Archive of SID

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ هشتم، شمارهٔ ۳، ص ۱۶۸-۱۶۱، ۱۳۸۰

مقالهٔ پژوهشی

اثر سیتوژنتیکی امواج فراصوتی درمانی پیوسته بر لنفوسیت‌های انسان در مرحلهٔ G۰ چرخهٔ سلول

بهرام یوسفیان، دکتر حسین مزدارانی۲، دکتر منیژهٔ مختاری دیزجی۳

خلاصه

علی‌رغم تحقیقات گسترده‌ای که در رابطه با آثار بیولوژیک امواج فراصوتی انجام شده است، هنوز در موردآثار بیولوژیک آن به ویژه اثر بر مولکول DNA تردید وجود دارد. از آنجا که هر گونه تغییر در مولکول DNAمی‌تواند موجب آسیب‌های کروموزمی شود، بررسی آثار کلاستوژنیک (آسیب‌های کروموزومی) امواج فراصوتی‌حایز اهمیت است. در این مطالعه اثر سیتوژنتیک امواج فراصوتی درمانی پیوسته با فرکانس ۱MH و توان‌های۰/۵، ۱ و ۱/۵ وات بر لنفوسیت‌های تحریک نشدهٔ

www.SID.ir

Archive of SID

انسان مورد بررسی قرار گرفت. لنفوسیت‌های نمونهٔ خون‌هپارینه با استفاده از محیط جدا کنندهٔ «فایکول هایپاک» جداسازی شد و سپس تحت تأثیر امواج فراصوتی قرارگرفت. نمونه‌های تابش دیده در محیط RPMI 1640 کشت داده شد و سلول‌ها با فیتوهماگلوتینین تحریک شدند وبا استفاده از سیتوکلازین B سلول‌های دو هسته‌ای در مرحلهٔ سیتوکیناز متوقف گردیدند. برای هر نمونه فراوانی‌میکرونوکلئی در ۱۰۰۰ سلول دو هسته‌ای مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی نمونه‌های شاهد، Shamو نمونه‌هایی که تحت تابش امواج فراصوتی با توان‌های مختلف از ۰/۵ تا ۱/۵ وات قرار گرفتند، نشان داد که بین‌گروه Sham و گروه تابش دیده با امواج فراصوتی با توان ۰/۵ وات اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. فراوانی‌میکرونوکلئی در سلول‌هایی که تحت تابش ۱ و ۱/۵ وات امواج فراصوتی قرار گرفتند، اختلاف معنی‌داری را باگروه شاهد و Sham نشان داد(P۰/۰۵«). در مطالعه حاضر به علت کوتاهی زمان تابش، افزایش دما محسوس‌نبود، لیکن پدیده‌های مکانیکی امواج فراصوتی شامل آثار شیمیایی که موجب تشکیل رادیکال‌های آزاد(احتمالاً ناشی از پدیده حفره‌سازی در محیط تابش) می‌گردد و لرزش‌های مکانیکی مولکول‌های بزرگ که‌ساختمان نسبتاً شکننده‌ای دارند، می‌تواند نقش عمده‌ای در ایجاد آسیب کروموزومی در توان‌های بالاتر امواج‌فراصوتی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: امواج فراصوتی پیوسته، اثر سیتوژنتیک، لنفوسیت انسان، میکرونوکلئی

مقدمه

www.SID.ir

Archive of SID

امواج فراصوتی تشخیصی به طور گسترده‌ای در پزشکی‌استفاده می‌شود به طوری که میلیون‌ها زن باردار امروزه جهت‌بررسی وضعیت جنین‌شان تحت تابش امواج فراصوتی قرارمی‌گیرند. اگر چه تجربه‌های بالینی مبین بی‌ضرر بودن تابش امواج‌فراصوتی است (۱۹) اما در مورد ایجاد اثرات ژنتیکی نتایج‌متناقص است (۳). نشان داده شده که امواج فراصوتی تشخیصی‌پزشکی آثار کشنده ایجاد نمی‌کند (۲،۱)، اما امواج فراصوتی‌درمانی که با توان‌های بالای قابل ملاحظه و تا حدی درفرکانس‌های پایین‌تر از امواج فراصوتی تشخیصی استفاده‌می‌شوند، قادر به ایجاد آثار بیولوژیک می‌باشند. تغییرات درمورفولوژی و افزایش مرگ سلول‌های پستانداران در محیط‌کشت توسط تابش امواج فراصوتی گزارش شده است (۱۳). ازخصوصیات سلول‌های تمامی بافت‌ها استعداد سرطانی شدن‌است و گرچه این اثر فوری نیست، اما همراه با دیگر عوامل‌جهش‌زای محیطی اثرات درازمدت ایجاد می‌کند. در حال حاضرفرضیه‌های سرطان‌زایی بر مبنای ایجاد تغییرات ژنتیکی است که‌باعث شروع زنجیرهٔ وقایعی می‌شود که به سرطانی شدن سلول‌می‌انجامد (۴). از آنجا که تابش امواج فراصوتی، تغییراتی درمولکول DNA ایجاد می‌کند و نیز نشان داده شده که امواج‌فراصوتی در سطوح تشخیصی منجر به تحریک ترمیم DNAسلول‌های پستانداران در محیط کشت می‌شود که خود مبین‌رخداد آسیب DNA است (۱۴)، از این‌رو بررسی اثر موتاژنیک وکلاستوژنیک امواج فراصوتی همواره مورد بحث بوده است.

اثر ژنتیکی شامل تغییرات عددی و ساختاری کروموزم‌ها وهمچنین جهش‌های نقطه‌ای و تبادل کروماتیدهای خواهری(Sister chromatid exchange= SCE) است. اگر چه

www.SID.ir

Archive of SID

تغییرات‌ساختاری، عددی و جهش‌های نقطه‌ای از نظر بالینی حائز اهمیت‌هستند، اما اهمیت بیولوژیک SCE هنوز شناخته شده نیست زیراظاهراً تغییری در اطلاعات محتویات DNA ایجاد نمی‌کند. در هرحال، بررسی‌های اولیه نشان می‌دهد که امواج فراصوتی درسلول‌های کشت شده پستانداران، SCE ایجاد می‌کند (۸)، درحالی که دیگر محققان این یافته را تأیید نمی‌نمایند (۱۸).گزارش ایجاد شکست‌های کروموزومی در نتیجهٔ تابش امواج‌فراصوتی در لنفوسیت‌ها و دیگر سلول‌های انسان در شرایط *Invitro* توسط Macintosh و همکاران نیز با آزمایش‌های دیگرمحققان تأیید نشده است(۱۷،۱۶،۱۵).

در هر حال اثرات بیولوژیک حاصل از استفادهٔ همزمان‌امواج فراصوتی و دیگر عوامل فیزیکی مانند هیپرترمی، اشعه‌ایکس و گاما نشان می‌دهد که امواج فراصوتی موجب افزایش‌حساسیت سلول‌ها به یکی از عوامل فیزیکی ذکر شده می‌گردد وبررسی شدت، فرکانس و روش‌های تابش‌دهی مناسب برای‌افزایش اثر کلاستوژنیک در سلول‌ها از اهمیت زیادی برخورداراست (۹،۱۰،۲۲).

گزارش اخیر در زمینهٔ میزان آسیب ژنتیکی حاصل ازتابش‌گیری شغلی امواج فراصوتی به تنهایی و تابش‌گیری شغلی‌توأم امواج فراصوتی و پرتوهای یونیزان مبین آن است که فراوانی‌میکرونوکلئی در افراد تحت تابش امواج فراصوتی نسبت به گروه‌شاهد بیشتر است. ایجاد میکرونوکلئی که یک شاخص بیولوژیک‌برای ایجاد شکست کروموزوم و ناشی از قطعه‌های کروموزومی‌بدون سانترومر یا کروموزوم کامل می‌باشد، اثر مضر امواج‌فراصوتی را بر ژنوم انسان نشان می‌دهد.مطالعه آنالیز متافاز وشمارش میکرونوکلئی در افراد تحت تابش‌گیری شغلی پرتوهای‌یونیزان و امواج فراصوتی نیز حاکی از ایجاد اثر ژنتیکی بیشتر

www.SID.ir

Archive of SID

درگروه تابش دیده با هر دو پرتو نسبت به گروهی است که تنها تابش‌پرتو یونیزان دریافت کرده‌اند (۷،۶).

با توجه به بحث‌های موجود در رابطه با قابلیت ایجاد اثرژنتیکی امواج فراصوتی، در این مطالعه اثر امواج فراصوتی‌درمانی پیوسته در فرکانسMHz ۱ و توان‌های‌متفاوت‌برروی‌لنفوسیت‌های انسان در مرحلهGo باروش‌سنجش میکرونوکلئی در سلول‌های دو هسته‌ای(Cytokinesis blocked micronuclei assay) مورد بررسی قرارگرفت. روش سنجش میکرونوکلئی در سلول‌های دو هسته‌ای‌روشی حساس، کارآمد و مطمئن برای بررسی اثر عوامل فیزیکی‌و شیمیایی بر ساختار DNA و کروموزوم‌های سلول‌های‌پستانداران است که به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرارمی‌گیرد(۱۱،۵).

مواد و روش‌ها

برای بررسی اثر سیتوژنتیکی امواج فراصوتی برلنفوسیت‌های خون محیطی، نمونهٔ خون محیطی با استفاده ازسرنگ هپارینه از ورید ناحیه آرنج تهیه شد. برای جلوگیری ازعوامل مخدوش کننده، کلیه نمونه‌ها از یک نفر داوطلب مذکرغیرسیگاری ۳۴ ساله تهیه گردید که طی سه ماه قبل ازنمونه‌گیری، تحت تابش درمانی یا تشخیصی پرتوهای یون‌ساز ودرمان با آنتی‌بیوتیک قرار نگرفته بود و به عفونت‌های ویروسی‌نیز مبتلا نبوده است. به علت توانایی امواج فراصوتی مورداستفاده در لیز کردن گلبول‌های قرمز و رهاشدن محتویات آن به‌درون محیط کشت که موجب تغییر pH محیط کشت، ایجادسمیّت و نهایتاً اختلال در رشد لنفوسیت‌ها می‌شود، با استفاده ازداروی فایکول هایپاک (سازمان انتقال خون ایران) وسانتریفیوژ Freeangle (بازوی آزاد) با دور ۲۰۰۰rpm،لکوسیت‌ها جدا شدند. فایکول هایپاک به دلیل دارا بودن

www.SID.ir

Archive of SID

چگالی‌بالا و تمایل اتصال به گلبول‌های قرمز خون، موجب رسوب گلبول‌های قرمز شده و از مابقی مواد جدا می‌شود. محلول‌سوسپانسیون گلبول‌های سفید به تعداد ۵×۶۱۰ سلول در هرمیلی‌لیتر و محیط کشت RPMI-1640 فاقد سرم جنین گاو (FCS)در ظروف پلی‌استیرن تحت تابش امواج فراصوتی قرار گرفت. دوگروه دیگر نمونه به عنوان گروه‌های شاهد (بدون مکانیسم‌های‌جابجایی و تابش‌دهی) و sham (همراه با مکانیسمهای جابجایی‌و تابش‌دهی ولی بدون پرتودهی فراصوتی) منظور گردید.

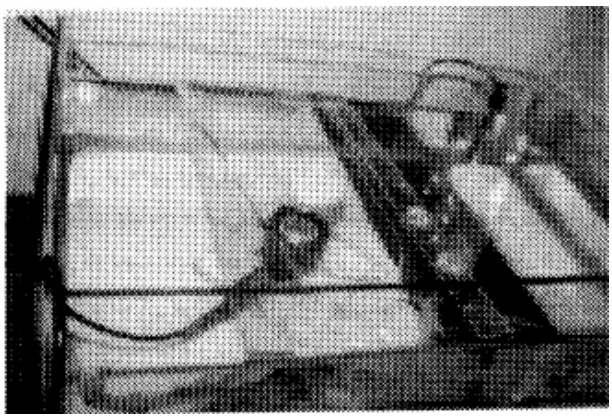
برای تابش امواج فراصوتی از دستگاه سونوتراپی پیوسته(ENRAF NANIUS-434) با فرکانس کاری ۱ MHz و توان‌های۰،۱/۵ و ۱/۵ وات استفاده شد. برای پرتودهی فراصوتی‌سلول‌های گروه آزمون در شرایط *invitro*، یک مخزن شیشه‌ای‌به ابعاد ۲۵×۴۵×۶۷ سانتی‌متر مکعب طراحی و با آب مقطر بدون‌یون پر شد. پروب مولد امواج فراصوتی توسط نگهدارندهٔ فلزی‌در کف ظرف ثابت شد. ظرف کشت از جنس پلی‌استیرن محتوی‌گلبول‌های سفید و محیط کشت (با ضخامت یک میلی‌متر)انتخاب گردید زیرا امپدانس صوتی آن نزدیک به خون و آب قراردارد. با توجه به قطر پروب (۲۵mm)، میدان دید نزدیک حدود۱۰۰ میلی‌متر است، نمونه در انتهای میدان دید نزدیک مبدل‌فراصوتی در فاصله ۹۰ میلی‌متری قرار داده شد زیرا در این ناحیه‌علاوه بر آنکه فشار صوتی و شدت نسبی حداکثر بوده، یکنواختی‌نسبتاً بالایی نیز وجود دارد (۲۰). به منظور ثابت‌نگه‌داشتن‌دمای‌آب (۳۷CÜ) در حین تابش، از یک گرمکن‌الکتریکی ترموستات‌دار (Rena) استفاده شد ویکنواختی‌دمادرکلیه نقاط‌مخزن نیز با استفاده از یک همزن(Janke & Kunkel GMBH & Co.KG)

www.SID.ir

Archive of SID

ایجاد و دمای محیط‌داخل مخزن با استفاده از یک دماسنج دیجیتالی (Sigma) با دقت CÜ۰/۰۱× کنترل شد. شکل ۱، تصویری از نحوهٔ پرتودهی وچگونگی قرار گرفتن نمونه و مبدل را نشان می‌دهد.

شدت پرتو فراصوتی توسط یک رادیومتر(ENRAFNANIUS) کالیبره شد. با توجه به شدت در سطح‌مبدل، فاصله نمونه از سر مبدل فراصوتی، ضریب تضعیف وامپدانس صوتی آب، پلی‌استیرن، خون و هوا (۲۰) و بررسی‌میزان تضعیف و عبور امواج فراصوتی از مرز مشترک دو محیط وانعکاس امواج فراصوتی از مرز مشترک هوا ـ خون، شدت امواج‌رسیده به گلبول‌های خونی به ترتیب ۰/۰،۲۹/۱۵ و ۰/۴۴ وات برسانتی‌متر مربع اندازه‌گیری شد. محلول معلّق لکوسیت‌ها درRPMI طوری تحت تابش امواج فراصوتی قرار گرفت که مرکزظرف کشت و مرکز پروب در یک راستا باشند. چون قطر ظرف‌کشت دو برابر قطر پروب است و بررسی در میدان تخت امواج‌فراصوتی انجام می‌شود، لذا از روش پرتودهی تقطیعی مشتمل بر ۳۰ ثانیه پرتودهی و هم‌زدن نمونه به مدت ۳۰ ثانیه و تکرارپرتودهی (در مجموع ۱ دقیقه) استفاده شد.



شکل ۱: *سیستم پرتودهی و نحوهٔ قرار گرفتن نمونه و مبدل امواج‌فراصوتی*

کشت لنفوسیت‌ها و تهیه میکرونوکلئی

لکوسیت‌های تابش دیده به تعداد ۵×۶۱۰ سلول در هرمیلی‌لیتر به ظرف

www.SID.ir

Archive of SID

کشت استریل حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت RPMI 1640 حاوی L- گلوتامین، ۱۵٪ FCS و ۰/۱٪ آنتی‌بیوتیک(پنی‌سیلین و استرپتومایسین) منتقل شد. برای تحریک‌لنفوسیت‌ها و ورود آنها به چرخهٔ سلولی و رشد، ۲٪فیتوهماگلوتینین (PHA) به محیط کشت اضافه شد. سلول‌های کشت شده در انکوباتور با دمای ۳۷CÜ قرار گرفتند. ۴۳ ساعت‌پس از کشت و تحریک لنفوسیت‌ها، ۳g/mlm داروی سیتوکلازین(B (Sigma به محیط اضافه شد تا سلول‌ها در مرحله سیتوکینازمتوقف شوند. ۶۷ ساعت پس از شروع کشت، محصول‌برداری‌انجام شد.

محتویات هر ظرف کشت به لوله سانتریفیوژ منتقل شد و پس‌از سانتریفیوژ با دور ۹۰۰rpm به مدت ۷ دقیقه، محیط کشت دورریخته شد و به سلول‌ها محلول ۰/۰۷۵ مولار KCl اضافه گردید.پس از شوک هیپوتونیک کوتاه مدت، سلول‌ها با فیکساتیوکارنوی (مخلوطی از اسیداستیک و متانول به نسبت حجمی ۱:۳)تثبیت و سلول‌ها به روی لام تمیز منتقل شدند. لام‌ها با محلول‌گیمسای ۱۰ درصد (Merck) رنگ‌آمیزی شد و با میکروسکوپ‌نوری (Novex) با درشت‌نمایی ۴۰۰ بررسی و فراوانی‌میکرونوکلئی در هر ۱۰۰۰ سلول دو هسته‌ای برای هر نمونه‌تعیین گردید.

نتایج گروه شاهد، Sham و تابش دیده با امواج فراصوتی باتوان‌های ۰/۵ و ۱ و ۱/۵ وات با استفاده از آزمون غیرپارامتری‌کروسکال - والیس (Kruskal-Wallis) از نظر آماری مقایسه شد.

نتایج

در مطالعهٔ حاضر اثر توان‌های، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ وات امواج‌فراصوتی درمانی پیوسته بر روی لنفوسیت‌های خون محیطی‌انسان برای ایجاد آسیب بیولوژیک

www.SID.ir

Archive of SID

مورد بررسی قرار گرفت.شمارش فراوانی میکرونوکلئی در هر ۱۰۰۰ سلول دو هسته‌ای به‌عمل آمد. نتایج حاصل از بررسی سیتوژنتیکی سه سری نمونه‌خونی که تحت تابش امواج فراصوتی پیوسته با توان‌های ۰/۵، ۱و ۱/۵ وات در فرکانس ۱MHz قرار گرفته‌اند، با گروه شاهد وSham مقایسه شده و در جدول ۱ آمده است.

بررسی نتایج حاصل از فراونی میکرونوکلئی به ازای ۱۰۰۰سلول دو هسته‌ای شمارش شده حاصل از پرتودهی فراصوتی باتوان ۰/۵ وات در مقایسه با گروه کنترل اختلاف‌معنی‌داری)۰/۰۵(P« را نشان می‌دهد، لکن در مقایسه باگروهSham اختلاف شمارش میکرونوکلئی معنی‌دار نیست.

مقایسهٔ گروه تابش دیده با توان ۱ وات امواج فراصوتی وگروه شاهد نشان دهندهٔ اختلاف معنی‌دار با سطح P۰/۰۵«می‌باشد که این اختلاف با گروه Sham نیز به طور ضعیفی معنی‌داربود.

سلول‌هایی که با توان ۱/۵ وات امواج فراصوتی تحت تابش‌واقع شدند، در مقایسه با هر دو گروه شاهد و Sham اختلاف‌معنی‌دار با سطح P۰/۰۱« نشان دادند.

میانگین و خطای استاندارد فراوانی میکرونوکلئی حاصل ازشمارش ۱۰۰۰ سلول دو هسته‌ای حاصل از دو گروه شاهد وSham در مقایسه با سلول‌هایی که تابش فراصوتی با توان‌های۰/۵، ۱ و ۱/۵ وات داشته‌اند، در شکل ۲ ملاحظه می‌شود. مقایسهٔسه گروه تحت تابش امواج فراصوتی با یکدیگر (بدون مقایسه باشاهد و Sham) اختلاف معنی‌داری را در شمارش میکرونوکلئی)۰/۰۵(P« نشان می‌دهد و در واقع نشان‌دهندهٔ وابستگی فراوانی‌میکرونوکلئی به توان امواج فراصوتی در محدودهٔ بکار رفته دراین تحقیق می‌باشد.

www.SID.ir

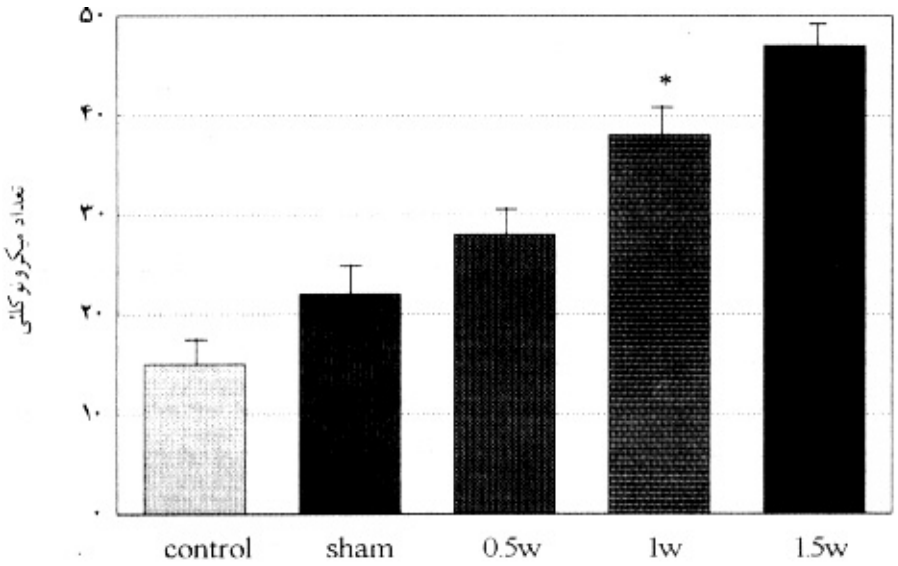
Archive of SID

جدول ۱: *فراوانی میکرونوکلئی به ازای ۱۰۰۰ سلول دو هسته‌ای شمارش شده در هر نمونه*

گروه / آزمایش	شاهد	Sham	پرتو دهی فراصوت (1 MHz)		
			۰/۵ وات	۱ وات	۱/۵ وات
آزمایش اول	۱۲	۲۲	۲۸	۳۷	۴۶
آزمایش دوم	۱۸	۲۱	۲۴	۴۰	۴۴
آزمایش سوم	۱۵	۲۰	۳۰	۳۵	۴۹
میانگین	۱۵	۲۰/۳	۲۷/۳	۳۷/۳	۴۶/۳

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲: *میانگین فراوانی میکرونوکلئی در ۱۰۰۰ سلول دو هسته‌ای در گروه‌های تابش دیده فراصوتی (۰/۵، ۱ و ۱/۵ وات) ومقایسه با گروه‌های شاهد و* Sham. *در نمودار فوق خطای استاندارد(*SEM*) به صورت دوطرفه رسم شده است (*$P<0/01$ *××،* $P<0/05$ *×)*

بحث و نتیجه‌گیری

www.SID.ir

Archive of SID

امواج فراصوتی از اواخر دهۀ ۴۰ میلادی در پزشکی کاربردموفقیت‌آمیز پیدا کردند و تاکنون هیچ مدرک علمی معتبری دال‌بر مضر بودن این امواج در شدت‌های تشخیصی و درمانی ارائه‌نشده است. امواج فراصوتی در مقایسه با اشعه یونیزان می‌توانند به‌طور نسبتاً دقیق‌تر بر روی محل ضایعه سرطانی متمرکز شوند لذااثر آن‌ها تا حد زیادی به محل ضایعه محدود می‌شود. یکی ازمعتبرترین و حساس‌ترین روش‌ها برای بررسی آثار کلاستوژنیک‌عوامل مختلف، آزمون میکرونوکلئی است. لیکن در بین‌سلول‌ها، سلول‌های لنفوسیت به علت حساسیت بالا نسبت به‌عوامل کلاستوژن از ویژگی خاصی برخوردارند. در مطالعۀ حاضر،امواج فراصوتی ۱MHz با توان‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ وات به مدت‌یک دقیقه بر روی لنفوسیت‌های جدا شده متمرکز گردید. بررسی‌نتایج حاصل از فراوانی میکرونوکلئی وجود اختلاف آماری‌معنی‌داری را بین گروه ۰/۵ وات و گروه Sham نشان‌نداد)۰/۰۵(p»، هر چند این گروه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داردارد. گروه‌های ۱ و ۱/۵ وات نیز اختلاف معنی‌دار آماری با گروه‌شاهد و Sham نشان دادند.

در بررسی‌های انجام شده، مرگ سلولی در آستانه شدت ۱/۱وات بر سانتی‌متر مربع امواج فراصوتی درمانی گزارش شده‌است(۱۲). در مطالعه دیگری ملاحظه شده که شرایط منجربه‌بروز آسیب ژنتیکی دارای بیشترین شدت، کمترین فرکانس ونوع موج پیوسته با حفره‌سازی موقت است (۱۸). وابستگی‌توانایی امواج فراصوتی در ایجاد آسیب ژنتیکی به شرایط‌تابش‌دهی و نوع سلول مورد تابش اثبات شده است. لیکن در این‌میان ظاهراً فرکانس امواج فراصوتی نقش عمده‌ای دارد زیرابروز پدیدۀ حفره‌سازی که عامل ایجاد رادیکال‌های آزاد درمحیط مورد

www.SID.ir

Archive of SID

تابش است، کاملاً به فرکانس امواج فراصوتی بستگی‌دارد(۲،۲۱).

در روش‌های تشخیصی و درمانی امواج فراصوتی، افزایش‌فرکانس موجب لطمه‌های جدی به تشخیص و یا اهداف درمانی‌می‌شود لذا از تغییر دو عامل دیگر یعنی شدت و زمان تابش امواج‌در جهت تغییر اثر حفره‌سازی و ایجاد رادیکال آزاد و در نتیجه‌آسیب ژنتیکی استفاده می‌گردد. از این رو برای رسیدن به آسیب‌ژنتیکی کمتر در روش‌های درمانی و تشخیصی بایستی از فرکانس‌بالا، شدت کم و زمان تابش‌دهی کم استفاده کرد.

مطالعات نشان داده که آستانهٔ متلاشی شدن سلول‌ها در شدت۱ وات بر سانتی‌متر مربع و حداکثر آن در ۱۰ وات بر سانتی‌مترlمربع است. در شدت ۱۰ وات بر سانتی‌متر مربع، به علت بروزآثار گرمایی امواج فراصوتی و ایجاد حفره گازی، آثار تخریبی‌امواج فراصوتی کاهش می‌یابد زیرا امواج فراصوتی درشدت‌های بیش از ۱۰ وات بر سانتی‌متر مربع پس از رسیدن به‌حباب گاز به دلیل اختلاف شدید امپدانس صوتی، کاملاً منعکس‌شده و از حباب عبور نمی‌کنند.

با توجه به اینکه امواج فراصوتی به علت پدیدهٔ جذب درهنگام عبور از محیط، دمای محیط را بالا می‌برند، چنانچه‌هسته‌های حفره‌سازی در محیط موجود باشند، با وقوع پدیده‌حفره‌سازی موقت، رادیکال‌های آزاد در محیط تشکیل می‌شوندکه هر دو عامل فوق می‌توانند موجب بروز ناهنجاری‌های‌کروموزومی و مرگ سلولی شوند. ظاهراً در توان ۰/۵ وات امواج‌فراصوتی انرژی کافی برای وقوع حفره‌سازی موقت در مایعی‌مانند سوسپانسیون لکوسیت‌ها در محیط کشت RPMI ندارند ولی‌امکان وقوع حفره‌سازی پایدار وجود دارد که موجب پدیدهٔ برشی(Shearing) و جریان‌های میکرونی می‌شود که به نوبهٔ خودسلول‌ها را متأثر می‌سازند و همچنین افزایش دمای

www.SID.ir

Archive of SID

Summary

Cytogenetic Effects of Continuous Therapeutic Ultrasound Waves on Human Lymphocytes in G0Phase of Cell Cycle

B. Yoosefian, MSc1., H. Mozdarani, PhD2., M. Mokhtari-Dizaji, PhD3.

1. MSc.of Medical Physics, 2. Professor of Radiobiology, 3. Assistant Professor of Medical Physics; School of MedicalSciences, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

In spite of wide spread investigations performed, the biological effects of ultrasound waves, specially onDNA molecule has not been fully understood. Since any alteration in DNA molecule can lead tochromosome abnormality, the study of clastogenic effects of ultrasound is important. In this study, theeffect of 1MHz frequency continuous waves

محیط نیزموجب تشدید این آثار شده است. در توان‌های ۱ و ۱/۵ وات‌انرژی پرتو به حدی رسیده است که تمام مکانیزم‌های آسیب‌زا رافعال کند و سلول‌ها را مورد تأثیر قرار دهد که نتایج نیز مبین‌وجود این آسیب‌هاست. تصور می‌شود در این توان‌ها پدیدهٔ تولیدرادیکال آزاد موجب آسیب مولکول DNA و نهایتاً ایجادشکست کروموزوم می‌شود که اثر آن بر سیکل میکرونوکلئی درسلول‌های دو هسته‌ای مشاهده شده است.

در مطالعه حاضر به منظور کاهش تأثیر متغیرهایی مانند سن،جنس، نوع تغذیه، استفاده از دارو و پرتوگیری قبلی، ازلنفوسیت‌های یک نفر استفاده شد که کاری مشابه تحقیق بر روی‌یک رده سلولی خاص است. واضح است برای تعمیم نتایج‌مطالعه به استفاده‌های کاربردی بالینی، لازم است مطالعه بر روی‌نمونه‌های افراد از جنس‌ها و سنین مختلف و مراحل دیگر تقسیم‌سلولی تکرار گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

micronuclei frequency compared to control and shamgroups (P<0.05).In the present study, because of short exposure duration, temperature rise and hencethermal effect on cells was negligible. Therefore, mechanical process of ultrasound waves includingchemical effects which lead to free radical formation (probably due to cavitation in exposure field) andmechanical vibration of large molecules which are fragile structures may play a role in chromosomalaberration and micronuclei formation.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2001; 8(3): 161-168
Key words:*Therapeutic ultrasound, Cytogenetic effects, Human lymphocytes, Micronuclei*

References

with the power of 0.5, 1 and 1.5 Watts on G0-humanlymphocytes was investigated. Lymphocytes were separated from heparinized peripheral blood by usinglymphocyte separation medium and then were exposed to ultrasound waves. Exposed samples werecultured in RPMI-1640 treated with phytohaemaglutinin (PHA) and then binuclei cells were harvestedusing cytochalasin B. For each sample 1000 binculei were examined for the presence of micronuclei.Results obtained from control, sham control and samples exposed to various ultrasound waves withdifferent powers from 0.5 to 1.5 W showed that there is no statistical difference between the frequency ofmicronuclei observed for sham, control and samples exposed to 0.5 W. However cells exposed to 1 and 1.5W ultrasound waves showed significantly higher

www.SID.ir

Archive of SID

1.Barnett SB, Rott HD, Ter Haar GR,Ziskin MC and Maeda K. The sensitivity of biological tissue to ultrasound.*Ultrasound Med Biol*1997; 23(6): 805-812.
2.Chandraratna PAN, Gallet J, Jones GB,Do Y, Gunawardana R, Narang Y. An investigation of possible effects of high frequency ultrasound on cellular integrity ofculturefibroblasts.*Ultrasound Med Biol*1998; 24: 911-914.
3.Doida Y, Miller MW, Cox C and Church CC. Confirmation of an ultrasound-induced mutation in two*in vitro*mammalian cell lines.*Ultrasound Med Biol*1990; 16(7): 699-705.
4.Farber E and Cameron R. The sequential analysis of cancer development.*Adv Cancer Res*1980; 31: 125-226.
5.Fenech M. The cytokinesis blocked micronucleus technique and its application to genotoxicity studies in human populations.*Environ Health Prespect*1993; 101 supple 3: 101-7.
6.Garaj-Vrhovac V, Fucic A, Kubelka D, Hebrang A, Assessment of genome damage in occupational exposure to ionising radiation and ultrasound.*Mutat Res*1997; 395: 101-105.
7.Garaj-Vrhovac V, Kopjar N, Besendorfer V and Pepes D. Induction of micronuclei in human lymphocytes after occupational exposure to ultrasound.*Chemosphere* 1999; 38(15): 3541-3553.
8.Goss SA. Sister chromatid exchange and ultrasound.*J Ultrasound*

www.SID.ir

Archive of SID

Med 1984; 3(10): 463-470.
9.Harrison GH and Blacer-Kubiczek EK. Continous wave ultrasound and neoplastic transformation*in vitro.Ultrasound Med Biol*1989; 15: 335-340.
10.Harrison GH, Blacer-Kubiczek EK,Gutierrez PL.*In vitro*action of continous-wave ultrasound combined with adriamycin, X-rays or hyperthermia.*Radiat Res*1996; 145: 98-101.
11.Heddle JA, Cimino MC, Hayashi M,*et al.*Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present and future.*EnvironMol Mutagen*1991; 18(4): 277-291.
12.Hedges MJ and Leeman S. 1.5 MHz ultrasound irradiation of human and induction of chromosome aberrations.*Br J Radiol*1972; 45(532): 320-327.
lymphocytes.*Int J Radiat Biol Relat studPhys Chem Med*1979; 35(4): 301-311.
13.Kaufman G, Mutagenicity of ultrasound in cultured mammalian cells.*Ultrasound Med Biol*1985; 11: 497-501.
14.Liebeskind D, Bases R, Elequin F,*et al.* Diagnostic ultrasound: effects on the DNA and growth patterns of animal cells.*Radiology*1979; 131(1): 177-184.
15.Macintosh IJ, and Davey DA.Chromsome aberrations induced by an ultrasonic fetal pulse detector.*Br Med J* 1970; 4(727): 92-93.
16.Macintosh IJ and Davey DA.Relationship between intensity of ultrasound
17.Macintosh IJ, Brown RC and Conkley WT. Ultrasound and*in vitro*chromosome

www.SID.ir

Archive of SID

aberrations. *Br J Radiol*1975; 48(567): 230-232.
18.Miller MW, Azadniv M, Pettit SE,Church CC, Carstensen EL and Hoffman D. Sister chromatid exchanges in Chinese hamste ovary cells exposed to high intensity pulsed ultrasound: inability to confirm previous positive results. *Ultrasound Med Biol*1989; 15(3): 255-262.
19.National Council on Radiation Protection and Measurements. Biological effects of ultrasound: mechanisms and clinical implications-NCRP Report No.74: 1983.
20.Ramalho A, Sunjevaric I and Natarajan AT. Use of the frequencies of micronuclei as quantitative indicators of x-ray induced chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes:comparison of two methods.*Mutat Res* 1988; 207(3-4): 141-146.
21.Riesz P, Berdahl D and Christman CL.Free radical generation by ultrasound in aqueous and nonaqueous solutions.*Environ Health Perspect*1985; 64: 233-258.
22.Ter Harr G, Walling J, Loverock P and Townsend S. The effect of combined heat and ultrasound on multicellular tumor spheroids.*Int J Radiat Biol*1988; 53(5): 813-887.

www.SID.ir