

اثر تابش امواج فراصدايي ۳ مگاهرتز روی رده ياخته رتينوبلاستوما

سميه مرادی^۱، منيژه مختاری ديزجی^{۱*}، فريبا قاسمی^۲، شهاب شيبانی^۳، فهيمه اسدی آملی^۴

۱. فيزيک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربيت مدرس

۲. مرکز تحقيقات چشم بيمارستان فارابی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳. پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای

۴. مرکز تحقيقات چشم بيمارستان فارابی، گروه پاتولوژی دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

هايپرترمی با استفاده از امواج فراصدا، روش جديد برای درمان تومورهای سرطانی است. رتينوبلاستوما یکی از رایج‌ترین تومورهای بدخيم چشمی در کودکان است. با توجه به آنکه هايپرترمی در ياخته‌های سرطانی یک درمان مؤثر است، در این مطالعه اثر هايپرترمی بر ياخته‌های رتينوبلاستوما مورد بررسی قرار گرفت. هدف از این مطالعه، تأثیر مدت زمان هايپرترمی با امواج فراصداي ۳ مگاهرتز بر میزان مرگ ياخته‌ای وای ۷۹ پس از ۴۸ ساعت با استفاده از آزمون إم‌تی‌تی می‌باشد. در این پژوهش، درصد زنده ماندن ياخته‌ها پس از ۴۸ ساعت در گروه‌های درمان با مدت زمان هايپرترمی بیش‌تر از ۴ دقیقه نسبت به گروه شاهد (کنترل) اختلاف معنی‌داری داشت و در گروه درمان با مدت زمان هايپرترمی ۹ دقیقه، ۵۰ درصد ياخته‌ها و با مدت هايپرترمی ۱۱ دقیقه ۶۹ درصد ياخته‌ها از بین رفتند. از این‌رو می‌توان به این نتیجه رسید که هايپرترمی با استفاده از امواج فراصدا می‌تواند یک گزینه درمانی امیدوارکننده باشد.

کلیدواژه‌ها: امواج فراصدا، ياخته رتينوبلاستوما وای ۷۹، هايپرترمی، آزمون إم‌تی‌تی، مرگ ياخته‌ای.

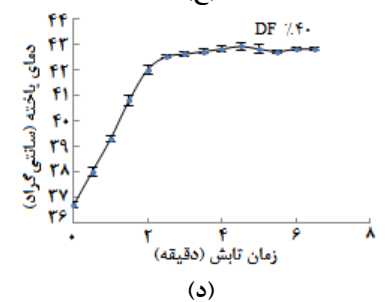
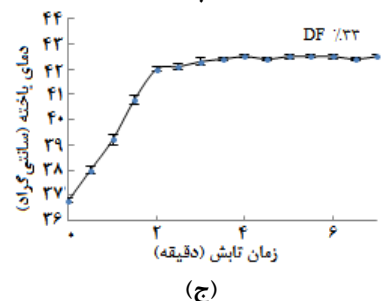
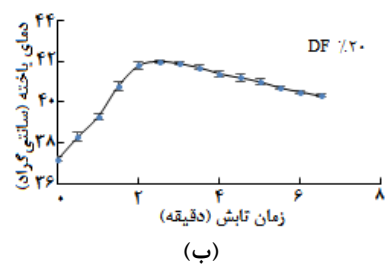
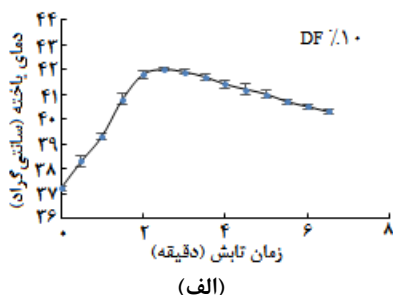
۱. مقدمه

بين رفتن تعدادی از ياخته‌ها می‌گردد. در این مطالعه نتایج حاصله از اثر حرارتی امواج فراصداي ۳ مگاهرتز بر روی ياخته‌ها مورد بحث و بررسی قرار گرفته است. به همین دلیل برای آنکه فقط تأثیر حرارتی تابش امواج بر روی ياخته‌ها لحاظ شود و اثر غيرحرارتی حذف شود، باید شرایط تابش امواج به‌گونه‌ای باشند که شاخص مکانیکی کوچک‌تر از آستانه‌ی حفره‌سازی باشد. با توجه به مطالعات برای حذف اثر حفره‌سازی بایستی که شاخص مکانیکی در ياخته و یا بافت کم‌تر از ۰٫۲ باشد ($MI < 0.2$) [۱۰]. هدف از این مطالعه، تعیین پروتکل تابش امواج فراصداي ۳ مگاهرتز برای ایجاد هايپرترمی در ياخته‌های سرطانی و تأثیر مدت زمان هايپرترمی با امواج فراصدا بر میزان مرگ ياخته‌ای می‌باشد. با تابش امواج فراصدا مقداری از انرژی امواج جذب ياخته‌ها شود و به حرارت تبدیل شود. حرارت ناشی از امواج فراصدا با بسامد ۳ مگاهرتز بر روی ياخته‌ها در محدوده دمای هايپرترمی (۴۲ تا ۴۶ درجه سانتی‌گراد)، می‌تواند بسته به درجه حرارت و طول مدت زمان اعمال هايپرترمی موجب تخریب ياخته‌ها

رتينوبلاستوما از شایع‌ترین تومورهای چشمی بدخيم در کودکان است [۱-۲]. درمان رتينوبلاستوما شامل ليزر درمانی، کرایوتراپی، هايپرترمی، شیمی‌درمانی داخل سامان‌مند، جراحی، پرتودرمانی و شیمی‌درمانی داخل شریانی است [۳-۵]. هايپرترمی با استفاده از امواج فراصدايی، یک روش جديد برای درمان تومورهای سرطانی است. علت استفاده از امواج فراصدا در هايپرترمی، توانایی عبور از بافت و کانونی‌کردن آن در موضع موردنظر می‌باشد. لذا درمان به این شیوه غيرتهاجمی است و معمولاً به دلیل امکان کانونی‌کردن امواج فراصدا روی پوست تحت تابش و بافت‌های میانی ديگر تخریب کمی ایجاد می‌شود [۶-۷]. به‌طور کلی تابش امواج فراصدا بر روی ياخته‌ها موجب دو اثر حرارتی (ایجاد هايپرترمی) و غير حرارتی (اثر حفره‌سازی) می‌شود [۸-۹] و باعث از

* نویسنده پاسخگو: mokhtarm@modares.ac.ir

است. پس از آنکه دما به دمای هایپرترمی رسید مُد تابش به حالت تپی (پالسی) با بهره‌ی ۱۰، ۲۰، ۳۳ و ۴۰ درصد قرار داده شد تا در این دمای هایپرترمی، دما ثابت بماند. این آزمایش‌ها نیز سه بار تکرار شد، سپس نمودارهای حاصله از دمای ثبت‌شده‌ی یاخته تابش دیده با امواج فراصدا در داخل صفحه یاخته‌ای برحسب زمان تابش امواج فراصدا رسم گردید (شکل‌های ۲ الف-د).



شکل ۲ تغییرات دمایی ثبت‌شده‌ی یاخته تابش‌دیده با امواج فراصدا در داخل صفحه یاخته‌ای برحسب زمان تابش امواج فراصدا؛ در تمامی نمونه‌ها ابتدا ۲ دقیقه تحت تابش پیوسته ۳ مگاهرتز برای رسیدن به دمای هایپرترمی ۴۲ درجه سلسیوس قرار داشتند؛ (الف) در مُد تپی (پالسی) با بهره ۱۰ درصد، (ب) مُد تپی با بهره ۲۰ درصد، (ج) مُد تپی با بهره ۳۳ درصد و (د) مُد پالسی با بهره ۴۰ درصد.

شوند [۱۱-۱۲]. جذب امواج فراصدا موجب تبدیل انرژی فراصدا در بافت‌های بیولوژیکی و یاخته‌ها به حرارت می‌شود [۱۳]. هایپرترمی در سطح بی‌شماری از یاخته‌ها و بافت‌ها به‌طور مستقیم منجر به تغییر خواص فیزیکی اجزای یاخته‌ای می‌شود، از جمله اثرات هایپرترمی آسیب به غشاء و پروتئین یاخته و ساختارهای هسته‌ای و دی‌ان‌ای، تداخل در چرخه یاخته‌ای، تداخل در سنتز پروتئین و دی‌ان‌ای می‌باشد که منجر به مرگ یاخته‌ای می‌شود [۱۴-۱۵]. در این مطالعه تأثیر هایپرترمی توسط امواج فراصدا بر درصد مرگ یاخته‌ای تومور رتینوبلاستوما (وای ۷۹) پس از ۴۸ ساعت با استفاده از آزمون اِم‌تی‌تی مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱ پروتکل تابش

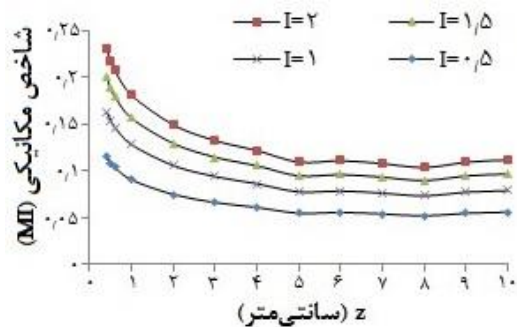
برای اعمال هایپرترمی از طریق تابش امواج فراصدا بر روی رده یاخته‌ای وای ۷۹ نیاز است که در ابتدا پروتکل تابش امواج فراصدا استخراج و کنترل دما در یاخته‌های تحت هایپرترمی امواج فراصدا انجام شود. جهت استخراج پروتکل تابش امواج فراصدا، صفحه ۳۵ میلی‌متری یاخته، که حاوی محیط کشت یاخته‌ای بود، در فاصله‌ی ۱ سانتی‌متری پروب فراصدا قرار گرفت و فاصله‌ی مابین آن‌ها از ژل پر شد. چیدمان تابش صفحه یاخته‌ای توسط امواج فراصدا در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱ چیدمان تابش صفحه یاخته‌ای توسط امواج فراصدا.

سپس این چیدمان آزمایش، درحالی‌که در داخل انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سلسیوس قرار دارد تحت تابش امواج فراصدا با مُد پیوسته قرار می‌گیرد تا به دمای هایپرترمی (۴۲ درجه‌ی سلسیوس) برسد، این آزمایش سه بار تکرار شد و مشخص شد که برای رسیدن به دمای هایپرترمی مدت زمانی که باید تابش امواج در مُد پیوسته باشد ۲ دقیقه

آزمایش‌های هایپرترمی تحت تابش امواج فراصدا در آن انجام شود، دارای مقدار شاخص مکانیکی 0.128 می‌باشد که در شرط عدم ایجاد حفره‌سازی صدق می‌کند. زیرا با توجه به مطالعات برای حذف اثر حفره‌سازی بایستی که شرط $(MI < 0.2)$ برقرار باشد [۱۰].

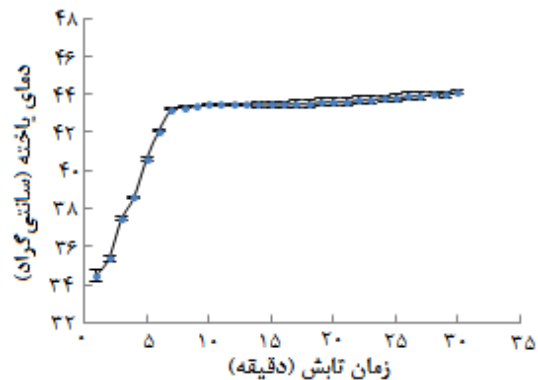


شکل ۴ مقدار ام‌آی در فاصله ۱۰ سانتی‌متری از پروب در فواصل 0.4 تا 1.5 سانتی‌متری مولد فراصدا ۳ مگاهرتز در شدت‌های 0.5 ، 1 ، 1.5 و 2 وات بر سانتی‌متر مربع برای محیط کشت یاخته.

– رده یاخته‌ای و شرایط کشت و تکثیر آن: ابتدا رده یاخته‌ای رتینوبلاستوما (وای ۷۹) از انستیتو پاستور تهران تهیه و سپس در محیط کشت آرپی‌ام‌آی 1640^2 همراه با 10% درصد سرم گاوی اف‌بی‌اس و 1% درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین-استرپتومایسین در فلاسک استریل کشت داده شد و در انکوباتور با دمای 37 درجه سلسیوس و محیط دی‌اکسید کربن 5% درصد انکوبه شد. پس از گذشت دو تا سه روز یاخته‌ها را پاساژ داده و محیط کشت رویی یاخته‌ها را خارج کرده و یاخته‌های رسوب کرده در داخل محیط کشت جدید داخل فلاسک اضافه گردیدند. تمامی این مراحل در شرایط استریل و زیر هود انجام گردید.

– تابش امواج فراصدا: یاخته‌های وای ۷۹ در محیط کشت یاخته‌ای آرپی‌ام‌آی 1640^2 به همراه 10% درصد سرم جنین گاوی و 1% درصد آنتی‌بیوتیک در دمای 37 درجه سلسیوس در داخل صفحه یاخته‌ای 35 میلی‌متری در فاصله 1 سانتی‌متری از پروب فراصدا^۳ با سطح مقطع مؤثر 5 سانتی‌متر مربع، ابتدا تحت تابش امواج فراصدايي ۳ مگاهرتز و شدت 1 وات بر سانتی‌متر مربع با مد پیوسته به

در نتیجه، با توجه به الگوی افزایش دمای به‌دست‌آمده از این مطالعه برای رسیدن دمای یاخته‌های رتینوبلاستوما به دمای هایپرترمی، تابش امواج فراصدايي ۳ مگاهرتز با مد پیوسته به مدت 2 دقیقه مناسب است و با توجه به شکل‌ها برای ثابت ماندن دمای هایپرترمی، تابش امواج فراصدايي ۳ مگاهرتز مد تپی با بهره 40% درصد مناسب می‌باشد. در نتیجه شکل نهایی پروتکل منتخب هایپرترمی یاخته وای ۷۹ از طریق تابش امواج فراصدايي ۳ مگاهرتز در فاصله 1 سانتی‌متری از پروب با شعاع سطح مؤثر تابش 1.26 سانتی‌متر و شدت 1 وات بر سانتی‌متر مربع به صورت ذیل به‌دست آمد (شکل ۳).



شکل ۳ شکلی نهایی نمودار دمای یاخته بر حسب زمان تابش امواج فراصدا در پروتکل منتخب هایپرترمی یاخته وای ۷۹ از طریق تابش امواج فراصدا. امواج فراصدايي ۳ مگاهرتز در فاصله 1 سانتی‌متری از پروب با شعاع مؤثر تابش 1.26 سانتی‌متر و شدت 1 وات بر سانتی‌متر مربع.

در ضمن، برای آنکه فقط اثر حرارتی تابش امواج در یاخته مورد بررسی قرار گیرد و اثر غیر حرارتی آن حذف شود از برنامه‌ی الگوسازی شاخص مکانیکی برگرفته از مطالعه‌ی خانم هرمزی و همکاران [۱۶] استفاده شد. مقدار شاخص مکانیکی (ام‌آی)^۱ در شدت‌های 0.5 ، 1 ، 1.5 و 2 وات بر سانتی‌متر مربع، در فاصله 0.4 تا 1.5 سانتی‌متری پروب فراصدا در داخل محیط یاخته‌ای محاسبه گردید (شکل ۴). هم‌چنین مشخص گردید صفحه یاخته‌ای که در فاصله 1 سانتی‌متری از سطح پروب با شدت 1 وات بر سانتی‌متر مربع و بسامد ۳ مگاهرتز قرار دارد تا

² RPMI 1640

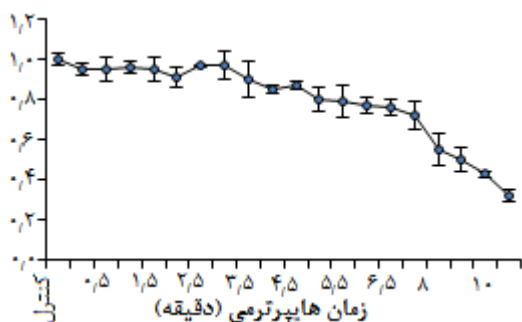
³ Physiomed, Physioson-Expert ultrasound therapy unit

¹ MI

وان وی آنووا^۴ و آزمون پست هووک^۵ برای تجزيه و تحليل داده‌ها استفاده شد و $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

۳. نتايج

درصد زنده ماندن ياخته‌ها، ۴۸ ساعت پس از انجام هايپرترمی با دستگاه فراصدا از طريق آزمون ام‌تی‌تی ارزیابی شد. نمودار درصد ياخته‌های زنده در ۲۰ گروه مورد مطالعه نسبت به گروه شاهد (کنترل) (بدون تابش) برحسب زمان اعمال هايپرترمی در شکل ۵ رسم شده است. همان‌طور که شکل ۵ نشان می‌دهد، به‌طور کلی با افزایش زمان تابش، میزان مرگ ياخته‌ای بیش‌تر می‌شود. براساس یافته‌های به‌دست آمده، درصد زنده ماندن ياخته‌ها در گروه‌های درمان با مدت زمان هايپرترمی بیش‌تر از ۴ دقیقه اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد (کنترل) (بدون تابش) پس از ۴۸ ساعت وجود دارد ($P < 0.05$)، در صورتی که در گروه‌های درمان با مدت زمان هايپرترمی کم‌تر از ۴ دقیقه این اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد ($P > 0.05$). هم‌چنین در گروه درمان با مدت زمان تابش ۹ دقیقه، شاهد مرگ ۵۰ درصدی و در گروه درمان با مدت زمان تابش ۱۱ دقیقه تقریباً مرگ ۶۹ درصدی ياخته‌ها حاصل شد.



شکل ۵ درصد ياخته‌های زنده وای ۷۹ برحسب زمان هايپرترمی پس از ۴۸ ساعت با استفاده از آزمون ام‌تی‌تی.

به‌طور کلی براساس یافته‌های مستخرج از تحليل آماری، با افزایش زمان تابش امواج فراصدا در هايپرترمی

مدت ۲ دقیقه برای رسیدن به دمای هايپرترمی قرار گرفتند. سپس برای تثبيت دمای هايپرترمی، مُد پیوسته تبدیل به مُد تپی (پالسی) با بهره ۴۰ درصد شد. برای اعمال هايپرترمی امواج فراصدا، ياخته‌ها تحت تابش امواج فراصدا با مُد تپی با بهره ۴۰ درصد قرار گرفتند. به‌طور کلی در این پژوهش ۲۰ گروه مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند که شامل ۱ گروه شاهد (کنترل) و ۱ گروه ششم و ۱۸ گروه درمان می‌باشند که گروه‌های درمان برحسب مدت زمان‌های مختلف هايپرترمی (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵، ۴، ۴/۵، ۵، ۵/۵، ۶، ۶/۵، ۷، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱ دقیقه) گروه‌بندی شده‌اند.

- سنجش رنگ‌سنجی آزمون ام‌تی‌تی: درصد ياخته‌های زنده در نمونه‌ها به روش ام‌تی‌تی پس از ۴۸ ساعت مورد سنجش قرار گرفت. ابتدا، محلول ام‌تی‌تی با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از هر گروه مورد مطالعه به هر چاهک صفحه ۹۶ خانه اضافه گردید. به‌طوری‌که از هر گروه در ۴ چاهک از صفحه ۹۶ خانه تکرار شد. پس از سپری شدن ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، محلول رویی ياخته‌ها خارج شده و سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول دی‌ام‌اس^۱ به هر چاهک اضافه گردید. سپس به مدت ۱۵ دقیقه صفحه مربوطه روی دستگاه شیکر قرار داده شد و در انتها، رسوب ياخته‌ای حاصل در دی‌ام‌اس^۱ حل گردید و جذب نوری بلورهای فورمازان تشکیل‌شده توسط دستگاه سیتیشن ۵ سل ایمیجینگ مالتی-مُد ریدر^۲ در طول موج ۵۷۰ نانومتر با مرجع ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و درصد ياخته‌های زنده هر نمونه در مقایسه با گروه شاهد (کنترل) محاسبه گردید. تمامی مراحل آزمایش سه بار تکرار شد. درصد ياخته‌های زنده با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{میانگین جذب خوانده شده برای هر نمونه} \times 100 = \frac{\text{میانگین جذب خوانده شده نمونه کنترل}}{\text{مقدار درصد ياخته‌های زنده}}$$

نتايج به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار برای هر نمونه حاصل شدند. از نرم‌افزار ای‌پی‌ای‌اس^۳ بوسیله تحليل

¹ DMSO

² Cytation 5 Cell Imaging Multi-Mode Reader

³ SPSS 22

⁴ One way Anova

⁵ Post Hoc

به‌طور کلی، در این تحقیق با استفاده از نتایج حاصله از تعیین درصد ياخته‌های زنده بر روی رده ياخته‌ای رتینوبلاستوما پس از اعمال هايپرترمیای ناشی از امواج فراصدا می‌توان نشان داد که با افزایش زمان هايپرترمی درصد ياخته‌های زنده کاهش می‌یابد. این نتیجه با گزارشات آسیتو‌النجو و همکاران در سال ۲۰۱۴ [۱۷] مطابقت دارد که کاهش درصد ياخته‌های زنده را با افزایش زمان هايپرترمی نشان می‌دهد. به‌طور مثال، در مطالعه‌ی آسیتو‌النجو و همکاران در سال ۲۰۱۴ [۱۷]، آزمایش‌هایی که برای تعیین تأثیر هايپرترمی تحت دمای ۴۲ درجه سلسیوس بر روی ياخته‌های سرطان پستان (ام‌دی‌ای-ام‌بی ۲۳۱)^۱ انجام شد، نشان دادند که با مدت زمان‌های هايپرترمی ۱، ۲، ۳ و ۴ ساعت، تعداد ياخته‌های زنده با ارزیابی روش تریپان بلو به‌ترتیب برابر با تقریباً ۹۰ درصد، ۸۳ درصد، ۵۳ درصد و ۲۴ درصد می‌باشند. همچنین، در مطالعه‌ی دیگر که توسط شهباز احمد زکی و همکاران در سال ۲۰۱۸ انجام شد [۱۸]، ياخته‌های یو۹۳۷^۲ به مدت ۱۲ دقیقه در دمای ۴۴ درجه سلسیوس تحت حرارت و اعمال هايپرترمی از طریق حمام آب گرم قرار گرفتند و پس از ۶ ساعت و ۲۴ ساعت درصد ياخته‌های زنده با استفاده از آزمون تریپان بلو بررسی شدند. در این مطالعه مقدار درصد ياخته‌های زنده به‌ترتیب برابر با ۸۷ درصد و ۷۵ درصد به‌دست آمد که نشان می‌دهند برای بررسی نتایج پس از انجام آزمایش، هر چه زمان بیش‌تری از انجام آزمایش گذشته باشد مقدار درصد ياخته‌های زنده نسبت به شاهد (کنترل) کاهش بیش‌تری می‌یابد. البته با مقایسه مطالعات مختلف و این تحقیق، می‌توان نتیجه گرفت که مقدار درصد ياخته‌های زنده بسته به نوع تابش موردنظر برای اعمال هايپرترمی و مدت زمان هايپرترمی و زمان محاسبه درصد ياخته‌های زنده پس از انجام آزمایش‌ها و نوع رده ياخته‌ای موردنظر تفاوت دارد و تنها نکته مشترک در تمامی آزمایش‌ها این است که با افزایش زمان هايپرترمی در رده ياخته سرطانی درصد ياخته‌های زنده کاهش بیش‌تری می‌یابند.

ياخته‌های وای ۷۹، درصد مرگ ياخته‌ای نیز افزایش می‌یابد به‌طوری که در زمان‌های تابش بیش‌تر از ۴ دقیقه تمایز معنی‌دار بین گروه‌های تحت تابش و گروه شاهد (کنترل) ($P < 0.05$) و در زمان‌های تابش کم‌تر از ۴ دقیقه عدم تمایز معنی‌دار بین گروه‌های تحت تابش و گروه شاهد (کنترل) ($P > 0.05$) وجود دارد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

با استفاده از برنامه‌ی الگوسازی ذکر شده در منبع [۱۶]، مقدار میانگین شاخص مکانیکی محاسبه شد و مقدار میانگین شاخص مکانیکی در بسامد ۳ مگاهرتز و در فاصله‌ی ۱ سانتی‌متری از پروب فراصدا و در شدت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ وات بر سانتی‌مترمربع به ترتیب برابر با ۰/۰۹، ۰/۱۲۸، ۰/۱۵۶ و ۰/۱۸۱ به‌دست آمد و نشان داده شد که برای همه‌ی این شدت‌ها در فاصله ۱ سانتی‌متری پروب، مقدار شاخص مکانیکی کم‌تر از شرط عدم حفره‌سازی ($MI < 0.2$) است. همچنین در شدت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ وات بر سانتی‌مترمربع به‌ترتیب محدوده تغییرات شاخص مکانیکی برابر با ۰/۰۸-۰/۱۳، ۰/۱۲-۰/۱۹، ۰/۱۴-۰/۲۳ و ۰/۱۶-۰/۲۶ می‌باشند. یعنی مقدار تغییرات شاخص مکانیکی به‌ترتیب برابر با ۰/۰۷، ۰/۰۹ و ۰/۱ هستند. با توجه به آنکه تغییرات شاخص مکانیکی در شدت‌های ۱/۵ و ۲ وات بر سانتی‌مترمربع تقریباً دو برابر تغییرات شاخص مکانیکی در شدت ۰/۵ وات بر سانتی‌مترمربع می‌باشد، از شدت‌های ۱/۵ و ۲ وات بر سانتی‌مترمربع استفاده نشد. همچنین، با توجه به آنکه تغییرات شاخص مکانیکی در شدت‌های ۰/۵ و ۱ وات بر سانتی‌مترمربع به هم نزدیک است و با توجه به این نکته که در ۱۸ گروه موردنظر در این پژوهش بایستی تابش امواج فراصدا صورت می‌گرفت و در شدت ۰/۵ وات بر سانتی‌مترمربع برای هر گروه برای آنکه دما به دمای موردنظر هايپرترمی برسد، زمان تابش امواج فراصدا زیاد می‌شد و روی هم‌رفته برای انجام کل آزمایش‌ها بایستی که زمان زیادی برای تابش امواج فراصدا مصرف می‌شد، به همین جهت ترجیح داده شد که از شدت ۱ وات بر سانتی‌مترمربع در آزمایش‌ها استفاده شود.

^۱ MDA-MB 231

^۲ U937

- [9] Z. Izadifar, P. Babyn, D. Chapman, "Mechanical and biological effects of ultrasound: A review of present knowledge," *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 43, no. 6, pp. 1085–1104, 2017.
- [10] Z. Hlinomazova, I. Hrazdira, "Alara, principle and safety problems of diagnostic ultrasound," *Scripta Medica (BRNO)*, vol. 78, pp. 341-346, 2005.
- [11] G. Hegyi, G.P. Szigeti, A. Szász, "Hyperthermia versus oncothermia: Cellular effects in complementary cancer therapy," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2013, pp. 12-19, 2013.
- [12] Z.H. Behrouzki, Z. Joveini, B. Keshavarzi, N. Eyvazzadeh, R. Zohdi Aghdam, "Hyperthermia: how can it be used?," *Oman Medical Journal*, vol. 31, no. 2, pp. 89–97, 2016.
- [13] W.D. O'Brien Jr, "Ultrasound-biophysics mechanisms," *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, vol. 93, no. 1-3, pp. 212–255, 2007.
- [14] A.L. Oei, L.E.M. Vriend, J. Crezee, N.A.P. Franken, P.M. Krawczyk, "Effects of hyperthermia on DNA repair pathways: One treatment to inhibit them all," *Radiation Oncology*, vol. 10, pp. 165-169, 2015.
- [15] J.L. Roti, "Cellular responses to hyperthermia (40–46 degrees C): Cell killing and molecular events," *International Journal of Hyperthermia*, vol. 24, pp. 3–15, 2008.
- [16] Z. Hormozi Moghaddam, M. Mokhtari-Dizaji, M. Movahedin, M.E. Ravari, "Estimation of the distribution of low-intensity ultrasound mechanical index as a parameter affecting the proliferation of spermatogoniastemcells in vitro," *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 37, pp. 571-581, 2017.
- [17] A. Elengoe, S. Hamdan, "Evaluation of hyperthermia effect on cell viability using crystal violet staining, Idh and trypan blue assays," *Advances in Environmental Biology*, vol. 8, no. 3, pp. 744-747, 2014.
- [18] S.A. Zakki, Z-G. Cui, L. Sun, Q-W. Feng, M-L. Li, H. Inadera, "Baicalin augments hyperthermia-induced apoptosis in U937 cells and modulates the MAPK pathway via ros generation," *Cell PhysiolBiochem*, vol. 45, pp. 2444-2460, 2018.
- با توجه به اثبات تأثیر امواج فراصدايي ۳ مگاهرتز بر رده ياخته سرطاني وای ۷۹ در اين پژوهش و اثبات کاهش درصد ياخته‌هاي زنده سرطان رتينوبلاستوما با استفاده از هايپرترمي ناشی از تابش امواج فراصدا، می‌توان پيشنهادهاد که از روش درمان هايپرترمي ناشی از تابش امواج فراصدا در روند درمان تومور چشمی رتينوبلاستوما در شرايط درون‌تني نیز استفاده شود.

فهرست منابع

- [1] B.V. Castillo, L. Kaufman, "Pediatric tumors of the eye and orbit," *Pediatric Clinics*, vol. 50, pp. 149-172, 2003.
- [2] H. Demirci, N. Slimani, M. Pawar, R.E. Kumon, P. Vaishnava, C.G. Besirli, "Magnetic hyperthermia in Y79 retinoblastoma and ARPE-19 retinal epithelial cells: Tumor selective apoptotic activity of iron oxide nanoparticle," *Translational Vision Science & Technology*, vol. 8, no. 5, pp. 1-12, 2019.
- [3] S. Thampi, S.W. Hetts, D.L. Cooke, P.J. Stewart, E. Robbins, A. Banerjee, S.G. Dubois, D. Char, V. Halbach, K. Matthay, "Superselective intra-arterial melphalan therapy for newly diagnosed and refractory retinoblastoma: Results from a single institution," *Clinical Ophthalmology*, vol. 7, pp. 981-989, 2013.
- [4] W. Qu, B. Meng, Y. Yu, S. Wang, "Flic acid conjugated mesoporous silica nanoparticles for enhanced therapeutic efficacy of topotecan in retina cancers," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 18, pp. 4379-4389, 2018.
- [5] H. Demirci, C.L. Shields, A.R. Meadows, J.A. Shields, "Long term visual outcome flowing chemoreduction for retinoblastoma," *Arch Ophthalmol*, vol. 123, pp.1525-1530, 2005.
- [6] C.A. Speed, "Therapeutic ultrasound in soft tissue lesions," *Rheumatology*, vol. 40, pp. 1331-1336, 2001.
- [7] G. Malietzis, L. Monzon, J. Hand, H. Wasan, E. Leen, M. Abel, A. Muhammad, P. Price, P. Abel, "High-intensity focused ultrasound: Advances in technology and experimental trials support enhanced utility of focoused ultrasound surgery in oncology," *The British Journal of Radiology*, vol. 86, pp. 1-12, 2013.
- [8] J. Tang, C.H. Guha, W.A. Tome, "Biological effects induced by non-thermal ultrasound and implications for cancer therapy: A review of the current literature," *Technology in Cancer Research and Treatment*, vol. 14, no. 2, pp. 221-235, 2015.

(Research Article)

Effect of 3 MHz ultrasound radiation on retinoblastoma cell line

S. Moradi¹, M. Mokhtari-Dizaj^{*1}, F. Ghassemi², S. Sheibani³, F. Asadi Amoli⁴

1. Department of Medical Physics, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2. Eye Research Center, Farabi Eye Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. Radiation Application Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran

4. Department of Pathology, Eye Research Center, Farabi Eye Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Ultrasound hyperthermia is a new way to treat cancerous tumors. Retinoblastoma is one of the most common malignant ocular tumors in children. Since hyperthermia is an effective treatment for cancer cells, the effect of hyperthermia on retinoblastoma cells was investigated in this study. The purpose of this study was to determine the effect of duration of 3 MHz ultrasound hyperthermia on Y79 cell death after 48 hours using MTT assay. In this study, the percentage of cell viability after 48 hours in treatment groups with a duration of hyperthermia more than 4 minutes was significantly different from the control group and in the treatment group with hyperthermia time of 9 minutes and 11 minutes, 50% and 69% of cells were killed, respectively. Therefore, it can be concluded that ultrasound hyperthermia may be a promising therapeutic option.

Keywords: Ultrasound waves, Retinoblastoma cell, Y79, Hyperthermia, MTT test, Cell death.

pp. 1-6 (In Persian)

* Corresponding author E-mail: mokhtarm@modares.ac.ir