

واژه‌های کلیدی:

میکرو حباب
نانوامولسیون
فراصوت
داروسازی
تصویربرداری

مروری بر میکرو حباب‌ها و کاربردهای آن در پزشکی

حامد عبدی پورا^۱، مرتضی نصیری^{۱*}، فرهنگ عباسی^۲

۱ تبریز، دانشگاه صنعتی سهند، پژوهشکده مواد پلیمری

۲ تبریز، دانشگاه صنعتی سهند، دانشکده مهندسی پلیمر

چکیده ...

یکی از روش‌های جدیدی که در پزشکی به خصوص در داروسازی مورد توجه قرار گرفته ترکیب فناوری فراصوت با میکرو حباب‌ها (Microbubbles) است که ویژگی‌های منحصر به فردی دارد. میکرو حباب‌ها ذرات کروی پاسخگو به امواج فراصوت هستند که از هسته‌ی گازی و از پوسته تشکیل شده‌اند که کاربردهای بسیاری در پزشکی، تصویربرداری، داروسازی، تصفیه آب و غیره دارند. پوسته و هسته‌های مختلفی برای ساخت میکرو حباب‌ها مورد استفاده قرار گرفته است که هر کدام دارای مزایا و معایبی هستند. در این مقاله پس از معرفی میکرو حباب‌ها به بررسی پدیده‌های حاکم در برهم‌کنش میکرو حباب‌ها با امواج فراصوت پرداخته می‌شود. مواد مختلفی که برای ساخت میکرو حباب‌ها استفاده شده‌اند بررسی و در نهایت کاربردهای میکرو حباب‌ها در پزشکی معرفی می‌شود.

*پست الکترونیکی مسئول مکاتبات:

m_nasiri@sut.ac.ir

۱ مقدمه

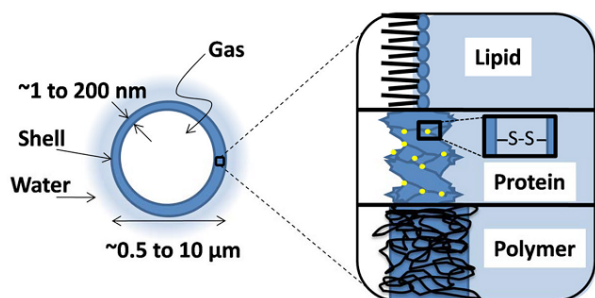
انجام می‌شود [۴]. میکروحباب‌ها ذراتی کروی پاسخگو به فراصوت هستند که از هسته‌ی گازی و پوسته تشکیل شده‌اند (شکل ۱).

میکروحباب‌های پزشکی عموماً بین ۱۰-۰/۵ میکرون قطر دارند. هسته‌ی گازی، عمده‌ی حجم میکروحباب را تشکیل می‌دهد. در حقیقت حباب‌های گازی در این اندازه به دلیل اثرات کشش سطحی در محیط آبی ذاتاً ناپایدارند و به همین دلیل نیاز به پوسته پایدارکننده دارند. مواد مختلفی مانند لیپیدها، مواد فعال سطحی، پروتئین‌ها، پلیمرها یا ترکیبی از این‌ها می‌توانند به عنوان پوسته استفاده شوند [۵].

۲ برهم‌کنش میکروحباب با امواج فراصوت

میکروحباب‌ها وقتی در معرض امواج فراصوت قرار می‌گیرند گستره‌ی وسیعی از رفتارها که نه تنها وابسته به مولفه‌های فراصوت بلکه به خواص فیزیکی و شیمیایی میکروحباب و اندازه آن‌ها است، از خود نشان می‌دهند. اثرات ضعیف مانند بازتاب صوتی برای تصویربرداری تشخیصی استفاده می‌شود. اثرات خشن‌تری مانند حفره‌زایی اینرسی (Inertial Cavitation) می‌تواند برای تحویل هدفمند دارو مورد استفاده قرار گیرد. مجموعه‌ای از اثرات دیگر بین این دو قرار دارند. شکل ۲ طرح‌واره برخی از اثرات فراصوت بر روی میکروحباب‌ها را برای کاربردهای پزشکی نشان می‌دهد.

در فشار صوتی کم، میکروحباب‌های در معرض فراصوت قرار گرفته تولید پژواک بازگشتی (Backscattered Echo) می‌کند. از پژواک می‌توان برای شناسایی و یافتن میکروحباب استفاده کرد.



شکل ۱ طرح‌واره‌ای از میکروحباب و مواد مورد استفاده در پوسته آن [۵].

سامانه‌های معمول رهایش دارو در بدن، عبارتند از قرص‌ها، کپسول‌ها، پمادها، محلول‌ها و سامانه‌های تزریقی که استفاده از آن‌ها با وعده‌های متناوب، باعث ایجاد نوساناتی در غلظت دارو در خون (گاهی بین دو حد سمی و درمانی) می‌شود. سطح درمانی دارو باید در بیمار به اندازه‌ای باشد که تا زمان مصرف بعدی دارو، نیاز بیمار را برآورده کند. اما متأسفانه مشاهده می‌شود که کاهش یا افزایش بی‌رویه‌ی سطح دارو در بدن، تأثیرگذاری آن را کاهش می‌دهد [۱]. به این دلیل، فناوری‌های رهایش آهسته و کنترل‌شده دارو با هدف کنترل نرخ و هدفمند شدن رهایش دارو به سمت بافت یا محل خاص مطرح شده که دارای مزیت‌های زیادی است. مهم‌ترین این مزیت‌ها شامل توانایی حفظ غلظت دارو در حدی نسبتاً ثابت برای مدتی مشخص، قابلیت تنظیم سرعت آزاد شدن دارو وابسته به محل دارورسانی، امکان رساندن دارو به عضو یا بافت خاص، توانایی رساندن چندین ماده دارویی در فرمول‌بندی واحد، امکان دارورسانی در ابعاد نانومتری و غیره است [۲]. البته استفاده از این سامانه‌ها محدودیت‌هایی نیز ایجاد می‌کند که ممکن است شامل پیدایش مسمومیت‌های جدید در اثر به کار بردن مواد تازه در بدن همراه با داروها، تأخیر در پراکنده شدن دارو و نیاز به آزمایش‌های جدید برای بررسی حامل دارویی است [۳].

از لحاظ نظری هر سامانه‌ی تحویل هدفمند دارو باید دو ویژگی داشته باشد: افزایش کارایی دارو در بافت بیمار و کاهش سمیت دارو در دیگر بافت‌های سالم. به طور کلی، سامانه‌ی دارورسانی هدفمند شامل دارو، حامل و لیگاند هدف‌گذاری است. سازوکارهای دارورسانی عبارتند از: الف: هدف‌گیری فیزیکی یا خارجی دارو مانند استفاده از ذرات پاسخگو به نور، مغناطیس، فراصوت و غیره.

ب: هدف‌گیری انفعالی دارو مانند داروهایی که در محیط‌هایی که ویژگی خاص دارند، فعال می‌شوند مانند تومورها که دما، pH و اندازه حفره‌های متفاوتی دارند. ج: هدف‌گیری فعال دارو که با اتصال مولکول‌های هدف گیرنده به سامانه‌ی دارویی امکان‌پذیر است [۴]. دارورسانی به واسطه امواج فراصوت یکی از روش‌های جدید دارورسانی است که از ترکیب فناوری فراصوت با میکروحباب‌های حاوی ترکیبات دارویی

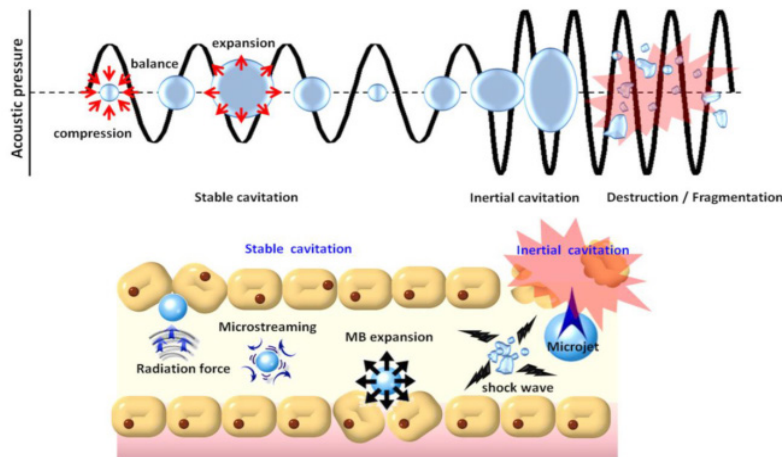
کوچک‌تر تبدیل شود. قطعه‌قطعه (Fragmentation) شدن میکروحباب به طور کلی در آستانه اوج فشار منفی اتفاق می‌افتد و به دلیل بی‌ثباتی در سطح میکروحباب در طی انقباض و انبساط، افزایش می‌یابد. قطعه‌قطعه شدن میکروحباب برای اندازه‌گیری برقراری مجدد جریان خون در بافت تومور و قلب و در دستورات عمل‌های تصویربرداری مولکولی فراصوت استفاده می‌شود.

در فشارهای صوتی درست زیر آستانه قطعه‌قطعه شدن، میکروحباب دچار انحلال می‌شود. حجم کمی از هسته گازی با هر چرخه خارج می‌شود. انحلال صوتی ابزارهای ملایم‌تر برای از بین بردن سیگنال تمایز نسبت به تکه‌تکه شدن ارائه می‌دهد و ممکن است برای دارورسانی نیز مفید باشد.

حفره‌زایی اینرسی پس از یک مرحله انبساط طولانی مدت اتفاق می‌افتد که در طی مرحله تراکم بعدی، نفوذ شدید آب به سمت مرکز میکروحباب منجر به انفجار شدید می‌شود. انفجار موج ضربه‌ای (-Shock Wave) ساطع می‌کند که ممکن است توسط مبدل فراصوت به‌عنوان علایم باند پهن (Broadband Signal) شناسایی شود. موج ضربه‌ای همچنین ممکن است انتقال بین سلولی و خارج عروقی درشت مولکول‌ها را تسهیل کند. حفره‌زایی نامتقارن در نزدیکی مرز سفت وسخت می‌تواند منجر به جت پیچیده (Involuting Jet) شود که روی سطح تأثیر بگذارد و ممکن است باعث

ازاین‌رو میکروحباب می‌تواند به‌عنوان ماده حاجب در تصویربرداری با سونوگرافی استفاده شود. اکوژنیک بودن (Echogenicity)، یا قدرت نسبی علایم بازگشتی، در نزدیکی فرکانس تشدید میکروحباب قوی‌ترین است. فرکانس تشدید حباب‌های با قطر چند میکرومتر در محدوده ۱-۱۰ MHz قرار دارد که خوشبختانه در دامنه پوشش گره‌های معمولی تصویربرداری بالینی فراصوت است. بنابراین، میکروحباب‌ها نسبت به سونوگرافی متداول اکوژنیک هستند. علاوه بر این، میکروحباب‌ها فراصوت را به صورت غیرخطی پراکنده می‌کنند. توالی تصویربرداری پالس با فاز، فرکانس و دامنه تعدیل شده می‌تواند برای جدا کردن علایم‌های میکروحباب و بافت با دقت بالا مورد استفاده قرار گیرد.

میکروحباب‌های پایدار نوسان‌کننده باعث ایجاد میدان برشی در جریان سیال می‌شوند. جریان میکروحباب‌ها نه تنها اختلاط موضعی از طریق فرایندهای همرفتی را افزایش می‌دهد، بلکه ممکن است نیروهای برشی را بر روی سطوح سلولی که باعث بهبود انتقال بین سلولی و خارج عروقی درشت مولکول‌های اطراف می‌شوند، القا کند. این اثر ممکن است برای کاربردهای دارورسانی که نیاز به تغییرات ظریف در ریزمحیط محلی دارند، مانند غلبه بر سد خونی مغزی (Blood-brain Barrier) مفید باشد. در فشارهای صوتی بالاتر، میکروحباب ممکن است هنگام نوسان ناپایدار شود و به حباب‌های



شکل ۲ سازوکار فیزیکی اثرات القاشده هنگامی که میکروحباب‌ها توسط امواج فراصوت تهییج می‌شوند [۶].

پرفلوروکربن‌ها (PFCs) میکروحباب‌هایی با طول عمر بالاتر تهیه کردند [۸].

تهیه میکروحباب‌ها با هسته گازی هوا و ازت بدون پوسته پایدارکننده (نسل اول میکروحباب‌ها) به علت حل شدن سریع ذرات در تماس با محیط آبی، پایداری کمی داشتند. در نسل دوم میکروحباب‌ها از پوسته پایدارکننده برای افزایش پایداری میکروحباب‌ها با هسته هوا یا ازت استفاده شد. ترکیب پوسته میکروحباب‌های پلیمری به‌طور قوی رفتار صوتی حباب‌ها را تغییر می‌دهد. گزارش شده که استحکام میکروحباب‌های با پوسته پلیمری تقریباً ۲۰ برابر حباب هوای آزاد است و همچنین نشان داده شده که گرانش میکروحباب‌ها در اصل به پلیمر پوسته و نه هسته گازی، بستگی دارد [۹]. در این نسل قابلیت بارگیری دارو نیز به میکروحباب‌ها اضافه شد. در استفاده از هوا و نیتروژن مشکلاتی مانند حل شدن سریع هسته گزارش شده است. ماهیت گاز نقش مهمی در عمر و پایداری میکروحباب‌ها دارد. استفاده از PFCها که به نسل سوم میکروحباب‌ها مشهور است پایداری بسیار بیشتری نسبت به میکروحباب‌های با هسته نیتروژن و هوا دارد [۷] ولی به دلیل کاهش مخاطره‌ی تغییر اندازه ذرات (به خاطر تبادل با نیتروژن حل شده در سیال زیستی) مخلوطی از ازت و PFC توصیه می‌شود. تغییر اندازه ذرات و پهن شدن توزیع آن منجر به پاسخ ضعیف به امواج فراصوت در فرکانس مشخص خواهد شد [۱۰].

پس از استفاده از میکروحباب‌های معمولی، تنها بخش بسیار کمی در بافت هدف می‌توانند تخریب شوند. بسیاری از میکروحباب‌ها به چرخش خود در خون ادامه خواهند داد و در نهایت در جایی غیر از بافت هدف، حذف خواهند شد. از طرف دیگر، همیشه مشخص نیست که چند درصد از میکروحباب‌ها در بافت مدنظر تخریب شده‌اند، بنابراین دوز داروی رسیده به بافت هدف قابل کنترل نیست. همچنین اندام‌هایی که مقدار جریان خون بیشتری نسبت به سایر بافت‌ها دریافت می‌کنند، میکروحباب بیشتری را دریافت می‌کنند. به همین دلیل از هدف‌گیری در میکروحباب‌ها استفاده می‌شود. میکروحباب‌های هدفمند با کاربرد تصویربرداری و حمل دارو به‌طور هم‌زمان که به نسل چهارم میکروحباب‌ها معروفند در فرایند درمان و تشخیص بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار

بهبود بیشتر دارورسانی شود. در حال حاضر مشخص نیست که کدام یک از پدیده‌های جریان برشی، تشکیل موج ضربه‌ای یا جت، سازوکار اصلی تحویل دارو با فراصوت است.

در نهایت، در فشارهای صوتی کم و در فرکانس تشدید، هر چرخه سونوگرافی منجر به نیروی خالص روی میکروحباب می‌شود که آن را (در جهت انتشار موج صوتی) از مبدل دور می‌کند. نیروی انتشار (Radiation Force) ممکن است برای انتقال میکروحباب از مجرای رگ (Lumen) رگ به لایه درون‌رگی (Endothelium) استفاده شود که چسبندگی با واسطه لیگاند-گیرنده و دارورسانی هدفمند را تسهیل می‌کند.

به طور کلی، میکروحباب‌های بارگذاری شده با دارو از دو راه می‌توانند توسط فراصوت، دارورسانی را انجام دهند (شکل ۲).

الف) حفره‌زایی پایدار (Stable Cavitation): حفره‌زایی پایدار معمولاً در فشار صوتی کم به دست می‌آید و هنگامی که میکروحباب تحت نوسان تکراری قرار می‌گیرد تولید می‌شود. این انقباض و انبساط‌ها تنش برشی به غشای سلولی وارد می‌کنند که بر تراوایی آن اثر می‌گذارد.

ب) حفره‌زایی اینرسی: حفره‌زایی اینرسی در فشار صوتی بالاتر به دست می‌آید و منجر به تخریب شدید میکروحباب می‌شود که موجب اثرهای قوی زیست‌فیزیکی، میکروجت‌ها و میکروجریان‌ها در اطراف آن محل به صورت آنی می‌شود. این رفتار برای میکروحباب‌های با پوسته نرم صادق است. برای میکروحباب‌های با پوسته سخت، انرژی بیشتری جهت تولید حفره‌زایی مورد نیاز است؛ بنابراین تحت این فشار صوتی بالا، این میکروحباب‌ها به شدت پاره می‌شوند و گاز درون آن‌ها از طریق نقیصه‌های کوچک در پوسته یا ترک‌های صوتی (Sonic Cracks) آزاد می‌شوند [۷].

۳ مواد هسته و پوسته میکروحباب

اولین میکروحباب‌های ساخته شده از مشکل عمر کوتاه، پایداری کم و سمیت بالا رنج می‌بردند. برای بهبود پایداری و اندازه بهینه، محققان با استفاده از موادی مانند مواد فعال سطحی، آلبومین، گالاتوز، لیپید و پلیمر و با هسته گازی هوا، دی‌اکسیدکربن، ازت و گازهایی با انحلال کمتر مانند سولفور هگزافلوراید (SF₆) یا

هسته حباب و محیط دارد. تبادل بین هسته حباب و گاز اشباع‌شده در پلاسمای خون فرایندی پیچیده و دوطرفه است. در هسته PFC که اطرافش گاز زیستی است، گرادیان اسمزی به سمت حباب وجود دارد [۱۲].

برای بررسی اثر پوسته نرم و سخت، داروی دوکسوروبیسین (Dox) که ضدسرطان است را در دو نوع نانوامولسیون با قابلیت تغییر فاز با پوسته‌های مختلف بر پایه لیپید و پلی (لاکتیک-کو-گلایکولیک اسید) (PLGA) با هسته PFP بارگذاری کرده‌اند و نشان دادند با استفاده از امواج فراصوت با شدت کم (low-Intensity Focused Ultrasound, LIFU) تجمع و پخش دارو آشکارا بهبود یافته است و همچنین تکثیر تومور و رشد آن متوقف شده است [۱۳]. رفتار صوتی میکروحباب به شدت وابسته به خواص فیزیکی مواد پوسته است به طوری که القای انتقال قطره به حباب و تخریب آن در میکروحباب‌های با پوسته سخت (PLGA) نیازمند شدت بالاتری است و حباب‌های با پوسته‌ی سخت در فشار صوتی پایین، افزایش حجم از خود نشان نمی‌دهند (شکل ۴).

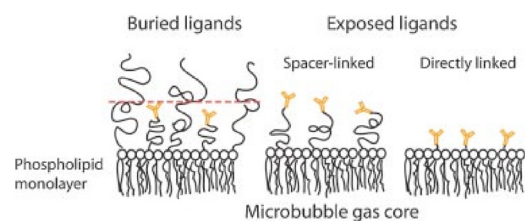
پوسته انتخاب‌شده برای میکروحباب‌ها باید دارای ویژگی‌هایی چون پایداری بالا، زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، خواص مکانیکی قابل تنظیم، خواص برهم‌کنش فراصوت مطلوب، قابلیت هدف‌گذاری، دارای محصولات جانبی غیرسمی و قابلیت حذف شدن توسط روش‌های سوخت‌وساز معمولی، سرعت مناسب رهایش دارو، قیمت مناسب و در دسترس بودن باشد [۲]. در جدول ۱ مشخصات پوسته‌های مختلف میکروحباب‌ها مقایسه شده است.

۴ روش‌های ساخت میکروحباب‌ها

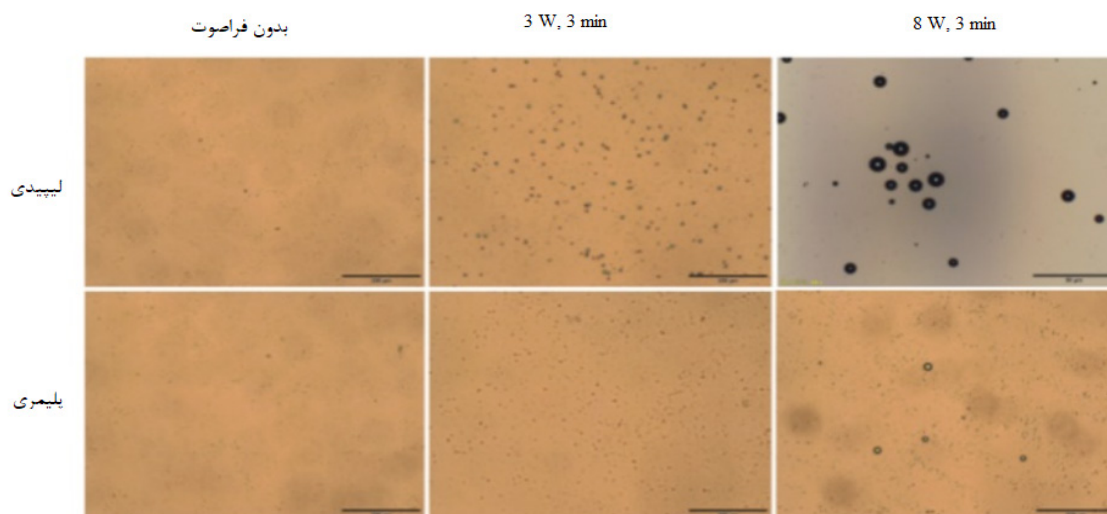
روش‌های متداولی که برای تهیه میکروحباب‌ها به‌عنوان سامانه رهایش مورد استفاده قرار گرفته بیشتر شامل فراصوت، امولسیون‌سازی غشایی (Membrane Emulsification)، امولسیون‌سازی با برش بالا (High-shear Emulsification)، چاپ جوهرافشان، ریزسازی الکترویدرودینامیک هم‌محور (Coaxial Electrohydrodynamic Atomization, CEHDA) و میکروفلوئیدیک (Microfluidic) است. متداول‌ترین روش تولید میکروحباب استفاده از فراصوت به دلیل بازدهی بالا و هزینه‌ی پایین آن است. با این حال، فراصوت قادر به تولید میکروحباب‌های یکنواخت با اندازه

گرفته‌اند [۱۱]. لیگاندهایی بر روی میکروحباب قرار داده می‌شود و با رسیدن این میکروحباب به سلول هدف، پیوندی با گیرنده (Receptor) برقرار شده، میکروحباب ساکن آن بافت می‌شود و در بافت مدنظر تجمع پیدا می‌کند و تصویربرداری و دارورسانی را در بافت هدف انجام می‌دهد. با این روش از آسیب به سایر بافت‌ها جلوگیری می‌شود و در مصرف دارو نیز صرفه‌جویی می‌شود [۱۲]. با توجه به شکل ۳، لیگاندهای هدف‌گیری می‌توانند مستقیماً به سطح میکروحباب متصل شوند یا توسط فاصله انداز (Spacer) به سطح پوسته متصل شوند. این کار برای بهبود سازگاری با حباب و افزایش مقاومت به تنش صورت می‌گیرد. همچنین فاصله اندازهای منعطف می‌توانند تماس با دیوار رگ برای لیگاندهایی که در فاصله دورتری از سطح میکروحباب متصل هستند فراهم کنند. برای کاهش ایمنی‌زایی میکروحباب‌های هدف‌گیری شده، (چون خود هدف‌گیرها مولکول‌های ایمنی فعال هستند) این لیگاندهای هدف‌گیری می‌توانند زیر یک لایه برس پلیمری مثل پلی اتیلن گلیکول (PEG) مخفی شوند. به محض این که میکروحباب‌ها در معرض امواج فراصوت قرار گیرند، به سمت دیواره‌های رگ رانده می‌شوند و برس پلیمری می‌تواند باز شود که در این صورت لیگاندها به گیرنده متصل می‌شود [۱۲].

پوسته نقش مهمی در پایداری مکانیکی میکروحباب ایفا می‌کند. هر چقدر پوسته الاستیک‌تر باشد، در برابر انرژی صوتی بیشتر مقاومت می‌کند. از طرف دیگر پوسته نقش مهمی در پایداری اسمزی و تبادل گاز بین



شکل ۳ آرایش‌های مورد استفاده در سطح میکروحباب برای هدف‌گیری فعال مولکولی [۱۲]. از راست به چپ: اتصال مستقیم، اتصال توسط فاصله‌انداز و اتصال به همراه یک لایه برس پلیمری.



شکل ۴ اثر پوسته سخت (پلیمری) و نرم (لیپیدی) در القای انتقال قطره به حباب توسط فراصوت. نوار مقیاس تصویر نمونه لیپید ۳ min، ۸W برابر $50 \mu\text{m}$ و نوار مقیاس مابقی شکل ها $200 \mu\text{m}$ است [۱۳].

بیشتری در اندازه میکرو حباب ها دارند. با این وجود، چاپ جوهرافشان به تولید ذرات پر شده با مایع محدود می شود و امولسیون غشایی دارای خصوصیات غشایی خاصی از جمله توزیع اندازه حفرات، سفتی غشا و قابلیت ترشوندگی غشا است که این امر باعث می شود تولید میکرو حباب های تک توزیع کوچک تر از $10 \mu\text{m}$ مشکل باشد. علاوه بر این، فناوری های تجاری فعلی برای تولید میکرو حباب ها، در تولید میکرو حباب های چند لایه ای ناکام مانده اند. CEHDA فناوری جدیدی است که قادر به تولید میکرو حباب های چند لایه با

مشخص نیست زیرا اندازه میکرو حباب ها به فرکانس، قدرت و پالس دستگاه تولید کننده فراصوت وابسته است. در این شرایط، صافش اضافی برای از بین بردن حباب های بزرگ مورد نیاز است. علاوه بر این، فراصوت، تنش برشی کنترل نشده ای ایجاد می کند که منجر به ضخامت پوسته متغیر در میکرو حباب ها می شود. امولسیون با برش بالا معمولاً برای تولید میکرو حباب های با پوشش پلیمری استفاده می شود، اما این روش دارای معایب مشابهی با روش فراصوت است. هر دو روش چاپ جوهرافشان و امولسیون غشایی کنترل

جدول ۱ ویژگی پوسته های مورد استفاده در ساخت میکرو حباب ها [۵].

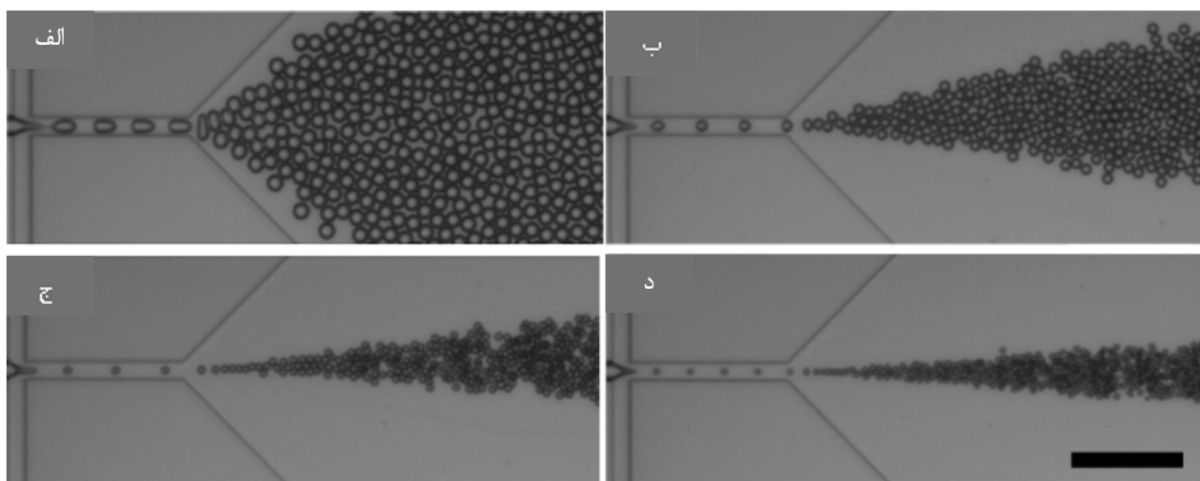
نوع پوسته	ضخامت (nm)	سازگاری با بدن	پایداری	بارگیری دارو	اثرات فراصوت
پروتئین	۱۵-۲۰	متوسط	متوسط	متوسط	اکوزنیک بودن زیاد
لیپید	۳	زیاد	کم تا متوسط	کم تا متوسط	اکوزنیک بودن زیاد
پلیمر	۱۰۰-۲۰۰	کم	زیاد	زیاد	اکوزنیک بودن کم

مولکول‌های دارو است در نتیجه راهبردهای متفاوتی برای بارگذاری دارو باید به کار گرفته شود (شکل ۶). طرح ابتدایی میکروحباب با لایه پایدارکننده لیپیدی یا پلیمری با هسته گازی هوا یا PFC در شکل ۶-الف قابل مشاهده است. لیگاندهای هدف‌گیری می‌توانند برای کمک به تسهیل تجمع میکروحباب‌ها در بافت هدف، به سطح آن متصل شوند. این لیگاندها می‌توانند پادتن‌ها یا توالی کوتاه پپتیدی باشند. خود میکروحباب‌ها نیز می‌توانند به عنوان حامل دارو توسط اتصال دارو یا حتی DNA به سطح خود از طریق برهم‌کنش الکترواستاتیک باشند (شکل ۶-ب). وقتی میکروحباب‌ها در معرض فراصوت قرار می‌گیرند، DNA یا دارو می‌تواند از سطح آن جدا شود و با توجه به این‌که تراوایی غشای سلولی تحت تأثیر فراصوت و میکروحباب قرار می‌گیرد، انتقال DNA یا دارو بهتر صورت می‌گیرد. همچنین داروی چربی‌دوست می‌تواند درون لایه‌ای از پوسته میکروحباب که با آن مخلوط شده است قرار گیرد (شکل ۶-ج). به محض ترکیدن میکروحباب، پوسته به قطعات کوچک‌تری تبدیل می‌شود که حامل دارو است. به منظور افزایش ظرفیت بارگیری میکروحباب، پوسته پایدارکننده می‌تواند توسط لایه روغن ضخیم‌تر شود تا داروی روغنی بیشتری درون آن حمل شود (شکل ۶-د). نانوذرات یا کپسول‌هایی مانند لیپوزوم‌های

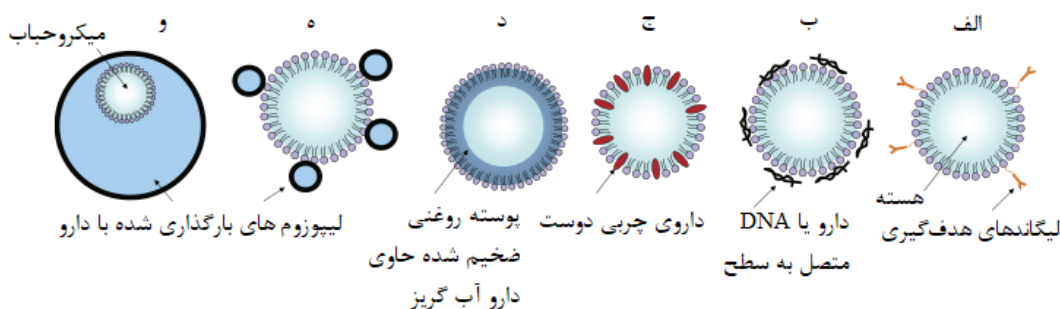
قطر کمتر از ۱۰ میکرومتر است. با این حال، این روش طیف گسترده‌ای از اندازه‌های میکروحباب را نیز تولید می‌کند. فناوری نوین استفاده از میکروفلوئیدیک است که میکروکانال‌هایی با اندازه بین یک تا چند صد میکرون دارد و به این ترتیب می‌توان مقادیر کوچک حجم سیال را کنترل کرد. در مقایسه با متداول‌ترین روش‌های تولید میکروحباب، میکروحباب‌های تولیدشده توسط دستگاه‌های میکروفلوئیدیک دارای اندازه یکنواخت‌تری هستند. با تغییر فشار گاز، سرعت مایع یا ساختار دستگاه، می‌توان اندازه میکروحباب‌ها را به کمتر از $10 \mu\text{m}$ کاهش داد و به راحتی شاخص پراکندگی (PDI) را زیر ۵٪ کنترل کرد (شکل ۵). این دستگاه قادر است در یک مرحله میکروحباب‌های چندلایه تولید کند و ضخامت پوسته، ترکیب پوسته، دوز دارو و سایر اجزای میکروحباب را دقیقاً کنترل کند. بنابراین، دستگاه‌های میکروفلوئیدیک برای تولید میکروحباب‌هایی که در تقویت کنتراست و در دارورسانی استفاده می‌شوند، ایده‌آل هستند. مشکل اصلی میکروفلوئیدیک نرخ تولید کم میکروحباب است که با انجام اتصالات موازی و استفاده از چندین دستگاه می‌توان آن را برطرف کرد [۱۱].

۵ معماری‌های مختلف میکروحباب‌ها

چون گاز درون میکروحباب اغلب حلال ضعیفی برای



شکل ۵ تولید میکروحباب‌های تک‌توزیع و کنترل اندازه در میکروفلوئیدیک با تغییر نرخ جریان فاز پیوسته در نرخ جریان فاز پراکنده ثابت (۰/۱ ml/h). الف: ۰/۲، ب: ۰/۴، ج: ۰/۶ و د: ۰/۸ ml/h، (مقیاس $100 \mu\text{m}$ است) [۱۴].



شکل ۶ سازوکارهای متعدد برای اتصال دارو به میکروحباب‌ها. الف: طرح ابتدایی میکروحباب؛ ب: اتصال سطحی به پوسته میکروحباب. ج: مخلوط شدن با پوسته. د: ضخیم‌تر کردن پوسته با روغن؛ ه: اتصال کپسول به پوسته؛ و: میکروحباب درون کپسول [۱۵].

سه صورت تلفیق دارو در پوسته در طی سنتز، جذب سطحی دارو پس از سنتز و جذب سطحی دارو در طی سنتز بارگذاری شده است. نشان داده شد که روش‌های بارگذاری دارو منجر به تفاوت در میزان بارگذاری دارو و بازده کپسوله‌شدن می‌شود [۱۶].

سمیت این میکروحباب‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفته است. استفاده از Dox درون پوسته میکروحباب‌ها منجر به میزان مرگ سلولی کمتری نسبت به جذب سطحی Dox در پوسته میکروحباب‌ها می‌شود؛ ولی وقتی در معرض فراصوت قرار می‌گیرند، به دلیل رهایش دارو، هر دو عملکرد مشابهی دارند (شکل ۸) [۱۷].

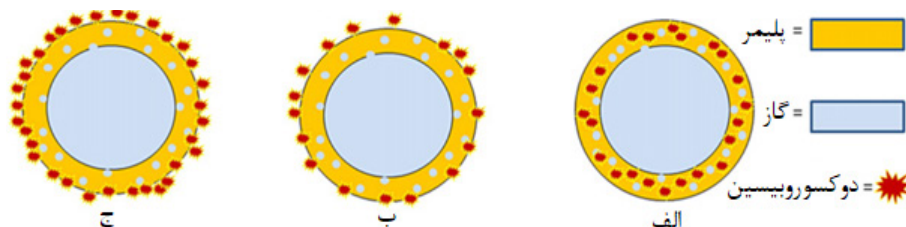
میکروحباب‌ها دارای مشکلاتی مانند ظرفیت بارگیری کم دارو، اندازه بزرگ میکرومتری و زمان گردش پایین هستند [۱۳، ۱۸]. در سال‌های اخیر، عامل تمایز با قابلیت تغییر فاز، به دلیل زمان گردش بالاتر، پایداری و تولید نسبتاً آسان به‌عنوان جایگزین میکروحباب‌ها مطرح شده است [۱۹]. این ذرات عموماً از PFC مایع ساخته

پر شده با دارو می‌توانند به سطح میکروحباب متصل شوند (شکل ۶-ه). هنگامی که میکروحباب‌ها در معرض فراصوت قرار می‌گیرند، به دلیل نیروی مکانیکی ایجاد شده، لیپوزوم‌ها تخریب شده، دارو آزاد می‌شود. با این روش میزان بارگیری دارو بالاتری حاصل می‌شود.

روش جالب دیگر این است که میکروحباب درون میکروکپسول حاوی دارو مانند لیپوزوم قرار گیرد (شکل ۶-و). هنگامی که این حامل در معرض امواج فراصوت قرار می‌گیرد، به دلیل انبساط میکروحباب لایه خارجی لیپوزوم را می‌ترکاند و محتوای لیپوزوم را رها می‌کند [۱۵].

سامانه حلال/کمک حلال باید قادر به حل کردن پلیمر انتخاب‌شده باشد و همچنین به‌صورت ضعیف در فاز پیوسته قابل حل باشد و دارای ویژگی‌های دیگری مانند فراریت، نقطه جوش پایین، سمیت پایین، قیمت مناسب و در دسترس بودن باشد [۲].

در شکل ۷، داروی Dox در میکروحباب‌های با پوسته پلی لاکتیک اسید (Polylactic Acid, PLA) و هسته هوا به



شکل ۷ سه روش بارگذاری داروی Dox در میکروحباب‌های پلیمری. الف: تلفیق دارو حین سنتز، ب: جذب سطحی پس از سنتز و ج: جذب سطحی حین سنتز [۱۶]

کنترل شده دارو با نور در محل تومور تحقق می‌یابد. علاوه بر این، سلول‌های سرطانی هنگامی که انتقال فاز ناشی از نور اتفاق می‌افتد در برابر افزایش حجم سریع PFH آسیب‌پذیر هستند، که می‌تواند به‌عنوان راهبرد درمانی فیزیکی جدید برای بهبود هم‌افزایی اثر درمانی در تومور مورد استفاده قرار گیرد [۲۱].

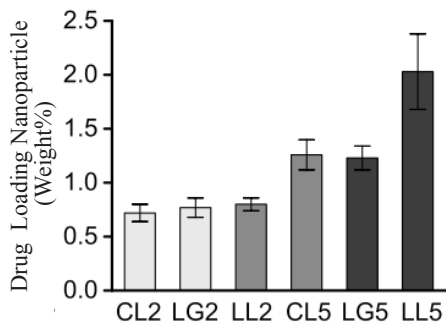
در پژوهشی، نانومولسیون با قابلیت تغییر فاز حاوی سه نوع کوپلیمر دو بلوکی (PEG-PLGA, PEG-PLA, PEG-PCL) به‌عنوان پوسته با هسته PFP به همراه داروی Dox به‌منظور درمان سرطان مورد استفاده قرار گرفت. نشان داده شد که گستره‌ی وسیعی از داروها قابلیت رهایش توسط فراصوت با این حامل‌ها را دارند و همچنین بارگذاری دارو با افزایش وزن مولکولی و آب‌گریزی پوسته، افزایش یافت (شکل ۹). همچنین نشان داده شد که پایداری، بارگذاری دارو و رهایش دارو این نانومولسیون‌ها برای کاربردهای بالینی مناسب است [۲۲].

۶ کاربردها

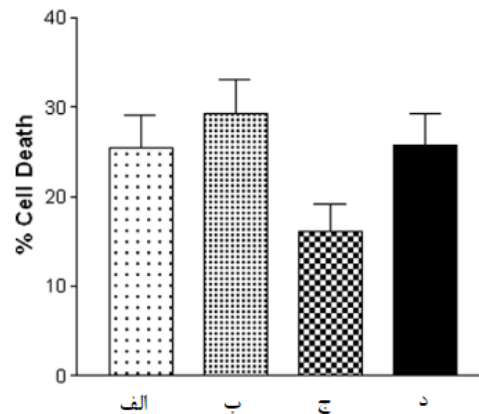
مهم‌ترین کاربردهای میکروحباب‌ها در پزشکی عبارتند از حامل دارو/ژن، تصویربرداری، بهبود تراوایی غشای سلولی و حذف لخته خون که در ادامه مورد بررسی قرار می‌گیرند.

۶-۱ حامل دارو/ژن

بسیاری از داروها ناپایدارند و زمان نیمه‌عمر پایینی دارند



شکل ۹ اثر ماهیت پوسته بر میزان بارگذاری دارو در نانومولسیون؛ CL2= PEG (2 kDa)+PCL (2 kDa)، CL5= PEG (2 kDa)+PCL (5 kDa)، LG2= PEG (2 kDa)+PLGA (2 kDa)، LG5= PEG (2 kDa)+PLGA (5 kDa)، LL2= PEG (2 kDa)+PLLA (2 kDa)، LL5= PEG (2 kDa)+PLLA (5 kDa) [۲۲].



شکل ۸ اثر روش بارگذاری دارو بر سمیت میکروحباب‌ها [۱۷]. الف) جذب سطحی دارو بر روی میکروحباب بدون اعمال فراصوت، ب) جذب سطحی دارو بر روی میکروحباب با اعمال فراصوت، ج) تلفیق دارو در پوسته میکروحباب بدون اعمال فراصوت و د) تلفیق دارو در پوسته میکروحباب با اعمال فراصوت.

شده‌اند و گرمایی که از تابش امواج فراصوت ایجاد می‌شود منجر به تغییر فاز قطره به حباب می‌شود که بعداً توسط فراصوت در شرایط معین، می‌تواند فعال شود [۷]. حباب‌های به وجود آمده می‌توانند تا ۱۰۰ برابر بزرگ‌تر از قطر اولیه باشند [۱۹].

به دلیل اختلاف شدید امپدانس صوتی (Acoustic Impedance) با آب یا بافت، هر دو قطرات PFC و حباب‌ها اکوژنیک هستند. با این وجود، حباب‌ها نسبت به قطرات اکوژنیک‌تر هستند. به علاوه فقط حباب‌ها تحت حفره‌زایی قرار می‌گیرند (نوسان، رشد و فروپاشی) که انرژی فراصوت را متمرکز می‌کنند و جذب درون سلولی دارو را افزایش می‌دهند [۲۰].

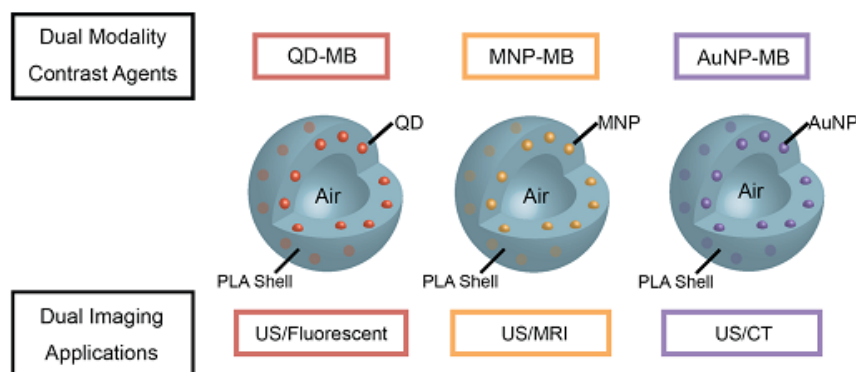
به‌عنوان مواد تغییر فاز دهنده، نانوقطره‌های PFC مایع مانند پرفلوروهگزان (PFH) ظرفیت فوق‌العاده‌ای برای تصویربرداری مولکولی فراصوت دارند. به دلیل پایداری PFC مایع در داخل بدن، حلالیت اکسیژن بالا و اندازه کوچک، آن‌ها را قادر می‌سازد از عروق نشسته یافته تومور به داخل سلول‌های تومور وارد شوند. مهم‌تر از همه، PFH مایع را می‌توان از طریق تبخیر نوری قطرات به میکروحباب‌های گازی تبدیل کرد و تحت اثر حفره‌زایی قرار داد که باعث افزایش نفوذپذیری سلولی و تسهیل تحویل دارو می‌شود؛ از این طریق رهایش

محیط آبی و بافت‌ها هستند در نتیجه متفرق کننده قوی امواج فراصوت هستند که در تصویربرداری تشخیصی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. تصویربرداری مولکولی با فراصوت دارای مزایایی نظیر مشاهده بی درنگ (Real-time)، غیرمخرب بودن، عاری از اشعه‌ی مضر، نسبتاً ارزان و قابل حمل بودن است [۱۸]. همچنین قابلیت بارگذاری انواع نانوذرات بر روی این حامل مهیا است. از نانوذرات برای بهبود خواص پوسته و همچنین برای تصویربرداری چندوجهی (Multimodal) استفاده می‌شود (شکل ۱۰). بارگذاری نانوذرات طلا، آهن یا نقاط کوانتومی در میکروحباب‌ها برای تصویربرداری چندوجهی و رفع محدودیت‌های روش‌های فوق گزارش شده است [۲۴]. پرفلوروکربن‌های مایع جذب ناچیزی در محدوده طول موج مرئی/فروسرخ نزدیک دارند، بنابراین نانوذرات طلا برای تسهیل تبخیر قطرات PFC مایع نیز مورد استفاده قرار گرفته است. به دلیل ظرفیت پایین میکروحباب در بارگیری دارو، استفاده از نانوذرات حامل دارو در کنار میکروحباب نیز گزارش شده است [۲۵]. مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌ها سرطانی به دوز بالا و ناگهانی دارو نسبت به رهایش پیوسته آن، بیشتر واکنش می‌دهند [۲۶]. لذا در سال‌های اخیر تحقیقات بر روی میکروحباب‌هایی که قادر به تحویل دارو به صورت ناگهانی و همچنین تصویربرداری از طریق روش غیرمضر هستند، مورد توجه قرار گرفته است. نانوامولسیون با قابلیت تغییر فاز بارگذاری شده با پاکلیتاکسل (Paclitaxel) همراه کopolymer PLGA-PEG

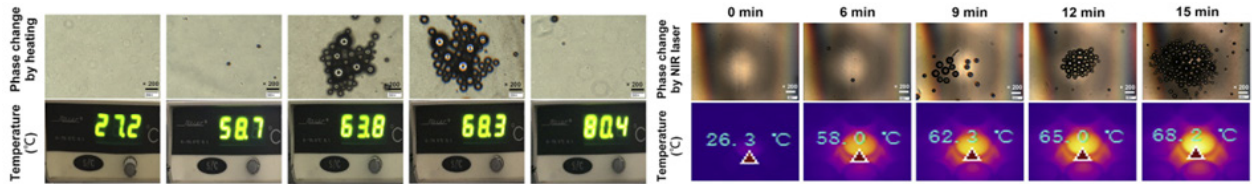
و همچنین دارای اثرات جانبی هستند که نیازمند استفاده در محل یا بافت هدف هستند در نتیجه به حامل نیاز دارند تا سالم به محل موردنظر برسند [۷]. از مهم‌ترین کاربردهای میکروحباب‌ها استفاده به عنوان حامل دارو یا ژن است که رهایش دارو را با محرک فراصوت انجام می‌دهد بدین صورت که دارو در درون، بیرون یا در پوسته بارگذاری می‌شود، سپس میکروحباب حامل دارو پس از رسیدن به بافت هدف، با استفاده از امواج فراصوت منفجر شده، دارو یا ژن در آن محل آزاد می‌شود. میکروحباب‌های ساخته شده با هسته PFP و پوسته لیپیدی با داروی (bFGF) (Basic Fibroblast Growth Factor) در کنار استفاده از امواج فراصوت برای درمان بیماری کلیوی دیابتی (Diabetic Nephropathy) مورد استفاده قرار گرفته است که نتایج نشان داد که این روش نسبت به استفاده از داروی bFGF به طور موثرتری پیشرفت بیماری را به تأخیر می‌اندازد [۲۳].

۶-۲ تصویربرداری (Imaging)

تصویربرداری برای تشخیص زودهنگام بیماری‌هایی مانند سرطان، التهاب روده و غیره و انتخاب روش‌های درمانی بهینه کاملاً حیاتی است. با این حال، هر روش تصویربرداری محدودیت‌های ذاتی خود را دارد؛ از جمله حساسیت نسبتاً کم تصویربرداری تشدید مغناطیسی (MRI)، وضوح پایین سونوگرافی و وضوح فضایی کم تصویربرداری نوری [۲۱]. میکروحباب‌ها به دلیل دارا بودن هسته‌ی گازی، دارای امپدانس صوتی متفاوتی با

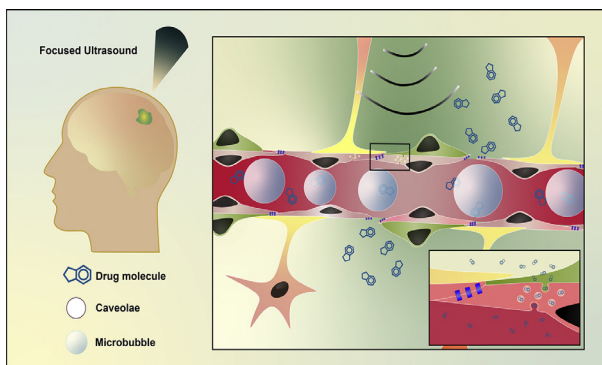


شکل ۱۰ نانوذرات مورد استفاده (طلا (AuNP)، آهن (MNP)، نقاط کوانتوم (QD)) برای تصویربرداری چندگانه [۲۴].



شکل ۱۱ فعال شدن امولسیون با قابلیت تغییر فاز دارای نانوذرات آهن بارگذاری شده با پاکلیتاکسل به همراه کوپلیمر PLGA-PEG با هسته PFH توسط گرما (تصویر چپ) و تابش نور لیزر (تصویر راست) [۲۱].

می‌شوند تا در محل لخته خون تجمع پیدا کنند. سپس با اعمال فراصوت به آن محل، میکروحباب‌ها منفجر شده، با تنش مکانیکی حاصل، لخته‌های خون حل شده و جریان خون بازیابی می‌شود (شکل ۱۳). در پژوهشی، برای حذف لخته خون از نانوامولسیون با قابلیت تغییر فاز با هسته PFH و پوسته PLGA به همراه نانوذرات آهن به همراه پپتید CREKA استفاده کرده‌اند و موفقیت این روش را با LIFU نشان داده‌اند (شکل ۱۴-ب) [۳۰]. وقتی نانوامولسیون در معرض امواج LIFU قرار می‌گیرد، نمونه‌ای که دارای PFH است، با گذشت زمان تشکیل میکروحباب داده و دمای نانوامولسیون نیز افزایش می‌یابد در حالی که در نمونه‌ی بدون PFH تغییرات دمایی خاصی مشاهده نمی‌شود (شکل ۱۴-الف). همچنین علایم بازگشتی و میزان حذف لخته خون در نمونه‌ی دارای PFH نسبت به نمونه‌ی بدون PFH بیشتر است (شکل ۱۴-ج و د).



شکل ۱۲ استفاده از میکروحباب و فراصوت به منظور عبور دارو از سد خونی مغزی [۲۸].

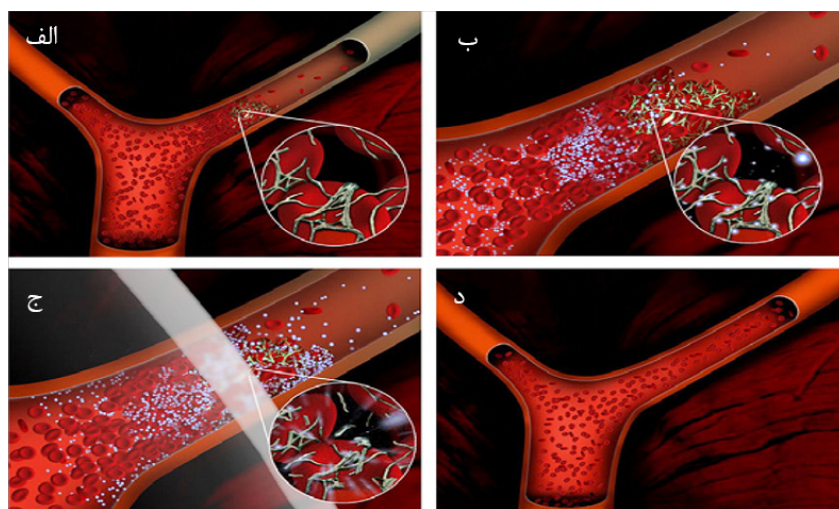
با هسته PFH که نانوذرات آهن بر روی آن بارگذاری شده، برای درمان سرطان پستان مورد استفاده قرار گرفته است که قابلیت رهایش دارو با گرما، لیزر و فراصوت دارد (شکل ۱۱) [۲۱].

۳-۶ بهبود تراوایی غشای سلولی

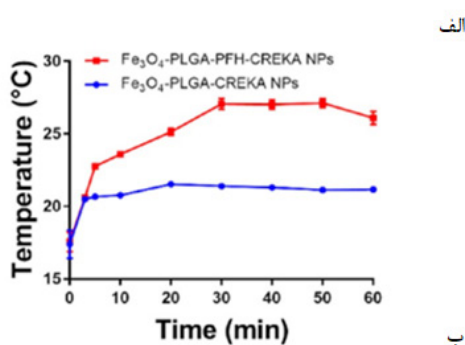
استفاده از میکروحباب‌ها و فراصوت بر تراوایی غشای سلولی موثر است بنابراین از میکروحباب‌ها برای دارورسانی به بافت‌هایی که امکان دارورسانی مستقیم وجود ندارد نیز استفاده می‌شود. به‌عنوان مثال با استفاده از میکروحباب‌ها می‌توان از سد خونی مغزی عبور کرد. سد خونی مغزی از ورود همه داروهای درشت مولکول و بیش از ۹۸٪ از داروهای کوچک مولکول به مغز جلوگیری می‌کند [۲۷]. با توجه به شکل ۱۲، داروها قادر به ورود به سلول‌های مغزی نیستند ولی با استفاده از امواج فراصوت که منجر به بهبود تراوایی غشای سلولی می‌شود، دارو می‌تواند وارد سلول‌های مغزی شود [۲۷]. ترکیب میکروحباب‌های با هسته SF6 با متوسط اندازه ۲/۵ میکرون، با داروی سیتارابین (Cytarabine) برای عبور از سد خونی مغزی به منظور بهبود انسداد سامانه عصبی مرکزی مورد استفاده قرار گرفته است [۲۷].

۴-۶ حذف لخته خون

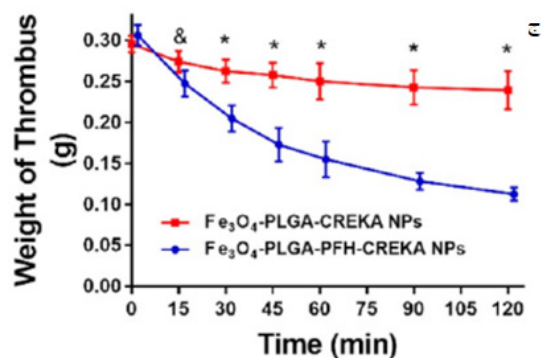
میکروحباب‌ها آستانه حفره‌زایی را پایین می‌آورند که در نتیجه با اعمال فراصوت در کنار میکروحباب‌ها، می‌توان به صورت تقریباً بی‌خطری لخته‌های خون را حل کرده، جریان خون را بازیابی کرد [۲۹]. بدین نحو که میکروحباب‌های هدفمند به جریان خون تزریق



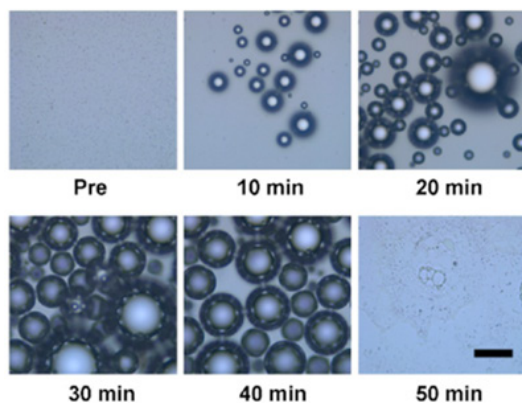
شکل ۱۳ استفاده از میکروحباب و فراصوت برای حل کردن لخته خون [۲۹]. الف: لخته خون در رگ تشکیل شده است. ب: میکروحباب‌های هدفمند تزریق شده به محل لخته خون می‌رسند. ج: به موضع لخته خون فراصوت اعمال می‌شود. د: جریان خون بازایی می‌شود.



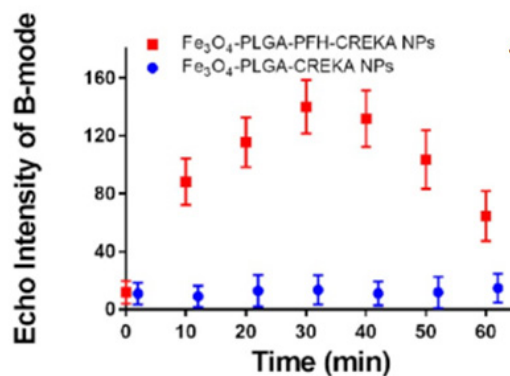
الف



ب



ج



د

شکل ۱۴ تابش LIFU به نانوامولسیون با قابلیت تغییر فاز با هسته PFH و پوسته PLGA به همراه نانوذرات آهن به همراه پپتید CREKA؛ الف: تغییرات دما بر حسب زمان، ب: تصویر میکروسکوپ نوری از تشکیل میکروحباب در زمان‌های مختلف (نوار مقیاس μm ۵۰)، ج: میزان حذف لخته خون بر حسب زمان تابش و د: شدت علایم بازگشتی در زمان‌های مختلف [۳۰].

۷ نتیجه‌گیری

مطالعات تحقیقاتی و کلینیکی در زمینه میکروحباب‌ها و کاربرد آن در پزشکی به سرعت در حال گسترش است. میکروحباب‌ها به‌عنوان عامل دارورسانی و تصویربرداری پاسخگو به فراصوت مطرح است که ویژگی‌های بی‌نظیری دارد. اما در کنار این ویژگی‌های خاص، به‌علت نوظهور بودن، مجهولات زیادی همچنان مشاهده می‌شود. باوجود این که داروهای تجاری اندکی بر پایه میکروحباب به بازار راه پیدا کرده‌اند ولی مهم‌ترین چالش میکروحباب‌ها را می‌توان زمان‌گردش نسبتاً پایین این ذرات عنوان کرد. هرچند که با استفاده از

پوسته‌های پلیمری پیشرفت‌هایی در این زمینه حاصل شده است ولی پوسته‌های پلیمری مشکل پاسخگویی به فراصوت در شدت‌های پایین را دارند که باید با بهبود ساختار میکروحباب‌ها بر این چالش نیز غلبه شود.

میکروحباب‌ها با توجه به ویژگی‌های بسیار مطلوبشان، یکی از موضوعات تحقیقات گسترده در آینده خواهد بود و دور نیست که این عامل، به‌صورت گسترده در بیمارستان‌ها برای درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های قلبی، عصبی، سرطان، التهاب روده و غیره مورد استفاده قرار بگیرد.

مراجع

1. Amreddy N., Babu A., Muralidharan R., Panneerselvam J., Srivastava A., Ahmed R., Mehta M., Munshi A. Ramesh R., Recent Advances in Nanoparticle-Based Cancer Drug and Gene Delivery, Elsevier, United States, **2018**.
2. Azagheswari B.K., Padma S. Priya S.P., A Review on Microcapsules, *Global Journal of Pharmacology*, 9, 28-39, **2015**.
3. Ye C. Chi H., A Review of Recent Progress in Drug and Protein Encapsulation: Approaches, Applications and Challenges, *Materials Science and Engineering: C*, 83, 233-246, **2018**.
4. Hosseini-zade M.-J., An Overview of the Most Important Mechanisms and Systems of Targeted Drug Delivery, *Scientific Journal Management System*, 6, 17-28, **2016**.
5. Sirsi S. Borden M., Microbubble Compositions, Properties and Biomedical Applications, Bubble Science, *Engineering & Technology*, 1, 3-17, **2009**.
6. Liu H.-L., Fan C.-H., Ting C.-Y. Yeh C.-K., Combining Microbubbles and Ultrasound for Drug Delivery to Brain Tumors: Current Progress and Overview, *Theranostics*, 4, 432, **2014**.
7. Bettinger T. Tranquart F., Design of Microbubbles for Gene/Drug Delivery, Springer, United States, **2016**.
8. Xiong X., Zhao F., Shi M., Yang H. Liu Y., Polymeric Microbubbles for Ultrasonic Molecular Imaging and Targeted Therapeutics, Journal of Biomaterials Science, *Polymer Edition*, 22, 417-428, **2011**.
9. Hoff L., Sontum P.C. Hovem J.M., Oscillations of Polymeric Microbubbles: Effect of the Encapsulating Shell, *The Journal of the Acoustical Society of America*, 107, 2272-2280, **2000**.
10. Duarte A.R.C., Ünal B., Mano J.o.F., Reis R.L. Jensen K.F., Microfluidic Production of Perfluorocarbon-Alginate Core-Shell Microparticles for Ultrasound Therapeutic Applications, *Langmuir*, 30, 12391-12399, **2014**.
11. Lin H., Chen J. Chen C., A Novel Technology: Microfluidic Devices for Microbubble Ultrasound Contrast Agent Generation, *Medical & Biological Engineering & Computing*, 54, 1317-1330, **2016**.
12. Tinkov S., Bekeredjian R., Winter G. Coester C., Microbubbles as Ultrasound Triggered Drug Carriers, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98, 1935-1961, **2009**.
13. Cao Y., Chen Y., Yu T., Guo Y., Liu F., Yao Y., Li P., Wang D., Wang Z. Chen Y., Drug Release from Phase-Changeable Nanodroplets Triggered by Low-Intensity Focused Ultrasound, *Theranostics*, 8, 1327, **2018**.
14. Seo M. Matsuura N., Direct Incorporation of Lipophilic Nanoparticles into Monodisperse Perfluorocarbon Nanodroplets via Solvent Dissolution from Microfluidic-Generated Precursor Microdroplets, *Langmuir*, 30, 12465-12473, **2014**.
15. Ibsen S., Schutt C.E. Esener S., Microbubble-Mediated Ultrasound Therapy: a Review of Its Potential in Cancer Treatment, Drug design, *Development and Therapy*, 7, 375, **2013**.
16. Eisenbrey J., Burstein O.M., Kambhampati R., Forsberg F., Liu J.-B. Wheatley M., Development and Optimization of a Doxorubicin Loaded Poly (Lactic Acid) Contrast Agent for Ultrasound Directed Drug Delivery, *Journal of Controlled Release*, 143, 38-44, **2010**.
17. Eisenbrey J., Huang P., Hsu J. Wheatley M., Ultrasound Triggered Cell Death in Vitro with Doxorubicin Loaded Poly Lactic-Acid Contrast Agents, *Ultrasonics*, 49, 628-633, **2009**.
18. Liu J., Shang T., Wang F., Cao Y., Hao L., Ren J., Ran H., Wang Z., Li P. Du Z., Low-Intensity Focused Ultrasound (LIFU)-Induced Acoustic Droplet Vaporization in Phase-Transition Perfluoropentane Nanodroplets Modified by Folate for Ultrasound Molecular Imaging, *International Journal of Nanomedicine*, 12, 911, **2017**.
19. Li D.S., Yoon S.J., Pelivanov I., Frenz M., O'Donnell M. Pozzo L.D., Polypyrrole-Coated Perfluorocarbon Nanoemulsions as a Sono-Photoacoustic Contrast Agent, *Nano letters*, 17, 6184-6194, **2017**.
20. Rapoport N., Nam K.-H., Gupta R., Gao Z., Mohan P., Payne A., Todd N., Liu X., Kim T. Shea J., Ultrasound-Mediated Tumor Imaging and Nanotherapy Using Drug Loaded, Block Copolymer Stabilized Perfluorocarbon Nanoemulsions, *Journal of Controlled Release*, 153, 4-15, **2011**.
21. Guo Y., Wang X.-Y., Chen Y.-L., Liu F.-Q., Tan M.-X., Ao M., Yu J.-H., Ran H.-t. Wang Z.-X., A Light-Controllable Specific Drug Delivery Nanoplatfor for Targeted Bimodal Imaging-Guided Photothermal/Chemo Synergistic Cancer Therapy, *Acta Biomaterialia*, 80, 308-326, **2018**.
22. Zhong Q., Yoon B.C., Aryal M., Wang J.B., Ilovitsh T., Baikoghli M., Hosseini-Nassab N., Karthik A., Cheng R. Ferrara K., Polymeric Perfluorocarbon Nanoemulsions Are Ultrasound-Activated Wireless Drug Infusion Catheters, *Biomaterials*, 206, 73-86, **2019**.
23. Sheng W.-S., Xu H.-L., Zheng L., Zhuang Y.-D., Jiao L.-Z., Zhou J.-F., ZhuGe D.-L., Chi T.-T., Zhao Y.-Z. Lan L., Intrarenal Delivery of bFGF-Loaded Liposome under Guiding of Ultrasound-Targeted Microbubble Destruction Prevent Diabet-

- ic Nephropathy Through Inhibition of Inflammation, Artificial cells, *Nanomedicine, and Biotechnology*, 46, 373-385, **2018**.
24. Teraphongphom N., Chhour P., Eisenbrey J.R., Naha P.C., Witschey W.R., Opanant B., Jablonowski L., Cormode D.P. Wheatley M.A., Nanoparticle Loaded Polymeric Microbubbles as Contrast Agents for Multimodal Imaging, *Langmuir*, 31, 11858-11867, **2015**.
25. Li Y., Zhang X., Luo W., Wang D., Yang L., Wang J., Zhang L., Zhang S., Luo S. Wang Y., Dual-Functionalized Nanoparticles Loaded Microbubbles for Enhancement of Drug Uptake, *Ultrasonics*, 87, 82-90, **2018**.
26. Huebsch N., Kearney C.J., Zhao X., Kim J., Cezar C.A., Suo Z. Mooney D.J., Ultrasound-Triggered Disruption and Self-Healing of Reversibly Cross-Linked Hydrogels for Drug Delivery and Enhanced Chemotherapy, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111, 9762-9767, **2014**.
27. Xi X.-P., Zong Y.-J., Ji Y.-H., Wang B. Liu H.-S., Experiment Research of Focused Ultrasound Combined with Drug and Microbubble for Treatment of Central Nervous System Leukemia, *Oncotarget*, 9, 5424, **2018**.
28. Meng Y., Pople C.B., Lea-Banks H., Abrahao A., Davidson B., Suppiah S., Vecchio L.M., Samuel N., Mahmud F. Hynynen K., Safety and Efficacy of Focused Ultrasound Induced Blood-Brain Barrier Opening, an Integrative Review of Animal and Human Studies, *Journal of Controlled Release*, **2019**.
29. Unger E., Porter T., Lindner J. Grayburn P., Cardiovascular Drug Delivery with Ultrasound and Microbubbles, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 72, 110-126, **2014**.
30. Zhong Y., Zhang Y., Xu J., Zhou J., Liu J., Ye M., Zhang L., Qiao B., Wang Z.-g. Ran H.-t., Low-Intensity Focused Ultrasound-Responsive Phase-Transitional Nanoparticles for Thrombolysis without Vascular Damage: A Synergistic Non-Pharmaceutical Strategy, *ACS nano*, 13, 3387-3403, **2019**.

