

نتیجه

سرخان های پستان، ریه و سرنش و گورکتوم در زنان، همچون به عنوان شایع ترین سرخان های کشنده شناخته می شوند. بر اساس آمار منتشر شده در سال ۲۰۱۰ سرخان پستان به ندرت ۲۸ درصد از همه ی موارد سرخان را در میان زنان آمریکایی تشکیل داده است (۱).

گر چه شیمی درمانی نقش بسیار مهمی در درمان سرخان ایضا می کند، اما این حالت استفاده از عوامل ضد سرخان اثر نامطلوب خود را در روی بافت نوعی می گذارد. دوکسوروبیسین یکی از داروهای ضد سرخان است که امروزه به طور مسترده ای استفاده می شود (۲). این دارو دارای ضعیف و سمی از واکنش عا و هتکت ضد نوپلاستیک در برابر بسیاری از نوع سرخان های شیمی است. این حالت استفاده ای شیمی از دوکسوروبیسین با اثرات حاد و تحت حد جنبی مانند سمیت غیر قابل برگشت در قلب و سایر بافت ها (۳،۴) همراه بوده که استفاده از این دارو را با مشکل روبرو کرده است. سرخان شدنان تحقیقات خود را بر روی افزایش تخریب سول های بدخیم و در همین حال کاهش عوارض جانبی مصرف دارو متمرکز کرده اند. استفاده افزایش مقاومت دارویی منجر به شکست بسیاری از روش های درمانی پیشنهادی شده است (۴-۲).

در سوی دیگر پژوهش در زمینه ی اثرات زیستی فراصوت و کاربردهای آن به حرکت در حال گسترش است. به طور معمول اثرات زیستی قرار گرفتن در معرض شایع فراصوت عبارت از حرارت، اثرات مکانیکی و پدیده ی حفره سازی صوتی است. اما این حالت این سه مکانیسم به شیوه ی یکدیگر عمل نمی کنند. در پدیده ی حفره سازی فراصوت با تجزیه ی مولکول آب تولید رادیکال های آزاد می کنند.

۱- دوکسوروبیسین Doxorubicin: داروهای کشنده ای که به کمک سیتوتوکسیک، به زیر یک ژنوم آدرامیس Adramicin است که به سول کشنده ای از درمان لومور، Leukemia، لومور، و لومور متعدد Multiple Myeloma، مزوئومای Marsoma، عفون و بسیاری از انواع ویروسی مانند ورم سرخاں پس از استفاده می شود. اثرات ضد سولاسیت دوکسوروبیسین مربوط به دیگری Intercalation، سولاسیت Alkylation، سولاسیت همی کسول واکسل پدید آمدن، سولاسیت و سولاسیت سولاسیت سولاسیت Sepsis/encephalopathy نامیده می شود.

2- Acoustic Cavitation

تجزیه ای اولیه در تجزیه ی آب، تولید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل است. گونه های دیگر از قبیل هیدروژن پراکسید، کسین، مغز و یون های سوپراکسید هستند که شکرگیری آن ها بستگی به شرایط خاص بعدی دارد (۵). همچنین مضامعت پیشین تولید کرده است که اثرات زیستی کاربرد فراصوت وابسته به شدت و فرکانس هستند (۶،۷). ویژگی امواج فراصوت با شدت بالاتر، تولید حرارت و با فرکانس پهن تر، ایجاد حفره می باشد. تپش امواج فراصوت به بافت ها باعث تغییرات ساختاری و پدید آمدن می شود. تغییرات ساختاری شدن دامنه ی گسترده ای را تسبب حقیقت ما قس نرمیم نامرغ صوتی است تغییرات عملکردی عبارت از نکتیر، میجارت، ستمو، نوشخ، بین زن، عمل غشایی و ... است (۸-۱۰). سایرین با توجه به هدف زیستی مورد نظر، هنگام استفاده از فراصوت در درمان، پارامترهای صوتی ویژه با دقت انتخاب شوند (۱۱).

در حال های اخیر استفاده از امواج فراصوت برای درمان لومور به طور موفقیت آمیزی در حال توسعه بوده است. فراصوت، امواج متمرکز در شدت بالا به منظور درمان لومورهای جامد کاربرده داشته و گساری و ایسی آن در تحقیقات علمی مورد تأیید است (۱۲،۱۳). در طرف دیگر تحقیقات بر روی اثرات زیستی و کاربردهای فراصوت با شدت سنا که در بافت های بدخیم همور در حال بررسی است. استفاده از این نوع فراصوت با شدت کم دارای پتانسیل بسیار زیادی بوده و می تواند نسبتاً به راحتی مورد استفاده قرار گیرد. محادات شدن می دهد که پاسخ سول های بدخیم به فراصوت با شدت کم، نسبت به سول های ضعیف مکانی است و در این شرایط سول های سرخانی بیشتر مستعد کشته شدن هستند (۱۴،۱۵). فراصوت با شدت کم، باعث سرکوب نکتیر صوتی و تشکیل کنون، افزایش اثرات سول سیمی ضد سرخانی و غیره می کردن سول ها از طریق مکانیسم های غیر مستقیم می شود (۱۶،۱۷،۱۸). این یافته ها آشکار می کند که فراصوت با شدت کم، به عنوان تکنیکی برای درمان سرخان نوپایی متعددی دارد. اثرات هم افزایی داروهای ضد سرخان و امواج فراصوت در محیط

3- High intensity frequency Transcranial HIFU

BALB/c که خود به خود دارای آدنوکارسینوم سرطان پستان شده بود. این منبع از بخش ایمونولوژی دانشگاه تربیت مدرس تهران تهیه شد. محلول کتامین- گزایلین^۷ (به نسبت ۱:۲) با ۸/۵ میلی لیتر محلول نمکی بافر فسفات^۸ به حجم ۱۰ سی سی رسید و موش منبع با تزریق این محلول به صورت داخل صفاقی بیهوش شد. سپس تومور حیوان تحت عمل جراحی در شرایط استریل جدا و به قطعات کوچک (۲-۳ میلی متر مکعب) برش داده شد. همزمان با این عمل موش گیرنده مانند روش فوق بیهوش شد. پوست سینه پهلو در نزدیکی غدد شیری حیوان باز شد و یک قطعه از تومور استخراجی (عاری از بافت نکروز یا چربی) تحت شرایط استریل پیوند شد. پس از گذشت یک هفته از لانه گزینی تومور^۹، موهای سطح پوست منطقه تومور با استفاده از کرم موبر حذف و سپس میزان حجم تومور رشد یافته توسط کولیس دیجیتالی اندازه گیری شد.

حجم تومور به شرح زیر محاسبه شد (۲۰):

$$\frac{(\text{قطر کوچک}) \times (\text{قطر بزرگ})}{2} = (\text{حجم تومور}) \text{ (mm}^2\text{)}$$

تومورها هر دو یا سه روز یک بار اندازه گیری شد تا قطر تومورها تقریباً به ۹-۸ mm رسید. آن دسته از موش هایی که تومور در آن ها رشد خوبی داشت از دیگران جدا شده و برای آزمایش آماده شدند. حجم اولیه ی تومور در این موش ها قبل از درمان به طور متوسط $250 \pm 50 \text{ cm}^3$ و وزن آن ها 19 ± 3 گرم بود. میزان موفقیت پروتکل درمانی را روزهای متوالی پس از درمان نسبت به گروه شام، به کمک پارامتر درصد مهار در روند رشد تومور و مطابق رابطه ی زیر ارزیابی شد (۲۱):

$$\text{TGI (\%)} = \left(1 - \frac{V_{\text{dayx}}}{V_{\text{sdcy}}}\right) \times 100$$

همه ی مراحل آزمایش مطابق با پروتکل های تأیید شده توسط UFAW^{۱۰} انجام شد (۲۲). موش ها از تمام گروه ها برای درمان مطابق روش فوق بیهوش شدند. به منظور انتخاب حداقل یک دوز از دوکوروبیسین و اثر

درون تنی^۱ بر روی سلول های بافت های سرطانی تخمدان، گردن رحم، خون، فیبروبلاست و پستان مطالعه شده است (۱۹-۱۵). تحقیقات نشان داده اند که هر دو شکل موج پیوسته و پالسی می تواند به عنوان حساس کننده مورد استفاده قرار گیرد (۱۷، ۱۵). محققان بر این باورند که استفاده ی همزمان از برخی از مواد سیتوتوکسیک و امواج فراصوت بر کارایی درمان تأثیر داشته است. این مطالعات بر روی اثرات سیس پلاتین^۲، ۵- فلورورائوسیل^۳، آرابینوسیل سیتوزین^۴ و چندین ماده ی سیتوتوکسیک دیگر از جمله آدریامایسین صورت گرفته است (۱۹-۱۵). تحقیقات نشان داده است که اگر آدریامایسین پیش از تابش فراصوت به محیط کشت سلول اضافه شود، میزان بقای سلول ها کمتر از زمانی است که تابش قبل از تزریق آدریامایسین صورت گیرد (۱۵).

هدف از مطالعه ی حاضر بررسی تأثیر هم افزایی تابش فراصوت در فرکانس ۱۵۰ کیلوهرتز پیوسته^۵ و داروی دوکوروبیسین، بر روی تومور آدنوکارسینوم در موش های ماده ی نژاد BALB/c است. با استفاده از میزان رشد تومور و مدت زمان بقا در گروه های مختلف موش ها، ما می خواهیم بدانیم که آیا تجویز همزمان فراصوت تحت شرایط فوق الذکر اثرات هم افزایی قابل توجهی در عملکرد سیتوتوکسیک دوکوروبیسین در مدل حیوانی به وجود می آورد یا خیر.

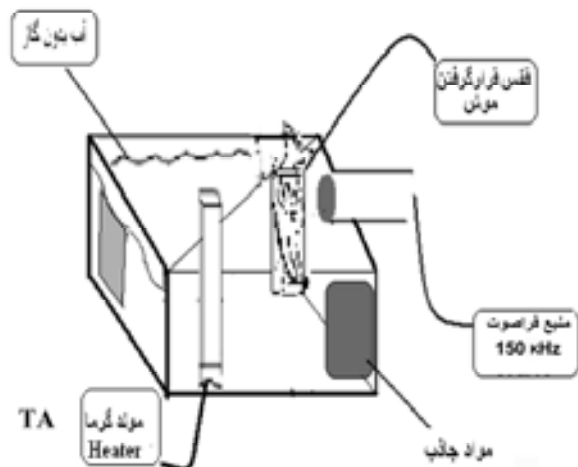
روش تحقیق

مواد: دوکوروبیسین هیدروکلراید از EBWE Pharma Ges.m.b.H. Nfg.KG, A-4866 Unterach، استرالیا و کتامین و گزایلین از سیگما - الدریج خریداری شد. **حیوانات:** موش ماده ی نژاد BALB/c با سن ۴-۵ هفته از مؤسسه ی پاستور تهران خریداری شد. مراقبت از آن ها از نظر حمل و نقل، رطوبت، دما، آب و تغذیه در شرایط استاندارد انجام گرفت. پس از یک هفته، آن ها تحت پیوند^۶ قرار گرفتند. تومور منبع متعلق بود به یک موش ماده ی نژاد

- 1- In Vivo
- 2- Cisplatin
- 3- 5-Fluorouracil (5-FU)
- 4- Arabinosyl Cytosine (AraC)
- 5- kHz_{com}
- 6- Homographed

- 7- Ketamine-Xylazine
- 8- Phosphate Buffer Saline (PBS)
- 9- Tumor Growth Inhibition (TGI %)
- 10- Universities Federation for Animal Welfare (UFAW)

بخشی آن بر حجم تومور، با توجه به مقالات (۲۴-۲۳)، زمان تابش در این مطالعه ۳۰ دقیقه و مقدار دوکسوروبیسین ۲ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن حیوان انتخاب شد. محلول دارو با حجم مناسبی از محلول نمکی بافر فسفات رقیق شده و تزریق از طریق ورید دم انجام گرفت. پس از ۳۰ دقیقه از تزریق دوکسوروبیسین، حیوان بیهوش شده و در مقابل مبدل فراصوت قرار داده شد. زمان تابش دهی بر اساس تجربه های پیشین در این آزمایشگاه نیز معادل ۳۰ دقیقه انتخاب گردید. پس از درمان، هر سه روز یک بار حجم تومور با گولیس مطابق روش بالا اندازه گیری و هر اندازه گیری سه بار تکرار شد. دوره ی بقای هر موش به دقت اندازه گیری شد و موش هایی که از خونریزی مرده یا برای مطالعات آسیب شناسی فرستاده شده بودند حذف شدند. در تحقیق حاضر تومور آدنوکارسینوما به ۶۰ موش القا شد که در نهایت با احتساب پیوندهای موفق و مرگ و میر، ۴۴ حیوان در مطالعه بررسی شدند.



طراحی آزمایش های *in vivo* موش های ماده ی نژاد BALB/c به ۵ گروه تقسیم شدند: کنترل، شام (در آب ۳۰ دقیقه بدون تابش امواج فراصوت قرار داده شده)، دارو به تنهایی (تزریق ۲ میلی گرم داروی دوکسوروبیسین، به ازای هر کیلوگرم وزن موش)، گروه تحت تابش امواج فراصوت ۱۵۰ کیلوهرتز پیوسته با شدت 0.12 W/cm^2 بدون تزریق دارو و آخرین گروه موش هایی که در معرض تابش امواج فراصوت ۱۵۰ کیلوهرتز پیوسته + دارو قرار گرفتند.

شکل ۱: ساختمان دستگاه مورد استفاده برای تابش امواج فراصوت تحت شرایط کنترل شده. محفظه به شکل مکعب مستطیل با ابعاد $25 \times 25 \times 20$ سانتی متر، از مواد پلی اکریل ساخته شده بود و از آب عاری از گاز پر شده بود. به منظور انجام آزمایش ها در شرایط تابش امواج و محدود کردن انعکاس صوتی، دیواره های مقابل پروب در سطح داخلی مخزن با مواد جاذب فراصوت پوشانده شده بود.

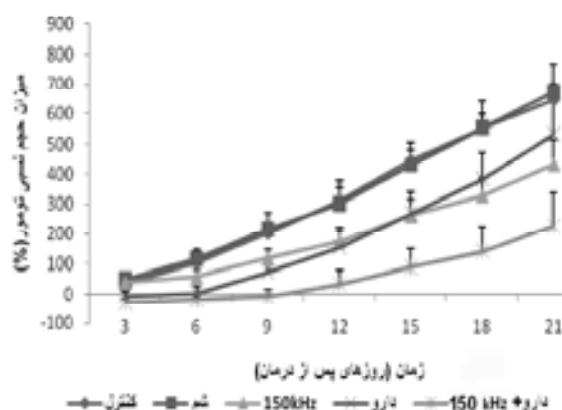
دستگاه سونوگرافی و اندازه گیری شدت: شمای دستگاه مورد استفاده در آزمایش ها در شکل ۱ نشان داده شده است. یک مبدل پیزوالکتریک 150^1 کیلوهرتز با قطر پروب ۳۰ میلی متر و به مساحت تابش مؤثر ۵ سانتی متر مربع مورد استفاده قرار گرفت (SM3678B, Shrewsbury Medical Co., UK). برای کسب اطمینان از این که حداکثر انرژی صوتی در ضمن تیمار به موش ها می رسد، در آغاز قدرت و شدت دستگاه در محفظه ی آب عاری از گاز با روش هیدروفون^۱ در محفظه ی مکعب (Bruel & Kjaer)

۳- Temporal Average
۴- Spacial Average
۵- Thermocouple

۱- Piezoelectric
۲- Hydrophone

مشابه گروه کنترل بود، بنابراین نتایج گروه شم در تمام آزمایش ها به عنوان مرجع برای تمام گروه های تیمار استفاده شد.

بررسی تغییرات حجم نسبی در طی ۳۰ روز انجام گرفت. بعد از اعمال تابش فراصوت نتایج نشان می دهد که تا ۹ روز پس از درمان، تفاوت معنی داری بین گروه درمان شده با دارو به تنهایی و گروه دارو+ امواج فراصوت، در مقایسه با گروه شم وجود داشت ($p < 0.05$). همچنین تفاوت معنی داری تا روز نهم بین گروه درمان شده با دارو به تنهایی و گروه امواج ۱۵۰ kHz به تنهایی مشاهده شد ($p < 0.05$). اگرچه از روز ۱۲ تا روز ۳۰ پس از درمان تفاوت قابل توجهی بین گروهی که دارو+ امواج فراصوت را دریافت کرده بود و گروه شم مشهود بود ($p < 0.05$), اما تفاوتی بین گروهی که تنها دارو دریافت کرده بود و گروه شم مشاهده نگردید ($p > 0.05$). همچنین از روز نهم به بعد تفاوت معنی داری بین گروه درمان شده با دارو به تنهایی و گروه امواج به تنهایی مشاهده نشد ($p > 0.05$).



نمودار ۱: مقایسه ی تغییرات حجم نسبی تومور (بر حسب درصد) در طول ۲۱ روز بعد از تابش فراصوت (در غیاب یا حضور دوکسوروبیسین) در گروه های کنترل، شم، تابش امواج پیوسته ی فراصوت با فرکانس ۱۵۰ کیلو هرتز در شدت 0.2 W/cm^2 به مدت ۳۰ دقیقه، تزریق دوکسوروبیسین (۲ میلی گرم/کیلوگرم وزن حیوان) و تزریق دوکسوروبیسین (۲ میلی گرم/کیلوگرم وزن حیوان) + تابش امواج پیوسته ی فراصوت با فرکانس ۱۵۰ کیلو هرتز در شدت 0.2 W/cm^2 به مدت ۳۰ دقیقه.

داده های فراهم آمده از ترموکوپل ها به واحد کنترل ورودی ها ارائه شده که حاوی یک ریزپردازنده ی متصل به کامپیوتر از طریق RS-232 port بود. چگالی انرژی کل سونیکاسیون با توجه به فرمول زیر برای ۳۰ دقیقه برابر 360 J/cm^2 بود.

$$\text{چگالی انرژی کل} = \text{ISATA (W/cm}^2) \times t \text{ (ثانیه)} \\ = (360 \text{ J/cm}^2) \times (30 \times 60) = 360 \text{ (J/cm}^2) \times 0.2 \left(\frac{\text{W}}{\text{cm}^2}\right)$$

پاتولوژی: به منظور تایید نوع تومور و عدم تغییر در بافت توموری، بافت های تومور از لحاظ پاتولوژی مورد مطالعه قرار گرفتند. از موش ها در گروه شاهد توسط اثر بیهوش و بدون درد کشته شدند. لام های میکروسکوپی نمونه هایی از بافت توده ی تومور غده ی پستانی جهت آزمایش تهیه شد همه ی نمونه های بافتی با ضخامت ۴ میلی متر برش داده شده و در محلول فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند. پردازش نمونه های بافتی شامل مراحل مختلف کاهش آب بافتی با الکل، پاکسازی با گزبل و اشباع با پارافین ذوب شده بودند. نمونه های بافت در پارافین جاسازی شده و پس از آن در ابعادی به ضخامت ۵ میکرون یا میکروتوم برش داده شدند و سپس با هماتوگزایلین^۱ و اتوزین^۲ مطابق روش لونا رنگ آمیزی شدند (۲۷).

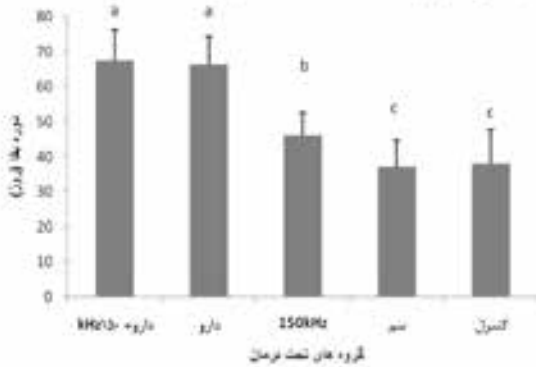
تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آنالیز واریانس انجام شد و به دنبال آن از آزمون تعقیبی کمترین تفاوت معنی دار برای مقایسه ی دو به دو میانگین متغیرها در گروه های مختلف استفاده شد. نرم افزار مورد استفاده SPSS V.13 (SPSS/PC Inc., Chicago, IL) بود. نتایج در هر گروه ۸-۱۰ تایی به صورت "میانگین ± انحراف معیار" ارائه شد. پس از تأیید یک توزیع نرمال و همگن، تحلیل واریانس با سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج

اثر بخشی درمان با اندازه گیری رشد تومور در گروه های مختلف موش ها مورد مطالعه قرار گرفت. به منظور به دست آوردن داده های نرمال از رشد حجم نسبی (درصد) استفاده شد (نمودار ۱). از آن جا که نتایج به دست آمده در گروه شم

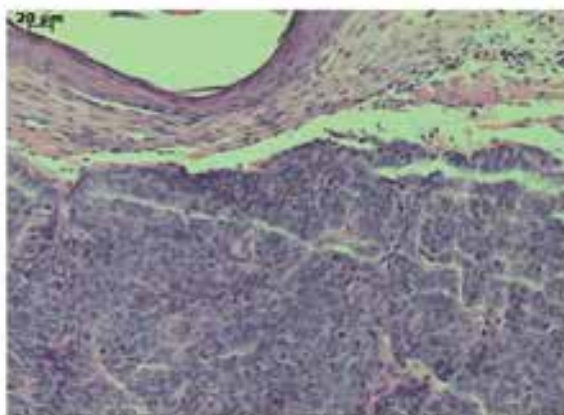
1- Hematoxylin
2- Eosin

دوره ی بقای گروه دارو+امواج نسبت به گروه دارو تفاوت نشان می داد، ولی این تفاوت معنی دار نبود، در حالی که دوره ی بقا در این دو گروه نسبت به گروهی که تنها امواج ۱۵۰ کیلوهرتز را دریافت کرده و همچنین گروه شم معنی دار بود ($P < 0.001$) (نمودار ۴).



نمودار ۴: میانگین دوره های بقا بر حسب روز در گروه های مختلف: کنترل، شم، تحت تابش ۱۵۰ کیلوهرتز به مدت ۳۰ دقیقه و تحت تابش ۱۵۰ کیلوهرتز به مدت ۳۰ دقیقه + داروی دوکسوروبیسین. داده ها برحسب میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. حروف بیان گر تفاوت معنی دار گروه ها در سطح خطای پنج درصد بر اساس آزمون کمترین تفاوت معنی دار است.

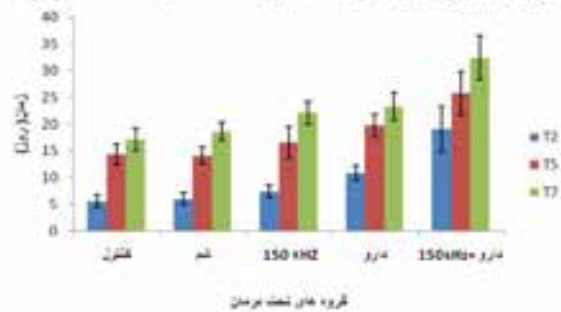
نتایج آسیب شناسی: نتایج بافت شناسی از بافت تومور پوندی نشان می دهد که تومور از نوع پاپیلومای سرطان پستان است. نشانه های بدخیم آدنوکارسینوم با پلی مورفیسم و هایپرکروماتیسم^۱ در بافت تومور مشاهده شد (شکل ۲).



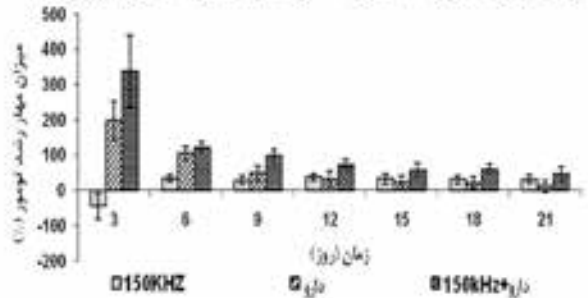
شکل ۲: آسیب شناسی بافت تومور پوندی. تومور از نوع پاپیلاری آدنوکارسینوم غدد پستانی در موش بود. پاپیلاری رشد سلول های نئوپلاستیک آشکار است (رنگ آمیزی H&E).

1- Hyperchromatism

زمان های مورد نیاز برای رسیدن هر یک از تومورها به ۲، ۵ و ۷ برابر حجم اولیه ی خود (T_2 , T_5 , T_7) محاسبه شد (نمودار ۲).



نمودار ۲: مقایسه ی زمان مورد نیاز جهت رشد تومور برای رسیدن به دو برابر (T_2)، پنج برابر (T_5) و هفت برابر (T_7) حجم اولیه ی تومور (در روز صفر). در گروه های کنترل، شم، امواج ۱۵۰ کیلوهرتز به تنهایی، داروی دوکسوروبیسین به تنهایی و دارو + امواج ۱۵۰ کیلوهرتز. اگر چه مقادیر محاسبه شده برای T_2 ، T_5 و T_7 در گروه امواج فراصوت به تنهایی و گروه دارو به تنهایی نشان دهنده ی یک تفاوت نسبی بود، اما این تفاوت تنها در T_5 بین گروه دارو به تنهایی و گروه امواج به تنهایی معنی دار بود ($P < 0.05$). همچنین علی رغم وجود تفاوت نسبی میان T_2 ، T_5 و T_7 در گروه دارو+امواج فراصوت در مقایسه با گروه دارو به تنهایی، فقط در T_2 و T_7 بین گروه دارو به تنهایی و گروه دارو+امواج تفاوت معنی داری مشاهده گردید ($P < 0.001$). میانگین TGI محاسبه شده در فاصله ی زمانی ۳ تا ۲۱ روز در گروه های دارو به تنهایی و دارو+امواج به ترتیب معادل ۲۳ درصد و ۵۵ درصد بود (نمودار ۳).



نمودار ۳: نسبت مهار حجم تومور (درصد) در مقایسه با گروه شم برای گروه ۳ در ۳ تا ۲۱ روز بعد از درمان نشان داده شده است (تعداد موش در هر گروه ۱۰-۸ سر بوده است). گروه تحت درمان با امواج فراصوت ۱۵۰ کیلوهرتز پیوسته با مدت زمان تابش ۳۰ دقیقه، گروه تحت درمان با دوکسوروبیسین به تنهایی (۲ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن حیوان) و گروه دوکسوروبیسین+امواج فراصوت ۱۵۰ کیلوهرتز پیوسته با مدت زمان تابش ۳۰ دقیقه جهت درمان.

بحث

یکی از مگنیرم های اصلی مقاومت بافت نوموری عصب تعداد قشر نوجویی از عوم شیمی درمانی، خون پذیری ناکارآمد تازو به دخن بافت نومور و یاد دخن سول های سرخونی است. شواهد متعددی نشان دهنده‌ی توزیع نامناسب و ناکافی بسیاری از داروهای ضد سرخون در بافت های نوموری است در نتیجه یز سرخونی به یافتن استراتژی های نوین وجود دارد که کاربرد آن ها باعث بهبود نفوذ دارو به داخل بافت نوموری و پذیرش افزایش شاخص درمانی شود (۲۸).

مواج فراصوت منجر به افزایش تحلیف عشان سول می شود و این اثر اجازه می دهد که به صورت موثرتری ورود و تجمع داروهای ضد سرخون به سول انجام شود. ز طریق این عمل ضمن حفظ حداکثر شریخی، با هم لاری فراصوت امکان استفاده از نورهای پدین نری از دارو سیتوتوکسیک وجود دارد. ز این طریق اثرات دارو در مناطق خاص و تعیین شده تشدید می گردد (۲۹). در مضاعفات آزمایشگاهی نشان داده شده است که فراصوت به صورت مستقیم می تواند مرگ سولی را ز طریق تحریک سول سولی (۳۰) و یا ایونوتوز کند (۳۰). ز اثرات بالقوه‌ی فراصوت در بافت های ریستی می توان به افزایش قابلیت عبور تازو و پدیده‌ی حفره سازی سولی به عنوان مهم ترین مگنیرم های غیر حرزانی شده کرد. حبابچه های حاصل از پدیده‌ی حفره سازی می تواند منجر به انجای خودپذیری گفرا در غشای سولی و یا مرگ سولی شود (۳۱). همزمان با افزایش پتانسیل موبول ها، می تواند یا ر هم گسستگی که در غشای سول توسط مگنیرمی که شامل پدیده‌ی حفره سازی می شود، وارد شوند. (۳۰،۳۲) ر اینکال های آرد لویه شده توسط حفره سازی می تواند به غشای سولی ضربه برسد و ز طریق تغییر در خودپذیری غشایی سل و نقل مواد از عشا را تغییر دهد در نتیجه‌ی این تغییرات ورود حمل و نقل دارو بهبود می یابد و این فرایدها منجر به افزایش تجمع مواد دارویی در داخل سول می گردد (۳۰). کاربرد فراصوت با شدت کمه سه صورت غیر نهجی از تازوهای ضد سرخون می تواند اندازه‌ی نومور و احتمال خون

محدود آن را کاهش داد. ضمن آن که میون عوارض جانبی شدید را بر کمر می کند (۳۳). به علاوه فراصوت به تنور ویزد می نود به صور عمیق نری در بافت نفوذ عیند و توانایی تحریر نری بر روی حصار کوچکی از بافت را یز حفظ می کند. در این صورت فریب میرایی مناسی سولی بافت خاص می گردد که از آن می توان در درمان غیر نهجی نومورهای غیر سطحی استفاده کرد. فراصوت با این ویژگی ها در مناسه با روش های لگنروممناسی مانند شعه‌ی یز تازی ارححیت کاربرد بیشتری است (۳۳).

تحقیقات نشان داده اند که کاربرد فراصوت باعث سولی توکسوروبین را در محیط های آزمایشگاهی (in vitro) و در شرایط هایبیرنرمی و نورهای پدین تریاژینین مانند (۲۰-۶۰ mg/kg) در شرایط درون نی فرایش می دهد (۲۳-۲۴). مضاعفات به وضوح سوتندنی ضد لاری سولج فراصوت و توکسوروبین را در سطح سولی نشان داده است (۳۴). پدینی است که شرایط آزمایشگاهی و شرایط درون نی موجود زنده همواره یکسان است. به عنوان مثال بین جیئون و همکاران (۳۵) نشان دادند که تعدادی از عوامل ضد سرخنی که در کشتن سول های تک لانه‌ی نومور موثر بودند، قدر به رسیدن به سول های نومور در داخل بدن نیستند.

با وجود این، در نظر گرفتن اثر فرایدهای مختلف فیزیولوژیکی برجسته که ممکن است ایجاد حلال در شریخی این دارو داشته باشد، نگمیل آزمایش ها در شرایط داخل بدن به ویژه در دوزهای پدین توکسوروبین در مدل های حیوانی درون نی ضروری به نظر می رسد. این آزمایش ها به خصوص مضاعفات روی فرکانس و با شدت فراصوت کاربردی، می تواند مقدمه ای برای تعیین نتایج از مدل های حیوانی، به سطح کاربردهای کلینیکی یعنی موثرتر باشد.

در مطالعه‌ی حاضر اثر هم لاری بین کاربرد فراصوت و توکسوروبین در محیط داخل بدن بررسی شد. بین مضاعف شامل مجموعه ای از آزمایش ها با استفاده از پروتکی شانس درعنا به صورت تک دوز توکسوروبین و امواج فراصوت بود. زمین پروتکی به دنبال مضاعفات قبلی در این آزمایشگاه

شدن می دهد. شاید بتوان غده وجود تفاوت معنی دار در T_2 را چنین توجیه کرد که در فاصله ی زمانی که حدوداً تومور به هشت برابر حججه اولیه می رسد، مقدار دارو در بدن (که توجه به دفع آن از بدن) به حد قابل رسیدگی رسیده که تأثیری از آن مشاهده نمی گردد. بر اساس نتایج به دست آمده فقط مقادیر T_1 و T_2 برای گروه دارو، امواج در مشخصه با گروه درو به تنهایی تفاوت معنی داری شناس داد (0/001 < P). تحریک و تحلل انرژی مقادیر T_1 و T_2 آغوبد نتایج انرژی برای گروه های دارو و امواج به تنهایی است که اثربخشی روتارس امواج را در مقایسه با دارو شدن می دهد. وجود تفاوت معنی دار در مقدار T_1 به شکلی می تواند بیشتر اثر هم افزایی دارو و امواج باشد که عبارت دیگر امواج توانسته میزان ورود دارو به سلول های توموری را تا حد مطلوب کنترل کند. به طوری که میزان کاهتری از دارو در فضای خارج از بافت توموری بوده است. این نکته - توجه به نیمه عمر بیولوژیکی دارو و دفع تدریجی آن از بدن می تواند منشأ اثر بخشی طولانی مدت در گروه دارو و امواج تلقی شود.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج به دست آمده می توان ادعا کرد که استفاده از شلیک امواج فراصوت 120 کیلوهرتز با شدت کم (0.17 W/cm^2) و دوکسوروبیسین کرایبی درمان فرایض یافته است. این نکته را ضریب کاهش کاهش روند رشد حجمی تومور و طولانی تر شدن دوره ی حیات نسبت به کاربرد دروی دوکسوروبیسین به تنهایی قابل ارزیابی می باشد. مابراین مشاهده می شود که افزایش اثر بخشی مؤثر به واسطه ی فعال همزمان امواج و دارو، می تواند روند کاهش دوره حیات دارو و به نوع آن کاهش عوارض جانبی دوکسوروبیسین باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از نتایج پایان نامه دکتری می باشد و نویسندگان بر خود لازم می دانند تا از حمایت علمی و پژوهشی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس تشکر نماید همچنین از همکاری آقای سلیمانی کزلباشی محترم گروه پاتولوژی دانشکده ی دامپزشکی دانشگاه تهران جهت تهیه ی لام های پاتولوژی تشکر و قدردانی می گردد.

مرگوبید شد (33,33). همچنین میزان دوکسوروبیسین در سس نتایج مطالعات محققین (24,24,26,38) انتخاب شد. روی می ها نشان داد که ترکیب فراصوت با شدت کم با دوکسوروبیسین اثر قابل توجهی بر رشد تومور سرخون تنوع کازسیموم پستان در مایل حیوانی BALB/C دارد. در این تحقیق تفاوت در رشد تومور (حجم نسبی تومور) در هنگام استفاده از دوکسوروبیسین در مقایسه با ترکیب دوکسوروبیسین و فرکانس پانسی در صورت مشاهده بود. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از روش آنتیور واریانس روی نرخ رشد تومور مشخص کرد که سس گروهی که تنها دارو و گروهی که دارو و امواج دریافت کرده اند، تفاوت معنی داری وجود دارد. همکار با دفع تدریجی دارو از بدن در روز 12 تا روز 18 تفاوت معنی داری بین گروه دارو نید و دارو- امواج در شرح باشد تومور شکاز است (0/02 < P). چنین به نظر می رسد که اثر امواج فراصوت باعث افزایش زمان اثربخشی بیولوژیکی دارو شده است. تحت این شرایط، میزان افزایش حجم نسبی تومور در گروه دارو تنها تفاوتی معنی دار با گروه کنترل و شدت شدن داد. با گروه دارو- امواج (از روز 12 تا روز 18) تفاوت معنی داری با هر دو گروه کنترل و شش پستان می داد (0/02 < P) که نتیجه ی دیگر بر افزایش زمان اثربخشی بیولوژیکی دارو به واسطه ی کاربرد فراصوت می باشد.

در مجموع مشاهده می گردد نشان داد که کاربرد فراصوت با شدت کم می تواند اثر بخشی تک دوز دوکسوروبیسین را تا توجه به مجموع روند مهار رشد تومور به 22 درصد افزایش دهد. از طرفی نتایج بیانگر تفاوت قابل ملاحظه ی مقادیر T_1 و T_2 این گروه امواج فراصوت و گروه دارو است، ما تنها در T_1 تفاوت معنی داری بین این دو گروه مشاهده گردید (0/02 < P). این شواهد حاکی از آن است که تأثیر یک دوز امواج فراصوت در رسیدن حجم تومور به میزان دو برابر، مشابه عملکرد دارو است. چنین به نظر می رسد که میزان اثر بخشی روتارس امواج (تا رسیدن به T_1) در این شرایط بر روی تومور بیش از داروست ولی پس از آن، در دارو تا زمان رسیدن برابر شدن تومور در بدن کاملاً مشخص است همچنین در این مرحله میزان تجمع دارو در تومورها به حدی است که اثر بخشی خود را به طور برجسته تری نسبت به امواج فراصوت

References:

- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer Statistics in 2010. *CA: Cancer J Clin* [serial online]. 2010; 60(5): [277-306 screens]. Available at: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20610547>. [Cited Jul 7]
- Young RC, Ozols RF, Myers CF. The anthracycline antineoplastic drugs. *N Engl J Med* 1981; 305: 135-153.
- Bouma J, Beijnen JH, Bult A, Underberg WJM. Anthracycline antitumor agents: A review of physicochemical, analytical and stability properties. *Pharm world Sci* 1986; 8(2): 106-137.
- Wang S, Komorev EA, Kotamraju S, Joseph J, Kaliyendi S, Kalyanaraman B. Doxorubicin induces apoptosis in normal and tumor cells via distinctly different mechanisms: intermediacy of H2C and p53-dependent pathways. *J Biol Chem* 2004; 279(24): 25535-25543.
- Sartiano GP, Lynch WT, Bullington WD. Mechanism of action of the anthracycline anti-tumor antibiotics, doxorubicin, daunorubicin and rubidazole: preferential inhibition of DNA polymerase alpha. *J Antibiot* 1975; 22(10): 1038-1045.
- Kardos N, Luche JL. Sonochemistry of carbohydrate compounds. *Carbohydr Res* 2001; 332(2): 115-131.
- Lejbkiewicz F, Salzberg S. Distinct sensitivity of normal and malignant cells to ultrasound in vitro. *Environ Health Perspect* 1997; 105(6): 1575-1578.
- Hrazdira I, Korpukova J, Delnikova M. Ultrasonically induced alterations of cultured tumour cells. *Eur J Ultrasound* 1998; 8(1): 43-46.
- Alter A, Rozetszajn LA, Miller HL, Rosenschein U. Ultrasound inhibits the adhesion and migration of smooth muscle cells in vitro. *Ultrasound Med Biol* 1998; 24(5): 711-721.
- Doan N, Reber P, Meghji S, Harris M. In vitro effects of therapeutic ultrasound on cell proliferation, protein synthesis, and cytokine production by human fibroblasts, osteoblasts, and monocytes. *J Oral Maxil Surg* 1992; 50(4): 406-419.
- Yu T, Wang Z, Mason TJ. A review of research into the uses of low level ultrasound in cancer therapy. *Ultrason Sonochem* 2004; 11(2): 95-103.
- Wu F, Wang ZB, Chen WZ, Zou JZ. Extracorporeal high intensity focused ultrasound for treatment of solid carcinomas: four-year Chinese clinical experience. Proceeding of the 2nd international symposium on therapeutic ultrasound in 26 July-2 August, 2002, USA, Washington, Seattle: Elsevier; 2003.
- Jin CB, Wu F, Wang ZB, Chen WZ. High intensity focused ultrasound therapy in combination with transcatheter arterial chemoembolism for advanced hepatocellular carcinoma: a primary clinical study. in: Proceeding of the 2nd international symposium on therapeutic ultrasound in 26 July-2 August, 2002, USA, Washington, Seattle: Elsevier; 2003.
- Lejbkiewicz F, Zwiran M, Salzberg S. The response of normal and malignant cells to ultrasound in vitro. *Ultrasound Med Biol* 1997; 19(1): 75-82.
- Yu T, Wang Z, Jiang S. Potentiation of cytotoxicity of adriamycin on human ovarian carcinoma cell line 3AO by low-level ultrasound. *Ultrasonics* 2001; 39(4): 307-309.
- Sur P, Ghosh P, Ray S, Sur B, Chatterjee S, N. On the inhibitory activities of a new boron compound and ultrasound against the mouse ascites tumor. *Chemotherapy* 1992; 48(5): 366-369.
- Harrison GH, Balcer-Kubiczek EK, Eddy HA. Potentiation of chemotherapy by low-level ultrasound. *Int J Radiat Biol* 1991; 59(6): 1457-1466.
- Tachibana K, Uchida T, Tamura K, Eguchi H, Yamashita N, Ogawa K. Enhanced cytotoxic effect of AraC by low intensity ultrasound to HL60 cells. *Cancer Lett* 2000; 149(1-2): 185-194.
- Takada E, Sonagawa M, Okidaira E, Ide M. Ultrasonic effects on anti-cancer drugs. *Ultrasound Med Biol* 1997; 23(1): 132.
- Yumita N, Nishigaki R, Umetsura S. Sonodynamically induced antitumor effect of Photofrin II on colon 26 carcinoma. *J Cancer Res Clin* 2000; 126(10): 601-606.

21. Barati AH, Mokhtari-Dizaji M, Mozdarami H, Bathaie SZ, Hassan ZM. Treatment of murine tumors using dual-frequency ultrasound in an experimental in vivo model. *Ultrasound Med Biol* 2009; 35(5): 756-767.
22. Teicher BA. *Tumor models in cancer research*. Totowa, New Jersey: Humana Press; 2002: 407-446.
23. Staples BJ. Pharmacokinetics of ultrasonically-released, micelle encapsulated doxorubicin in the rat model and its effect on tumor growth [dissertation]. Department of chemical engineering; Brigham Young University; 2007.
24. Colombo T, Donelli MG, Urso R, Dallarda S, Bartosik I, Cimatti A. Doxorubicin toxicity and pharmacokinetics in old and young rats. *Exp Gerontol* 1989; 24(2): 159-171.
25. Danesi R, Fogli S, Ciernari A, Conte P, Del Tacca M. Pharmacokinetic, pharmacodynamic relationships of the anthracycline anticancer drugs. *Clin Pharmacokinet* 2002; 41(6): 431-444.
26. Van Calsteren K, Harunani B, Van Aerschot L, Verhesselt R, Van Bree R, D'Hooge R, et al. Vinblastine and doxorubicin administration to pregnant mice affects brain development and behavior in the offspring. *Neurotoxicology* 2009; 30(4): 647-657.
27. Luna JG (ed). *Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology*. 3rd ed. New York: McGraw-Hill; 1968.
28. Minchinton AJ, Tannock JF. Drug penetration in solid tumors. *Nat Rev Cancer* 2006; 6(8): 583-592.
29. Bernard V, Skorpikova J, Morstein V, Stanikova I. Biological effects of combined ultrasound and cisplatin treatment on ovarian carcinoma cells. *Ultrasonics* 2010; 50(3): 357-362.
30. Barnett SB, Ter Haar GR, Ziskin MC, Nyberg WL, Maeda K, Bang J. Current status of research on biophysical effects of ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 1994; 20(7): 205-218.
31. Liu Y, Yang H, Sakamshi A. Ultrasound-mechanical gene transfer into plant cells by sonoporation. *Biotechnol Adv* 2006; 24(1): 1-16.
32. Ghazmin HR, Nguyen DX, Khan S, Prausnitz MR. Ultrasound-mediated disruption of cell membranes-I. Quantification of molecular uptake and cell viability. *J Acoust Soc Am* 2001; 110(1): 588-596.
33. Wang XH, Liu QH, Wang P, Wang ZZ, Tong WY, Zhu B, Wang Y, et al. Comparisons among sensitivities of different tumor cells to focused ultrasound in vitro. *Ultrasonics* 2009; 49(6-7): 558-564.
34. Harrison GH, Balcer-Kubiczek TK, Chatterjee PL. In vitro mechanisms of chemopotential by tone-burst ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 1990; 22(7): 355-362.
35. Paliwal S, Mitragotri S. Therapeutic opportunities in biological responses of ultrasound. *Ultrasonics* 2008; 48(4): 271-278.
36. Saad AH, Hahn GM. Ultrasound-enhanced effects of adriamycin against murine tumors. *Ultrasound Med Biol* 1992; 18(8): 715-723.
37. Barati AH, Mokhtari-Dizaji M. Ultrasound dose fractionation in sonodynamic therapy. *Ultrasound Med Biol* 2010; 36(6): 880-887.
38. Gustafson DL, Long ME. Alterations in P-glycoprotein expression in mouse tissues by doxorubicin: implications for pharmacokinetics in multiple dosing regimens. *Chem Biol Interact* 2001; 138(1): 43-57.

The Synergistic Effect of Doxorubicin and 150kHz Ultrasound in Low Intensity on Tumor Growth of Adenocarcinoma Breast Cancer in BALB/c Mice

Homa Soleimani¹, Parviz Abdolmaleki², Manijhe Mokhtari-Dizaji³, Tayebeh Toliati⁴ and Abbas Tavasoly⁵

Abstract

Background and Aim: Experiments have showed that the use of combined single or dual frequencies ultrasound irradiation in low-level intensity for treatment of cancer is effective. We investigated the antitumor effect of simultaneous low-intensity, 150 kHz ultrasound, in combination with the anticancer drug doxorubicin (DOX) on breast adenocarcinoma using murine model (BALB/c).

Materials and Methods: Forty-four mice were used in this study. The tumor-bearing mice were divided into five groups, namely, control, sham, drug, drug+US and exposure to ultrasound alone. The administrated dose of DOX was 2 mg/kg (iv), and the time of exposure was 30 minutes. The data were analyzed employing ANOVA using SPSS software V.13.

Results: We showed that, after the injection of DOX, exposure to ultrasound at 150 kHz_{con} potentiates the effect of doxorubicin on the growth of adenocarcinoma tumors compared to control group by two folds. The tumor growth inhibition percent in the groups treated by ultrasound and doxorubicin showed an increase compared with the group treated with doxorubicin alone. The total tumor growth inhibition percent (days 3-21) in the drug alone, drug+150 kHz groups was 23(%), 55(%), respectively. There was also a significant difference between the drug-treated group and the drug+US groups in times needed for each tumor to reach 2 and 7 times its initial volume (T₂ and T₇).

Conclusion: The co-administration of DOX and low-intensity ultrasound provided a more effective treatment than the drug alone in murine breast cancer. The combined treatment appeared to produce synergistic effects that are potentially useful in reducing the side effects of DOX by lowering the required effective dose of the drug while increasing the efficiency of the therapy as a whole.

Keywords: Acoustic cavitations, BALB/c mouse, breast cancer, doxorubicin, ultrasound

Received: 5 April 2011

Revised: 13 August 2011

Accepted: 14 September 2011

Ofogh-e-Danesh. GMUHS Journal. 2011; Vol. 17, No. 4

1- MSc, Department of Biophysics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2- **Corresponding Author:** PhD, Associate Professor, Department of Biophysics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Tel: +98 21 82883404

Fax: +98 21 82884717

E-mail: parviz@modares.ac.ir

3- PhD, Professor, Department of Medical Physics, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

4- PhD, Assistant Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- PhD, Assistant Professor, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran