

اثر همسایگی ناشی از درمان ترکیبی امواج فراصوت و سیس پلاتین بر روی رده‌ی سلولی ملانوما A375

معصومه رضایی^۱، آرمان اسماعیل‌زاده^۱، احمد شائنی^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: استفاده از امواج فراصوت در ترکیب با داروهای شیمی‌درمانی، باعث افزایش اثربخشی دارو در دزهای کم می‌شود. همچنین، در فرایند درمان سلول‌هایی که درمان مستقیم نداشته‌اند، تحت تأثیر اثر همسایگی، دستخوش تغییراتی از جمله مرگ می‌شوند. این پژوهش، با هدف بررسی تأثیر درمان ترکیبی امواج فراصوت و داروی شیمی‌درمانی سیس پلاتین بر میزان مرگ سلول‌های همسایه در ملانوما انجام شد.

روش‌ها: ابتدا سلول‌های ملانوما A375 در آزمایشگاه کشت داده شد. بعد از کشت سلول‌ها، برای انجام آزمایش‌ها دو گروه سلولی هدف و همسایه در نظر گرفته شد. سپس، غلظت بهینه برای داروی سیس پلاتین در سلول‌های گروه هدف با استفاده از روش MTT مشخص شد. در مرحله‌ی بعد، سلول‌های گروه هدف به کمک غلظت بهینه‌ی سیس پلاتین و با شدت‌های ۱/۵ و ۲ وات/سانتی‌مترمربع امواج فراصوت، درمان شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت انکوباسیون، محیط کشت سلول‌های هدف به کمک تکنیک انتقال محیط به سلول‌های همسایه اضافه شد. پس از ۲۴ ساعت، از روش MTT برای سنجش میزان بقای سلول‌های گروه همسایه استفاده گردید.

یافته‌ها: درصد بقای سلول‌های ملانوما در گروه همسایه که محیط کشت سلول‌های هدف درمان شده به صورت ترکیبی با داروی سیس پلاتین و امواج فراصوت که شدت ۲ وات/سانتی‌مترمربع را دریافت کردند، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت.

نتیجه‌گیری: در درمان‌های ترکیبی امواج فراصوت و داروهای شیمی‌درمانی نیز باید نقش اثر همسایگی در کارایی درمان و بقای سلول‌ها در نظر گرفته شود.

واژگان کلیدی: اثر همسایگی؛ امواج فراصوت؛ سیس پلاتین؛ ملانوما

ارجاع: رضایی معصومه، اسماعیل‌زاده آرمان، شائنی احمد. اثر همسایگی ناشی از درمان ترکیبی امواج فراصوت و سیس پلاتین بر روی رده‌ی سلولی ملانوما A375. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۰؛ ۳۹ (۶۳۵): ۵۵۵-۵۵۰.

مقدمه

از متداول‌ترین روش‌های مورد استفاده در درمان سرطان، پرتودرمانی و شیمی‌درمانی می‌باشند. هدف از استفاده‌ی این روش‌ها، ایجاد بالاترین پاسخ سرطان به درمان و همچنین، کمترین آسیب به بافت و سلول‌های سالم اطراف ناحیه‌ی درمان می‌باشد. با توجه به ماهیت مقاوم برخی از انواع سرطان‌ها نظیر ملانوما به درمان با این روش‌ها و همچنین، بالا رفتن سمیت و آسیب به سلول‌های سالم در نتیجه‌ی استفاده از این روش‌ها، بازده درمان بسیار پایین می‌آید (۱). امروزه، استفاده از امواج فراصوت در درمان سرطان به دلیل ماهیت غیر یونیزان و آسیب کم به بافت‌های سالم اطراف ناحیه‌ی درمان، مورد توجه قرار گرفته است. امواج انقباضی و انبساطی ناشی از تابش امواج فراصوت، باعث به وجود آمدن ریز حباب‌های گاز و همچنین، بزرگ شدن آن‌ها در محل تابش می‌شود. فروپاشی (Collapse) ناگهانی این ریزحباب‌ها تحت تأثیر فشار ناشی از امواج فراصوت، باعث به وجود

آمدن دما و فشار بسیار بالای موضعی، ایجاد رادیکال‌های آزاد و وقوع واکنش‌های شیمیایی می‌گردد که می‌تواند منجر به ایجاد آپوپتوز و مرگ در سلول‌های سرطانی شود (۲).

در مطالعات انجام شده در زمینه‌ی استفاده از امواج فراصوت به عنوان درمان ترکیبی با داروهای شیمی‌درمانی، نقش اثر هم‌افزایی امواج فراصوت در تأثیر دارو بر سلول‌های سرطانی به اثبات رسیده است. Power و همکاران، طی مطالعه‌ای با بررسی استفاده‌ی هم‌زمان امواج فراصوت و سیس پلاتین برای درمان ملانوما، بیان کردند استفاده از امواج فراصوت به دلیل کاهش در میزان دز سیس پلاتین و در نتیجه، کاهش سمیت برای سلول‌های سالم و همچنین، اثر درمانی بالاتر در ناحیه‌ی تومورال به دلیل متمرکز بودن این امواج، درمانی بسیار مؤثرتر از استفاده‌ی سیس پلاتین به تنهایی است (۳).

در علم آنکولوژی و درمان سرطان، استفاده از امواج یونیزان و غیر

۱- گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: احمد شائنی؛ استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

جنین گاوی و ۵ درصد آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین و استرپتومایسین، به صورت تک لایه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسید کربن کشت داده شدند. بعد از پر شدن ۷۰ درصد از فلاسک، سلول‌ها به کمک آنزیم تریپسین جدا شد و بعد از شمارش به کمک لام نئوبار تعداد 2×10^4 سلول به ازای هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه برای انجام آزمایش‌ها آماده شد. برای انجام آزمایش‌ها، سلول‌ها به ۳ گروه تقسیم شدند. گروه شاهد که هیچ درمانی دریافت نکردند، گروه سلول‌های هدف که درمان با سیس پلاتین به تنهایی و ترکیب امواج فراصوت و سیس پلاتین را دریافت کردند و گروه سلول‌های همسایه که محیط کشت سلول‌های هدف (درمان‌های مستقیم) را دریافت کردند.

۲-۲- آزمایش میزان بقای سلولی به کمک آزمون دی‌متیل تیازول-۲ و ۵ دی‌فنیل تترازولیوم برمید (MTT): برای انجام آزمایش بقای سلولی، محلول 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-Yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) با غلظت ۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر در بافر Phosphate buffered saline (PBS) آماده شد.

۲-۱- درمان با سیس پلاتین: به منظور به دست آوردن غلظت بهینه‌ی سیس پلاتین برای استفاده در درمان ترکیبی با امواج فراصوت، محیط کشت سلول‌های گروه هدف کشت شده در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه بعد از ۲۴ ساعت خارج شد و محیط کشت تازه بدون Fetal bovine serum (FBS) و حاوی غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرومولار از سیس پلاتین اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، محیط هر چاهک به دقت خارج شد. سپس، محلول آماده شده‌ی MTT به هر چاهک اضافه شد و برای تشکیل کریستال‌های Formazan به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و محیط تاریک انکوباسیون انجام شد. در مرحله‌ی بعد، محلول رویی هر چاهک به دقت خارج گردید و به جای آن ۱۰۰ میکرولیتر Dimethyl sulfoxide (DMSO) اضافه شد و پلیت به مدت ۱۰ دقیقه در Shaker قرار گرفت. در مرحله‌ی آخر، جذب نوری هر چاهک توسط دستگاه Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA reader) در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد و درصد زنده بودن سلول‌ها با استفاده از فرمول مربوط محاسبه گردید.

۲-۲- درمان ترکیبی با امواج فراصوت و سیس پلاتین: برای درمان ترکیبی سلول‌های گروه هدف بعد از مشخص کردن غلظت بهینه‌ی سیس پلاتین، محیط کشت چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه خارج و با غلظت بهینه‌ی سیس پلاتین جایگزین و سپس به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. بعد از انکوباسیون، چاهک‌ها به دقت تخلیه شدند و ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت به آن‌ها اضافه گردید و پس از ۱ ساعت انکوباسیون به کمک دستگاه فراصوت درمانی A215 (ساخت شرکت مهندسی پزشکی نوین، تهران) درمان

یونیزان ابزار مؤثری برای کنترل تومورهای موضعی است. تشعشع، می‌تواند به طور مستقیم باعث ایجاد شکستگی تک‌گانه یا دوگانه در DNA شود و یا با ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species یا ROS) مسیرهای آسیب و مرگ سلولی را فعال کند (۴). در سال‌های اخیر، مشخص شده است که تابش امواج نه تنها باعث ایجاد آثار بیولوژیکی روی سلول‌های تومور در محدوده‌ی درمان می‌شود، بلکه سلول‌های مجاور تومور در خارج از محدوده‌ی درمان نیز آتاری نظیر مرگ سلولی، آسیب کروموزومی و تغییر در بیان برخی از ژن‌ها را تجربه می‌کنند که در علم رادیوبیولوژی این پدیده را اثر همسایگی می‌نامند (۵).

در حال حاضر، فرایندهای دقیق دخیل در ایجاد اثر همسایگی شناخته نشده‌اند، اما مشخص شده است که ارتباط بین سلول‌ها از طریق کانال‌های سیگنالی بین سلولی و همچنین، آزادسازی عوامل نظیر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل از سلول‌های تابش دیده و تأثیر آن‌ها بر روی سلول‌های مجاور باعث بروز اثر همسایگی می‌شود (۶). اگر چه مطالعات بسیاری بر روی اثر همسایگی در زمینه‌ی پرتوهای یونیزان انجام شده است، اما اثر همسایگی ناشی از درمان به کمک امواج غیر یونیزان، به ویژه امواج فراصوت به تازگی مورد توجه قرار گرفته است. در مطالعه‌ی آزمایشگاهی انجام شده بر روی اثر همسایگی ناشی از درمان فتودینامیک به عنوان درمان غیر یونیزان، نقش این اثر در درمان به کمک امواج غیر یونیزان به اثبات رسیده است (۷).

همچنین، در مطالعه‌ی رضایی و همکاران، اثر همسایگی تحت تأثیر درمان به کمک امواج فراصوت بر روی سلول‌های سرطانی ملانوما مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن آزمایش‌ها، ایجاد اثر همسایگی را در سلول‌هایی که به طور مستقیم مورد تابش امواج فراصوت قرار نگرفته بودند، تأیید کرد (۸). همان‌طور که بیان شد، استفاده‌ی هم‌زمان از داروهای شیمی‌درمانی و امواج فراصوت برای درمان، روش مؤثرتری نسبت به استفاده از دارو به تنهایی است، اما تأثیر این روش درمانی ترکیبی بر روی سلول‌های همسایه نیز باید مورد بررسی قرار گیرد.

هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی آزمایشگاهی اثر همسایگی در درمان ترکیبی امواج فراصوت و داروی سیس پلاتین بر روی رده‌ی سلولی ملانوما بود.

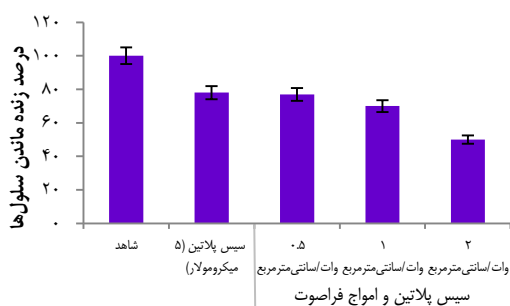
روش‌ها

این مطالعه به صورت آزمایشگاهی از خرداد ماه تا مرداد ماه ۱۳۹۹ در آزمایشگاه مرکزی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان طی مراحل زیر انجام گردید:

۱- کشت رده‌ی سلولی: رده‌ی سلولی A375 ملانومای انسانی از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. سپس، سلول‌ها درون فلاسک‌های کشت T75 در محیط کشت RPMI-1640 غنی شده با ۱۰ درصد سرم

۲- میزان بقای سلول‌های هدف تحت درمان ترکیبی با امواج

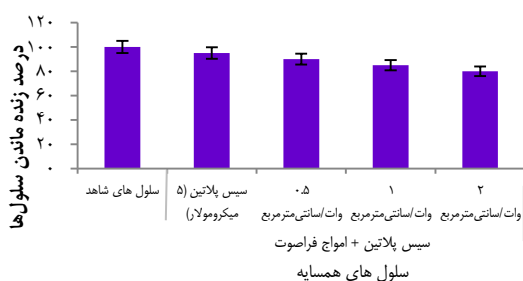
فراصوت و سیس پلاتین: همان‌گونه که در شکل ۲ دیده می‌شود، میزان بقای سلول‌های هدف تحت درمان ترکیبی سیس پلاتین با غلظت ۵ میکرومولار و امواج فراصوت نسبت به گروه درمان با سیس پلاتین کاهش یافت. همچنین، با افزایش در شدت امواج فراصوت، این کاهش چشمگیرتر شد تا جایی که درمان ترکیبی سیس پلاتین و امواج فراصوت با شدت ۲ وات/سانتی مترمربع، دارای اختلاف معنی داری با گروه شاهد بود ($P < 0/01$).



شکل ۲. میانگین و انحراف معیار درصد زنده ماندن سلول‌های هدف در درمان ترکیبی سیس پلاتین و امواج فراصوت (** $P < 0/01$)

۳- میزان بقای سلول‌های همسایه: نتایج درمان سلول‌های گروه

همسایه به کمک تکنیک انتقال محیط در شکل ۳ آمده است. میزان بقای سلول‌های گروه همسایه که محیط کشت سلول‌های درمان شده با سیس پلاتین ۵ میکرومولار را دریافت کرده بودند، با افت ۶ درصدی مواجه شد که نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی داری داشت ($P < 0/05$). در گروه همسایه که محیط کشت سلول‌های هدف درمان شده به صورت ترکیبی با سیس پلاتین و امواج فراصوت را دریافت کردند، با افزایش شدت امواج فراصوت، میزان بقا کاهش پیدا کرد؛ به صورتی که در شدت ۲ وات/سانتی مترمربع، میزان بقا در سلول‌های همسایه به ۸۳ درصد رسید ($P < 0/05$).



شکل ۳. میانگین و انحراف معیار درصد زنده ماندن سلول‌های همسایه ($P < 0/05$)

در مد پیوسته با امواج فراصوت ۱ مگاهرتز، با شدت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ وات/سانتی مترمربع به مدت ۳ دقیقه بر روی سلول‌ها انجام شد. در نهایت، بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، از روش MTT مشابه مراحل قبل برای سنجش بقای سلول‌ها استفاده گردید.

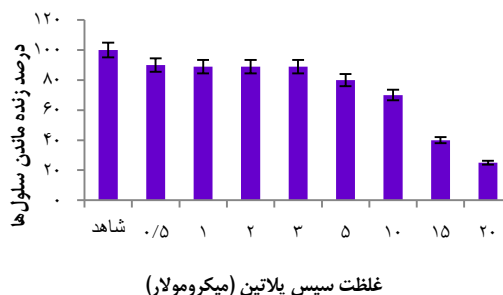
۳-۲. درمان سلول‌های همسایه: برای القای اثر همسایگی در

سلول‌های تابش ندیده، بعد از درمان سلول‌های گروه هدف با سیس پلاتین و ترکیب سیس پلاتین و امواج فراصوت، طبق تکنیک انتقال محیط کشت، محیط کشت هر یک از پلیت‌ها به طور جداگانه جمع‌آوری شد و پس از عبور دادن از فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر به منظور پاک‌سازی محیط به سلول‌های همسایه اضافه گردید و قبل از انجام روش MTT به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد. به گروه شاهد، محیط کشت تازه اضافه گردید.

۳-۳. بررسی آماری: پس از ۳ بار تکرار تمام مراحل آزمایش، با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) داده‌ها به صورت ارزیابی میانگین و انحراف معیار با آزمون One-way ANOVA تحلیل گردید. همچنین، $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

۱- میزان بقای سلول‌های هدف تحت درمان سیس پلاتین: نتایج آزمایش MTT برای سلول‌های هدف تحت درمان با غلظت‌های مختلف سیس پلاتین در شکل ۱ نشان دهنده‌ی کاهش تدریجی میزان بقای سلول‌ها با افزایش غلظت در سیس پلاتین در مقایسه با گروه شاهد بود. از آن جایی که هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر بررسی درمان ترکیبی سیس پلاتین و امواج فراصوت بود، غلظت ۵ میکرومولار از سیس پلاتین که میزان بقای سلول‌ها در آن ۸۰ درصد بود و دارای اختلاف معنی داری با گروه شاهد بود ($P < 0/05$), به عنوان غلظت بهینه برای انجام آزمایش‌ها انتخاب شد.



شکل ۱. میانگین و انحراف معیار درصد زنده ماندن سلول‌ها در مواجهه با غلظت‌های مختلف سیس پلاتین ($P < 0/05$)

بحث

در این مطالعه، اثر همسایگی ناشی از درمان ترکیبی امواج فراصوت و داروی شیمی درمانی سیس پلاتین بر روی رده‌ی سلولی ملانوما به صورت آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. با وجود این که پرتودرمانی و شیمی درمانی در درمان ملانوما دارای مزایای بسیاری می‌باشند، اما به دلیل ماهیت مقاوم ملانوما، این روش‌های درمانی کارآمد نیستند. همان طور که Sabel و Sondak بیان کردند، این امر به دلیل اثرات جانبی بر روی سلول‌های سالم و ایجاد سمیت در پرتودرمانی و شیمی درمانی می‌باشد (۹).

مطالعات در زمینه‌ی اثرات و کاربردهای درمانی امواج فراصوت در سال‌های اخیر گسترش زیادی یافته است. در درمان با امواج فراصوت، اثرات گرمایی، مکانیکی و حفره‌سازی دخیل هستند که از میان این اثرات، حفره‌سازی مهم‌ترین نقش را دارد. در فرایند حفره‌سازی، فروپاشی ناگهانی ریز حباب‌ها دما و فشار بسیار بالایی در مرکز حباب ایجاد می‌کند که در اثر این دما و فشار بالا، در محیط، رادیکال‌های آزاد نظیر رادیکال هیدروکسیل ایجاد می‌شود. این رادیکال‌ها، نقش مهمی در از بین بردن سلول‌ها بر عهده دارند (۱۰). علاوه بر این، دما و فشار بالای ایجاد شده، می‌تواند باعث بالا رفتن بارگذاری مواد مختلف نظیر داروهای شیمی درمانی در سلول‌های سرطانی شود که این امر، باعث کاهش اثرات جانبی داروها می‌شود (۳). رادیکال‌های آزاد تولید شده و سایر عوامل ارتباطی بین سلول‌ها، علاوه بر اثر تخریبی بر سلول‌هایی که به طور مستقیم مورد تابش قرار گرفته‌اند، اثرات تخریبی بر سلول‌های مجاور که تابش مستقیم نداشته‌اند، ایجاد می‌کنند که به اثر همسایگی معروف است. در مطالعه‌ی رضایی و همکاران، ایجاد اثر همسایگی در نتیجه‌ی تابش امواج فراصوت تأیید شد (۸).

با توجه به شکل ۲، ملاحظه می‌شود که غلظت ثابتی از دارو می‌تواند در صورت ترکیب با امواج فراصوت، مرگ سلولی بالاتری داشته باشد. این امر ناشی از بالا رفتن نفوذپذیری غشای سلول‌ها، تحت تأثیر پدیده‌ی حفره‌سازی می‌باشد. نتایج به دست آمده، با نتایج مطالعه‌ی Power و همکاران هم‌خوانی داشت، اما به دلیل زمان انکوبه کردن متفاوت قبل از سنجش میزان بقا، مقدار مرگ سلولی متفاوت بود (۳). شکل ۳، اثر درمان ترکیبی بر سلول‌های همسایه را نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود، با افزایش در شدت امواج فراصوت، میزان کاهش در بقای سلول‌های همسایه نیز افزایش می‌یابد که می‌تواند

به دلیل هم افزایشی اثر امواج فراصوت و سیس پلاتین و همچنین، بالا رفتن میزان تولید رادیکال‌های آزاد باشد. در مقایسه با مطالعه‌ی انجام شده توسط رضایی و همکاران که اثر همسایگی ناشی از تابش امواج فراصوت را مورد بررسی قرار دادند، میزان مرگ در سلول‌های گروه همسایه بیشتر بود که می‌تواند نشان دهنده‌ی اثر هم‌افزایی سیس پلاتین و امواج فراصوت در ایجاد اثر همسایگی باشد (۸).

از محدودیت‌های این مطالعه، می‌توان به عدم وجود تحقیقات لازم در ارتباط با بررسی اثر همسایگی امواج فراصوت در ترکیب با داروها و نانوذرات از جمله نانوذرات طلا اشاره کرد. از محدودیت‌های دیگر این مطالعه، می‌توان از عدم وجود بررسی سطح رادیکال‌های آزاد تولید شده به واسطه‌ی اثر همسایگی نام برد. بررسی‌های بیشتر بر روی اثر همسایگی ناشی از درمان با امواج فراصوت در ترکیب با داروها و نانوذرات نظیر نانوذرات طلا، به صورت درون‌تنی، می‌تواند قدم بعدی برای مطالعات آینده باشد.

نتیجه‌گیری

استفاده از امواج فراصوت که به عنوان یکی از روش‌های درمانی برای برخی از سرطان‌ها تلقی می‌شود، ضمن ایجاد بروز آسیب در سلول‌های موجود در میدان تابش فراصوت، می‌تواند به سلول‌های خارج از این میدان نیز سیگنال‌های بیولوژیکی ارسال کند که این مسأله، سبب بروز آثاری در سلول‌های همسایه می‌شود. در واقع، تابش فراصوت در سلول‌های توموری که در پیرامون تومور هستند و در حقیقت، جزء حجم مشخص تومور تلقی نمی‌شوند نیز اثر می‌گذارد و باعث بروز تغییرات ژنتیکی در آن‌ها می‌گردد. این مسأله، باعث می‌شود میدان بیولوژیکی فراصوت، بزرگ‌تر از میدان تابش واقعی باشد. در صورت بروز این پدیده، انتظار می‌رود بازده درمان فراصوت تغییر پیدا کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۱۹۸۱۶۳ رشته‌ی فیزیک پزشکی مصوب شورای پژوهشی طرح‌های علوم پایه در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان با کد اخلاق در پژوهش IR.MUI.RESEARCH.REC.1398.549 می‌باشد که با حمایت‌های مالی این دانشگاه انجام شده است. بدین وسیله، از کارکنان محترم آزمایشگاه مرکزی دانشکده‌ی پزشکی اصفهان که در انجام این پژوهش همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Pawlik TM, Sondak VK. Malignant melanoma: Current state of primary and adjuvant treatment. Crit Rev Oncol Hematol 2003; 45(3): 245-64.
2. Shanei A, Baradaran M, Shanei MM. The effect of ultrasound waves on melanoma cells in presence of gold nanoparticles. J Isfahan Med Sch 2017; 34(412): 1550-5. [In Persian].
3. Power ME, Olson ME, Domingue PA, Costerton JW.

- A rat model of *Staphylococcus aureus* chronic osteomyelitis that provides a suitable system for studying the human infection. *J Med Microbiol* 1990; 33(3): 189-98.
4. Yahyapour R, Motevaseli E, Rezaeyan A, Abdollahi H, Farhood B, Cheki M, et al. Mechanisms of radiation bystander and non-targeted effects: Implications to radiation carcinogenesis and radiotherapy. *Curr Radiopharm* 2018; 11(1): 34-45.
 5. Marin A, Martin M, Linan O, Alvarenga F, Lopez M, Fernandez L, et al. Bystander effects and radiotherapy. *Rep Pract Oncol Radiother* 2015; 20(1): 12-21.
 6. Zefferino R, Piccoli C, Gioia SD, Capitano N, Conese M. Gap junction intercellular communication in the carcinogenesis hallmarks: Is this a phenomenon or epiphenomenon? *Cells* 2019; 8(8): 896.
 7. Bazak J, Fahey JM, Wawak K, Korytowski W, Girotti AW. Bystander effects of nitric oxide in anti-tumor photodynamic therapy. *Cancer Cell Microenviron* 2017; 4(1): e1511.
 8. Rezaei M, Kamran Samani R, Kazemi M, Shanei A, Hejazi S. Induction of a bystander effect after therapeutic ultrasound exposure in human melanoma: In-vitro assay. *Int J Radiat Res* 2021; 19 (1): 183-9.
 9. Sabel MS, Sondak VK. Pros and cons of adjuvant interferon in the treatment of melanoma. *Oncologist* 2003; 8(5): 451-8.
 10. Sazgarnia A, Shanei A, Eshghi H, Hassanzadeh-Khayyat M, Esmaily H, Shanei MM. Detection of sonoluminescence signals in a gel phantom in the presence of Protoporphyrin IX conjugated to gold nanoparticles. *Ultrasonics* 2013; 53(1): 29-35.

The Effect of Bystander Due to Combined Treatment of Ultrasound Waves and Cisplatin on Melanoma A375 Cell Line

Masoumeh Rezaei¹, Arman Esmailzadeh¹, Ahmad Shanei²

Original Article

Abstract

Background: The use of ultrasound waves in combination with chemotherapy drugs increases the effectiveness of the drug in low doses. Moreover, in the treatment process, cells that have not been directly treated undergo a variety of changes such as death; this phenomenon is known as the bystander effect. This study aimed to investigate the effect of combined treatment of ultrasound waves and cisplatin on the bystander cells in melanoma cells.

Methods: Melanoma A375 cells were first cultured in the laboratory. After culturing the cells, two target and bystander cell groups were considered for the experiments. After determining the optimal concentration of cisplatin for melanoma A375 cells by MTT test, the target group cells were treated with the optimal concentration of cisplatin and ultrasound with intensities of 0.5, 1, and 2 w/cm². After 24 hours, the culture medium of the target cells was collected and added to the bystander cells using the medium transfer technique. At 24 hours, MTT assay was used to measure cell viability.

Findings: The survival percentage of melanoma cells in the bystander group, which received the culture medium of the treated cells by combination of cisplatin and ultrasound waves with an intensity of 2 W/cm², had a significant decrease compared to the control group.

Conclusion: In combination therapies with ultrasound waves and chemotherapy drugs, the role of the bystander effect on the efficiency of treatment and cell survival should also be considered.

Keywords: Bystander effect; Ultrasound waves; Cisplatin, Melanoma

Citation: Rezaei M, Esmailzadeh A, Shanei A. **The Effect of Bystander Due to Combined Treatment of Ultrasound Waves and Cisplatin on Melanoma A375 Cell Line.** J Isfahan Med Sch 2021; 39(635): 550-5.

1- Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Ahmad Shanei, Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: shanei@med.mui.ac.ir