

اثر کلاستوژنیک امواج فراصوتی درمانی به تنهایی یا همراه با پروکاربازین هیدروکلراید بر روی مغز استخوان نوزاد موش صحرایی

حسن صابری M.Sc.*، حسین مزدارانی Ph.D.*

دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، بخش فیزیک پزشکی

دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه رادیولوژی

آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی: ۱۱۱-۱۴۱۱۵، دانشگاه تربیت مدرس، گروه رادیولوژی

چکیده

هدف: بررسی اثر کلاستوژنیک امواج فراصوتی درمانی پیوسته به تنهایی و یا همراه با داروی شیمی درمانی پروکاربازین هیدروکلراید (PCZ: Procarbazine hydrochloride) بر روی اریتروسیت‌های مغز استخوان نوزادان موش صحرایی.

مواد و روشها: نوزادان پنج روزه موش صحرایی تحت تابش امواج فراصوتی پیوسته با توانهای ۱/۵، ۱ و ۲ وات بر سانتی‌متر مربع قرار گرفتند و با دزهای ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن PCZ تیمار شدند. در زمانهای مختلف ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تابش امواج فراصوتی یا تیمار با دارو به تنهایی یا به طور توأم از مغز استخوان نوزادان موش صحرایی نمونه‌گیری به عمل آمد. پس از تهیه سوسپانسیون سلولی و تهیه لام، سلولها در رنگ مسای گرانولد و گیمسا رنگ‌آمیزی شد. فراوانی میکرونوکلی در سلولهای پلی‌کروماتیک اریتروسیت (PCE: Polychromatic Erythrocyte) شمارش و نسبت سلولهای PCE به مجموع اریتروسیتها (PCE + نورموکروماتیک اریتروسیت (NCE: Normochromatic Erythrocyte)) برای ارزیابی توکسیته دارو و امواج فراصوتی محاسبه شد.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد که امواج فراصوتی پیوسته در محدوده توانهای مورد استفاده در این پژوهش به تنهایی اثر کلاستوژنیک و سیتوتوکسیک بر روی سلولهای اریتروسیتی مغز استخوان ندارد. لیکن هنگامی که با توان بالا $2W/cm^2$ به همراه داروی پروکاربازین هیدروکلراید ($80mg/kg$) مورد استفاده قرار می‌گیرد، بدون ایجاد سمیت سلولی موجب افزایش اثر کلاستوژنیک دارو می‌شود.

نتیجه‌گیری: اثر ایجاد شده با تیمار توأم امواج فراصوتی و PCZ در سلولهای مغز استخوان موش صحرایی نزدیک بر اثر هم‌افزایی است که مکانیزم ایجاد آن به درستی مشخص نیست. تصور می‌شود امواج فراصوتی بر غشای خارجی سلول تأثیر گذاشته و موجب افزایش نفوذپذیری آن و تحریک مولکولها برای ایجاد رادیکالهای آزاد می‌شود.

کلواژگان: امواج فراصوتی درمانی، پروکاربازین هیدروکلراید، میکرونوکلی، مغز استخوان، نوزاد موش صحرایی

مقدمه

در حال حاضر برای درمان سرطانها از دو روش رایج پرتو درمانی و شیمی درمانی استفاده می‌شود. پرتوهای یونساز و داروهای شیمی درمانی علاوه بر سلولهای سرطانی بر سلولهای سالم بدن نیز اثر منفی بر جای می‌گذارند. از این رو اگر بتوان با روشهای خاصی تأثیر آنها را بر روی سلولهای سرطانی محدود کرد، گام مهمی برای درمان سلولهای بدخیم و یا کم کردن قدرت تهاجمی آنها برداشته شده است. پژوهشهای زیادی در این زمینه صورت گرفته یا در حال انجام است. از آنجایی که پرتوهای یونساز بر سلولهای سالم بدن تأثیر منفی می‌گذارند و از طرفی بر سلولهای هیپوکسیک اثر چندانی ندارند، اگر عامل دیگری بتواند با تأثیر مشابه بر سلولهای بدخیم اثر کمتری در بافتهای سالم ایجاد کند جایگزین بهتری به حساب می‌آید.

در چند دهه گذشته تحقیقات بسیاری مبنی بر استفاده از امواج فراصوتی همراه با عوامل درمانی دیگر از جمله پرتوهای یونساز (۶-۱)، هیپرترمی (۵، ۸-۷) و شیمی درمانی (۱۵-۹) انجام شده است. در همه این بررسیها نتایج مثبت یا منفی از اثر امواج فراصوتی در رابطه با عامل درمانی، سیستم بیولوژیکی و شرایط آزمایشگاهی گزارش شده است. در بررسیهای انجام شده با تومور سارکومای موش صحرایی نشان داده شد که امواج فراصوتی به تنهایی می‌تواند موجب کاهش حجم تومور و افزایش اثر دارو شود؛ اما نتایج پاسخ معنی داری را بین دو گروه، امواج فراصوتی تنها یا همراه با دارو نشان نمی‌دهد (۹، ۱۶). تحقیقات دیگر انجام شده در شرایط *in vitro* نشان می‌دهد که امواج فراصوتی به تنهایی برای سلول سیتوتوکسیک است (۱۷) و امواج پیوسته در شدتهای معین در سلولهای معلق اثر بیولوژیکی ایجاد می‌کنند که می‌تواند ناشی از کاویتاسیون خارج سلولی باشد (۱۸). بنابراین مشخص نیست که بتوان اثر افزایش امواج فراصوتی بر دارو در شرایط *in vitro* را به شرایط *in vivo* نیز تعمیم داد. از این رو در بررسی حاضر اثر امواج فراصوتی درمانی پیوسته به تنهایی یا همراه با داروی پروکاربازین هیدروکلراید در شرایط *in vivo* روی سلولهای مغز استخوان نوزادان موش صحرایی بررسی شد. پروکاربازین هیدروکلراید از مشتقات هیدرازین است که بر سلولهای مغز استخوان تأثیر زیادی دارد و مکانیزم ایجاد سمیت سلولی آن ناشناخته است. اما احتمال دارد که موجب توقف سنتز پروتئین و ایجاد شکست کروموزوم شود. این دارو برای درمان سرطانهای ریه و بیماری هوچکین و تومورهای مغزی کاربرد دارد. سیستم مغز استخوان که از حساسترین سیستمها در بدن پستانداران به عوامل فیزیکی و شیمیایی است، با استفاده از روش سنجش میکرونوکلیتی بررسی شد. آزمون میکرونوکلیتی که توسط Schmid و همکارانش (۱۹، ۲۰، ۲۱) توسعه یافت، آزمون بسیار حساس و دقیقی است که برای شناسایی تغییرات ژنتیکی ناشی از عوامل فیزیکی و شیمیایی به طور گسترده‌ای استفاده می‌شود. میکرونوکلیتی به صورت یک هسته کوچک محصور شده با غشاء در سینیپلاسم سلولهای یوکاریوت پس از تماس با عوامل ژنوتوکسیک ظاهر می‌شود. در این تحقیق روند ایجاد میکرونوکلیتی در سلولهای PCE با توانهای مختلف امواج فراصوتی درمانی پیوسته به تنهایی یا در حضور پروکاربازین

هیدروکلراید بررسی شد.

مواد و روشها

* نوزادان موش صحرایی

موشهای صحرایی ماده سه ماهه به همراه تعدادی موش صحرایی نر از آستیتو رازی کرج تهیه شد. سپس در اوایل شب یک موش صحرایی نر با دو موش صحرایی ماده در یک قفس قرار داده شد. صبح روز بعد با مشاهده پلاک واژنی موشهای صحرایی ماده از بقیه جدا و در قفس جداگانه‌ای نگهداری شدند. موشها در شرایط مناسبی از نظر آب، غذا، نور و گرما نگهداری شدند. نوزادان در روز پنجم تحت تابش یا تزریق دارو قرار گرفتند. وزن نوزادان مورد بررسی بین ۱۲-۸ گرم بود.

* تیمار با داروی پروکاربازین هیدروکلراید

از کسپولهای ۵۰ میلی‌گرمی پروکاربازین هیدروکلراید (Roche سوئیس) استفاده شد. پروکاربازین در سرم فیزیولوژی استریل به صورت محلول درآمده و با دوزهای ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نوزادان از طریق حفره صفاقی (i.p.)^۱ با سرنگ انسولین تزریق شد.

* تابش امواج فراصوتی

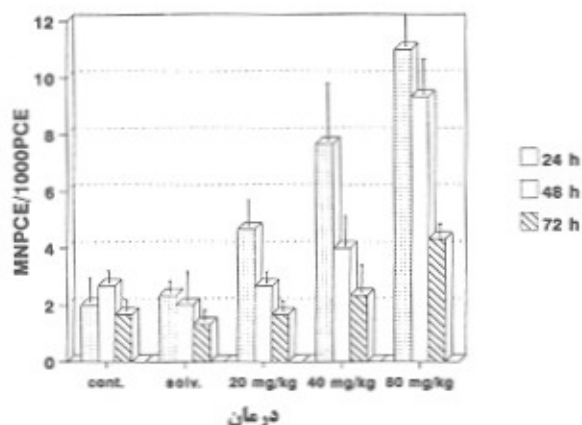
از دستگاه درمانی Sonopuls 434 (هلند Enraf-Nonius) استفاده شد. در این آزمایش از سر درمانی مخصوص فرکانس در محدوده ۱MHz که دارای سطح ۶/۲ سانتی‌متر مربع است استفاده شد. برای تابش دهی، ابتدا نوزادان درون نگهدارنده مخصوص که به منظور این کار طراحی شده بود قرار گرفتند و سپس به صورت عمودی درون ظرف تابش دهی محتوی آب قرار داده شدند، به طوری که تا ناحیه گردن نوزادان در آب قرار می‌گرفتند. آب درون ظرف قبل از انجام آزمایش جوشانیده می‌شد تا عاری از گاز شود. زمان تابش دهی پنج دقیقه و درجه حرارت آب ۳۷ سانتی‌گراد بود. در این بررسی از سه توان ۵/۰، ۱ و ۲ وات بر سانتی‌متر مربع امواج فراصوتی برای تابش دهی نوزادان موش صحرایی استفاده شد.

* نمونه‌گیری و تهیه میکرونوکلیتی

نوزادان در زمانهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق دارو با تابش امواج فراصوتی یا استفاده از اثر بی‌هوش و کشته شدند. مغز استخوان ران نوزادان با استفاده از ۲ سی‌سی سرم جنین گوساله (FCS، Sigma) استخراج و سوسپانسیون سلولی تهیه شد. سوسپانسیون سلولی با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ و از رسوب باقیمانده، گستره مغز استخوان تهیه شد. لامهای تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند تا سلولها ثابت شوند. لامها با استفاده از رنگ مای گرانول و گیسا (Merck)

1. Intraperitoneal
2. Fetal Calf Serum

نمونه گیری ۴۸ و ۷۲ ساعت فراوانی میکرونوکلتی نسبت به زمان ۲۴ ساعت کاهش می یابد ولی روند افزایش میکرونوکلتی نسبت به دوز خطی است (نمودار ۲).



نمودار ۲: نمودار فراوانی میکرونوکلتی در سلولهای PCE نوزادان موش صحرانی. ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از شمارش با سه دوز داروی پروکاربازین (۲۰، ۴۰ و ۸۰ mg/kg وزن بدن) ارقام. میانگین بررسی سه نوزاد موش صحرایی برای هر زمان نمونه گیری است.

در عین حال با وجود القای مؤثر میکرونوکلتی، پروکاربازین برای سیستم مغز استخوان و تکثیر سلولهای اریتروسیستی سیتوتوکسیک نیست (جدول ۱).

جدول ۱: فراوانی میکرونوکلتی به ازای هزار سلول شمارش شده در هر نمونه و نسبت PCE/PCE+NCE در نوزادانی که علاوه بر پروکاربازین (۸۰ mg/kg) در معرض تابش امواج فراصوتی با توانهای ۰/۵ و ۱ وات بر سانتی متر مربع قرار گرفته اند. اعداد نشانگر خطای استاندارد ± میانگین هستند و هر یک از اعداد میانگین حاصل از سه نمونه است.

شماره	زمان نمونه گیری	PCE/PCE+NCE	MN/1000PCE
کنترل	۲۴ ساعت	۰/۲۲۲ ± ۰/۰۲۴	۲/۰۰ ± ۱/۱۵
	۴۸ ساعت	۰/۲۲۵ ± ۰/۰۱۵	۲/۶۷ ± ۰/۱۸
	۷۲ ساعت	۰/۲۱۹ ± ۰/۰۲۲	۱/۶۷ ± ۰/۱۸
حلال	۲۴ ساعت	۰/۲۴۸ ± ۰/۰۱۶	۲/۲۲ ± ۰/۲۲
	۴۸ ساعت	۰/۲۲۵ ± ۰/۰۱۲	۲/۰۰ ± ۱/۰۰
	۷۲ ساعت	۰/۲۲۴ ± ۰/۰۱۰	۱/۲۲ ± ۰/۲۲
۸۰ mg/kg PCZ	۲۴ ساعت	۰/۵۲۸ ± ۰/۰۲۵	۱۱/۰۰ ± ۱/۵۲
	۴۸ ساعت	۰/۶۰۲ ± ۰/۰۰۷	۹/۲۲ ± ۱/۲۰
	۷۲ ساعت	۰/۶۱۲ ± ۰/۰۰۶	۲/۲۲ ± ۰/۲۲
۰/۵ W/cm ² + PCZ (۸۰ mg/kg)	۲۴ ساعت	۰/۵۵۵ ± ۰/۰۲۲	۷/۶۷ ± ۱/۲۰
	۴۸ ساعت	۰/۶۰۶ ± ۰/۰۱۱	۵/۰۰ ± ۱/۵۲
	۷۲ ساعت	۰/۶۲۱ ± ۰/۰۱۶	۲/۶۷ ± ۰/۲۲
۱/۰ W/cm ² + PCZ (۸۰ mg/kg)	۲۴ ساعت	۰/۵۲۹ ± ۰/۰۱۸	۱۴/۶۷ ± ۲/۲۰
	۴۸ ساعت	۰/۶۰۵ ± ۰/۰۱۲	۱۱/۶۷ ± ۲/۱۹
	۷۲ ساعت	۰/۶۲۷ ± ۰/۰۲۲	۲/۲۲ ± ۱/۶۶
۲/۰ W/cm ² + PCZ (۸۰ mg/kg)	۲۴ ساعت	۰/۴۹۷ ± ۰/۰۰۹	۲۲/۰۰ ± ۲/۶۵
	۴۸ ساعت	۰/۵۹۵ ± ۰/۰۱۹	۱۵/۰۰ ± ۲/۰۸
	۷۲ ساعت	۰/۶۲۲ ± ۰/۰۰۹	۲/۰۰ ± ۱/۵۲

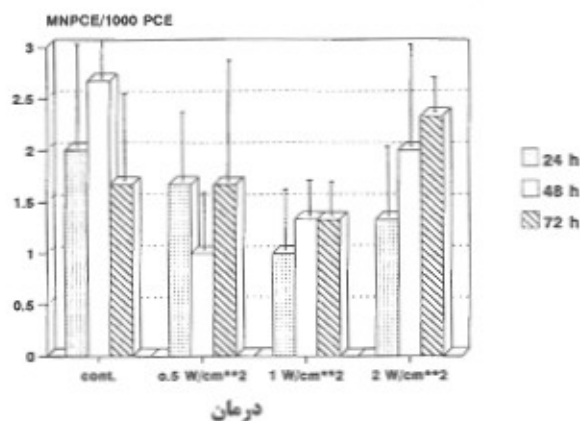
رنگ آمیزی شدند (۲۰). با این روش رنگ آمیزی سلولهای PCE به رنگ آبی متمایل به بنفش و NCE به رنگ زرد متمایل به نارنجی در زیر میکروسکوپ قابل شناسایی هستند.

برای هر نوزاد تعداد ۱۰۰۰ سلول PCE شمارش و تعداد PCEهای واجد میکرونوکلتی (MNPCE) ثبت شد. در عین حال تعداد NCEهای موجود در میدان دید PCE ها نیز ثبت گردید. نسبت (PCE)/(PCE+NCE) که شاخصی برای بررسی سمیت سلولی (سیتوتوکسیته) است، برای هر نمونه محاسبه شد.

برای هر دوز دارو و توان امواج فراصوتی و در هر زمان نمونه گیری سه نوزاد موش صحرایی بررسی شد. تفاوت بین فراوانی میکرونوکلتی و نسبت (PCE)/(PCE+NCE) در دوزها و توانهای مختلف امواج فراصوتی دارو با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون t با استفاده از نرم افزار SPSS تعیین شد.

یافته ها

نتایج این بررسی در جدول ۱ و نمودارهای ۱-۳ نشان داده شد. چنانکه مشاهده می شود تابش امواج فراصوتی توانهای مورد استفاده در این بررسی (۰/۵-۲ W/cm²) منجر به افزایش فراوانی MNPCE نسبت به گروه شاهد نشده است (نمودار ۱) و همچنین اثر سیتوتوکسیک بر روند تکثیر و تولید اریتروسیستها نداشته است (جدول ۱). آنالیز واریانس انجام شده بر اطلاعات حاصل از تابش امواج فراصوتی اختلاف معنی داری را با گروه شاهد نشان نمی دهد.



نمودار ۱: نمودار فراوانی میکرونوکلتی در ۱۰۰۰ سلول PCE در هر نمونه ۲۴، ۴۸ و ۷۰ ساعت پس از تابش امواج فراصوتی با سه توان مختلف (۰/۵ و ۱ و ۲ وات بر سانتی متر مربع)

در نوزادانی که با دوزهای ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن پروکاربازین هیدروکلراید تیمار شده بودند و در زمانهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از مغز استخوان آنها نمونه برداری شد، فراوانی بیشتر میکرونوکلتی نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. روند تشکیل میکرونوکلتی وابسته به دوز بود که با افزایش دوز پروکاربازین فراوانی میکرونوکلتی نیز افزایش یافت ($P < 0.05$). بیشترین تعداد میکرونوکلتی در زمان نمونه گیری ۲۴ ساعت مشاهده شد. اگرچه در زمانهای

برای بررسی اثر همزمان توانهای مختلف، امواج فراصوتی همراه با دوز ۸۰ mg/kg پروکاربازین که بیشترین تعداد میکرونوکلی را ایجاد کرده، انتخاب و به صورت داخل صفاقی تزریق و پس از یک ساعت نوزدان به مدت ۵ دقیقه در معرض امواج فراصوتی پیوسته یا شدت‌های ۲-۵ وات بر سانتی‌متر مربع قرار گرفتند. نتایج این بررسی در جدول ۱ و نمودار ۳ نشان داده شد. مشاهده می‌شود که تابش $5W/cm^2$ و نمودار ۱ امواج فراصوتی موجب کاهش فراوانی میکرونوکلی نسبت به نوزدانی که داروی تنها دریافت کرده‌اند شده است. بنابراین، با افزایش توان امواج فراصوتی فراوانی میکرونوکلی نیز افزایش می‌یابد (جدول ۱، نمودار ۳) طوری که با توان $2W/cm^2$ اثر هم‌افزایی یا سینرژیسم برای تیمار توام امواج فراصوتی و پروکاربازین (۸۰ mg/kg) در زمان نمونه‌گیری ۲۴ ساعت مشاهده می‌شود که این اختلاف با گروهی که داروی تنها دریافت کردند با $P=0.013$ معنی‌دار است. چنان‌که در جدول ۱ نیز مشاهده می‌شود تیمار توام امواج فراصوتی و پروکاربازین بر قابلیت تکثیر اریتروسیتهای مغز استخوان تأثیر نداشته و آنالیز آماری انجام شده تفاوت معنی‌داری را بین این دو گروه و نوزدانی که داروی تنها دریافت داشته‌اند نشان نمی‌دهد.

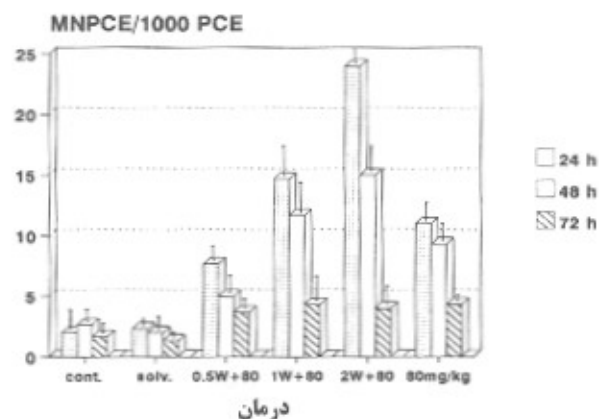
فراوانی بالای MNPCE در نمونه‌های تیمار شده با ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروکاربازین نشان‌دهنده کلاستوزنیک بودن این دارو در این دوزها است (جدول ۱، نمودار ۲).

پروکاربازین هیدروکلراید از داروهای شیمی درمانی است که در گروه عوامل آلکیل‌کننده قرار می‌گیرد. این عوامل ترکیبات فعالی هستند که قادر به تشکیل پیوندهای کروماتوسی با بنیانهای سولفیدریل، آمین، هیدروکسیل، کریکسیل و فسفات مولکولهایی چون اسیدهای نوکلئیک هستند (۳۴). سمیت سلولی PCZ بیشتر به علت ایجاد پیوند با نوکلئوتیدهای مولکول DNA است که در صورت پیوند با DNA سبب می‌شوند که همانندسازی به‌طور صحیح صورت نگیرد و پارگیهای تک‌رشته‌ای یا دو رشته‌ای در مولکول DNA ایجاد شود. این آسیبها پس از تبدیل به شکستهای کروموزومی به‌صورت میکرونوکلی در سلولهای PCE ظاهر می‌شوند.

با توجه به نتایج حاصل از بررسی فراوانی میکرونوکلی در سلولهای PCE مغز استخوان نوزدانی که با پروکاربازین تیمار شده‌اند، مشاهده می‌شود که نوزدانی که ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارو دریافت کرده‌اند با نوزدان کنترل و حلال تفاوت معنی‌داری دارند (نمودار ۲).

مشاهده افزایش معنی‌دار در فراوانی میکرونوکلی در سلولهای PCE می‌تواند به علت پیوند داروی پروکاربازین با مولکول DNA باشد که سبب ایجاد تک‌رشته یا دو رشته DNA و در نهایت تشکیل میکرونوکلی می‌شود (۳۵). از طرف دیگر تصور می‌شود که میکرونوکلی در اثر رادیکالهای آزاد ناشی از پروکاربازین ایجاد می‌شود (۳۶، ۳۷). Romagna و همکارانش بیشترین فراوانی میکرونوکلی ناشی از پروکاربازین هیدروکلراید را در زمان ۴۸ ساعت پس از تیمار مشاهده کردند (۳۵). اما با توجه به آنکه آنها فراوانی میکرونوکلی را در اریتروسیتهای خون محیطی بررسی کردند، انتظار می‌رود بیشترین فراوانی میکرونوکلی در سلولهای PCE مغز استخوان ۲۴ ساعت پس از تیمار با دارو مشاهده شود (۳۸). از این رو می‌توان نتیجه گرفت که مشاهده بیشترین فراوانی میکرونوکلی در سلولهای مغز استخوان یا یافته‌های Romagna و همکارانش مطابقت دارد (نمودار ۲) (۳۵). مشاهده افزایش فراوانی میکرونوکلی در هر سه زمان نمونه‌برداری با افزایش دوز دارو (نمودار ۲) نمایانگر آن است که تأثیر

برای بررسی اثر همزمان توانهای مختلف، امواج فراصوتی همراه با دوز ۸۰ mg/kg پروکاربازین که بیشترین تعداد میکرونوکلی را ایجاد کرده، انتخاب و به صورت داخل صفاقی تزریق و پس از یک ساعت نوزدان به مدت ۵ دقیقه در معرض امواج فراصوتی پیوسته یا شدت‌های ۲-۵ وات بر سانتی‌متر مربع قرار گرفتند. نتایج این بررسی در جدول ۱ و نمودار ۳ نشان داده شد. مشاهده می‌شود که تابش $5W/cm^2$ و نمودار ۱ امواج فراصوتی موجب کاهش فراوانی میکرونوکلی نسبت به نوزدانی که داروی تنها دریافت کرده‌اند شده است. بنابراین، با افزایش توان امواج فراصوتی فراوانی میکرونوکلی نیز افزایش می‌یابد (جدول ۱، نمودار ۳) طوری که با توان $2W/cm^2$ اثر هم‌افزایی یا سینرژیسم برای تیمار توام امواج فراصوتی و پروکاربازین (۸۰ mg/kg) در زمان نمونه‌گیری ۲۴ ساعت مشاهده می‌شود که این اختلاف با گروهی که داروی تنها دریافت کردند با $P=0.013$ معنی‌دار است. چنان‌که در جدول ۱ نیز مشاهده می‌شود تیمار توام امواج فراصوتی و پروکاربازین بر قابلیت تکثیر اریتروسیتهای مغز استخوان تأثیر نداشته و آنالیز آماری انجام شده تفاوت معنی‌داری را بین این دو گروه و نوزدانی که داروی تنها دریافت داشته‌اند نشان نمی‌دهد.



نمودار ۳: نمودار فراوانی میکرونوکلی در سلولهای مغز استخوان نوزدان موش صحرایی، ۲۴ ساعت پس از تیمار با پروکاربازین (۸۰ mg/kg) و تابش امواج فراصوتی با توانهای ۰.۵، ۱ و ۲ وات بر سانتی‌متر مربع (هر یک از اعداد میانگین حاصل از ۳ نمونه است)

بحث

سنجش میکرونوکلی روشی کارآمد و مطمئن برای بررسی اثر کلاستوزنیک عوامل فیزیکی و شیمیایی است و تشکیل آن مستلزم ایجاد آسیب در مولکول DNA و در نهایت کروموزوم است. همان‌گونه که در نمودار ۱ نشان داده شد، پس از تابش امواج فراصوتی پیوسته به سلولهای مغز استخوان تغییری در فراوانی میکرونوکلی نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد. این نکته تأکید کننده گزارشهای متعددی است که در مورد قابلیت ایجاد آسیب کروموزومی و جهش‌زایی امواج فراصوتی وجود دارد. اگرچه گزارشهای اولیه ایجاد تیادل کروماتیدهای خواهری (SCE) را نشان داده‌اند (۲۲، ۲۳) اما این یافته‌ها با تحقیقات دیگر دانشمندان تأیید نشد (۲۴، ۲۵). همچنین گزارشهای متعددی در مورد عدم ایجاد شکستهای کروموزومی در لنفوسیت‌های انسان در شرایط

Tada و همکارانش (۴۷) نشان دادند که میزان جذب داروهای شیمی‌درمانی دوکسوروبین^۱ و دانوروبین^۲ به سهیل عمل جذب غشا توسط امواج فراصوتی بستگی دارد.

از طرف دیگر؛ نشان داده شد که امواج فراصوتی حتی در سطوح تشخیصی تولید رادیکالهای آزاد را تحریک می‌کند (۴۸). فعالیت بسیاری از داروهای شیمی‌درمانی از جمله آدریامایسین به تولید رادیکال آزاد منتسب شده است (۵). بنابراین مشاهده افزایش اثر کلاستوزینیک پروکاربازین هیدروکلراید پس از تابش امواج فراصوتی می‌تواند ناشی از ایجاد رادیکال آزاد باشد که در نتیجه تجمع مولکولهای بیشتر دارو و اثر تحریکی آن تولید می‌شوند.

نتایج این پژوهش نشان‌دهنده آن است که داروی پروکاربازین هیدروکلراید عاملی کلاستوزن است که در دوزهای بالا موجب سمیت سلولهای مغز استخوان می‌شود. توانهای مورد استفاده امواج فراصوتی در این بررسی قادر به ایجاد شکستهای کروموزومی و میکرونوکلی نیستند. استفاده توأم امواج فراصوتی و پروکاربازین سبب افزایش اثر کلاستوزینیک دارو می‌شود بدون آن که در سمیت سلولی تغییری ایجاد نماید.

مستقیم پروکاربازین بر مولکول DNA فرآیند غالبی است که در نتیجه ایجاد رادیکالهای آزاد صورت می‌گیرد. بنابراین عوامل کلاستوزن دیگر از جمله بلتومایسین سولفات موجب ایجاد میکرونوکلی می‌شود (۳۹). تیمار همزمان پروکاربازین هیدروکلراید و امواج فراصوتی سبب افزایش فراوانی میکرونوکلی نسبت به تیمار با داروی تنها شده است. (جدول ۱، نمودار ۳) که این تفاوت از نظر آماری در سطح بالایی (P=0.013) معنی‌دار است. مکانیزم چگونگی تأثیر امواج فراصوتی در محیط سلولی با سطح تابش مورد استفاده در این بررسی کاملاً مشخص نیست؛ زیرا تغییر دمای ایجاد شده در محیط بسیار جزئی و اقلای حفره‌سازی از احتمال کمتری برخوردار است. اغلب نتایج منتشر شده در مورد امواج فراصوتی پیوسته (۴۱) با یکدیگر تناقض دارند. تصور می‌شود که یکی از نقاط تأثیرپذیر سلول، غشای پلاسمایی آن باشد (۴۲). در بررسیهای انجام شده با امواج فراصوتی همراه با شیمی‌درمانی نشان داده شد که امواج فراصوتی خلقت دارویی درون سلولی را افزایش می‌دهد (۴۳، ۴۴) که نشان‌دهنده آن است امواج فراصوتی بر غشای سلول و عملکرد آن تأثیر می‌گذارد (۴۵، ۱۱). Ter Haar و همکاران (۴۶) اثر هم‌افزایی برخی از داروهای شیمی‌درمانی با امواج فراصوتی را به تأثیرپذیری غشای سلول از امواج فراصوتی نسبت دادند، همچنین

References

- Todd P, Schroy CB: X-ray interaction of cultured mammalian cells: enhancement by ultrasound. *Radiology* 1974; 113: 445-447
- Harkanyiz J, Vigari Z: A search for the effect of ultrasound alone and in combination with x-rays on chromosomes in vivo. *Br J Radiol* 1978; 51: 46-49
- Kondo T, Kano E: Absence of synergistic enhancement of nonthermal effects of ultrasound on cell killing induced by ionizing radiation. *Int J Radiat Biol* 1987; 52: 627-633
- Loverock P, Ter Haar G: Synergism between hyperthermia, ultrasound and γ -irradiation. *Ultrason Med Biol*, 1991; 17: 607-612
- Harrison GH, Balcer - Kubiczek EK, Gutierrez PL: In vitro action of continuous wave ultrasound combined with adriamycin, X-rays and hyperthermia. *Radiat Res* 1996; 145: 98-101
- Vera GV, Aleksandra F, Dragan K, Andrija H: Assessment of genome damage in occupational exposure to ionizing radiation and ultrasound. *Mutation Res* 1997; 395: 101-105
- Ter Haar G, Stratford IJ, Hill CR: Ultrasonic irradiation of mammalian cells in vitro hyperthermic temperatures. *Br J Radiol* 1980; 53: 784-789
- Inoue M, Miller MW, Church CC: An alternative explanation for a postulated non-thermal-non cavitationultrasound mechanism of action on in vitro cells at hyperthermic temperature. *Ultrasonics* 1990; 28: 185-189
- Yomita N, Okumura A, Nishigaki R, Umemura K, Umemura S: The combination treatment of ultrasound and anticancer drugs on Yoshida sarcoma. *Jpn J Hyperthermic Oncol* 1987; 3: 175-182
- Jelfurs RJ, Feng RQ, Fowler JB, Boenner DE, Cain CA: Sonodynamic therapy: activation of anticancer agents with ultrasound. *Proc IEEE/SU/993. Ultrason Symp*, 1991, 1367-1370
- Harrison GH, Balcer-kubiczek EK, Eddy HA: Potentiation of chemotherapy by low level ultrasound. *Int J Radiat Biol* 1991; 59: 1453-1466
- Saad AH, Hahn GM: Ultrasound - enhanced effects of adriamycin against murine tumours. *Ultrason Med Biol* 1992; 8: 715-723
- Umemura S, Yumita N, Nishigaki R: Enhancement of ultrasonically induced cell damage by a Gallium - Porphyrin Complex Atx-70. *Jpn J Cancer Res* 1993; 84: 582-588
- Kessel D, Jeffers R, Fowlkes, JB, Cain CA: Porphyrin induced enhancement of ultrasound cytotoxicity. *Int J Radiat Biol* 1994; 66: 221-228

- Doxorubicin
- Daunorubicin

15. Yumita N, Nishigaki R, Umemura K, Morse PP, Swartz HM, Cain CA, Umemura S: Sonochemical activation of hematoporphyrin: an ESR study. *Radiation Res* 1994; 138: 171-176
16. Akimoto R: An experimental study on enhancement of the effect of anticancer drug by ultrasound. *J Jpn Soci Cancer Therpy* 1985; 20: 562-570
17. Loverock P, Ter Haar G, Ormerod MG, Imrie PR: The effect of ultrasound on the cytotoxicity of adriamycin. *Br J Radiol* 1990; 63: 542-546
18. Vivino A, Soraker DK, Miller DL, Nyborg WL: Stable cavitation at low ultrasonic intensities induces cell death and inhibits 3H-TdR incorporation by con-A-stimulated murine lymphocytes in vitro. *Ultrasound in Med Biol* 1985; 11: 751-759
19. Matter B, Schmid W: Trenimon induced chromosomal damage in bone marrow cells of six mammalian species evaluated by the micronucleus test. *Mutation Res* 1971; 12: 417-425
20. Von Ledebur M, Schmid W: The micronucleus test. *Methodological aspects. Mutation Res* 1973; 19: 109-117
21. Schmid W: The micronucleus test. *Mutation Res* 1975; 31: 9-15
22. Liebeskind D, Bases R, Mendez F: Sister chromatid exchanges in human lymphocytes after exposure to diagnostic ultrasound. *Science* 1979; 205: 1273-1275
23. Goss SA: Report of the bioeffects committee of the American Institute of ultrasound in medicine; sister chromatid exchange and ultrasound. *J Ultrasound Med* 1984; 3: 463-470
24. Ciaravino V, Miller MW, Carstensen EL, Dealecki D: Lack of effect of high intensity pulsed ultrasound on sister chromatid exchange and in vitro Chinese hamster ovary cell viability. *Ultrasound Med Biol* 1985; 11: 491-495
25. Miller MW, Azadniv M, Pettit SE, Church CC, Carstensen EL: Sister chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells exposed to high intensity pulsed ultrasound: Inability to confirm previous positive results. *Ultrasound Med Biol* 1989; 15: 255-262
26. Abdulla U, Talbert D, Lucas M, Mullarkey M: Effect of ultrasound on chromosomes of lymphocyte cultures. *Br Med J* 1972; 3: 797-799
27. Brock RD, Peacock WJ, Geard CR: Ultrasound and chromosome aberrations. *Med J Aust* 1973; 2: 533-536
28. Rott HD, Soldner R: The effect of ultrasound on human chromosome in vitro. *Human Genetics*, 1973; 20: 103-112
29. Macintosh IJC, Brown RC, Coakley WT: Ultrasound and in vitro chromosome aberrations. *Br J Radiol* 1975; 48: 230-232
30. Harrison GH, Balcer-Kubiczek EK: Continuous - wave ultrasound and neoplastic trasformation in vitro. *Ultrasound Med Biol* 1989; 15: 339-340
31. Ritenour ER, Braaton M, Harrison GH, Ueno A, Gadd M, Manco-Johnson M, Parker R, Shih S, Waldren CA: Absence of mutagenic effects of continuous and pulsed ultrasound in cultured (A2) human - hamster hybrid cells. *Ultrasound Med Biol* 1991; 17: 921-930
32. Miller MW, Kaufman GE, Carstensen EL: Chromosomal anomalies can not account for growth rate reduction in ultrasonicated vicia faba root meristems. *Radiat Botany* 1975; 15: 431-437
33. Cataldo FL, Miller MW, Kaufman GE: Agglomerated nuclei in ultrasonicated vicia faba roots: a partial elucidation of their derivation. *Environ Exp Botany* 1976; 16: 89-91
34. Katzung NC: *Basic and clinical pharmacology*; Lange Medical publication; Los Altos, California, 1984
35. Romagna F, Matsumura H, Watanabe M, Kato T, Shirasu Y, Ohmori K, Yamada H, Sasaki YF: Micronucleus evalation in peripheral blood reticulocytes of mice treated with procarbazine hydrochloride or mitomycin C. *Mutation Research* 1992; 278: 197-204
36. Harvey SC: *Antineoplastic and immunoactive drugs*. In: *Remington's pharmaceutical sciences*. Mack publishing company, Euston, Pennsylvania, 1990
37. Dowd AL: *Physicians Desk Reference (PDR)*. 47th Medical Economic Data, Montwale, NJ, 1993
38. Mac Gregor JT, Wehr CM, Gould DH: Clastogen induced micronuclei in peripheral blood erythrocytes. *Environ Mutagen* 1980; 2: 509-514
39. Miller K: Clastogenic effects of bleomycin, cyclophosphamide and ethyl methanesulfonate on resting and proliferating human B-and T-lymphocytes. *Mutation Research* 1991; 251: 241-251
40. Erexon GL, Bryant MF, Kwanyuen P, Kligerman AD: Bleomycin sulfate induced micronuclei in human, rat, and mouse peripheral blood lymphocytes. *Environ Mol Mutagen* 1995; 25: 31-36
41. National Council on Radiation Protection and measurements, *Biological effects of ultrasound: mechanisms and clinical implications*. NCRP report 74, Bethesda MD, 1983
42. Dinno MA, Dyson M, Young SR, Mortimer AJ, Hart

J, Crum LA: The significance of membrane changes in the safe and effective use of therapeutic and diagnostic ultrasound. *Physics medicine and Biology* 1989; 34: 1541-1552

43. Saad AH, Hahn GM: Ultrasound enhanced toxicity on Chinese hamster ovary cells in vitro. *Cancer Research* 1989; 49: 5931-5934

44. Kremkau FW, Kaufmann JS, Walker MM, Burch PG, Spurr CL: Ultrasonic enhancement of nitrogen mustard cytotoxicity in mouse leukemia. *Cancer* 1976; 37: 1643-1647

45. Fahnestock M, Rimer VG, Yamawaki RM, Ross P, Edmonds PD: Effects of ultrasound exposure in vitro on neuroblastoma cell membranes. *Ultrasound Med*

Biol 1989; 15: 133-144

46. Ter Haar G, Loverock HP, Hill RC: Synergistic effects between ultrasound and some common chemotherapeutic agents. *Ultrasonics* 1992; 30: 115-116

47. Tada DB, Hahn G, Dunn F: Ultrasonic absorption frequency dependence of two widely used anticancer drugs: doxorubicin and daunorubicin. *Ultrasonics* 1993; 31: 447-450

48. Carmichael AJ, Mossoba MM, Riesz P, Christman CL: Free radical production in aqueous solution exposed to stimulated ultrasonic diagnostic conditions. *IEEE Transactions on ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 1986; 33: 148-155

