



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association
e-ISSN: 2667-8381

Arzu ESEN^a
Mustafa KAYMAZ^b
Şeydanur KARADAĞ^c

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı,
Ankara

ORCID^a: 0000-0001-5797-2888

ORCID^b: 0000-0001-6981-0229

ORCID^c: 0000-0002-3659-7545

*Sorumlu Yazar: Arzu ESEN

E-Posta: aesen@ankara.edu.tr

Geliş Tarihi: 22.02.2022

Kabul Tarihi: 28.12.2022

13 (3): 132-142, 2022

DOI: 10.38137/vftd.1077460

**KÖPEKLERDE MEME TÜMÖRÜ OLGULARINDA
GÜNCEL KEMOTERAPÖTİK YAKLAŞIM:
MİKROBALONCUKLAR**

ÖZET. Meme tümörleri dişi köpeklerde en sık görülen neoplazmlar arasındadır. Dişi köpeklerde bu tür tümörlerin epidemiyolojik ve klinik özellikleri ile biyolojik davranışları, insanlardaki meme karsinomlarına benzer olduğu için dişi köpekler model olarak kullanılmaktadır. Bölgesel veya uzak metastaz olgularında cerrahi eksizyon yerine çoğunlukla kemoterapi tercih edilmekte, fakat pek çok kemoterapötik ajan sistemik toksisiteye sebep olarak ciddi yan etkiler oluşturmaktadır. Bu sebeplerden dolayı, daha az invaziv ve daha etkili terapötik stratejiler araştırılmaya devam etmektedir. Mikrobaloncuklar, ilk olarak 1990'larda ultrason taramalarını daha güvenli hale getirmek için geliştirilmiştir. Bu derleme ile ultrason hedefli mikrobaloncuk uygulamalarının, kemoterapötik ilaçların sistemik toksisitesini azaltabileceğinden etkili bir teşhis ve tedavi tekniği olabileceği hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Dişi köpek, Kemoterapi, Meme tümörleri, Mikrobaloncuk, Ultrason.

**CURRENT CHEMOTHERAPEUTIC APPROACH IN
DOG MAMMARY TUMOR CASES: MICROBUBBLES**

ABSTRACT. Mammary tumors are among the most common neoplasms of the female dogs. Since epidemiological and clinical features and biological behavior of such tumors in female dogs are similar to mammary carcinomas in humans so it is used as a model. In cases of regional or distant metastasis, chemotherapy is mostly preferred instead of surgical excision but many chemotherapeutic agents cause serious side effects by causing systemic toxicity. Because of this reasons, less invasive and more effective therapeutic strategies continue to be researched. Microbubbles were first developed in 1990s to make ultrasound examinations safer. With this review, it is aimed to give information about ultrasound-targeted microbubble applications can be an effective diagnostic and treatment technique as it can reduce the systemic toxicity of chemotherapeutic drugs.

Keywords: Bitch, Chemotherapy, Mammary tumors, Microbubble, Ultrasound.

Makale atfı

Esen, A. ve ark. (2022). Köpeklerde Meme Tümörü Olgularında Güncel Kemoterapötik Yaklaşım: Mikrobaloncuklar, Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni, 13 (3), 132-142. DOI: 10.38137/vftd.1077460

GİRİŞ

Meme bezleri, birleşik tubulo-alveoler yapıdan oluşan ve süt salgılayan modifiye deri bezleridir. Ventral torakal bölgeden inguinal bölgeye kadar simetrik bir sıra halinde mediyan hatta paralel olarak sıralanmıştır. Dişi köpekler genellikle beş çift memeye sahiptir. Meme tümörleri kısırlaştırılmamış dişi köpeklerin en yaygın neoplazmalarıdır. Bu tümörlerden %41-53'ü malign karakterdedir (Fonseca ve Daleck, 2000) ve yaklaşık %60'ı ise kaudal meme loblarında şekillenmektedir. Tedavi seçenekleri arasında, cerrahi yaklaşımlar, radyoterapi ve kemoterapi gelmektedir fakat adı geçen bu yöntemler her geçen gün daha da geliştirilmesine rağmen bu tedaviler nadiren küratif etki göstermektedir (Chun ve ark., 2006; Król ve ark., 2010). Köpek meme tümörlerinde kemoterapi tedavisinde insanlarda kullanılan protokoller kullanılmaktadır. Ne yazık ki, köpek meme kanserinin ilaç direnci ve her bir kemoterapötik ajanın etkinliği hakkında çok az bilgi olduğundan, bu tedavi yöntemleri başarısız olabilmektedir. Cerrahi eksizyon, çoğu meme karsinomu için tercih edilen tedavi olmaya devam etmekte, ancak özellikle lenfatik veya vasküler invazyon gösteren köpeklerde bölgesel ve uzak metastazların yüksek oranı nedeniyle tüm olgularda başarılı olamamaktadır ve farklı bir tedavi seçeneği aranmaktadır (Karayannopoulou ve ark., 2001). Cerrahinin bir seçenek olmadığı orta ve ileri evre kanser olgularında, en başta gelen tedavi yöntemi çoğunlukla kemoterapi olmasına rağmen, birçok kemoterapötik ajan sistemik toksisite gösterdiği için normal dokulara da hasar verme eğiliminde olmakta ve düşük terapötik indekslere neden olmaktadır (Król ve ark., 2010; Snipstad ve ark., 2021). Normalde, çapı 2 ila 10 µm arasında değişen ve gaz ile dolu olan mikrobaloncuklar ultrason kontrast ajan görevi görürler (Luo ve ark., 2017; Lea-Banks ve ark., 2019). Son yirmi yılda, faz-değişimli emülsiyonlar olarak da bilinen sesle aktive olan mikrobaloncuklar bir teşhis aracından terapötik ajana doğru gelişim göstermiştir. Nanoteknoloji, kanser dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar için yeni tanı, görüntüleme ve terapötik ajanların geliştirilmesinde büyük umut vaat eden ve gelişmekte olan bir alandır (Stride ve ark., 2020). Hedeflenen ilaç verme araçları, ilacın toksisitesinin bir sorun olduğu durumlarda özellikle önemlidir. Bu derleme ile ultrason hedefli mikrobaloncuk uygulamalarının, kemoterapötik ilaçların sistemik toksisitesini azaltabileceğinden etkili bir teşhis ve tedavi

tekniki olabileceği, mikrobaloncukların kanser tedavisinde önemli ve non-invaziv bir araç olarak rol oynayabileceği ve malign dokulara kemoterapötik ilaçların iletimi için mikrobaloncuk kullanımının umut verici ve gelişen bir süreç olduğu hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Köpek Meme Tümörlerinde Patogenez ve Prognoz

Meme tümörü gelişimini etkileyen faktörlerin en önemlileri; yaş, ırk ve genetik predispozisyon, hormonlar ve büyüme faktörleri, ekzojen progesteron uygulamaları, siklooksijenaz-2 (Cox-2) ekspresyonu ve beslenme. Meme tümörleri çoğunlukla orta ve ileri yaşlı köpeklerde görülür. Poodle, İngiliz Springer Spaniel, Brittany Spaniel, Cocker Spaniel, German Shepherd, Maltese, Yorkshire Terrier ve Dachshund ırkı köpeklerde meme tümörü görülme insidensi daha yüksektir. Ovaryumdan salgılanan steroid hormonlar fizyolojik şartlar altında normal meme dokusunun gelişimini uyarır. Bu steroidlerin epitel üzerindeki proliferatif etkisi neoplastik proliferasyon için uygun şartlar oluşturabilir ve bu durum her östrus siklusunda tekrar tekrar şekillendiği için dişi köpekleri karsinogenezise karşı daha duyarlı hale getirir (Chang ve ark., 2009). Köpek meme tümörü, ilk östrusundan önce kısırlaştırılan dişi köpeklerin %0,5'inde görülürken; köpekler, birinci veya ikinci östrustan sonra kısırlaştırıldıklarında bu seviyeler sırasıyla %8 ve %26'ya yükselir ve ikinci östrusu takiben köpeklerin kısırlaştırılmasının, malign meme tümörlerinin gelişmesine herhangi bir etkisi olmamaktadır (Gray ve ark., 2020). Beslenme ve obezite köpek meme tümörlerinin insidens oranlarını etkiler. Obez kadınlarda, dolaşımdaki serbest östrojen seviyesinde artış ve aromataz tarafından üretilen lokal östrojende artış bulunabilir. Ek olarak, leptin meme tümörü hücrelerinde proliferasyonun artmasında rol oynayabilir (Cleary ve ark., 2010). Benzer etkinin obez köpeklerde de olması mümkündür (Gray ve ark., 2020). Yaş, tümörün boyutu, deride ülserasyon varlığı, uzak metastazın olup olmaması, lenf nodüllerine metastaz varlığı, östrojen ve progesteron reseptörlerinin ekspresyonu, Cox-2 ekspresyonu, tümörün evresi, histopatolojik sınıflandırılması gibi pek çok faktör prognozu ve sağkalım süresini etkilemektedir (Alenza ve ark., 2000; Chang ve ark., 2005; Millanta ve ark., 2016; Gama ve ark., 2008; Ferreira ve ark., 2009; Queiroga ve ark., 2010; Slecckx ve ark., 2011; Szcubial ve Lopuszynski 2011).

Meme Tümörlerinde Cerrahi ve Medikal Yaklaşım

Operasyon yaklaşımı tümörün büyüklüğüne, bulunduğu bölgeye ve hastanın genel sağlık durumuna göre değişmekle birlikte pek çok farklı operasyon tekniği bulunmaktadır. Bunlar: lumpektomi, basit mastektomi, bölgesel mastektomi, unilateral mastektomi ve bilateral mastektomidir (Fossum, 2013). Konakçıya zarar vermeden ya da çok az zarar vererek, konakçı vücudundaki zararlı etkenlerin gelişmesini durduran veya öldüren maddeler ile yapılan tedavi şekline kemoterapi adı verilir. Kemoterapi genellikle önemli ölçüde sağkalım süresini ya da hastalısız zaman aralığını uzatır fakat küratif değildir. Adjuvant kemoterapi, mikrometastazları ortadan kaldırmak veya inhibe etmek için birincil ameliyattan sonra ek tedavinin uygulanmasıdır (Chew, 2001). Köpeklerde, paklitaksel, doksorubisin, karboplatin ve mitoksantron'a karşı oluşan tümörlerin cevabı ile ilgili çalışmalar mevcut olmasına rağmen adjuvant kemoterapinin tedavi edilen köpeklerin sağkalım sürelerini artırıp artırmadığı hala belirsizdir (Sorenmo, 2003; Poirier ve ark., 2004; Simon ve ark., 2006; Von Euler ve ark., 2013).

Kemoterapide Karşılaşılan Güçlükler

Sistemik kanser tedavileri, terapötik yararı azaltan hedef-dışı iletim, ilaç dozlarının kısıtlanmasını gerektiren ve toksisiteden kaynaklanan yan etkileri de beraberinde getirir. Meme tümörlerinde kemoterapide kullanılan ilaçların dozu, etkinliği ve toksisitesine dair sadece sınırlı bilgiler mevcuttur. Sağkalım süresi ve uygulanan kemoterapötik ilacın etkinliği; hastalığın evresi, tümörün farklılaşma derecesi ve histopatolojik tipi, nüks ve metastaz varlığı, tümörün büyüklüğü, erken tanı ve hızlı bir şekilde başlatılan tedavi gibi pek çok değişkene bağlıdır. Pek çok kemoterapötik ilaç karaciğer ve böbrek yolu ile vücuttan uzaklaştırılır. Eğer bu organlar uygun fonksiyonda çalışmıyor ise, bu ilaçların kontrolsüz birikimi ciddi ve kontrol edilemez intoksikasyon ile sonuçlanabilir. Çoklu ilaç direnci, kemoterapinin en büyük güçlüklerinden bir tanesidir. Kemoterapi ile neoplazi tedavisinde başarının temel bariyeri tümör hücrelerinin sitotoksik ilaçlara dirençli olmasıdır. İlaç dirençliliği tedavi sırasında intrinsik ya da edinsel olabilir ve kinetik dirençlilik, biyokimyasal dirençlilik ve farmakolojik dirençlilik olmak üzere üç şekilde kategorize edilir (Dobson, 2008). Kinetik dirençlilik, mekanizması tam anlamıyla anlaşılammış bir epigenetik olgudur ve çoğalan hücrelerin DNA hasarına

karşı duyarlılığı, hücre döngüsünün ilerlemesi için gerekli olan çok sayıda protein ile ilişkilidir ve bu sürecin her aşaması inhibitörler için potansiyel bir hedefdir (Dimanche-Boitrel ve ark., 1993). Bu nedenle, G0/G1 fazında uzun süre kalan hücrelerin, aktivitesi hücre döngüsünün aşamaların bağlı olan ilaçların toksik etkilerinden korunduğu şeklinde açıklanabilir. Biyokimyasal dirençlilik, çok sayıdaki hücre biyokimyasal mekanizmadan ileri gelmektedir. Bunlar; ilaç birikiminin azalması (tutulunun azalması ya da hücrelerden dışarı çıkışın artması), değişen ilaç metabolizması, değişen ilaç hedefleri ve artan nükleik asit yenilenme kapasitesidir (Nikolaou ve ark., 2018). Farmakolojik dirençliliğe zayıf ya da kararsız ilaç absorpsiyonu, metabolizma, salgılar ya da ilaç etkileşimleri sebep olur (Dobson, 2008). Farmakolojik ve biyokimyasal dirençliliğin bazı formları mevcut dozda toksisitenin minimal olması ya da hiç olmaması koşuluyla ilaç dozunun artırılması ile giderilebilir. İlaçların hücrelerden sızması çoğunlukla membran transport proteinlerine dayanır (Nikolaou ve ark., 2018). Dirençte en iyi bilinen mekanizma P-glikoprotein (P-gp) membran transport proteini aracılığı ile ilaçların hücrelerden dışarı çıkışının artmasıdır (Wilting ve Dannenberg, 2012). P-gp'nin hücresele seviyesinin artışı, farklı kimyasal sınıftaki antrasiklin antibiyotikler, vinka alkaloidleri ve taksanlar gibi birçok ilaca direnci olan hücrelerin çoklu ilaç dirençliliği olarak nitelendirilir (Gottesman, 2002). P-gp'nin aracı olduğu çoklu ilaç direnci P-gp fonksiyonunun bloke edildiği ajanların in-vitro uygulanması ile giderilir. Ancak, veteriner tıpta bu ajanların kullanılması ve çoklu ilaç dirençliliğinin gerçek rolü henüz açıkça tanımlanmamıştır.

Mikrobaloncuklar

Medikal görüntüleme kontrast ajan olarak ve hedeflenmiş ilaç iletimi için taşıyıcı olarak kullanılan mikrobaloncuklar çapı genellikle 0,5-10 µm arasında olan, küçük, gaz dolu baloncuklardır. Bir mikrobaloncunun çapı eritrosit boyutuna eşittir ve vücutta kan damarlarındakine benzer bir reoloji sergiler (Sirsi ve Borden, 2009). Tek bir mikrobaloncuk, lipitler veya proteinler gibi biyolojik olarak uyumlu malzemelerin kabuğuna kapsüllenmiş gaz halindeki bir çekirdekten oluşur. Kabuk; oksijen, sülfür heksaflorür veya perflorokarbonlar gibi gazlar içeren gaz halindeki bir çekirdeği kapsül içine alır (Upadhyay ve Dalvi, 2019). Kabuğun yapısı

mikrobaloncukların stabilitesini ve ilaç yükleme kapasitesini belirler. Mikrobaloncuk osilasyonu ultrason tarafından tespit edilebilen yoğun akustik sinyaller üretir. Mikrobaloncuklar, kanda yavaş çözündüğü için daha iyi görüntüleme ve hastalık teşhisi yapabilmek amacıyla tasarlanmıştır. Mikrobaloncuklar; terapötik ajanın etki bölgesinde birikimle hedeflenmesi, terapötik ajanın gereken dozunun azaltılması, dozla ilişkili toksisitenin azaltılması, terapötik ajanın stabilitesinin artırılarak korunması, terapötik ajanın ilaç salınım profilinin modüle edilmesi, biyoyararlanımı artıran terapötik ajanın farmakokinetik parametrelerinin modifiye edilmesi, terapötik ajanların hoş olmayan kokusunu ve tadını maskelenmesini sağlar. Mikrobaloncukların, intratümöral ve intraperitoneal enjeksiyonlarının invazivliğinden ve intratümöral uygulamanın heterojen iletiminden dolayı, genellikle intravenöz uygulama yolu tercih edilir (Chowdhury ve ark., 2017). İntravenöz iletimin olumsuz noktası ise sistemik toksisite ve bozulmadır. Meme tümörünün tedavisinde non-invaziv bir yol olarak ultrason hedefli mikrobaloncuk imhası kullanılabilir. Çalışmalar yaygın olarak kullanılan antineoplastik ilaçlardan biri olan doksorubisinin tümör bölgesine ultrason kullanılarak doksorubisin-lipozom içeren mikrobaloncuklar olarak verilebileceğini göstermiştir (Lentacker ve ark., 2014). Ultrasona maruz kalan mikrobaloncuk, lokalize ilaç iletiminin etkinliğini arttıracak ve kemoterapötik ilacın toksisite ve ilaç dozunu azaltacaktır (Sorace ve ark., 2012). Tümör vaskülatürü ve lenfatik damarların makromolekülleri sızdırdığı bilinmekte ve mikrobaloncuk yöntemi ile bu sorunun önüne geçilmesi amaçlanmaktadır (Lin ve ark., 2015). Mikrobaloncuklar, ilacı kabuk içinde kapsülleyerek ve ilacı belirli bir bölgeye salarak kemoterapinin yan etkilerini azaltmaya yardımcı olurlar ve böylece normal doku ile ilaç temasını en az düzeye indirirler (Ibsen ve ark., 2013). Tümör endotelial belirteçlerini tanıyan, moleküler olarak hedeflenmiş mikrobaloncukların kullanımının hücre zarları ve damar duvarlarıyla direkt temas oluşturmak suretiyle ilaç iletimini arttırdıkları gösterilmiştir (Kooiman ve ark., 2011).

Mikrobaloncuklar Üzerine Ultrasonun Etkisi

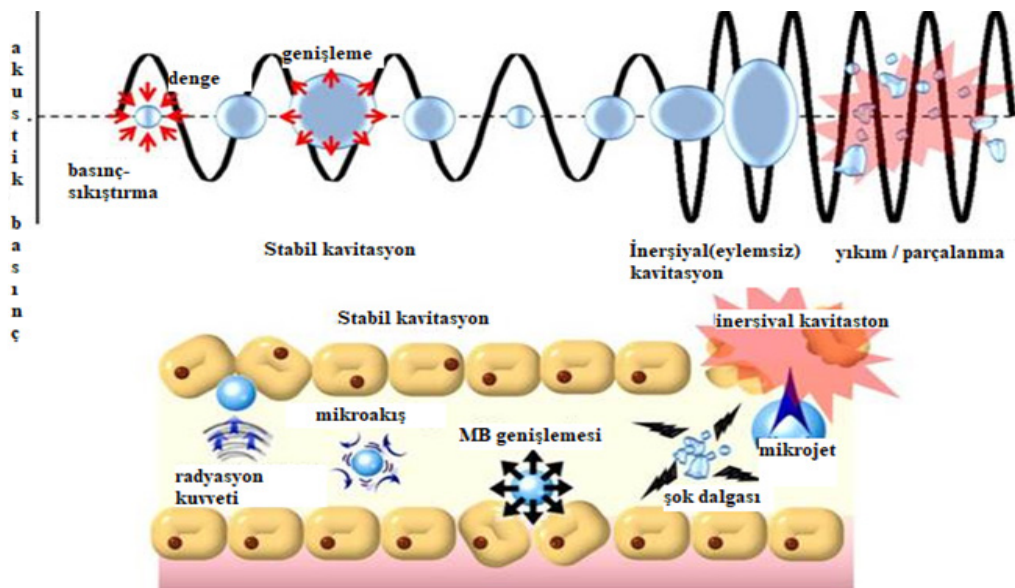
Ultrasonografik görüntülemenin tanısal uygulamaları invaziv olmaması ve genellikle diğer görüntüleme tekniklerinden daha ucuz olması nedeniyle oldukça tercih

edilen bir yöntemdir. Ultrasonografik görüntüleme, klinik tanıda çok başarılı bir modaliteye dönüşmüştür çünkü iyonize radyasyon olmadan yumuşak doku yapılarının ve kan akışının gerçek zamanlı görüntülerini sağlayabilir. Tanısal ultrasonografi tipik olarak 3-10 MHz frekans aralığında çalışır (Carovac ve ark., 2011). Tıbbi ultrason artık klinik teşhis için iyi bilinen bir tekniktir ve yakın gelecekte de önemli bir rol oynamaya devam edecektir. Ultrason enerjisi trombolitik ajanların, transdermal ilaç dağıtımının, kemoterapi ilaçlarının ve gen terapilerinin etkilerini artırabilir (Ryo ve ark., 2001; Nelson ve ark., 2002). Yapılan bir değerlendirmeye göre ilaç taşıma sistemleri üzerine ultrasonun 3 ana etkisi bulunmaktadır. Bu etkiler; termal etki, kavitasyonel etki ve akustik radyasyon kuvveti etkisidir (Mo ve ark., 2012). Kavitasyon, biyolojik bariyerleri geçirir hale getiren itme ve çekme veya şok dalgaları gibi biyo-fiziksel etkilere neden olan bir şekilde gaz baloncuklarının osilasyonu sürecidir. İn vivo ortamda, kavitasyon, dokunun geçirir hale gelmesini sağlamakta ve nano-ilaçların lokal iletimini sağlamakta kullanılmaktadır. Düşük basınçlı ultrason altında mikrobaloncuklar genişler ve implozyon şekillenir, bu olguya stabil kavitasyon adı verilir (Wischhusen ve Padilla, 2019). Stabil kavitasyon genel olarak küçük porların oluşumunu ve endositozu beraberinde getirir (Şekil 1). Ayrıca stabil kavitasyon, kalsiyum influks ve potasyum efluks aracılı iyon kanallarının aktivasyonu yoluyla membran hiperpolarizasyonuna aracılık etmektedir (Liu ve ark., 2014). Yüksek yoğunluklu ultrason maruziyeti altında, mikrobaloncukların osilasyon amplitüdü her döngüyle birlikte artıp en sonunda mikrobaloncuk çöküşüyle sonuçlanır; bu sürece eylemsiz (inersiyal) kavitasyon adı verilir. Çökme üzerine, mikrobaloncuklar, sırayla eylemsiz kavitasyona giren çok sayıda daha küçük mikrobaloncuklara bölünürler (Şekil 1). Çöken mikrobaloncuklar yüksek kesme gerilimleri ve şok dalgaları uygularlar; bu da yüzeyleri yırtar ve porları indükler (Postema ve ark., 2012). Eylemsiz kavitasyon, çok uzun mesafelerde etkili olduğu için mikrobaloncuklar hücre yüzeyleriyle doğrudan etkileşim içinde olmadıklarında dahi ilaç iletimini artırır. İlaç iletimi için gereken ultrason yoğunluğu 0,3 ile 3 W/cm² arasında değişmektedir ve ultrasona maruz kalma süresi, doku ısınmasını önlerken, kavitasyon ve dokunun geçirir hale gelişini indüklemeye ve sürdürmeye yetecek süreyi sağlayacak şekilde sabitlenmiştir (Chowdhury ve ark.,

2017). Odaksız ultrason transdüserler tek seferde büyük doku hacimlerini kapsarlar; bu da tedavi protokolünü hızlandırabilir. Ancak, kavitasyon tümör hacmi ile kısıtlı olmayıp tüm akustik ultrason hüzmesi boyunca meydana gelebilir. Odaklı ultrason transdüserler, birkaç milimetre ile sınırlı bölgesel olarak kontrollü kavitasyon sağladıklarından dolayı ilaç iletiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Chen ve Hwang, 2013). Yeh ve ark. (2015) gerçek zamanlı ultrason görüntülemesinin moleküler ekspresyonun seviyesini nicel olarak belirlemeyi mümkün kıldığını kanıtlamışlardır. Luo ve ark. (2017)'nin yaptığı çalışmada, E-selektin ekspresyonu miktarı mikrobaloncukların eliminasyonuna dayanarak ultrason görüntülemesiyle belirlenebilmiştir. Dolayısıyla görüntü rehberliği ilaç iletimini çok daha güvenilir ve verimli hale getirmektedir. Görüntü rehberliğinde, tedavi transdüserinin hedef dokuya ulaşmak için doğru şekilde konumlandırılması sağlanır ancak, görüntüleme sırasında ilaçlar mikrobaloncuklardan farklı şekillerde diffüze oldukları için ilaç iletiminin takibine olanak verememektedir. Ultrason, por oluşumunu tetikleyebildiğinden, dokunun geçirirli hale getirilmesi sürecine sonoporasyon denilmektedir. Bu sayede, büyük moleküllerin ve partiküllerin hücrelere girmesine yardımcı olmak için hücre zarlarında geçici, ölümcül olmayan

porlar oluşturularak ilaç veya gen iletimi güçlendirebilir. Ayrıca ultrason tek başına, mikro akıştan daha zayıf olan akustik akışı indükler ve aynı zamanda biyolojik etkileri de tetikleyebilir (Lentacker ve ark., 2014). Bu koşullarda yüksek mekanik indeks uygulanır; bu durumun dezavantajı ise klinik uygulamaya uyarlanmasında kısıtlayıcı bir etkisi olmasıdır. Mekanik indeks, pik negatif basınç ve merkezi frekansa bağlı olup, ultrason yoğunluğu ile orantılıdır. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından mekanik indeks limiti, doku hasarını minimize etmek için klinik uygulamalarda 1,9 olarak önceden belirlenmiştir.

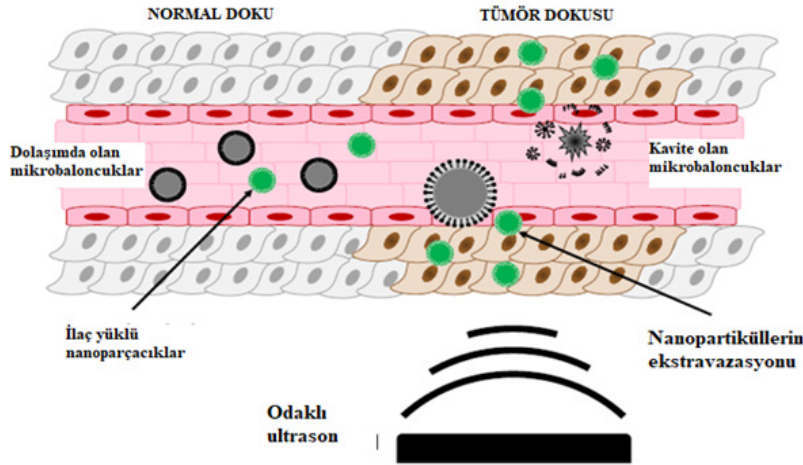
Ultrason-hedefli mikrobaloncuk imhası (UTMD), kavitasyonu tetiklemek için düşük frekanslı orta kuvvette ultrasonun mikrobaloncuklarla kombine edildiği bir ultrason tedavisi türüdür. UTMD, ultrason ve mikrobaloncukların damarlar ve membranlarda açıklıkları indüklemek için etkileşime girmesine dayanır. Alternatif ilaç iletim tekniklerinin aksine UTMD, hedefli ilaç iletimine olanak sağlar (Şekil 2.). UTMD, kavitasyona neden olur ve damar duvarları ve hücre zarları dahil doğal tümör bariyerleri boyunca geçirirliliği artırır ve sonuçta tümörlerin içerisine spatio-temporal olarak kontrollü ve artmış ilaç iletimi elde edilir (Wischhusen ve Padilla, 2019). Mikrobaloncukların imhası, endotelial bir hücrenin membranında kayma stresine neden olacak



Şekil 1. Mikrobaloncuklar ultrason enerjisi ile uyarıldığında ortaya çıkan biyolojik etkilerin altında yatan fiziksel mekanizmalar (Liu ve ark., 2014).

ve geçirgenliğini artıracak yüksek enerjili mikro akışlara veya mikrojetlere neden olabilir. UTMD ve akustik radyasyon kuvveti, mikrobaloncukların hedef dokuya

iletimini teşvik edici bir sinerjik etkiye sahipken bir yandan normal dokuya verilecek hasarı minimize ederler (Kiessling ve ark., 2014).



Şekil 2. Ultrason hedefli mikrobaloncuk yıkımı (UTMD) yoluyla ilaç verilmesi (Wischhusen ve Padilla, 2019).

Mikrobaloncuklarla Kemoterapide Hedeflenen Ligandlar

Folat reseptörleri, normal hücrelerde hiç bulunmaz veya düşük seviyede bulunurken, bazı tümör hücrelerinde çok fazla ürer ve aşırı miktarda bulunur. Folik asit, folat reseptörüne karşı yüksek afinitesi bulunan düşük moleküler ağırlıklı bir vitamindir. Çoğu araştırma, folik asidin değişikliğe uğrattığı mikrobaloncukların ovaryum kanseri (Xing ve ark., 2010), meme kanseri (Chen ve ark., 2012) ve glikomalar (Gao ve ark., 2013) gibi malign karakterli tümörleri hedef alabildiğini göstermiştir. Dolayısıyla, folat hedefli mikrobaloncuklar, tümörlere hedefli ilaç iletimi için güçlü bir araç teşkil etmektedir. Arjinin – glisin – aspartik asit (RGD) peptidi sitomembranlarda integrin alfa ve beta 3 ($\alpha v \beta 3$) reseptörünü hedefleyebilen sekanslardır. İntegrin $\alpha v \beta 3$ reseptörü kanser hücrelerinde bulunur ve RGD-modifiyeli mikrobaloncuklar tümör bölgelerine hedeflenebilir. Anderson ve ark. (2011), RGD-modifiyeli mikrobaloncukların sistemik toksisiteyi minimize ederken aynı zamanda tümör vaskularizasyonunu etkili bir şekilde hedefleyebildiğini göstermiştir. Aptamer bir oligonükleotit sekansıdır. Tümör hücrelerine özel olarak hedeflenebilir ve çoklu ilaç direnci sorununun üstesinden gelebilir. Liao ve ark. (2015) antinükleolin aptameriyle işlevsel hale gelebilecek doksorubisin yüklü lipozom mikrobaloncuklar hazırlamıştır. Sonuçta; bunların çoklu

ilaç direnci sorununun üstesinden gelebildiğini ve meme kanseri üzerinde terapötik etki yaptığını göstermiştir. Wang ve ark. (2013), nano damlacıkların yüzeyindeki sgc8c aptamerini tümöre doksorubisin iletimini arttıracak şekilde modifiye etmiştir.

Mikrobaloncukların Kullanımına Dair Stratejiler

Akustik Küme Tedavisi (ACT), ilk kez Sontum ve ark. (2015) tarafından ortaya atılan bir kavram olup, kemoterapötiklerin iletimine dair özgün bir yöntemdir. Akustik küme, antitümör ilaçla birlikte alımı arttırmaya yönelik olarak verilen pozitif yüklü damlacıklar ile negatif yüklü mikrobaloncuklardan meydana gelir ve daha sonra bu bileşenler arasında elektrostatik bir çekim oluşur. ACT'nin en büyük avantajı bir ilacın alımının tümöre özel olarak artmasını sağlayabilmesidir. Hipoksi –normal dokuda nadiren görülmekle birlikte– dokunun yeterli miktarda oksijen alamadığı patolojik bir durumdur ve çeşitli solid tümörlerde tipik olarak bulunur. Düzensiz vaskularizasyonları sayesinde bu tümörler yüksek interstisyel sıvı basınçlarıyla akut hipoksiya bölgelerine sahip olma eğilimindedir ve antitümör ilaçlar bu bölgelere çok az nüfuz eder (Moen ve Stuhr, 2012). Huang ve ark. (2016) kalsiyum peroksit içeren bir alginat solüsyonu kullanarak oksijen üreten bir depo hazırlamışlar; bunun kalsiyum hidroksit ve hidrojen peroksit üretmek için –

bunlar daha sonra oksijen üretmek üzere dekompoze olurlar–suyla reaksiyona girebildiğini bulmuşlardır. Hücre viyabilitesi analizi ile bu tip bir oksijen üreten deponun malign dokulara yöneltilmiş bir ilacın sitotoksitesini arttırabildiğini göstermiştir. Huang ve ark. (2015) hipoksik dokulara hem mikrobaloncukları hem ilaç yüklü nano parçacıkları iletmek için araç olarak tümörtropik monositleri kullanmıştır ve sonuçlar hem in vitro hem in vivo deneylerdeki ilaç alımının mikrobaloncukların ve ultrasonun varlığında büyük ölçüde artmış olduğunu göstermiştir.

Klinik Uygulamada Öngörülen Zorluklar ve Yan Etkiler

Mikrobaloncukların kliniğe yönelik temel zorluklarından birisi, in vitro ve in vivo davranışları arasındaki korelasyonun öngörülememesidir. Hücresel etkileşimler, taşınım, doku birikimi ve biyo-uyumluluk in vivo modeller kullanılarak araştırılması gereken ana unsurlardır ve bu deneyler kısa süreli değildir (Farjadian ve ark., 2019). Mikrobaloncuklar damar dışına çıkamayacak kadar büyük olsalar da, karaciğer ve dalak normal fonksiyonlarını yerine getirirken bu organlarda birikim gösterebilirler (Ibsen ve ark., 2013). Mikrobaloncuklar çözündüğünde taşıdıkları ilaçlar salınır ve vücudun diğer bölümlerinde (kalp gibi) toksik seviyelere ulaşabilir. Bu sorunu önlemenin olası bir yolu, ön ilaç taşıma kapasitesini seçmektir (Ibsen ve ark., 2010). Ön ilaç, önemli ölçüde azaltılmış sitotoksik sergileyen aktif ilacın kimyasal olarak değiştirilmiş formudur. Bu ön ilaçlar, tümör dokusu içinde terapötik bir forma çeşitli yöntemlerle tetiklenir. Etkinleştirilmemiş ön ilaçlar ile mikrobaloncukların biriktiği sağlıklı dokuda toksisitenin azaltılması sağlanabilir. Nano-taşıyıcıların kan dolaşımında veya dokularda ve organlarda birikim potansiyeli ve uzun vadeli etkilerin genel olarak anlaşılabilmesi nedeniyle, birikme kapasitesinin ve ilaç salım profilinin uzun süre araştırılması gerekmektedir (D’Mello ve ark., 2017; Roovers ve ark., 2019). Mikrobaloncukların in vivo ortamdaki dolaşım süresi olumsuz bir şekilde kısadır ve fizyolojik sıcaklık ile ortam basıncından etkilenmektedir (Stride ve ark., 2020). Gaz-çekirdek yapıların stabilliği gazın kanın içerisinde çözünmesi ve karakteristik olarak düşük inersiyel kaviteasyon eşiği bulunması yüzünden sınırlı olup, bu da in vivo ortamda kısa ömürlü olan bir yapıya neden olur yani ilaç yüklü

mikrobaloncuklar kan akışı ile süpürülüp gidebilir fakat sıvı-halde perfloro karbon (PFC) çekirdeği kullanılarak bu sınırlılıkların üstesinden gelinebilir (Lea-Banks ve ark., 2019). Mekanik bir biyoetki olarak kaviteasyonun aktivasyonu, hücre ölümü ve kan damarlarında hemoraji dahil olmak üzere kaviteasyon aktivitesinin şekillendiği yerin hemen yakınında lokal doku hasarına neden olabilir (Miller ve ark., 2012). Mikrobaloncuklar çok düşük ultrason genişliklerine duyarlıdır. Bu, görüntüleme için avantajlıdır fakat tedavide mikrobaloncuklar istenilen hedef bölgenin dışında kullanıldığı zaman hedef dışı etkilere yol açabilmektedir. Matlaga ve ark. (2008)’nın yaptığı in vivo ve in vitro çalışmalarda dalak, bağırsak ve periton hemorajisi ile birlikte hem hedeflenen alanda hem de kontralateral böbrekler üzerinde geniş yüzeysel hemorajiler gözlenmiştir. Aynı zamanda histopatolojik olarak, böbrekte vasküler ruptur, intralobuler arter ve ven duvarlarında nekroz ve kaviteasyona bağlı böbrek dokusunda yaygın hasar olduğu belirlenmiştir. Kan sıcaklığındaki artış veya hemoliz gibi olumsuz etkiler, apoptozis gibi hücresel düzeyde çok çeşitli mekanik biyoetkiler veya mikrodamar duvarlarının deformasyonu ile submikron gözenek oluşumu olası yan etkilerdir (Izadifar ve ark., 2019). Bu etkiler, birçok çalışmada endişe kaynağı olmuştur (Wu, 1998; Poliachik ve ark., 1999; Dijkmans ve ark., 2004). Ultrason, mikrobaloncukların çeşitli tümörlere ilaçları taşımak üzere uygulamasında bir miktar ilerleme kaydedilmiş olmasına rağmen hala ilaç iletiminin klinik uygulamada tatbikinde bazı güçlükler ve zorluklar bulunmaktadır çünkü mikrobaloncukların ilaç yükleme kapasitesi düşüktür, dahası mikrobaloncukların çeşitli ligandlar açısından modifiyesi yeterli değildir (Salvati ve ark., 2013).

SONUÇ

Kısırlaştırılmamış dişi köpeklerdeki tüm tümörlerin %40’ını meme tümörleri oluşturur ve yaklaşık olarak yarısı malign karakterdedir ve bu tümör köpeklerde büyük bir sağlık tehdidi oluşturmaktadır. Cerrahi en çok tercih edilen tedavi yöntemlerinden biridir ancak uzak metastazı olan hastalarda palyatif olacaktır. Radyoterapi, anti-Cox-2 tedavisi, desmopressin, hormonal tedavi, kemoterapi veya anti-anjiyojenik tedavi gibi farklı adjuvant tedaviler hala araştırılmaktadır. Nanoteknoloji alanı hızla büyümeye devam etmektedir ve bu teknoloji, başlangıçta çok toksik, çok dengesiz veya formüle edilmesi zor olan birkaç

kemoterapötik ilacın klinik kullanımına olanak sağlamıştır. Veteriner hekimliği de bu gelişmelerden yararlanmaya hazırdır. Tümörlerin tek bir platformda uygun şekilde saptanmasına, tedavi edilmesine ve görüntülenmesine olanak tanıyacak şekilde, klinik kullanım ve gelişim için, daha fazla ve farklı formülasyonların test edilmesi ve onaylanması beklenmektedir. En önemlisi, tümörlerin veya tümör ortamlarının hedeflenmesindeki ilerlemeler, bireyselleştirilmiş tıbbın gelişimine daha fazla katkıda bulunacaktır. Tüm bu adımlar sonunda insan ve veteriner tıbbında uygulanan kanser tedavisini etkileyecektir. Veteriner hekimlikte kullanımı için nanoteknoloji kullanan çalışmalar artmakta ve bu tür bir uygulama için umut vaat etmektedir, ancak bu çalışmaların çoğu formülasyonların karakterizasyonunda yetersizdir. Mikrobaloncuk kullanımı kanser tedavisi ve teşhisi için ümit vericidir. Bu yöntemin etkinliği ve güvenlik profilini tam olarak bilmek için daha ileri çalışmalara ve araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Alenza, M. P., Pena, L., Castillo, N. D., & Nieto, A. I. (2000). Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours. *J Small Anim Pract*, 41 (7), 287-291.
- Anderson, C. R., Hu, X., Tlaxca, J., Decleves, A. E., Houghtaling, R., Sharma, K., Lawrence M., Ferrara K. & Rychak, J. J. (2011). Ultrasound molecular imaging of tumor angiogenesis with an integrin targeted microbubble contrast agent. *Invest Radiol*, 46 (4), 215.
- Carovac, A., Smajlovic, F. & Junuzovic, D. (2011). Application of ultrasound in medicine. *Acta Inform Med*, 19 (3), 168.
- Chang, C. C., Tsai, M. H., Liao, J. W., Chan, J. P. W., Wong, M. L. & Chang, S. C. (2009). Evaluation of hormone receptor expression for use in predicting survival of female dogs with malignant mammary gland tumors. *J Am Vet Med Assoc*, 235 (4), 391-396.
- Chang, S. C., Chang, C. C., Chang, T. J. & Wong, M. L. (2005). Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors: 79 cases (1998–2002). *J Am Vet Med Assoc*, 227 (10), 1625-1629.
- Chen, H. & Hwang, J. H. (2013). Ultrasound-targeted microbubble destruction for chemotherapeutic drug delivery to solid tumors. *J Ther Ultrasound*, 1 (1), 1-8.
- Chen, J., Li, S. & Shen, Q. (2012). Folic acid and cell-penetrating peptide conjugated PLGA–PEG bifunctional nanoparticles for vincristine sulfate delivery. *Eur J Pharm Sci*, 47 (2), 430-443.
- Chew, H. K. (2001). Adjuvant therapy for breast cancer: who should get what? *West J Med*, 174 (4), 284.
- Chowdhury, S. M., Lee, T. & Willmann, J. K. (2017). Ultrasound-guided drug delivery in cancer. *Ultrasonography*, 36 (3), 171.
- Chun R., Garret L. D. & Vail D. M. (2006). Cancer chemotherapy. In, Vail DM, Thamm D. Editors. *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 4th ed. United States: Saunders Elsevier; 2006. Pp. 163-192.
- Cleary, M. P., Grossmann, M. E. & Ray, A. (2010). Effect of obesity on breast cancer development. *Vet Pathol*, 47 (2), 202-213.
- Dijkmans, P. A., Juffermans, L. J. M., Musters, R. J. P., van Wamel, A., Ten Cate, F. J., van Gilst, W. & Kamp, O. (2004). Microbubbles and ultrasound: from diagnosis to therapy. *Eur J Echocardiogr*, 5 (4), 245-246.
- Dimanche-Boitrel, M. T., Garrido, C. & Chauffert, B. (1993). Kinetic resistance to anticancer agents. *Cytotechnology*, 12 (1), 347-356.
- D'Mello, S. R., Cruz, C. N., Chen, M. L., Kapoor, M., Lee, S. L. & Tyner, K. M. (2017). The evolving landscape of drug products containing nanomaterials in the United States. *Nat Nanotechno*, 12 (6), 523-529.
- Dobson, J. M., Hohenhaus, A. E. & Peaston, A. E. (2008). Cancer Chemotherapy. In, Maddison, JE., Page, SW. and Church, DB. Editors. *Small Animal Clinical Pharmacology*. 2nd ed. Edinburgh, Saunders Elsevier; 2008. pp. 330-366.
- Farjadian, F., Ghasemi, A., Gohari, O., Roointan, A., Karimi, M. & Hamblin, M. R. (2019). Nanopharmaceuticals and nanomedicines currently on the market: challenges and opportunities. *Nanomedicine*, 14 (1), 93-126.
- Ferreira, E., Bertagnolli, A. C., Cavalcanti, M. F., Schmitt, FC. & Cassali, G. D. (2009). The

- relationship between tumour size and expression of prognostic markers in benign and malignant canine mammary tumours. *Vet Comp Oncol*, 7 (4), 230-235.
- Fonseca, C. S. & Daleck, C. R. (2000). Canine mammary tumors: hormonal influence and effects of ovariohysterectomy as an adjuvant therapy. *Ciencia Rural*, 30, 731-735.
- Fossum, T. W. (2013). Surgery of the Reproductive and Genital Systems. In, Dewey, CW., Horn, CV., Johnson, AL., Macphail, CM., Radlinsky, MG., Schulz, KS., Willard, MD. Editors. *Small Animal Surgery*; 4th ed. Missouri, United States: Elsevier; 2013. Pp. 780-855.
- Gama, A., Alves, A. & Schmitt, F. J. V. A. (2008). Identification of molecular phenotypes in canine mammary carcinomas with clinical implications: application of the human classification. *Virchows Arch*, 453 (2), 123-132.
- Gao, J. Q., Lv, Q., Li, L. M., Tang, X. J., Li, F. Z., Hu, Y. L. & Han, M. (2013). Glioma targeting and blood-brain barrier penetration by dual-targeting doxorubicin liposomes. *Biomaterials*, 34 (22), 5628-5639.
- Gottesman, M. M. (2002). Mechanisms of cancer drug resistance. *Annu Rev Med*, 53 (1), 615-627.
- Gray, M., Meehan, J., Martinez-Pérez, C., Kay, C., Turnbull, A. K., Morrison, L. R. & Argyle, D. (2020). Naturally-Occurring Canine Mammary Tumors as a Translational Model for Human Breast Cancer. *Front Oncol*, 10.
- Huang, C. C., Chia, W. T., Chung, M. F., Lin, K. J., Hsiao, C. W., Jin, C. & Sung, H. W. (2016). An implantable depot that can generate oxygen in situ for overcoming hypoxia-induced resistance to anticancer drugs in chemotherapy. *J Am Chem Soc*, 138 (16), 5222-5225.
- Huang, W. C., Chiang, W. H., Cheng, Y. H., Lin, W. C., Yu, C. F., Yen, C. Y. & Chiu, H. C. (2015). Tumortropic monocyte-mediated delivery of echogenic polymer bubbles and therapeutic vesicles for chemotherapy of tumor hypoxia. *Biomaterials*, 71, 71-83.
- Ibsen, S., Schutt, C. E. & Esener, S. (2013). Microbubble-mediated ultrasound therapy: a review of its potential in cancer treatment. *Drug Des Devel Ther*, 7, 375.
- Ibsen, S., Zahavy, E., Wrasdilo, W., Berns, M., Chan, M. & Esener, S. (2010). A novel doxorubicin prodrug with controllable photolysis activation for cancer chemotherapy. *Pharm Res*, 27 (9), 1848-1860.
- Izadifar, Z., Babyn, P. & Chapman, D. (2019). Ultrasound cavitation/microbubble detection and medical applications. *J Med Biol Eng*, 39 (3), 259-276.
- Karayannopoulou, M., Kaldrymidou, E., Constantinidis, T. C. & Dessiris, A. (2001). Adjuvant post-operative chemotherapy in bitches with mammary cancer. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 48 (2), 85-96.
- Kiessling, F., Fokong, S., Bzyl, J., Lederle, W., Palmowski, M. & Lammers, T. (2014). Recent advances in molecular, multimodal and theranostic ultrasound imaging. *Adv Drug Deliv Rev*, 72, 15-27.
- Kooiman, K., Foppen-Harteveld, M., Van Der Steen, A. F. & De Jong, N. (2011). Sonoporation of endothelial cells by vibrating targeted microbubbles. *J Control Release*, 154 (1), 35-41.
- Król, M., Pawłowski, K. M., Majchrzak, K., Szyszko, K. & Motyl, T. (2010). Why chemotherapy can fail. *Pol J Vet Sci*, 13 (2), 399-406.
- Lea-Banks, H., O'reilly, M. A. & Hynynen, K. (2019). Ultrasound-responsive droplets for therapy: A review. *J Control Release*, 293, 144-154.
- Lentacker, I., De Cock, I., Deckers, R., De Smedt, S. C. & Moonen, C. T. W. (2014). Understanding ultrasound induced sonoporation: definitions and underlying mechanisms. *Adv Drug Deliv Rev*, 72, 49-64.
- Liao, Z. X., Chuang, E. Y., Lin, C. C., Ho, Y. C., Lin, K. J., Cheng, P. Y. & Sung, H. W. (2015). An AS1411 aptamer-conjugated liposomal system containing a bubble-generating agent for tumor-specific chemotherapy that overcomes multidrug resistance. *J Control Release*, 208, 42-51.
- Lin, T. Y., Rodriguez Jr, C. O. & Li, Y. (2015). Nanomedicine in veterinary oncology. *Vet J*, 205 (2), 189-197.
- Liu, H. L., Fan, C. H., Ting, C. Y. & Yeh, C. K. (2014). Combining microbubbles and ultrasound for drug delivery to brain tumors: current progress and overview. *Theranostics*, 4 (4), 432.
- Luo, M. H., Yeh, C. K., Situ, B., Yu, J. S., Li, B. C. & Chen, Z. Y. (2017). Microbubbles: a novel strategy for chemotherapy. *Curr Pharm Des*, 23

- (23), 3383-3390.
- Matlaga, B. R., McAteer, J. A., Connors, B. A., Handa, R. K., Evan, A. P., Williams, J. C. & Willis, L. R. (2008). Potential for cavitation-mediated tissue damage in shockwave lithotripsy. *J Endourol*, 22 (1), 121-126.
- Millanta, F., Citi, S., Della Santa, D., Porciani, M. & Poli, A. (2006). COX-2 expression in canine and feline invasive mammary carcinomas: correlation with clinicopathological features and prognostic fmolecular markers. *Breast Cancer Res Treat*, 98 (1), 115-120.
- Miller, D. L., Smith, N. B., Bailey, M. R., Czarnota, G. J., Hynynen, K., Makin, I. R. S. & Bioeffects Committee of the American Institute of Ultrasound in Medicine. (2012). Overview of therapeutic ultrasound applications and safety considerations. *J Ultrasound Med*, 31 (4), 623-634.
- Mo, S., Coussios, C. C., Seymour, L. & Carlisle, R. (2012). Ultrasound-enhanced drug delivery for cancer. *Expert Opin Drug Deliv*, 9 (12), 1525-1538.
- Moen, I. & Stuhr, L. E. (2012). Hyperbaric oxygen therapy and cancer-a review. *Target Oncol*, 7 (4), 233-242.
- Nelson, J. L., Roeder, B. L., Carmen, J. C., Roloff, F. & Pitt, W. G. (2002). Ultrasonically activated chemotherapeutic drug delivery in a rat model. *Cancer Res*, 62 (24), 7280-7283.
- Nikolaou, M., Pavlopoulou, A., Georgakilas, A. G. & Kyrodimos, E. (2018). The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview. *Clin Exp Metastasis*, 35 (4), 309-318.
- Poirier, V. J., Hershey, A. E., Burgess, K. E., Phillips, B., Turek, M. M., Forrest, L. J. & Vail, D. M. (2004). Efficacy and toxicity of paclitaxel (Taxol) for the treatment of canine malignant tumors. *J Vet Intern Med*, 18 (2), 219-222.
- Poliachik, S. L., Chandler, W. L., Mourad, P. D., Bailey, M. R., Bloch, S., Cleveland, R. O. & Crum, L. A. (1999). Effect of high-intensity focused ultrasound on whole blood with and without microbubble contrast agent. *Ultrasound Med Biol*, 25 (6), 991-998.
- Queiroga, F. L., Pires, I., Lobo, L. & Lopes, C. S. (2010). The role of Cox-2 expression in the prognosis of dogs with malignant mammary tumours. *Res Vet Sci*, 88 (3), 441-445.
- Roovers, S., Segers, T., Lajoinie, G., Deprez, J., Versluis, M., De Smedt, S. C., Lentacker, I. (2019). The role of ultrasound-driven microbubble dynamics in drug delivery: From microbubble fundamentals to clinical translation. *Langmuir*, 35 (31), 10173-10191.
- Ryo, E., Shiotsu, H., Takai, Y., Tsutsumi, O., Okai, T., Taketani, Y. & Takeuchi, Y. (2001). Effects of pulsed ultrasound on development and glucose uptake of preimplantation mouse embryos. *Ultrasound Med Biol*, 27 (7), 999-1002.
- Salvati, A., Pitek, A. S., Monopoli, M. P., Prapainop, K., Bombelli, F. B., Hristov, D. R., Dawson, K. A. (2013). Transferrin-functionalized nanoparticles lose their targeting capabilities when a biomolecule corona adsorbs on the surface. *Nat Nanotechnol*, 8 (2), 137-143.
- Simon, D., Schoenrock, D., Baumgärtner, W. & Nolte, I. (2006). Postoperative adjuvant treatment of invasive malignant mammary gland tumors in dogs with doxorubicin and docetaxel. *J Vet Intern Med*, 20 (5), 1184-1190.
- Sirsi, S. R. & Borden, M. A. (2009). Microbubble compositions, properties and biomedical applications. *Bubble Science, Engineering & Technology*, 1 (1-2), 3-17.
- Sleeckx, N., De Rooster, H., Veldhuis Kroeze, E. J. B., Van Ginneken, C. & Van Brantegem, L. (2011). Canine mammary tumours, an overview. *Reprod Domest Anim*, 46 (6), 1112-1131.
- Snipstad, S., Vikedal, K., Maardalen, M., Kurbatskaya, A., Sulheim, E. & de Lange Davies, C. (2021). Ultrasound and microbubbles to beat barriers in tumors: improving delivery of nanomedicine. *Adv Drug Deliv Rev*, 177, 113847.
- Sontum, P., Kvåle, S., Healey, A. J., Skurtveit, R., Watanabe, R., Matsumura, M. & Østensen, J. (2015). Acoustic Cluster Therapy (ACT)—A novel concept for ultrasound mediated, targeted drug delivery. *Int J Pharm*, 495 (2), 1019-1027.
- Sorace, A. G., Warram, J. M., Umphrey, H. & Hoyt, K. (2012). Microbubble-mediated ultrasonic techniques for improved chemotherapeutic delivery in cancer. *J Drug Target*, 20 (1), 43-54.

- Sorenmo, K. (2003). Canine mammary gland tumors. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 33 (3), 573-596.
- Stride, E., Segers, T., Lajoinie, G., Cherkaoui, S., Bettinger, T., Versluis, M. & Borden, M. (2020). Microbubble agents: New directions. *Ultrasound Med Biol*, 46 (6), 1326-1343.
- Szczubiał, M. & Łopuszynski, W. (2011). Prognostic value of regional lymph node status in canine mammary carcinomas. *Vet Comp Oncol*, 9 (4), 296-303.
- Upadhyay, A. & Dalvi, SV. (2019). Microbubble formulations: synthesis, stability, modeling and biomedical applications. *Ultrasound Med Biol*, 45 (2), 301-343.
- Vasan, N., Baselga, J. & Hyman, D. M. (2019). A view on drug resistance in cancer. *Nature*, 575 (7782), 299-309.
- Von Euler, H., Rivera, P., Nyman, H., Häggström, J. & Borgå, O. (2013). A dose-finding study with a novel water-soluble formulation of paclitaxel for the treatment of malignant high-grade solid tumours in dogs. *Vet Comp Oncol*, 11 (4), 243-255.
- Wang, X., Chen, H., Zheng, Y., Ma, M., Chen, Y., Zhang, K. & Shi, J. (2013). Au-nanoparticle coated mesoporous silica nanocapsule-based multifunctional platform for ultrasound mediated imaging, cytolysis and tumor ablation. *Biomaterials*, 34 (8), 2057-2068.
- Wilting, R. H. & Dannenberg, J. H. (2012). Epigenetic mechanisms in tumorigenesis, tumor cell heterogeneity and drug resistance. *Drug Resist Updat*, 15 (1-2), 21-38.
- Wischhusen, J. & Padilla, F. (2019). Ultrasound-targeted microbubble destruction (UTMD) for localized drug delivery into tumor tissue. *IRBM*, 40 (1), 10-15.
- Wu, J. (1998). Temperature rise generated by ultrasound in the presence of contrast agent. *Ultrasound Med Biol*, 24 (2), 267-274.
- Xing, W., Zhigang, W., Bing, H., Haitao, R., Pan, L., Chuanshan, X. & Ao, L. (2010). Targeting an ultrasound contrast agent to folate receptors on ovarian cancer cells: feasibility research for ultrasonic molecular imaging of tumor cells. *J Ultrasound Med*, 29 (4), 609-614.
- Yeh, J. S. M., Sennoga, C. A., McConnell, E., Eckersley, R., Tang, M. X., Nourshargh, S. & Nihoyannopoulos, P. (2015). Quantitative ultrasound molecular imaging. *Ultrasound Med Biol*, 41 (9), 2478-2496.