

اثر توام امواج ریز موج و داروی سیس پلاتین بر روی کارسینومای تخمدان

ناهید چگنی^۱، مریم طهماسبی بیرگانی^۲، منصور طیبی خرمی^{۳*}، امیر دانیایی^۴، رضا فردید^۵

- ۱- گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
- ۲- گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
- ۳- گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
- ۴- گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
- ۵- گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

* tayebi.khorami.mansour@gmail.com

ارسال: تیر ماه ۹۹ پذیرش: مرداد ماه ۹۹

چکیده

سیس پلاتین بعنوان یکی از موثرترین داروهای ضد سرطان شناخته شده است. اگر چه اثرات خوبی در درمان سرطانهایی همچون سرطان تخمدان، مثانه، سر و گردن نشان می دهد، اما مقاومت اکتسابی در برابر دارو مهمترین مانع بالینی است. درمان ترکیبی یکی از روشهای افزایشی اثربخشی شیمی درمانی است. مطالعات اخیر نشان داده است که امواج ریزموج سبب مهار رشد سلولهای سرطانی می شود. بر همین اساس این مطالعه به بررسی اثر ترکیبی سیس پلاتین و امواج غیر یونیزان بر سلولهای کارسینومای تخمدان پرداخته است. در ابتدا یک آنکوباتور CO₂ با دیواره غیر فلزی برای تابش امواج غیر یونیزان به سلولها طراحی شد. سپس سلولهای کارسینومای تخمدان رده حساس و مقاوم به سیس پلاتین (A2780, A2780CP) تهیه و IC₅₀ این سلولها تحت اثر سیس پلاتین به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت بدست آمد. در مرحله بعد هر رده از سلولها به دو گروه و هر گروه به دو زیرگروه تقسیم شدند. گروه اول ۲۴ ساعت و گروه دوم ۴۸ ساعت تیمار شد. یکی از زیرگروه ها با سیس پلاتین به تنهایی و دیگری با سیس پلاتین و امواج ریزموج تیمار شدند. غلظت سیس پلاتین در هر گروه برابر با IC₅₀ بدست آمده در مرحله اول بود. فرکانس ریزموج برابر با ۲۴۵۰ مگاهرتز و چگالی توان آن برابر با ۳/۵ میلی وات بر سانتیمترمربع بود. بقای سلولی در هر گروه بوسیله آزمایش MTT بدست آمد. نتایج حاصل از آزمون MTT نشان داد که اثر توام امواج ریزموج و داروی سیس پلاتین پس از ۲۴ ساعت سبب کاهش بقای سلولی می شود. اما این کاهش معنی دار نمی باشد. در صورتیکه پس از ۴۸ ساعت تیمار با امواج ریزموج و داروی سیس پلاتین کاهش معنی داری ($P < 0.05$) در بقای هر دو رده سلولی ایجاد می شود. اثر ترکیبی تابش غیر یونیزان ۲۴۵۰ مگاهرتز و داروی سیس پلاتین می تواند بقای سلولهای کارسینومای تخمدان را کاهش دهد. بنابراین این اثر ممکن است برای درمان این سرطان کمک کننده باشد.

کلمات کلیدی: ریزموج، سیس پلاتین، سرطان تخمدان، مقاومت دارویی، درمان ترکیبی.

۱- مقدمه

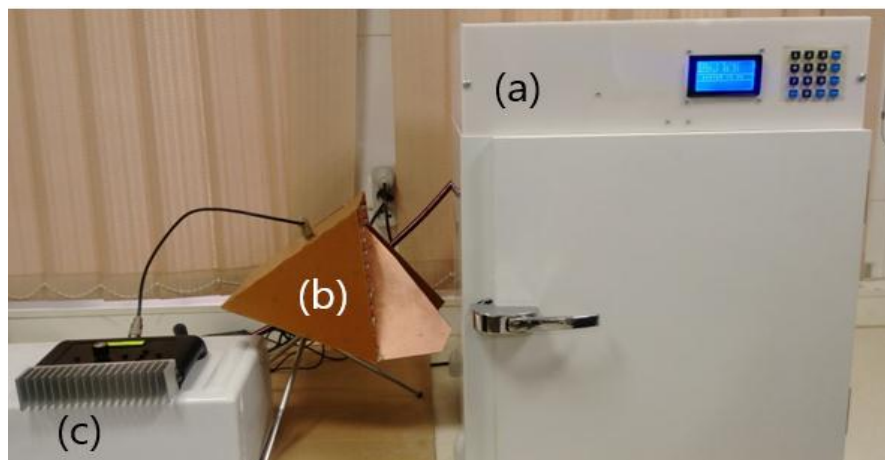
درمان سرطان یکی از چالش‌های سلامت انسان‌ها است که با وجود پیشرفت در علوم درمانی، هنوز درمان قطعی برخی از سرطان‌ها ممکن نیست. یکی از روش‌های رایج درمان سرطان، شیمی‌درمانی است. اما مقاومت اکتسابی در برخی رده‌های سلول‌های سرطانی سبب کاهش موفقیت در درمان می‌شود. سرطان تخمدان دومین تومور تشخیص داده شده در دستگاه تناسلی زنان است و متاستاز در ۸۰٪ از بیماران در اولین تشخیص مشاهده شده است و بیش از ۶۰٪ متاستاز در حفره شکمی مشاهده می‌شود که میزان بقای ۵ ساله آنها کمتر از ۵۰٪ است. اگرچه سیس پلاتین در درمان اولیه مفید است، اما پس از مدت زمانی مقاومت در برابر سیس پلاتین اتفاق می‌افتد، که باعث عود سرطان تخمدان و عود در حفره شکم می‌شود. بنابراین، شناسایی یک روش مفید جدید برای برگشت مقاومت سیس پلاتین در طول درمان سرطان تخمدان مورد نیاز است [۱-۳]. شواهد اساسی وجود دارد که مواجهه با امواج الکترومغناطیس غیر یونیزان، از جمله امواج رادیویی و ریزموج، بیش از مقدار مشخصی سبب پاسخ‌های بیولوژیکی می‌شود. بر همین اساس پژوهش‌های زیادی درباره اثر این امواج بر روی سیستم‌های بیولوژیکی انجام شده است و اثراتی همچون آسیب DNA و کروموزوم را مشاهده شده است [۴-۱۱]. نتایج برخی از پژوهش‌ها نشان داده‌اند که با استفاده از این امواج می‌توان رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی را کاهش داد [۱۲-۱۶]. از جمله روش‌های درمان موثر سرطان، روش‌های ترکیبی است. درمان ترکیبی با استفاده از پرتودرمانی با امواج یونیزان و شیمی‌درمانی افزایش درمان را در پی داشته است [۱۷-۱۹]. بر همین اساس در مطالعه حاضر اثر توأم داروی شیمی‌درمانی سیس پلاتین و امواج غیر یونیزان ریزموج ۲۴۵۰ مگاهرتز بر روی سلول‌های کارسینومای تخمدان در آزمایشگاه بررسی شده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- سیستم تابش دهی و انکوباسیون

ابتدا یک سیستم تابش امواج الکترومغناطیس طراحی و ساخته شد که از سه بخش تشکیل شده است (شکل ۱):

- ۱- مولد امواج الکترومغناطیسی با تنظیم فرکانس از ۱۰۰ تا ۴۴۰۰ مگاهرتز و شدت تا ۳۳ dBm
 - ۲- آنتن با توان تقویت ۱۴ dBi
 - ۳- انکوباتور CO2 از جنس PVC با ابعاد $50 \times 50 \times 50 \text{ cm}^3$ که دارای یک برد الکترونیکی شامل یک سنسور دما (برای تأمین دمای ۳۷ درجه سانتیگراد)، یک سنسور رطوبت (۹۵٪ سطح قابل قبول) و یک سنسور درصد CO2 که با کاهش CO2 زیر ۵٪ تزریق می‌کند.
- در دیواره جانبی انکوباتور پنجره Plexiglas شفاف برای مشاهده فلاسک کشت و نفوذ امواج الکترومغناطیسی قرار داده شد. برای ارزیابی صحت خروجی آنتن، از آنالایزر طیف Aaronia مدل Spectran HF 4060 (ساخت آلمان) استفاده شد.



شکل ۱- سیستم تابش دهی سلول‌ها شامل (a) انکوباتور، (b) آنتن فرستنده، (c) زنراتور امواج غیر یونیزان

۲-۲- مقایسه عملکرد انکوباتور دست ساز و تجاری

به منظور بررسی کارایی انکوباتور دست ساز، غلظت های مختلف سلولهای حساس و مقاوم به سیس پلاتین در دو پلیت ۹۶ خانه کشت شد و در انکوباتور دست ساز و تجاری (Memmert ساخت آلمان) به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه شد. سپس با آزمون MTT میزان رشد و تکثیر سلولها در هر انکوباتور بصورت چگالی نوری (Optical density) اندازه گیری و با استفاده از آنالیز آماری با یکدیگر مقایسه شدند.

۲-۳- کشت رده های سلولی سرطانی

سلول های سرطان تخمدان ردهی A2780CP و A2780 انسانی از انستیتو پاستور ایران خریداری گردید. سلولها پس از انجمادزدایی به فلاسک کشت استریل حاوی محیط کشت RPMI۱۶۴۰، ۱۰٪ سرم گاوی (FBS) و ۱٪ PenG/Strep منتقل و در انکوباتور کشت سلول غیر فلزی در دمای ۳۷ C° با هوای مرطوب حاوی ۵٪ CO₂ قرار داده شدند و هر سه روز پاساژ داده شد.

۲-۴- آزمون بقای سلولی و تعیین غلظت مهاري ميانه (IC50)

برای ارزیابی بقای سلولی از آزمایش MTT استفاده شد. سلول ها در پلیت ۹۶ خانه کشت شده و پس از یک شب انکوباسیون محیط کشت تخلیه و غلظت های مختلف داروی سیس پلاتین و محیط کشت کامل به هر رده کشت سلولی اضافه شد و به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در انکوباتور نگهداری شد. پس از مدت مورد نظر محیط کشت سلول را به آرامی خارج کرده و به هر چاهک ۱۰ میکرو لیتر محلول MTT و ۹۰ میکرو لیتر محیط کشت کامل اضافه شد. سپس به مدت ۳ تا ۴ ساعت در دمای ۳۷ C° دور از نور انکوبه شد. محیط کشت را به آرامی خارج کرده و مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر حلال دی متیل سولفوکساید به رسوب فورمازان افزوده شد. بعد از چندین بار پیپت کردن هر چاهک، جذب نوری توسط دستگاه الیزا ریدر (BioTek ELx808) در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد و درصد بقای سلولی با استفاده از بدست آوردن نسبت جذب نوری در سلول های گروه تیمار به گروه کنترل محاسبه شد. سپس IC50 با استفاده از نرم افزار Graphpad prism 8 محاسبه شد. مقدار IC50 بدست آمده در مراحل بعدی برای مقایسه اثر سیس پلاتین به تنهایی و سیس پلاتین همراه با پرتو استفاده شد.

۲-۵- اثر توام امواج ریز موج و داروی سیس پلاتین

در مرحله بعد هر رده از سلولها به دو گروه و هر گروه به دو زیرگروه تقسیم شدند. گروه اول ۲۴ ساعت و گروه دوم ۴۸ ساعت تیمار شد. یکی از زیرگروه ها با سیس پلاتین به تنهایی و دیگری با سیس پلاتین و امواج ریز موج تیمار شدند. غلظت سیس پلاتین در هر گروه برابر با IC50 بدست آمده در مرحله اول بود. بقای سلولی در هر گروه بوسیله آزمایش MTT بدست آمد.

۲-۶- آنالیز آماری

نتایج بر اساس میانگین سه آزمون جداگانه و انحراف معیار تعیین شد. جهت ارزیابی داده ها، رسم نمودارها و اختلاف بین گروه ها از آزمون ANOVA و نرم افزار Graphpad prism 8 استفاده شد و سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. به منظور مقایسه انکوباتور دست ساز و تجاری از آزمون تی تست و نرم افزار SPSS استفاده شد.

۳- نتایج**۳-۱- چگالی توان امواج ریز موج و عملکرد انکوباتور دست ساز**

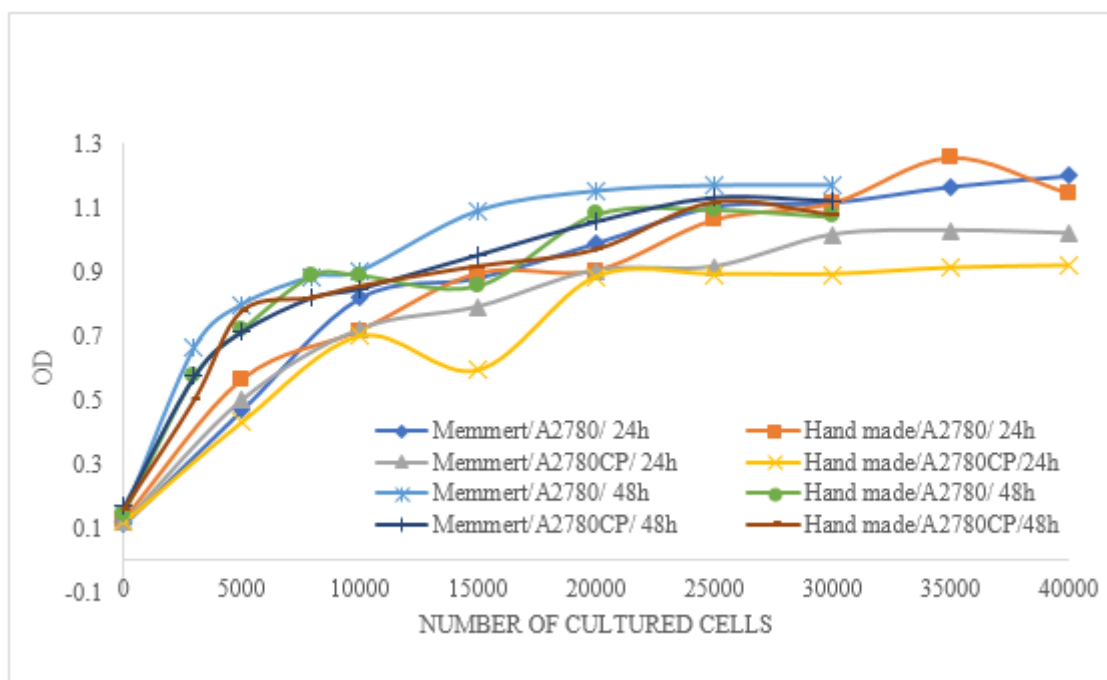
چگالی توان در فاصله (R) برابر با ۲۵ سانتیمتر با توجه به اینکه توان خروجی (P_t) دستگاه ۳۳ dBm و بهره آنتن (G_t) برابر با ۱۴ dBi است با استفاده از روابط فیزیکی زیر محاسبه شد [۲۰].

$$\text{Power density} = \frac{P_t(\text{watt}) \times G_t}{4\pi R^2} \quad (1)$$

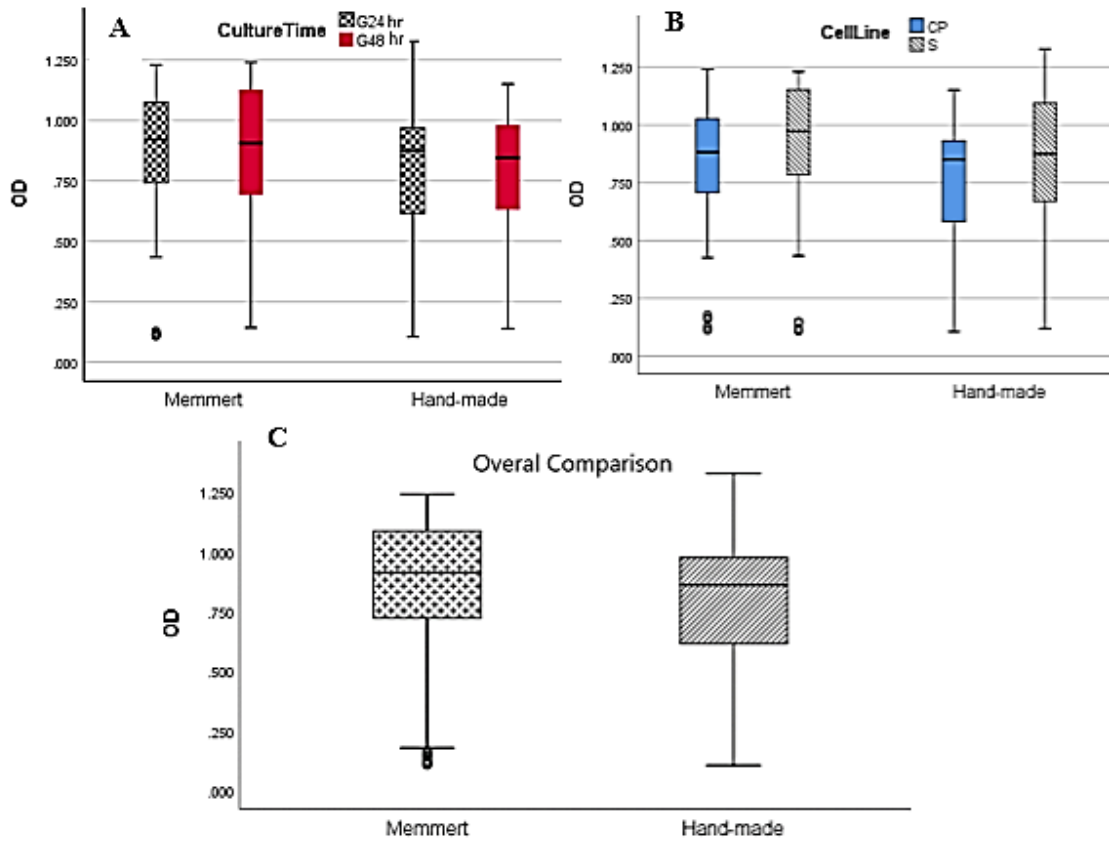
$$P_i \text{ (dBm)} = 10 \log \frac{P_i \text{ (watt)}}{\text{mW}} \quad (2)$$

بر اساس محاسبات چگالی توان ۳/۵۶ میلی وات بر سانتیمتر مربع بدست آمد و نتایج اندازه گیری با دستگاه آنالایزر طیف، چگالی توان را $0.1 \pm 3/5$ وات بر سانتیمتر مربع نشان داد.

جهت ارزیابی عملکرد انکوباتور دست ساز (Hand-made) در مقایسه با انکوباتور تجاری (Memmert)، سلولهای مقاوم و حساس به سیس پلاتین (نمونه سلول مورد مطالعه) به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در هر دو انکوباتور در پلیت های ۹۶ خانه با غلظتهای سلولی مختلف کشت و انکوبه شد (شکل ۲). در مقایسه انجام شده با نرم افزار SPSS، با توجه به تعداد نمونه بالای ۲۵ عدد (حدود ۳۰ نمونه) با وجود اینکه در همه حالتها توزیع نرمال نبود، از آزمون تی تست جهت مقایسه بهره برده شد. با ثابت در نظر گرفتن زمان، نوع انکوباتور آزمون شد و برای دو رده مقاوم و حساس به سیس پلاتین P-value به ترتیب ۰/۹۵۲ و ۰/۵۳۷ به دست آمد، که عدم تفاوت آماری را نشان می دهد (شکل ۳ A). در صورتی که آزمون با ثابت در نظر گرفتن نوع رده سلولی تکرار می شد، به ازای دو زمان انکوبه مختلف، ۲۴ و ۴۸ ساعت، مقدار P-value به ترتیب برابر با ۰/۹۴۸ و ۰/۴۸۱ بدست آمد که از نظر آماری اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد (شکل ۳ B). در نهایت با چشم پوشی از رده سلولی و زمان انکوباسیون، دو انکوباتور با هم مقایسه شدند و مقدار $P\text{-value} > 0.05$ (۰/۵۸) شد که بیانگر عدم وجود اختلاف آماری بین این دو انکوباتور می باشد (شکل ۳ B).



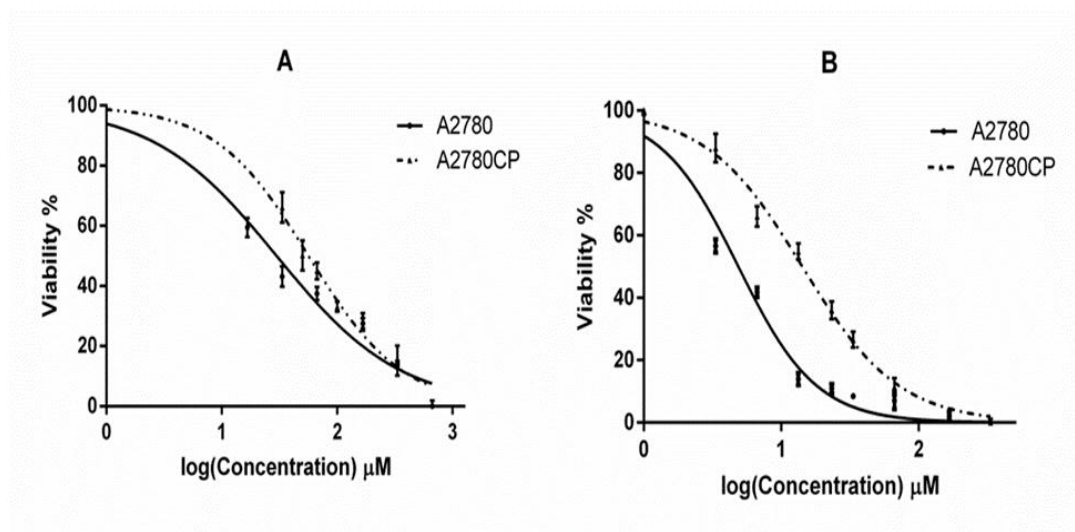
شکل ۲- مقایسه زیست پذیری سلول های کارسینومای تخمدان حساس و مقاوم به سیس پلاتین در انکوباتور دست ساز و تجاری که در مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در غلظت های مختلف سلولی انکوبه و دانسیته اپتیکی با روش MTT با هم مقایسه شدند.



شکل ۳- مقایسه نتایج کشت سلولی در دو انکوباتور تجاری Memmert و دست ساز، با ثابت در نظر گرفتن (A) زمان انکوبه کردن سلولها، (B) رده سلولها و (C) در حالت کلی دو انکوباتور با استفاده از آزمون T تست اختلاف معنی داری دیده نشد.

۳-۲- بقای سلولی و غلظت مهاری میانه

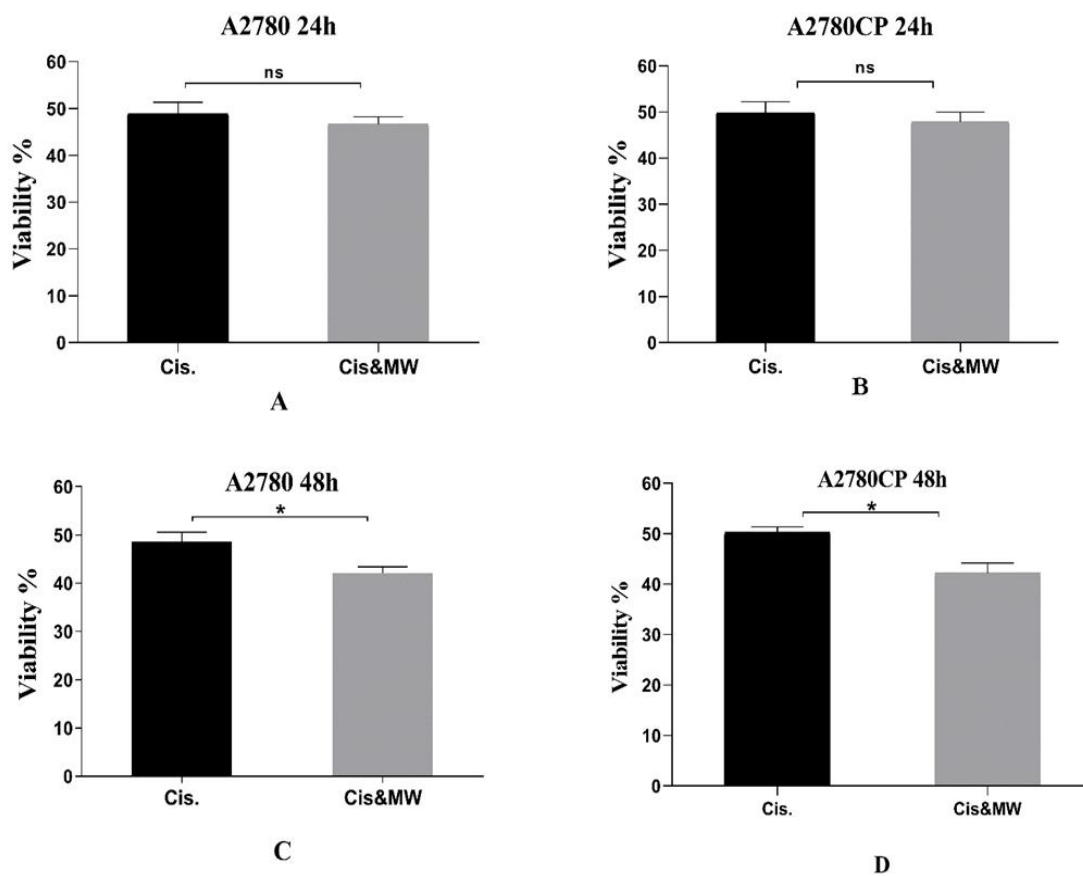
بقای سلولی و غلظت مهاری میانه پس از تیمار سلولها با غلظت های مختلف سیس پلاتین با استفاده از آزمون MTT بدست آمد. طبق شکل ۴ درصد بقای سلولها با افزایش غلظت سیس پلاتین کاهش می یابد. پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار با غلظت های مختلف سیس پلاتین، IC50 رده حساس به ترتیب ۲۹/۸۲ و ۴/۸۷ میکرومولار و رده مقاوم به ترتیب ۵۶/۳۹ و ۱۴/۲۲ میکرومولار بدست آمد.



شکل ۴- نمودار درصد زیست پذیری سلول های کارسینوما تخمدان تیمار شده با غلظت های مختلف سیس پلاتین. (A) پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (B) پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون

۳-۳- اثر توام امواج ریز موج و داروی سیس پلاتین

بر اساس شکل ۵ پس از ۲۴ ساعت تیمار سلول های رده حساس با غلظت ۲۹ میکرومولار سیس پلاتین و سلول های رده مقاوم با ۵۶ میکرومولار سیس پلاتین، درصد بقای سلولهای رده حساس ۴۸/۹۲٪ و رده مقاوم ۴۹/۷۸٪ بود. در صورتیکه پس از تیمار با همین غلظت سیس پلاتین توام با تابش امواج ریزموج درصد بقای سلول های حساس برابر با ۴۶/۶۷٪ و سلول های مقاوم برابر با ۴۷/۸۳٪ بدست آمد. اگر چه درصد بقای سلولها پس از تیمار با سیس پلاتین و امواج ریزموج کاهش یافت، اما این کاهش معنی دار نبود. پس از تیمار ۴۸ ساعته سلول های حساس با ۴/۵ و سلول های مقاوم با ۱۴ میکرومولار سیس پلاتین، درصد بقای سلولهای حساس برابر با ۴۷/۶۷٪ و سلول های مقاوم برابر با ۵۰/۲۶٪ بود و پس از تیمار با همین غلظت سیس پلاتین و تابش همزمان امواج ریزموج درصد بقای سلول های حساس برابر با ۴۲/۰۸٪ و سلول های مقاوم ۴۲/۱۶٪ بدست آمد که تفاوت معنی داری با تیمار با سیس پلاتین به تنهایی داشت ($P < 0.05$).



شکل ۵- اثر توام سیس پلاتین و امواج ریزموج ۲۴۵۰ مگاهرتز. (A) کارسینومای تخمدان رده حساس پس از ۲۴ ساعت (B) کارسینومای تخمدان رده مقاوم پس از ۲۴ ساعت (C) کارسینومای تخمدان رده حساس پس از ۴۸ ساعت (D) کارسینومای تخمدان رده مقاوم پس از ۴۸ ساعت

۴- بحث

با افزایش بروز سرطانها، مطالعات و پژوهش های زیادی بر روی روش های جدید درمان سرطان انجام شده است. افزایش حساسیت سلولهای سرطانی به داروهای شیمی درمانی یکی از روشهای درمان مؤثر است. در همین راستا استفاده از درمان ترکیبی برای درمان سرطان توجه زیادی را به خود جلب کرده است. تاکنون گزارشهای زیادی مبنی بر استفاده از درمانهای ترکیبی در درمان سرطانها منتشر شده است [۱۷، ۱۹، ۲۱-۲۳]. با توجه به مطالعات متعددی که نشان می دهند، قرار گرفتن در معرض امواج رادیویی به تنهایی یا همراه با ترکیبی از جهش زهای (موتازن) شیمیایی می تواند باعث ایجاد سمیت سلولی شود، در مطالعه

حاضر اثر توام داروی سیس پلاتین و امواج ریزموج ۲۴۵۰ مگاهرتز بر زیست پذیری سلول های سرطان تخمدان بررسی شد. نتایج ما نشان می دهد که ۴۸ ساعت قرار گرفتن در معرض تابش امواج رادیوفرکانس و سیس پلاتین می تواند به طور قابل توجهی سمیت سلولی سیس پلاتین را افزایش دهد. این نتیجه با نتایج [۲۴] Luukkonen ، [۲۵] Baohong و [۲۶] Zmysolony مطابقت دارد. آنها نشان دادند که قرار گرفتن در معرض تشعشعات امواج رادیویی و موثاژن های شیمیایی می تواند سمیت این مواد شیمیایی را افزایش دهد. در مطالعه ای که توسط Fuqiang Xing و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام شد از کاهش زیست پذیری سلول های NIH/3T3 موش و U-87 MG انسان تحت تابش ریزموج ۱۸۰۰ مگاهرتز خبر داده است [۱۲]. یک مطالعه توسط Wenhe Zhu و همکاران با استفاده از روش MTT نشان داد که قرار گرفتن در معرض ریزموج ۲۴۵۰ مگاهرتز سبب جلوگیری از رشد سلولهای سرطان پانکراس می شود [۱۳]. مطالعات متعددی نشان می دهند که تابش امواج رادیوفرکانس می تواند اثرات سایتوتوکسیک را القا کند [۲۷-۳۱]. این مطالعه هم افزایی اثر مهار رشد سیس پلاتین و امواج ریزموج را در ۴۸ ساعت نشان می دهد. اما در ۲۴ ساعت تیمار با سیس پلاتین و امواج ریزموج اثری مشاهده نشد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که احتمالاً افزایش زمان می تواند موجب افزایش اثر شود. با توجه به اینکه امواج ریزموج، اثر مهار رشد سیس پلاتین را بر روی سلول های رده A2780 افزایش می دهد، ممکن است بتوان از آن در درمان کارسینومای تخمدان استفاده کرد. پژوهش های بیشتری در این زمینه جهت اثبات این پیشنهاد لازم است.

۵- نتیجه گیری

بر اساس نتایج این پژوهش امواج ریزموج توام با سیس پلاتین می تواند اثر مهار رشد داروی سیس پلاتین را بر روی سلول های کارسینومای تخمدان افزایش دهد. بنابراین ممکن است بتوان از این اثر در درمان کارسینومای تخمدان که نسبت به شیمی درمانی با سیس پلاتین مقاوم شده است، استفاده کرد که البته نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

۶- تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز (شماره طرح U-95141) انجام شده است.

۷- مراجع

1. Helmbach H, Rossmann E, Kern MA, Schadendorf D. Drug-resistance in human melanoma. *International journal of cancer*. 2001;93(5):617-22.
2. Baharara J, Hosseini N, Farzin TR. Extremely low frequency electromagnetic field sensitizes cisplatin-resistant human ovarian adenocarcinoma cells via P53 activation. *Cytotechnology*. 2016;68(4):1403-13.
3. Sorensen BH, Thorsteinsdottir UA, Lambert IH. Acquired cisplatin resistance in human ovarian A2780 cancer cells correlates with shift in taurine homeostasis and ability to volume regulate. *AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-CELL PHYSIOLOGY*. 2014;307(12):C1071-C80.
4. Shekoohi-Shooli F, Mortazavi S, Shojaei-fard M, Nematollahi S, Tayebi M. Evaluation of the Protective Role of Vitamin C on the Metabolic and Enzymatic Activities of the Liver in the Male Rats After Exposure to 2.45 GHz Of Wi-Fi Routers. *Journal of Biomedical Physics and Engineering*. 2015.
5. Ivancsits S, Pilger A, Diem E, Jahn O, Rüdiger HW. Cell type-specific genotoxic effects of intermittent extremely low-frequency electromagnetic fields. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2005;583(2):184-8.
6. Winker R, Ivancsits S, Pilger A, Adlkofer F, Rüdiger H. Chromosomal damage in human diploid fibroblasts by intermittent exposure to extremely low-frequency electromagnetic fields. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2005;585(1):43-9.
7. Graham C, Cook MR, Cohen HD, Riffle DW, Hoffman S, Gerkovich MM. Human exposure to 60-Hz magnetic fields: neurophysiological effects. *International journal of Psychophysiology*. 1999;33(2):169-75.

8. Selmaoui B, Lambrozo J, Touitou Y. Endocrine functions in young men exposed for one night to a 50-Hz magnetic field. A circadian study of pituitary, thyroid and adrenocortical hormones. *Life sciences*. 1997;61(5):473-86.
9. Woldanska-Okonska M, Karasek M, Czernicki J. The influence of chronic exposure to low frequency pulsating magnetic fields on concentrations of FSH, LH, prolactin, testosterone and estradiol in men with back pain. *Neuro endocrinology letters*. 2004;25(3):201-6.
10. Ghazizadeh V, Naziroğlu M. Electromagnetic radiation (Wi-Fi) and epilepsy induce calcium entry and apoptosis through activation of TRPV1 channel in hippocampus and dorsal root ganglion of rats. *Metabolic brain disease*. 2014;29(3):787-99.
11. Gürler HŞ, Bilgici B, Akar AK, Tomak L, Bedir A. Increased DNA oxidation (8-OHdG) and protein oxidation (AOPP) by low level electromagnetic field (2.45 GHz) in rat brain and protective effect of garlic. *International journal of radiation biology*. 2014;90(10):892-6.
12. Xing F, Zhan Q, He Y, Cui J, He S, Wang G. 1800MHz Microwave Induces p53 and p53-Mediated Caspase-3 Activation Leading to Cell Apoptosis In Vitro. *PloS one*. 2016;11(9):e0163935.
13. Zhu W, Zhang W, Wang H, Xu J, Li Y, Lv S. Apoptosis induced by microwave radiation in pancreatic cancer JF305 cells. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2014;92(4):324-9.
14. Zuo H, Lin T, Wang D, Peng R, Wang S, Gao Y, et al. Neural cell apoptosis induced by microwave exposure through mitochondria-dependent caspase-3 pathway. *International journal of medical sciences*. 2014;11(5):426.
15. Zuo H, Lin T, Wang D, Peng R, Wang S, Gao Y, et al. RKIP regulates neural cell apoptosis induced by exposure to microwave radiation partly through the MEK/ERK/CREB pathway. *Molecular neurobiology*. 2015;51(3):1520-9.
16. Esmekaya MA, Seyhan N, Kayhan H, Tuysuz MZ, Kurşun AC, Yağcı M. Investigation of the Effects of 2.1 GHz Microwave Radiation on Mitochondrial Membrane Potential ($\Delta\Psi$ m), Apoptotic Activity and Cell Viability in Human Breast Fibroblast Cells. *Cell biochemistry and biophysics*. 2013;67(3):1371-8.
17. Guchelaar H, Uges D, De Vries E, Oosterhuis J, Mulder N. Combination therapy with cisplatin: Modulation of activity and tumour sensitivity. *Clinical Oncology*. 1992;4(6):388-93.
18. Szturz P, Wouters K, Kiyota N, Tahara M, Prabhash K, Noronha V, et al. Altered fractionation radiotherapy combined with concurrent low-dose or high-dose cisplatin in head and neck cancer: A systematic review of literature and meta-analysis. *Oral oncology*. 2018;76:52-60.
19. Ramezani T, Nabiuni M, Baharara J, Parivar K, Namvar F. Sensitization of Resistance Ovarian Cancer Cells to Cisplatin by Biogenic Synthesized Silver Nanoparticles through p53 Activation. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. 2019;18(1):222.
20. Huang Y, Boyle K. *Antennas: From Theory to Practice*. first ed. Singapore: John Wiley & Sons Ltd; 2008. 378 p.
21. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *European journal of pharmacology*. 2014;740:364-78.
22. Hettinga J, Konings A, Kampinga H. Reduction of cellular cisplatin resistance by hyperthermia—a review. *International journal of hyperthermia*. 1997;13(5):439-57.
23. Raaphorst G, Wang G, Ng C. Radiosensitization by cisplatin treatment in Cisplatin-resistant and sensitive human ovarian-carcinoma cell-lines. *International journal of oncology*. 1995;7(2):325-30.
24. Luukkonen J, Hakulinen P, Mäki-Paakkanen J, Juutilainen J, Naarala J. Enhancement of chemically induced reactive oxygen species production and DNA damage in human SH-SY5Y neuroblastoma cells by 872MHz radiofrequency radiation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2009;662(1):54-8.
25. Baohong W, Jiliang H, Lifen J, Deqiang L, Wei Z, Jianlin L, et al. Studying the synergistic damage effects induced by 1.8 GHz radiofrequency field radiation (RFR) with four chemical mutagens on human lymphocyte DNA using comet assay in vitro. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2005;578(1):149-57.
26. Zmyślony M, Politanski P, Rajkowska E, Szymczak W, Jajte J. Acute exposure to 930 MHz CW electromagnetic radiation in vitro affects reactive oxygen species level in rat lymphocytes treated by iron ions.

Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association. 2004;25(5):324-8.

27. Sarkar S, Ali S, Behari J. Effect of low power microwave on the mouse genome: a direct DNA analysis. Mutation Research/Genetic Toxicology. 1994;320(1):141-7.

28. Lai H, Singh NP. Acute low-intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells. Bioelectromagnetics. 1995;16(3):207-10.

29. Lai HNPS. Single-and double-strand DNA breaks in rat brain cells after acute exposure to radiofrequency electromagnetic radiation. International journal of radiation biology. 1996;69(4):513-21.

30. Gupta SK, Mesharam MK, Krishnamurthy S. Electromagnetic radiation 2450 MHz exposure causes cognition deficit with mitochondrial dysfunction and activation of intrinsic pathway of apoptosis in rats. Journal of biosciences. 2018;43(2):263-76.

31. Gupta SK, Patel SK, Tomar MS, Singh SK, Mesharam MK, Krishnamurthy S. Long-term exposure of 2450 MHz electromagnetic radiation induces stress and anxiety like behavior in rats. Neurochemistry international. 2019;128:1-13.