترهای مختلف تابش لیزر، از جمله طول موج، شدت، و مدت زمان قرار گرفتن در معرض آن، بر فعالیت سلولی انجام شده است. یافته های تجربی نشان می دهند که طول موج های بالاتر، به ویژه در طیف قرمز و نزدیک به مادون قرمز، به دلیل افزایش نفوذ بافتی و تحریک مولکول های زیستی، نتایج بهتری را به همراه داشته است [۹-۱۴]. در حالی که بیشتر مطالعات از لیزر به عنوان منبع نور استفاده کرده اند، برخی مطالعات ال ای دی ها (LED) را بکار برده اند. با توجه به عمق نفوذ بافتی متفاوتی که تاشی از طول‌موج‌های مختلف است، به تازگی از تابش همزمان در طیف محدودی از طول‌موج‌های مختلف که در طیف فلورسانس وجود دارند، استفاده می شود [۱۵]. در تکنیک بیومدولاسیون فلورسانس، یک ماده فلورسنت به عنوان مبدل نور لیزر یا LED به طیف فلورسانس عمل می کند. این تابش فلورسانس دارای پهنای طیف وسیع تری در مقایسه با نور لیزر و LED است، اما به طور قابل توجهی از نور سفید باریک تر است و به سمت بافت هدایت می شود [۱۶، ۱۷]. شواهد نشان داده است این روش در مقایسه با تابش نور لیزر سنتی، به ویژه در درمان ضایعات و عوارض پوستی، نتایج درمانی بهتری دارد [۱۸، ۱۹]. مطالعه حاضر به بررسی خواص طیفی فلوروسنس های زیست سازگار مختلف می‌پردازد که می‌توانند نور لیزر را به یک طیف فلورسانس با گستره چند صد نانومتری تبدیل کنند، که برای تأثیرگذاری بر سلول‌های عصبی مفید است .معیارهای کلیدی برای یک مبدل موثر عبارتند از سازگاری زیستی، محدوده طیف با طول موج های مفید برای بهبود رشد و تمایز سلول های عصبی، راندمان کوانتومی بالا، و همچنین فلورسانس و پایداری شیمیایی است. به همین منظور از ریزجلبک‌های اسپیرولینا پلاتنسیس به‌عنوان یک ماتریس پیچیده از کروموفورهای زیست سازگار استفاده شده تا بررسی اثرات فلورسانس حاصل را بر سرعت تکثیر سلول‌های PC12 تسهیل کند. بنابراین در مطالعه حاضر تاثیر میکرو جلبک اسپیرولینا به عنوان مولد اکسیژن برای تبدیل نور لیزر تک رنگ به یک طیف فلورسانس چند صد نانومتری، در درمان تومورهای سلولهای عصبی زیستی بر میزان تکثیر سلولهای توموریPC12 بررسی شده است.

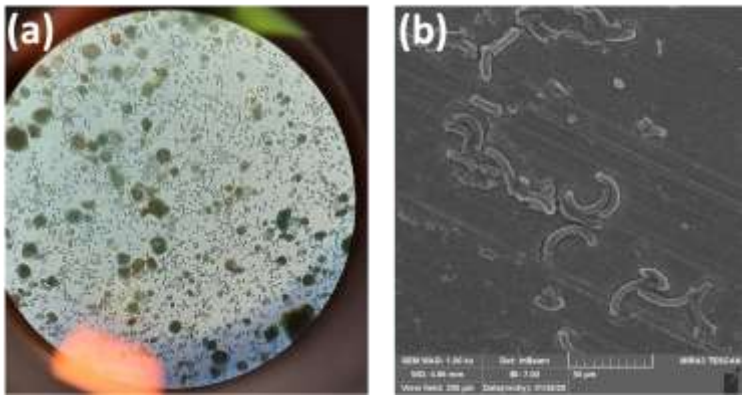
۲- روش ها

این مطالعه گزارش بخشی از پایان نامه ی آقای مهدی رحیمی مقدم، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه صنعتی امیرکبیر می باشد.

۲-۱ تهیه محلول جلبک اسپیرولینا

پودر اسپیرولینا پلاتنسیس مورد استفاده در این تحقیق از شرکت داروسازی ریحان تهیه شده است . ۱۰۰میلی گرم پودر اسپیرولینا ابتدا در ۵۰ سی سی آب دیونیزه (DI) حل شد و به مدت ۵ دقیقه تحت تیمار اولتراسونیک قرار گرفت .پس از

همگن شدن این محلول، غلظت‌های بعدی با رقیق کردن نمونه اولیه طبق فرمول Ci=0.5 Ci-1 mg/cc تهیه شد، با توجه به اینکه جرم مولی اسپیرولینا مشخص نشده است، بنابراین غلظت بر حسب mg/cc بیان می‌شود.



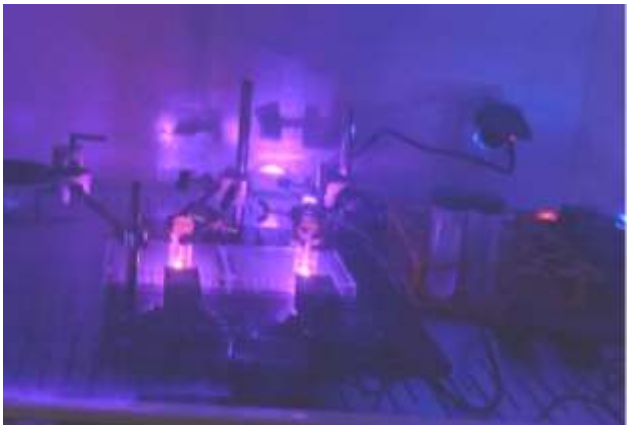
شکل ۱. (a) تصویر میکروسکوپی محلول آبی اسپیرولینا (با بزرگنمایی ۲۰۰ برابر). (b) تصویر SEM از اسپیرولینا محلول در آب دیونیزه (DW)

۲-۲ آماده سازی و کشت سلول

رده سلولی PC12 مشتق از فئوکروموسیتوم، از انستیتو پاستور در ایران تهیه شد .سلول ها در فلاسک های T25 کشت داده شدند و در محیط کشت DMEM در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد با اتمسفر حاوی ۵٪ CO2 نگهداری شدند. پس از رسیدن به مقدار ٪۸۰-۹۰، سلول ها برای مهار تماس و تکثیر بیشتر، پاساژ داده شدند .این فرآیند با حذف محیط از فلاسک و سپس افزودن تریپسین آغاز شد .پس از تقریباً دو دقیقه، سلول ها از سطح فلاسک جدا شده و در محلول تریپسین معلق شدند. برای کاهش اثرات مضر تریپسین و مهار آن، سرم جنین گاوی (FBS) به محیط اضافه شد. سپس محتویات فلاسک به فالکون منتقل شد و به مدت پنج دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد با سرعت ۱۳۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، سلول ها در انتهای لوله به صورت یک گلوله سفید تجمع یافتند. مایع رویی دور ریخته شد و تقریباً ۴ میلی لیتر از محیط کشت کامل به لوله اضافه شد .برای اطمینان از توزیع یکنواخت سلول ها در محیط، پیپتینگ انجام شد. نیمی از محیط لوله فالکون به یک فلاسک منتقل شد، در حالی که نیم دیگر آن به فلاسک دیگر اختصاص یافت و تنظیمات نهایی برای رسیدن به حجم مورد نظر در هر فلاسک انجام شد.

۲-۳ لیزر درمانی

شکل ۲ نمایی از دستگاهها و وسایل مورد نیاز برای انجام فوتوبیومدولیشن را نشان می دهد. پیکربندی آزمایش‌های تابش سلولی با استفاده از فلورسانس ناشی از لیزر در زیر هود ایجاد شد. برای تیمارها، سلول‌های PC12 با تراکم ۵۰۰۰ سلول در حجم ۱۰۰ میکرولیتر در یک صفحه ۹۶ چاهی قرار گرفتند. تیمارها ۴۸ ساعت پس از کاشت انجام شد و زمان کافی برای چسبیدن سلول ها به پلیت و دستیابی به مورفولوژی مناسب را فراهم کرد. گروه اول و دوم هر کدام به ترتیب به مدت ۳ و ۱۰ دقیقه در صفحات جداگانه قبل از انتقال به انکوباتور در معرض طیف فلورسانس اسپیرولینا قرار گرفتند.



شکل ۲. تنظیم تابش با استفاده از فلورسانس ناشی از لیزر در زیر هود

۲-۴ اندازه گیری زنده ماندن سلول یا سنجشMTT

برای ارزیابی اثرات محافظت کننده عصبی طیف فلورسانس بر روی زنده ماندن سلول، از طیف‌سنجی MTT استفاده شد. پس از تیمار سلول های PC12 با طیف فلورسانس، محلول MTT پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون اضافه شد تا غلظت نهایی ۰/۵ mg/ml بدست آید. پلیت ها در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد با ٪ ۵ CO2 نگهداری شدند. پس از یک دوره نهفتگی ۳ تا ۴ ساعته، بلورهای فورازان آبی تیره تولید شد. این کریستال‌ها متعاقبا در محلول DMSO حل شدند و میزان جذب میکروپلیت در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

بر اساس اطلاعات ارائه شده در جدول (۱) در مورد فعالیت نوری کروموفورهای اصلی در جلبک اسپرولینا، پرتو لیزر مستقیماً کاروتنوئیدها و کلروفیل ها را تحریک می کند. سپس، انتشار فلورسانس کاروتنوئیدها فیکوبیلیزوم ها را تحریک می کند و فلورسانس مربوطه با فلورسانس کلروفیل ترکیب می شود تا انتشار فلورسانس نهایی در محدوده طیفی ۶۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر ایجاد شود.

جدول ۱. فعالیت فوتولومینسانس کروموفورهای SP فراوان [۲۰].

کروموفر	فراوانی (mg/g)	$\lambda_{exc.}$(nm)	$\lambda_{em.}$(nm)
کل کاروتنوئیدها	~ ۳-۵.۵	~ (۳۹۰-۵۲۰)	~ (۴۵۰-۶۵۰)
کل فیکوبیلوزوم ها	~ ۱۰۰	~ (۴۳۰-۶۶۰)	~ (۶۳۰-۷۶۰)
کل کلروفیل ها	~ ۵-۱۰	~ (300-500) & ~ (650-700)	~ (۶۳۰-۸۰۰)

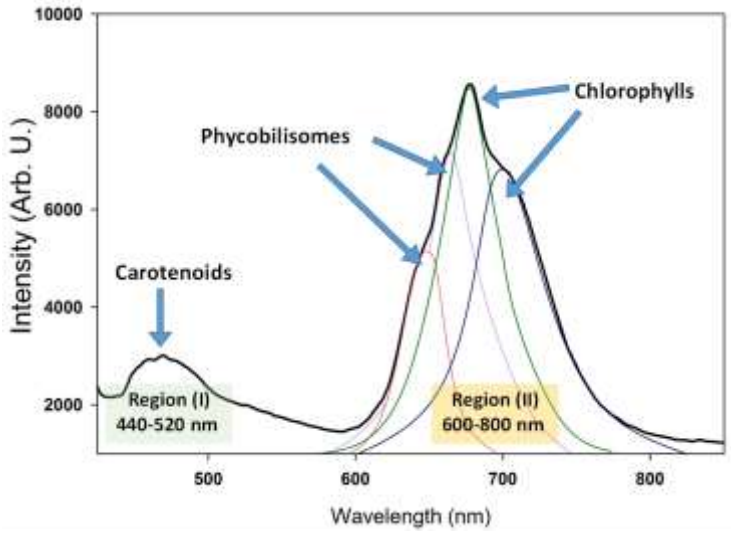
۲-۵ فلورسانس-بیومدولاسیون

همانطور که در بخش ۴-۲ ذکر شد، برای ارزیابی اثرات محافظت عصبی طیف فلورسانس بر مرگ و میر سلولی از روش طیف‌سنجی MTT، استفاده شد. پس از تیمار سلول های PC12 با طیف فلورسانس و قبل از افزودن MTT، سلول ها به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند. سپس پلیت ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و اتمسفر حاوی ٪۵ CO2 نگهداری شدند. پس از مدت زمان ۳ تا ۴ ساعت، بلورهای فورمازان آبی تیره تشکیل شدند. این کریستال ها متعاقبا در محلول DMSO حل شدند. میزان جذب میکروپلیت در طول موج ۵۷۰ نانومتر ثبت شد. افزایش درصد جذب نوری نشان دهنده افزایش زنده ماندن سلول ها در مقایسه با گروه کنترل است.

۳- نتایج

۳-۱ ویژگی برداشت نور جلبک اسپیرولینا

شکل ۳ سهم ترکیبات فراوان مانند کاروتنوئیدها، فیکوبیلیزوم ها و کلروفیل ها را در فوتولومینسانس محلول آبی جلبک اسپیرولینا نشان می دهد. بر اساس تاریخ ارائه شده در جدول (۱) [۲۰]، با توجه به فعالیت نوری کروموفورهای اصلی در جلبک، پرتو لیزر مستقیماً کاروتنوئیدها و کلروفیل ها را تحریک می کند. سپس، انتشار فلورسانس کاروتنوئیدها فیکوبیلیزوم ها را برانگیخته و فلورسانس مربوطه با فلورسانس کلروفیل ترکیب شده است تا انتشار فلورسانس نهایی در محدوده طیفی ۶۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر ایجاد شود.



شکل ۳. طیف فلورسانس محلول آبی جلبک اسپیرولینا که توسط لیزر دیود در ۴۰۵ نانومتر برانگیخته شده است .ترکیبات اصلی (بکاروتنوئیدها، فیکوبیلیزوم ها و کلروفیل ها) نشان داده شده است.

۳-۲ فلورسانس-بیومدولاسیون

برای ارزیابی اثرات محافظت عصبی طیف فلورسانس و مرگ و میر سلولی، روش طیف‌سنجی MTT استفاده شد. پس از تیمار سلول های PC12 با طیف فلورسانس، قبل از افزودن محلول MTT، سلول ها به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند. سپس پلیت ها در انکوباتور دارای دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و اتمسفر ۵٪ CO2 نگهداری شدند. پس از گذشت ۳ تا ۴ ساعت، بلورهای فورمازان آبی تیره تشکیل شدند. این کریستال ها متعاقبا در محلول DMSO حل شدند. میزان جذب میکروپلیت در طول موج ۵۷۰ نانومتر ثبت شد. افزایش معنی‌دار درصد جذب نوری نشان‌دهنده افزایش زنده‌مانی سلول‌ها به‌ترتیب در گروه‌های ۳ ($P<۰/۰۰۱$) و ۱۰ ($P<۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کنترل ۳ و ۱۰ بود.

۴- بحث و نتیجه گیری

برخی از مطالعات قبلی روش‌هایی برای استفاده همزمان از طیف محدودی از طول موج‌های مختلف که در طیف فلورسانس نیز یافت می‌شوند [۲۱] را برای هدف قرار دادن نواحی سطحی بافت آسیب دیده پیشنهاد کرده اند. این روش ها در مقایسه با نور لیزر سنتی، اثر درمانی بارزتری را نشان داده اند .در این راستا، پیشنهاد شده است جلبک اسپیرولینا با تبدیل نور لیزر تک رنگ به طیف فلورسانس با چند صد نانومتر، بر سلولهای عصبی PC12 مفید می باشد.

جلبک اسپیرولینا حاوی بسیاری از اجزای زیست مولکولی از جمله ویتامین E، کاروتنوئیدها، کلروفیل و فیکوسیانین است [۲۲]. نتایج ما نشان داد که جلبک اسپیرولینا می تواند نور لیزر تک رنگ را به محدوده طیفی فلورسانس ۶۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر

تبدیل کند (شکل ۳)، که یک طیف نزدیک به مادون قرمز (NIR) از طیف الکترومغناطیسی است. طیف فلورسانس محلول SP توسط لیزر دیود در λ=405 نانومتر برانگیخته شده است. همانطور که در جدول (۱) نشان داده شده است، اجزای اصلی در جلبک اسپیرولینا کاروتنوئیدها، فیکوبیلیزوم ها و کلروفیل ها بودند و پرتو لیزر به طور مستقیم توانست کاروتنوئیدها و کلروفیل ها را برانگیزد. به نظر می رسد انتشار فلورسانس کاروتنوئیدها، فیکوبیلیزوم ها را برانگیخته و فلورسانس مربوطه با فلورسانس کلروفیل ترکیب شده است تا انتشار فلورسانس نهایی را در محدوده طیفی ۶۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر ایجاد کند. علاوه بر این، درصد جذب نوری که نشان‌دهنده افزایش زنده‌ماندن سلول‌ها است، به طور قابل‌توجهی درگروههای ۳ و ۱۰ دقیقه نسبت به گروه‌های کنترل شان افزایش یافته بود.

بر اساس مطالعات تحقیقاتی منتشر شده، برخی از خواص زیست پزشکی مانند فعالیت ضد باکتریایی عصاره جلبک اسپیرولینا به ترکیبات شیمیایی آن مربوط می شود [۲۲] .همچنین مشخص شده است که ۱-هپتادکان، ۱-اکتادکان در برخی از جلبک ها دارای فعالیت های ضد باکتریایی، آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی هستند[۲۴ ، ۲۵]. در این مطالعه، مشاهده شد که فوتوبایومودولیشن توسط جلبک اسپیرولینا در محیط کشت سلولی، خاصیت محافظت عصبی را افزایش می‌دهد .عملیات فتوشیمیایی و فوتوفیزیکی می‌تواند فرآیندهای بیولوژیکی مختلف را تحریک یا مهار کند، که بستگی به بافت هدف، طرح درمان، طول موج نور، سرعت تکرار (فرکانس پالس)، جریان، تابش، اندازه نقطه و ویژگی‌های نوری بافت‌های هدف دارد. معمولا NIR طیف الکترومغناطیسی است که در فوتوبایومودولیشن برای تسکین برخی از بیماری های عصبی استفاده می شود (۲۶). ممکن است که فوتوبایومودولیشن با استفاده از محدوده طیف نور، فرآیندهای مختلفی را در مغز فعال کند.مشخص شده است که ناحیهNIR محلی است که در آن تعادل در کلسیم در داخل سلول ها وجود دارد و کانال های آن به محرک های نور حساس بوده و باعث ارتعاش آب در داخل سلول می شود. علاوه بر این، نور در ناحیه قرمز NIR یک گیرنده نوری اولیه آنزیم سیتوکروم c اکسیداز (CcOx) را نشان می دهد که یک مجموعه از زنجیره تنفسی میتوکندریایی مسئول مصرف اکسیژن (حدود ۹۰٪) است و بنابراین تقریباً مسئول کل انرژی تولید شده در سلول های پستانداران است. بنابراین، فعال شدن نوری CcOx ممکن است متابولیسم را به دلیل افزایش سنتز ATP افزایش دهد. نور سبز (حدود ۵۰۰ نانومتر) که توسط جزء کاروتنوئیدهای اسپرولینا به دست می‌آید، ممکن است دارای اپسین‌های فعال کننده نور باشد، نفوذپذیری کلسیم را افزایش دهد و کانال‌های سدیم و منیزیم را تعدیل کند، یا سایر مسیرهای سیگنال‌دهی سلولی را فعال کند[۲۶] در مورد بازسازی بافت و پاسخ ضد التهابی، طیف قرمز و NIR (۶۳۰ تا ۸۵۰ نانومتر) موثرتر بودند [۲۷]. اگرچه، نتایج ما شواهدی در مورد اثرات تعدیل نوری اسپیرولینا پلاتنسیس ارائه کرد، اما تحقیقات بیشتری برای توضیح مکانیسم‌های سلولی آن مورد نیاز است.

قدردانی

بدین وسیله از همکاران و ریاست مرکز تحقیقات علوم اعصاب که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند، صمیمانه تشکر می کنیم.

منابع و مراجع

1. Wiatrak B, Kubis-Kubiak A, Piwowar A, Barg E. PC12 cell line: cell types, coating of culture vessels, differentiation and other culture conditions. Cells. 2020;9(4):958.
2. Oprea D, Sanz CG, Barsan MM, Enache TA. PC-12 cell line as a neuronal cell model for biosensing applications. Biosensors. 2022;12(7):500.
3. Xie D, Deng T, Zhai Z, Sun T, Xu Y. The cellular model for Alzheimer's disease research: PC12 cells. Frontiers in Molecular Neuroscience. 2023;15:1016559.
4. Chang S-Y, Lee MY. Photobiomodulation of neurogenesis through the enhancement of stem cell and neural progenitor differentiation in the central and peripheral nervous systems. International journal of molecular sciences. 2023;24(20):15427.
5. Salehpour F, Sadigh-Eteghad S, Mahmoudi J, Kamari F, Cassano P, Hamblin MR. Action mechanisms of photobiomodulation in neuronal cells and the brain. Photobiomodulation for the brain: photobiomodulation therapy in neurology and neuropsychiatry: Springer; 2023. p. 49-85.
6. Wong-Riley MT, Liang HL, Eells JT, Chance B, Henry MM, Buchmann E, et al. Photobiomodulation directly benefits primary neurons functionally inactivated by toxins: role of cytochrome c oxidase. Journal of Biological Chemistry. 2005;280(6):4761-71.
7. Zhang Z, Zhang Z, Liu P, Xue X, Zhang C, Peng L, et al. The Role of Photobiomodulation to Modulate Ion Channels in the Nervous System: A Systematic Review. Cellular and Molecular Neurobiology. 2024;44(1):1-27.
8. De Freitas LF, Hamblin MR. Proposed mechanisms of photobiomodulation or low-level light therapy. IEEE Journal of selected topics in quantum electronics. 2016;22(3):348-64.
9. Masoumipoor M, Jameie SB, Janzadeh A, Nasirinezhad F, Kerdari M, Soleimani M. Effects of 660 nm low level laser therapy on neuropathic pain relief following chronic constriction injury in rat sciatic nerve. Archives of Neuroscience. 2014;1(2):76-81.
10. Fekrazad R, Asefi S, Eslaminejad MB, Taghiar L, Bordbar S, Hamblin MR. Photobiomodulation with single and combination laser wavelengths on bone marrow mesenchymal stem cells: proliferation and differentiation to bone or cartilage. Lasers in medical science. 2019;34:115-26.
11. Janzadeh A, Nasirinezhad F, Masoumipoor M, Jameie SB, Hayat P. Photobiomodulation therapy reduces apoptotic factors and increases glutathione levels in a neuropathic pain model. Lasers in medical science. 2016;31:1863-9.
12. Hossein-Khannazer N, Arki MK, Keramatinia A, Rezaei-Tavirani M. The role of low-level laser therapy in the treatment of multiple sclerosis: A review study. Journal of Lasers in Medical Sciences. 2021;12.
13. Masoumipour M, Barough MS, Jameie SB, Majdabadi A, Hosseinitabatabaei N, Babakhani B. Therapeutic Effects of Low-Level Laser Therapy on Pain and Disability of Patients with Failed Back Surgery Syndrome. Indian Journal of Orthopaedics. 2024;58(4):417-23.
14. Masoumipoor M, Jameie S, Janzadeh A, Nasirinezhad F, Soleimani M, Kerdary M. Effects of 660-and 980-nm low-level laser therapy on neuropathic pain relief following chronic constriction injury in rat sciatic nerve. Lasers in medical science. 2014;29:1593-8.
15. Edge D, Mellergaard M, Dam-Hansen C, Corell DD, Jaworska J, Scapagnini G, et al. Fluorescent light energy: the future for treating inflammatory skin conditions? The Journal of clinical and aesthetic dermatology. 2019;12(5):E61.
16. Marchegiani A, Spaterna A, Cerquetella M, Tambella AM, Fruganti A, Paterson S. Fluorescence biomodulation in the management of canine interdigital pyoderma cases: a prospective, single-blinded, randomized and controlled clinical study. Veterinary dermatology. 2019;30(5):371-e109.
17. Marchegiani A, Spaterna A, Palumbo Piccionello A, Meligrana M, Fruganti A, Tambella AM. Fluorescence biomodulation in the management of acute traumatic wounds in two aged dogs. Veterinární medicína. 2020;65(5):215-20.

18. Marchegiani A, Tambella AM, Fruganti A, Spaterna A, Cerquetella M, Paterson S. Management of canine perianal fistula with fluorescence light energy: preliminary findings. Veterinary Dermatology. 2020;31(6):460-e122.
19. Tambella AM, Attili AR, Beribè F, Galosi M, Marchegiani A, Cerquetella M, et al. Management of otitis externa with an led-illuminated gel: a randomized controlled clinical trial in dogs. BMC Veterinary Research. 2020;16:1-14.
20. Khayatian S, Bavali A, Moradi S, Farhadi M, Jameie SB. Fluorescence inner filters of Arthrospira platensis: Novel perspective for precise fluorescence-based sensors. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2023;284:121791.
21. LF De Freitas MH. Proposed mechanisms of photobiomodulation or low-level light therapy. IEEE Journal of Selected Topi. 2016;22(3).
22. Maria P Spínola ARM, José A M Prates. Chemical Composition, Bioactivities, and Applications of Spirulina (Limnospira platensis) in Food, Feed, and Medicine. 2024;13(22).
23. Rao AR RA, Aradhya S. Antibacterial prop-
erties of Spirulina platensis,. Haematococcus pluvia-lis, Botryococcus braunii micro algal extracts CurrTrends Biotechnol Pharm. 2010;43(809-819).
24. Mishra PM SA. Chemical investigation of Fin- laysonia obovata: part I–a rare triterpene acid showing antibacterial activity against fish pathogens. Nat Prod Res. 2008; 22:801-7.
25. Lee YS KM, Cho SY, Jeong CS. Effects of con- stituents of Amomum xanthioides on gastritis in rats and on growth of gastric cancer cells. Arch Pharm Res. 2007;30:436-43.
26. Farzad Salehpour JM, Farzin Kamari, Saeed Sadigh-Eteghad, Seyed Hossein Rasta & Michael R Hamblin. Brain photobiomodulation therapy: a narrative review. MolNeurobiol. 2018;55(8):6601–36.
27. R. Zein WS, M.R. Hamblin, . Review of light parameters and photobiomodulation efficacy: dive into complexity. J Biomed Opt. 2018;12(23).