DOI: 10.48305/jims.2022.16282

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهلم/شماره‌ی ۶۵۷/هفته‌ی اول فروردین ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۱۳ — تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۹ — تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۱/۷

بررسی اثر درمانی ترکیب امواج فراصوت و داروی شیمی‌درمانی داکاربازین بر روی رده‌ی سلولی ملانوما

آرمان اسماعیل‌زاده[۱]، احمد شانئی[۲]، ندا عطاران[۳]، سیدحسین حجازی[۴]، سیمین همتی[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: استفاده از امواج فراصوت در ترکیب با داروهای شیمی‌درمانی، باعث بالا رفتن اثربخشی دارو در دوزهای کم می‌شود. این امر می‌تواند در بهبود سرطان‌های مقاوم به درمان مثل ملانوما نقش بسزایی ایفا کند. همچنین در این روش، پایین آمدن دوز دارو، سمیت ایجاد شده را بر سلول‌های سالم به حداقل می‌رساند. این پژوهش، با هدف بررسی تأثیر درمان ترکیبی امواج فراصوت و داروی شیمی‌درمانی داکاربازین بر میزان مرگ سلولی در ملانوما انجام شد.

روش‌ها: بعد از کشت سلول‌های ملانوما B16F10 به صورت آزمایشگاهی، غلظت بهینه‌ی داکاربازین به کمک تست MTT مشخص شد. همچنین تأثیر امواج فراصوت بر بقاء سلول‌ها به صورت مجزا بررسی گردید. در مرحله‌ی بعد، سلول‌ها به کمک غلظت بهینه‌ی داکاربازین و امواج فراصوت با فرکانس یک مگاهرتز در شدت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ وات بر سانتی‌متر مربع به مدت ۳ دقیقه در مد پیوسته درمان شدند و بعد از گذشت ۲۴ ساعت اکوباسیون، میزان بقاء به کمک آزمون MTT و میزان آپوپتوز به کمک فلوسایتومتری بررسی شد.

یافته‌ها: درصد بقاء سلول‌های ملانوما درمان شده به صورت ترکیبی با داروی داکاربازین و امواج فراصوت در شدت ۲ وات بر سانتی‌متر مربع، بیشترین کاهش را نشان داد. همچنین سطح آپوپتوز ایجاد شده در شدت ۱/۵ وات بر سانتی‌متر مربع در ترکیب با داکاربازین، افزایش معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری: استفاده از امواج فراصوت در ترکیب با داروی داکاربازین، می‌تواند در بهبود پاسخ ملانوما به درمان با این دارو، نقش مؤثری ایفا کند و همچنین باعث کاهش سمیت عمومی برای سلول‌های غیر سرطانی شود.

واژگان کلیدی: امواج فراصوت؛ شیمی‌درمانی؛ داکاربازین؛ ملانوما؛ آپوپتوز

ارجاع: اسماعیل‌زاده آرمان، شانئی احمد، عطاران ندا، حجازی سیدحسین، همتی سیمین. **بررسی اثر درمانی ترکیب امواج فراصوت و داروی شیمی‌درمانی داکاربازین بر روی رده‌ی سلولی ملانوما.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۵۷): ۲۲-۱۷

مقدمه

استفاده از امواج فراصوت به دلیل عمق نفوذ مناسب، ماهیت غیر یونیزان و اثرات جانبی کمتر نسبت به پرتوهای یونیزان مثل اشعه‌ی ایکس، بر روی بافت‌ها در تشخیص و درمان بیماری‌ها از جمله سرطان، مورد توجه بسیار قرار گرفته است (۱). انواع اثرات فیزیکی امواج فراصوت بر بافت‌ها شامل اثرات حرارتی و غیر حرارتی می‌باشد که از هر دوی این اثرات در درمان سرطان استفاده می‌شود (۲). از جمله اثرات غیر حرارتی امواج فراصوت که در درمان سرطان نقش مهمی دارد، پدیده‌ی حفره‌سازی (Cavitation) می‌باشد (۳). در پدیده‌ی حفره‌سازی، انبساط و انقباض ایجاد شده در بافت هنگام برخورد امواج فراصوت، نواحی پرفشار و کم فشار متناوبی تشکیل می‌دهد که باعث ایجاد و بزرگ شدن میکروحباب‌های گاز می‌گردد. قرار گرفتن میکروحباب‌های گاز در معرض امواج فشاری فراصوت، باعث فروپاشی ناگهانی آن‌ها و ایجاد دما و فشار لحظه‌ای بسیار بالا در محل فروپاشی می‌شود. این دما و فشار بسیار بالا، موجب تشکیل رادیکال‌های آزاد از جمله گونه‌های فعال اکسیژن

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیک پزشکی، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

۳- استادیار، گروه نانوتکنولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات بیوفوتونیک، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۴- استاد، گروه انگل و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- دانشیار، گروه پرتودرمانی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

Email: shanei@med.mui.ac.ir

(Reactive oxygen species) می‌شود (٤). این رادیکال‌های آزاد با آسیب به غشاء سلول‌ها و تغییر در نفوذ پذیری آن می‌توانند باعث القاء آپوپتوز و در نهایت مرگ در سلول‌های سرطانی شوند (٥). علاوه بر این، دما و فشار بالای ایجاد شده نیز می‌تواند باعث بالا رفتن نفوذپذیری غشاء سلول‌ها در فرایند سونوپوریشن (Sonoporation) شده و بارگذاری و برداشت مواد مختلف از جمله داروهای شیمی‌درمانی در سلول‌های سرطانی را بالا ببرد که می‌توان به کمک آن با غلظت‌های پایین‌تری از دارو، نتایج خوبی از درمان دریافت کرد. این امر باعث کاهش اثرات جانبی داروها در دوزهای بالا می‌شود (٦).

ملانوما، به عنوان تهاجمی‌ترین نوع سرطان پوست می‌باشد که به مقاومت دارویی بالا، عود سریع و نرخ بقای پایین مشهور است (٧). روش‌های درمان ملانوما بسته به مرحله‌ی بیماری می‌تواند جراحی، شیمی‌درمانی، پرتودرمانی یا درمان‌های ترکیبی باشد. داروی شیمی‌درمانی داکاربازین به عنوان تنها داروی مورد تأیید سازمان غذا و داروی آمریکا، برای درمان سیستمیک ملانوما می‌باشد. با توجه به ماهیت مقاوم به داروی ملانوما، میزان پاسخ به درمان با این دارو حدود ١٥ درصد گزارش شده است (٨). اگرچه درمان به کمک دوزهای بالای دارو می‌تواند در کنترل ملانوما مؤثر باشد ولی به دلیل سمیت سیستمیک بسیار بالا و عوارض جانبی شدید، راه‌حل عملی نمی‌باشد (٩).

Biteghe و Davids، در مطالعات گذشته، اثر استفاده‌ی همزمان داکاربازین و پرتوهای نوری برای کاهش میزان مقاومت دارویی در درمان ملانوما را مورد بررسی قرار داده‌اند. آن‌ها بیان کردند که استفاده‌ی همزمان از داروی داکاربازین و پرتوهای نوری می‌تواند به عنوان درمان‌های مکمل بعد از عمل جراحی، میزان عود بیماری را کنترل کند (١٠). آن‌ها ماهیت حساس به نور داروی شیمی‌درمانی داکاربازین را در نظر نگرفتند. لذا هدف از این مطالعه، بررسی اثر درمان همزمان با امواج فراصوت و داروی شیمی‌درمانی داکاربازین می‌باشد. نه تنها امواج فراصوت، میزان عمق نفوذ بالاتری نسبت به پرتوهای نوری دارند و می‌توانند برای درمان تومورهای عمیق‌تر ملانوما استفاده شوند بلکه مثل امواج نوری، اثر تخریبی بر ماهیت داروی داکاربازین ندارند.

روش‌ها

این مطالعه به صورت آزمایشگاهی از اردیبهشت تا مرداد ماه ١٤٠٠ در آزمایشگاه مرکزی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان طی مراحل زیر انجام شد:

رده‌ی سلولی و شرایط تکثیر: رده‌ی سلولی B16F10 ملانوما موشی از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. سپس سلول‌ها درون فلاسک‌های کشت T75 در محیط کشت RPMI-1640 غنی شده با ١٠ درصد سرم جنین گاوی و ٥ درصد آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین، به صورت تک لایه در انکوباتور با دمای ٣٧ درجه و ٥ درصد CO2 کشت داده شدند. بعد از تکثیر سلول‌ها طی چند روز و پر شدن ٨٠ درصد از فلاسک، سلول‌ها به کمک آنزیم تریپسین جدا شده و به کمک رنگ تریپان بلو و لام نئوبار زیر میکروسکوپ تعداد ٢×١٠^{٤} سلول به ازای هر چاهک از پلیت ٩٦ خانه برای انجام تست‌ها شمارش شد و به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند.

برای انجام آزمایشات، سلول‌ها به ٤ گروه تقسیم شدند:

١- گروه سلول‌های درمان شده با داروی شیمی‌درمانی داکاربازین: به منظور تعیین غلظت بهینه‌ی دارو برای استفاده در درمان ترکیبی با امواج فراصوت، سلول‌های قرار گرفته در چاهک‌های پلیت ٩٦ خانه با غلظت‌های ٠/٥، ١، ٥، ٥٠ و ١٠٠ میکروگرم بر میلی‌لیتر از داروی داکاربازین به مدت ٢٤ ساعت درمان شدند.

٢- گروه سلول‌های درمان شده با امواج فراصوت: در این گروه، تأثیر تابش امواج فراصوت به تنهایی بر سلول‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تابش‌دهی سلول‌های قرار گرفته در پلیت کشت به کمک امواج فراصوت تولید شده با دستگاه فراصوت درمانی ساخت شرکت مهندسی پزشکی نوین (ULTRASOUND 215X) در مد پیوسته و فرکانس ١ مگاهرتز، با شدت‌های ٠/٥، ١، ١/٥ و ٢ وات بر سانتی‌متر مربع به مدت ٣ دقیقه انجام شد. بعد از تابش‌دهی، سلول‌ها به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند.

٣- گروه سلول‌های درمان شده با غلظت بهینه‌ی داروی داکاربازین و امواج فراصوت به عنوان درمان ترکیبی: به منظور مشاهده‌ی نتایج درمان ترکیبی با امواج فراصوت و داروی شیمی‌درمانی داکاربازین، غلظتی از دارو که در آن کسر بقاء سلول‌ها به میزان ٨٠ درصد است، انتخاب شد و بعد از اعمال آن، سلول‌ها به مدت ١ ساعت در انکوباتور ٣٧ درجه نگهداری شدند. بعد از گذشت ١ ساعت، سلول‌ها به صورت ذکر شده در مرحله‌ی قبل، به کمک امواج فراصوت، تابش‌دهی گردید و به مدت ٢٤ ساعت در دمای ٣٧ درجه انکوبه شدند.

٤- گروه سلول‌های شاهد که هیچ درمانی دریافت نکردند.

سنجش میزان بقاء سلول‌ها به کمک آزمون دی متیل تیازول- ٢ و ٥ دی فنیل تترازولیوم برمید (MTT): برای سنجش میزان بقاء سلولی بعد از گذشت ٢٤ ساعت از اعمال درمان‌ها، ابتدا محلول MTT با غلظت ٥ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در بافر PBS آماده شد. سپس محیط هر چاهک از پلیت ٩٦ خانه به دقت خارج شد و ترکیبی از ٩٠ میکرولیتر محیط کشت RPMI-1640 بدون سرم جنین گاوی و

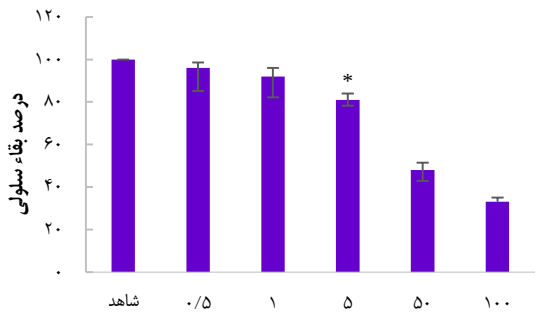
۱۰ میکرولیتر محلول آماده شده‌ی MTT به هر چاهک اضافه گردید و به مدت ٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه و محیط تاریک برای تشکیل کریستال‌های فروزمان، انکوباسیون انجام شد. در مرحله‌ی بعد، محلول رویی هر چاهک به دقت خارج گردید و ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به منظور حل شدن کریستال‌های تشکیل شده، اضافه شد و پلیت به مدت ۲۰ دقیقه در شیکر قرار گرفت. در مرحله‌ی آخر، جذب نوری هر چاهک توسط دستگاه ELISA reader در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد و درصد زنده بودن سلول‌ها با استفاده از فرمول مربوطه محاسبه گردید.

سنجش میزان آپوپتوز به کمک آزمون فلوسایتومتری: مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول یا آپوپتوز، یکی از انواع مرگ سلول می‌باشد که به منظور حذف سلول‌های ناخواسته یا غیر ضروری در موجودات زنده به کار می‌رود و در بسیاری از مکانیسم‌های سیستم ایمنی یا بیماری‌ها مداخله می‌کند. این فرایند در تنظیم میزان رشد و تکثیر سلول‌ها بسیار مهم بوده و بروز بسیاری از سرطان‌ها، نتیجه‌ی عملکرد ضعیف یا مهار شدن پدیده‌ی مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی است. در این مطالعه، میزان آپوپتوز القا شده توسط درمان‌های اعمال شده در سلول‌ها به کمک روش فلوسایتومتری ارزیابی شد. ابتدا با توجه به راهنمای کیت سنجش آپوپتوز (BioLegend FITC Annexin V - PI Apoptosis Detection Kit) تعداد یک میلیون سلول در چاهک‌های پلیت ٦ خانه کشت داده شد و ٢٤ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. پس از گذشت ٢٤ ساعت، درمان در گروه‌های مختلف انجام شد و مجدداً پلیت‌ها به مدت ٢٤ ساعت انکوبه شدند. سپس با استفاده از تریپسین، سلول‌ها جدا شده و شمارش گردیدند. از هر گروه ۲×۱۰^{۵} سلول شمارش شده و دو بار با PBS شستشو و سانتریفیوژ شد و در ۰/۵ میلی‌لیتر بافر موجود در کیت پراکنده و به لوله‌ی فلوسایتومتری منتقل شدند. سپس برای هر گروه، ۵ میکرولیتر Annexin V و ۳ میکرولیتر PI اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق و محیط تاریک انکوبه شدند. سپس خوانش با دستگاه فلوسایتومتری آزمایشگاه مرکزی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان (BD FACSCalibur) انجام گرفت.

بررسی آماری: تمامی مراحل آزمایش، ۳ بار تکرار شد و داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) به صورت ارزیابی میانگین و انحراف معیار با آزمون One-way ANOVA تحلیل گردیدند. سطح معنی‌داری، $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

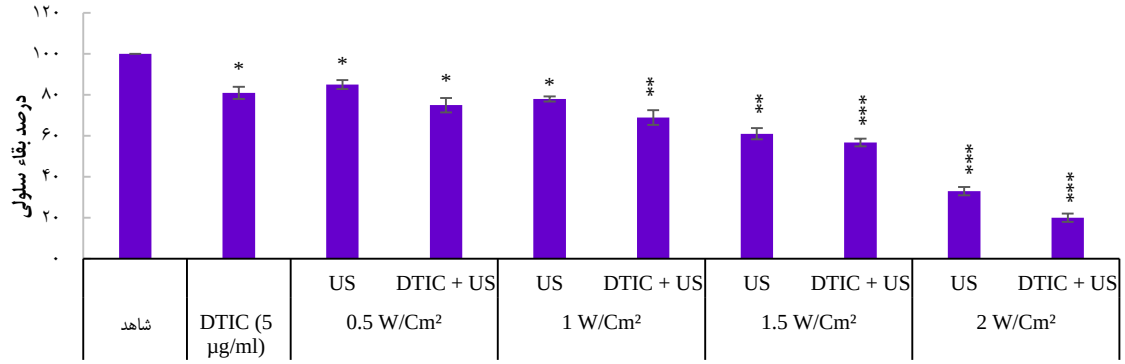
میزان بقاء سلول‌های تحت درمان داکاربازین: نتایج تست MTT برای سلول‌های تحت درمان با غلظت‌های مختلف داکاربازین در شکل ۱، نشان دهنده‌ی کاهش تدریجی میزان بقاء سلول‌ها با افزایش غلظت دارو در مقایسه با گروه شاهد بود که داکاربازین دریافت نکرده‌اند. از آن‌جایی که هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی درمان ترکیبی داکاربازین و امواج فراصوت برای بهبود اثربخشی دارو و همچنین کاهش عوارض جانبی آن می‌باشد، غلظت ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از داکاربازین به عنوان غلظت بهینه برای انجام آزمایشات انتخاب شد که میزان بقاء سلول‌ها در آن، ۸۰ درصد و دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد بود ($P < ۰/۰۵$).



شکل ۱. میانگین و انحراف معیار درصد بقاء سلول‌ها در مواجهه با غلظت‌های مختلف داکاربازین ($P < ۰/۰۵$)

میزان بقاء سلول‌های تحت درمان با امواج فراصوت و درمان ترکیبی با امواج فراصوت و داکاربازین: همان‌گونه که در شکل ۲ دیده می‌شود، با افزایش در شدت امواج فراصوت، درصد زنده ماندن سلول‌ها کاهش معناداری یافت به طوری که گروه سلولی دریافت‌کننده‌ی امواج فراصوت با شدت ۲ وات بر سانتی‌متر مربع، کاهش ٦٧ درصدی نسبت به گروه شاهد در بقاء سلول‌ها داشت ($P < ۰/۰۵$). همچنین با توجه به شکل ۲، میزان بقاء سلول‌های تحت درمان ترکیبی داکاربازین با غلظت ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و امواج فراصوت نسبت به گروه درمان با داکاربازین، کاهش یافته است. این کاهش بقاء سلول‌ها با افزایش در شدت امواج فراصوت چشم‌گیرتر بود تا جایی که در درمان ترکیبی داکاربازین و امواج فراصوت با شدت ۲ وات بر سانتی‌متر مربع، میزان بقاء به ۲۳ درصد رسیده است که دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد می‌باشد ($P < ۰/۰۱$).

سنجش میزان آپوپتوز: در شکل ۳، نتایج سنجش میزان آپوپتوز در سلول‌های تحت درمان با امواج فراصوت در شدت ۱/۵ وات بر سانتی‌متر مربع، داروی داکاربازین با غلظت ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و درمان ترکیبی با داروی داکاربازین در غلظت ذکر شده و امواج فراصوت با شدت ۱/۵ وات بر سانتی‌متر مربع در مقایسه با گروه شاهد نشان داده شده است.

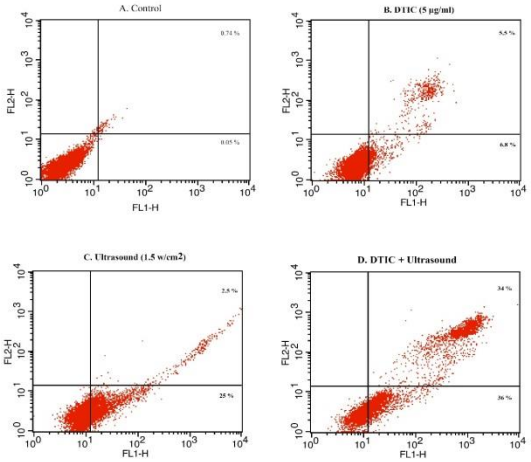


شدت امواج فراصوت (وات بر سانتی متر مربع)

نمودار ۲. میانگین و انحراف معیار درصد بقاء سلول‌ها در درمان ترکیبی با داکاربازین و امواج فراصوت

(*: $P < ۰/۰۵$، **: $P < ۰/۰۱$، ***: $P < ۰/۰۰۱$)

در این شکل، چهارک پایین و سمت چپ، نشان‌دهنده‌ی سلول‌هایی است که وارد فاز آپوپتوز نشده‌اند، چهارک پایین و سمت راست، نشان‌دهنده‌ی سلول‌هایی است که وارد مراحل ابتدایی آپوپتوز شده‌اند، چهارک بالا و سمت راست، نشان‌دهنده‌ی سلول‌هایی است که وارد مراحل نهایی فرایند آپوپتوز شده‌اند و در نهایت چهارک بالا و سمت چپ به سلول‌های نکروز شده نسبت داده می‌شود. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود میزان آپوپتوز در سلول‌های ملانوما درمان شده با ترکیب دارو و امواج فراصوت نسبت به درمان‌های ذکر شده به تنهایی افزایش معنی‌داری از خود نشان داده است ($P < ۰/۰۰۱$).



شکل ۳. میزان القاء آپوپتوز در سلول‌های درمان شده در گروه‌های مختلف

بحث

در این مطالعه، میزان بقاء و آپوپتوز ناشی از درمان ترکیبی امواج فراصوت و داروی شیمی‌درمانی داکاربازین بر روی رده‌ی سلولی ملانوما به صورت آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. با وجود این که داروی شیمی‌درمانی داکاربازین به عنوان تنها داروی تأیید شده‌ی سازمان غذا و داروی آمریکا در درمان ملانوما است، اما به دلیل ماهیت مقاوم ملانوما، میزان اثربخشی این دارو تنها ۱۵ درصد گزارش شده است (۹).

در مطالعه‌ی انجام شده توسط Bernard و همکاران، ترکیب امواج فراصوت و داروی شیمی‌درمانی سیس‌پلاتین برای درمان ملانوما مورد بررسی قرار گرفت. آن‌ها بیان کردند که استفاده از امواج فراصوت، باعث تشدید در سمیت‌زایی داروی شیمی‌درمانی در سلول‌های ملانوما می‌شود (۱۱).

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 غشاء سلول‌ها، تحت تأثیر پدیده‌ی حفره‌سازی می‌باشد. نتایج به دست آمده با نتایج مطالعه‌ی Bernard و همکاران همخوانی داشت ولی به دلیل استفاده از داروی شیمی‌درمانی متفاوت و همچنین زمان انکوبه کردن متفاوت قبل از سنجش میزان بقاء، میزان مرگ سلولی متفاوت بود.

رادیکال‌های آزاد، از جمله گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند از مسیرهای مختلف باعث القاء مرگ سلولی از طریق آپوپتوز شوند (۱۲). در این مطالعه به کمک روش فلوسایتومتری، سطح آپوپتوز ایجاد شده توسط هر یک از درمان‌های اعمال شده سنجیده شد. با توجه به شکل ۳ میزان آپوپتوز ایجاد شده در سلول‌های ملانومای تحت درمان با ترکیب امواج فراصوت و داروی داکاربازین، افزایش چشمگیری نسبت به گروه‌های دیگر داشته است. دلیل این امر می‌تواند هم‌افزایی امواج فراصوت و داروی داکاربازین در ایجاد رادیکال‌های آزاد و در نتیجه ایجاد آسیب مضاعف در غشاء و ماده‌ی ژنتیکی سلول‌ها باشد.

از محدودیت‌های پیش روی این مطالعه می‌توان از عدم وجود بررسی سطح رادیکال‌های آزاد تولید شده در درمان‌ها نام برد. در مطالعات آینده قدم‌های بعدی می‌تواند ترکیب داروی داکاربازین و نانوذرات برای دارورسانی هدفمند در حضور امواج فراصوت به صورت درون آزمایشگاهی و یا حتی درون‌تنی باشد.

نتیجه‌گیری

استفاده از امواج فراصوت به عنوان یکی از روش‌های درمانی با عوارض جانبی کمتر در درمان سرطان‌ها تلقی می‌شود. امواج فراصوت، ضمن ایجاد آسیب به صورت مستقیم در سلول‌های موجود در میدان تابش فراصوت می‌تواند در درمان‌های ترکیبی با داروها، باعث اثربخشی بیشتر آن‌ها در دوزهای پایین‌تر شود. این امر باعث کم شدن عوارض جانبی در درمان و بهبود کیفیت زندگی در بیماران می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل از یافته‌های پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد فیزیک پزشکی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره‌ی ۳۹۸۹۳۵ می‌باشد. بدین‌وسیله از کارکنان محترم آزمایشگاه مرکزی دانشکده‌ی پزشکی اصفهان که در انجام این پژوهش همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Bansal K, Jha CK, Bhatia D, Shekhar H. Ultrasound-enabled therapeutic delivery and regenerative medicine: Physical and biological perspectives. ACS Biomater Sci Eng 2021; 7(9): 4371-87.
2. Shanei A, Tavakoli MB, Salehi H, Ebrahimi-Fard A. Evaluating the effects of ultrasound waves on MCF-7 cells in the presence of Ag nanoparticles. J Isfahan Med Sch 2016; 34(389): 765-70. [In Persian].
3. Lyubimova T, Rybkin K, Fattalov O, Kuchinskiy M, Filippov L. Experimental study of temporal dynamics of cavitation bubbles selectively attached to the solid surfaces of different hydrophobicity under the action of ultrasound. Ultrasonics 2021; 117: 106516.
4. Sazgarnia A, Shanei A. Evaluation of acoustic cavitation in terephthalic acid solutions containing gold nanoparticles by the spectrofluorometry method. Int J Photoenergy 2012; 2012(10): 1-5.
5. Cai L, Liu J, Wang Y, Chen H, Ma Y, Wang Y, et al. Enhanced anti-melanoma efficacy of interferon α-2b via overexpression of ING4 by enhanced Fas/FasL-mediated apoptosis. Oncol Lett 2018; 15(6): 9577-83.
6. Wood AK, Sehgal CM. A review of low-intensity ultrasound for cancer therapy. Ultrasound Med Biol 2015; 41(4): 905-28.
7. Ossio R, Roldán-Marín R, Martínez-Said H, Adams DJ, Robles-Espinoza CD. Melanoma: a global perspective. Nat Rev Cancer 2017; 17(7): 393-4.
8. Jeon HJ, Choi BBR, Park KH, Hwang DS, Kim UK, Kim GC. Induction of melanoma cell-selective apoptosis using anti-HER2 antibody-conjugated gold nanoparticles. Yonsei Med J 2019; 60(6): 509-16.
9. Domingues B, Lopes JM, Soares P, Pópulo H. Melanoma treatment in review. Immunotargets Ther 2018; 7: 35-49.
10. Biteghe FN, Davids LM. A combination of photodynamic therapy and chemotherapy displays a differential cytotoxic effect on human metastatic melanoma cells. J Photochem Photobiol B 2017; 166: 18-27.
11. Bernard V, Mornstein V, Škorpíková J, Jaroš J. Ultrasound and cisplatin combined treatment of human melanoma cells A375--the study of sonodynamic therapy. Ultrasound Med Biol 2012; 38(7): 1205-11.
12. Gao L, Loveless J, Shay C, Teng Y. Targeting ROS-mediated crosstalk between autophagy and apoptosis in cancer. Adv Exp Med Biol 2020; 1260: 1-12.

DOI: *10.48305/jims.2022.16282*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 40, No. 657, 1st Week, April 2022**

Received: 04.10.2021 Accepted: 30.11.2021 Published: 27.03.2022

Evaluation of Ultrasound-mediated Chemotherapy Treatment Using Dacarbazine on B16F10 Melanoma Cell Line

Arman Esmailzadeh[1], Ahmad Shanei[2], Neda Attaran[3], Seyed Hossein Hejazi[4], Simin Hemati[5]

Original Article

Abstract

Background: The use of chemotherapy drugs in combination with ultrasound exposure increases their synergic effect at lower doses. It can play an important role in the treatment of drug-resistant cancers, such as melanoma. Also, in this method, reducing the dose of the drug minimizes side effects on healthy cells. This study aimed to evaluate the effect of ultrasound-mediated chemotherapy with dacarbazine on malignant cell death and apoptosis induction in melanoma.

Methods: After culturing B16F10 melanoma cells in-vitro, the optimal concentration of dacarbazine was determined by MTT assay. The effect of ultrasound on cell survival was also investigated separately by the same method. In the next step, the cells were treated with the optimal concentration of dacarbazine at intensities of 0.5, 1, 1.5 and 2 w/cm^2 and were observed for 3 minutes. After 24 hours MTT assay was used to measure cell viability. The level of apoptosis induction by treatments was also measured using flow cytometry.

Findings: The survival rate of melanoma cells treated in combination with dacarbazine and ultrasound at 2 w/cm^2 showed the greatest decline. Also, the rate of apoptosis at 1.5 w/cm^2 in combination with dacarbazine increased significantly.

Conclusion: The use of ultrasound in combination with dacarbazine can be effective in improving the response of melanoma to treatment and reduce the overall toxicity to non-cancerous cells.

Keywords: Ultrasonic waves; Chemotherapy; Dacarbazine; Melanoma; Apoptosis

Citation: Esmailzadeh A, Shanei A, Attaran N, Hejazi SH, Hemati S. **Evaluation of Ultrasound-mediated Chemotherapy Treatment Using Dacarbazine on B16F10 Melanoma Cell Line.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(657): 17-22.

1- MSc in Medical Physics, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- PhD in Medical Physics, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Medical Nanotechnology, Applied Biophotonics Research Center, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4- Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
5- Associate Professor, Department of Radiation Oncology, School of Medicine, Seyyed Al-Shohada Hospital, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Ahmad Shanei, PhD in Medical Physics, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran ;Email: shanei@med.mui.ac.ir