

Biyofiziksel Bakış Açısından Kanser

Editör
RECEP AKKAYA

BİDGE Yayınları

Biyofiziksel Bakış Açısından Kanser

Editör: Prof. Dr. Recep AKKAYA

ISBN: 978-625-372-184-8

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 25.06.2024

BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374

Yayın hakları © BİDGE Yayınları

www.bidgeyayinlari.com.tr - bidgeyayinlari@gmail.com

Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.

Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9 Çankaya /
Ankara



ÖNSÖZ

Bilimin ana taşları Fizik, Kimya, Biyoloji ve Matematik temel bilimleri olmuştur. Bu temel bilimler sayesinde bilim basamakları yeni keşiflere ve buluşlara adım atmıştır. Ancak biyolojik dünyanın anlaşılmasında birçok karanlık noktanın aydınlatılması için ise bu temel bilimler tek başına yeterli olamamış ve Fizik-Biyoloji ve Fizik-Kimya etkileşimi sonucu ara (melez) bilim dalları oluşmuştur. Bu ara disiplinlerden biriside Biyofizik olarak ortaya çıkmıştır. Yani kısaca Biyofizik; biyolojik sistemlerde doğanın temel bilimlerini birleştiren ve bu temel bilimler ile sorunu çözen bir bilimdir. Günümüzde biyofizikçi bilim insanları, moleküler seviyeden organizma seviyesine kadar tüm biyolojik ölçekleri açıklama konusunu kapsar. Biyofiziksel araştırmalar biyokimya, moleküler biyoloji, fizikokimya, fizyoloji, nanoteknoloji, biyomühendislik, hesaplamalı biyoloji, biyomekanik, yapay zekâ, gelişim biyolojisi ve sistem biyolojisi gibi birçok alana girmiştir. Bu alandaki bilim adamları, DNA, RNA ve protein biyosentezi arasındaki etkileşimleri ve bu etkileşimlerin nasıl düzenlendiğini içeren hücrenin çeşitli sistemleri arasındaki etkileşimleri anlamakla ilgili araştırmalar yürütmektedir. Ayrıca biyofizik kimliğindeki bilim insanları; Moleküler Biyofizikte kullanılan en yaygın yöntemler arasındaki X ışını kırınımı ve X ışını kristalografisi, Nükleer magnetik rezonans (NMR) spektroskopisi, atomik kuvvet mikroskopisi (AFM), x-ışınları ve nötronlar ile küçük açılı saçılım (SAXS / SANS) soğurma ve floresans spektroskopi görüntüleme teknikleri, Ultra santrifüj, Elektrokardiyografi, Bilgisayarlı tomografi ve pozitron emisyon tomografisi gibi tıbbi cihaz yapımı ve geliştirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmalardan dolayı geçmiş yıllarda Nobel Tıp ödülü almış olan biyofizikçiler bulunmaktadır. Yukarıda bahsedilen tıbbi cihazların

kullanımı ile de moleküllerin doğrudan manipölasyonu, kuvvetlerin ve mesafelerin nano ölçekte olduğu biyolojik olayları izlemek için de kullanılabilir. Moleküler biyofizikçiler genellikle karmaşık biyolojik olayları, istatistiksel mekanik, termodinamik ve kimyasal kinetik gibi bilimler yoluyla açıklanabilen etkileşen varlıkların sistemleri olarak görürler. Çok çeşitli disiplinlerden bilgi ve deneysel teknikler kullanarak, biyofizikçiler genellikle tek tek moleküllerin veya molekül komplekslerinin yapılarını ve etkileşimlerini doğrudan gözlemleyebilir ve modelleyebilirler. Biyofizik ilaç keşfi ve geliştirilmesinde de önemli bir rol oynar, Biyofizik bilim insanları ilaç moleküllerinin fiziksel özelliklerini ve hedefleriyle etkileşimlerini anlayarak etkili ilaçların geliştirilmesine katkıda bulunur. Moleküler yerleştirme, bilgisayar simölasyonları ve biyofiziksel analizler gibi teknikler sanal taramaya, öncü optimizasyona ve ilaç-hedef etkileşimlerinin anlaşılmasına yardımcı olarak ilaç keşif çabalarının başarı oranını artırır.

"Biyofiziksel Bakış Açısından Kanser" adlı kitap, biyofizik alanının kanser sorununa farklı bir bakış açısı ve etkileyici bir örneğini sunmaktadır. Bu kitap, biyofizik alanına giriş yapacak okuyucular için Biyofiziksel açıdan kanser arasındaki kapsamlı bir bilgi sunmaktadır. Bu nedenle kitabın bu alanda gelişecek olan lisans ve lisansüstü düzeyindeki öğrencilere ve meslektaşlarımıza ve biyofiziğe ilgi duyan tüm okuyuculara Türkçe kaynak olarak faydalı olacağını ummaktayım.

Editör

Prof. Dr. Recep AKKAYA

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	3
İÇİNDEKİLER	5
Kanser Tedavisinde Yeni Bir Yaklaşım Olarak Elektrik Alan Tedavisinin Yeri.....	6
Hamit YILMAZ	6
Kanser Tedavisinde Elektrokemoterapi Uygulamaları	26
Mehmet Eşref ALKIŞ	26
Kanser Hücrelerinin Biyofiziksel Açıdan Değerlendirilmesi	65
Recep AKKAYA	65
Birnur AKKAYA	65
Extracorporeal Shock Wave Therapy: Physical Properties, Mechanisms and Indications in Musculoskeletal.....	78
Batuhan BİLGİN.....	78

BÖLÜM I

Kanser Tedavisinde Yeni Bir Yaklaşım Olarak Elektrik Alan Tedavisinin Yeri

Hamit YILMAZ¹

Giriş

Kanser, dünya genelinde yüksek insidansı ve mortalite oranıyla yıkıcı seyrini sürdüren en önemli sağlık sorunlarından biridir. 2020 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, yaklaşık 19.3 milyon yeni kanser vakası teşhis edilmiş ve bunların yaklaşık 10 milyonu ölümcül sonuçlar doğurmuştur. Geleceğe dair tahminler ise kanser vakalarının 2040 yılında %47 artarak 28.4 milyonu aşabileceği yönündedir (Sung et al., 2021). Kanser bu artış eğilimi, küresel sağlık sorunları gündemindeki öncelikli konumunu daha da pekiştirmiştir. Dolayısıyla, kanser tedavisi

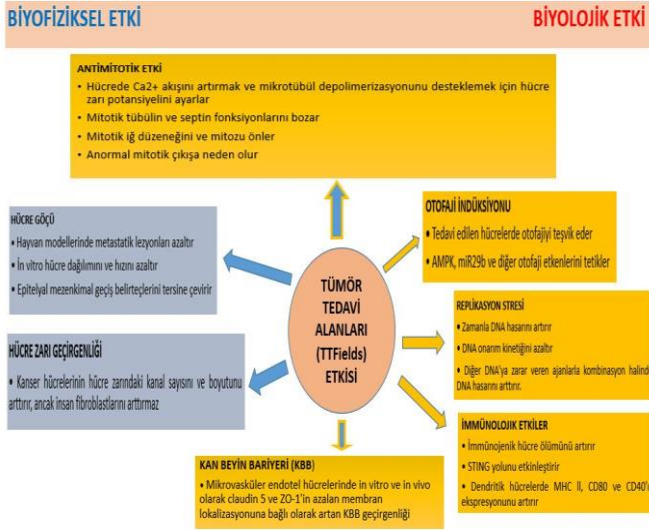
¹ Dr.Öğr.Üyesi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik AD., Rize/Türkiye, Orcid: 0000-0002-8324-1891, hamit.yilmaz@erdogan.edu.tr

alanındaki yenilikçi araştırmalar son dönemlerde daha hızlı bir ivme kazanmıştır. Radyoterapi, kemoterapi, cerrahi müdahaleler, antineoplastik terapi ve immünoterapi gibi modern ve moleküler temelli tedavi yöntemleri, kanser hastalarının tedavi edilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Gotwals et al., 2017). Bu yöntemler tedavide her ne kadar ciddi ilerlemeler kat etmiş olsa da; sağlıklı dokuların etkilenmesine bağlı olarak ortaya çıkan komplikasyonlar tedavinin etkinliğini ve hasta yaşam kalitesini önemli oranda etkilemektedir. Komplikasyonların azaltılması ve tedavinin spesifikleşmesi yönünde araştırmalar hız kesmeden devam etmektedir. Küresel anlamda kanserle mücadelede daha etkili ve yenilikçi tedavi yöntemleri geliştirilmesi, sağlık alanında önemli bir hedef olarak belirtilmektedir.

2.Tümör tedavi alanları (TTF)

Düşük frekanslı elektrik alan ile tümör inhibisyonu (Tumor Treating Fields; TTF) son dönemde kanser tedavisinde yenilikçi bir yaklaşım olarak yer edinmiştir. TTF'ın temel etki mekanizması olan antiproliferatif etkinliği yanında çeşitli hücresel süreçleri de etkilediği (şekil 1) birçok prelinik çalışmayla (Kirson, Schneiderman, et al., 2009; "Novacure," n.d.; Pless & Weinberg, 2011) ortaya konulmuş olup Nisan 2011'de ilk klinik kullanımı için Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'den (The Food and Drug Administration; FDA) onay almıştır. TTF araştırmalarına öncülük eden Eilon D. Kirson ve ekibi Ekim 2015'te Glioblastoma multiform (GMP) tedavisinde cerrahi ve radyoterapiye eşlik eden yenilikçi bir tedavi ajanı olarak Optune® (Novocure Ltd., Haifa, Israel) ticari ismiyle FDA'dan onay almıştır (Davies, Weinberg, & Palti, 2013). TTF onayları GBM bazlı alınmış olsa da terapatik etkinliğini fiziksel

yolla göstermesinden dolayı doğası gereği yakın gelecekte birçok kanser tipinde etkin olacağı öngörülmemektedir.



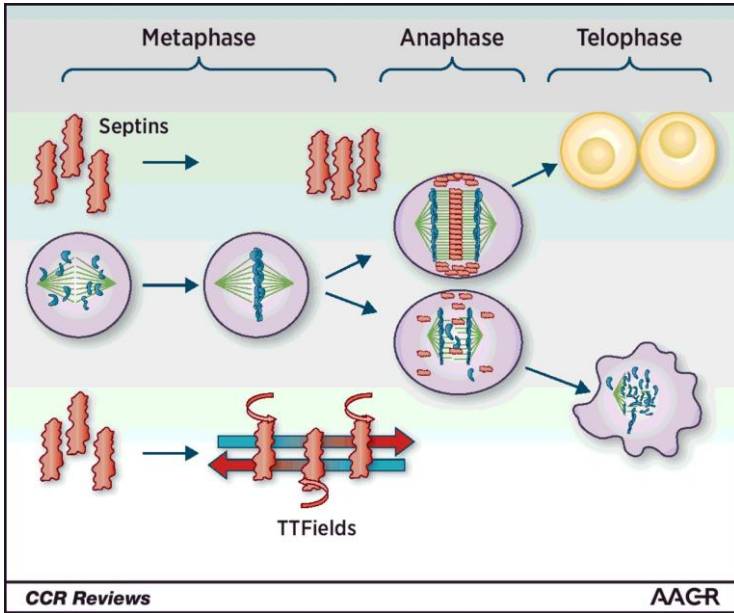
Şekil 1: TTFIELDS biyofiziksel ve biyolojik etkileri

3.TTF etki mekanizması

3.1 Biyofiziksel mekanizması

TTFIELDS'in bölünebilen hücrelere etkisi esas olarak mitotik süreçte kilit rol oynayan yüklü makro molekül ve organallerde meydana getirdiği etkiyle açıklanmaktadır. Bu hücresel elemanların disfonksiyonu mitotik süreci baskılayabilir. Dipol hizalanma ve dielektroforez bu etkileşimin altında yatan temel iki fiziksel prensiptir (Porat et al., 2017). Dipol kavramı kısaca pozitif ve negatif yüklerin yarışı olarak ifade edilebilir. Polar moleküller uniform bir elektrik alan içinde akmaya ve maruz kaldığı elektriksel kuvvet vektörünün yönünde sıralanmaya meyilli iken; non-uniform bir elektrik alan kuvvetinde ise daha yüksek yoğunluklu bölgede

toplanmak ister (dielektroforez). Mitoz ve sitokinezden sorumlu makromoleküllerin polaritesi yüksek olduğundan lokalize bir elektrik alan uygulamasından kolaylıkla etkilenir ve bölünme sürecinde bozulmalar meydana gelebilir. Hücrede sağlıklı bir mitoz için polarize moleküllerin özellikle tübülün ve septinin uzaysal ve zamansal olarak doğru konumlanması gereklidir (Moser et al., 2022; Vergote, Macarulla, Hirsch, Hagemann, & Miller, 2023) (Şekil 2). Hücresinin uniform bir elektrik alana maruziyeti bu konumlanmayı bozabilir (Gonzalez & Remcho, 2005). TTFields’in en güçlü etkisi kromozomların anafaz aşamasında ekvator düzleminde konumlandığı zaman, vertikal olarak uygulandı durumlarda ortaya çıkmaktadır (Moser et al., 2022).



Şekil 2: Mitotik bozulmaya yol açan TTFields modeli (Mun, Babiker, Weinberg, Kirson, & Von Hoff, 2018).

(Normal mitoz anafaz fazında septin 2,3,6 komplekslerinin de etkisiyle sitokinetik ağ kurulur. TTFields paralel liflerin uzun eksen etrafında dönmesine neden olarak ağ oluşumunu engeller. Uygun septin ve sitokinetik ağın kurulmaması anafaz fazının başarısız olmasına neden olarak mitotik süreci baskılar.)

TTFields'in etkisi hücre döngüsüne bağlıdır. Yapılan çalışmalar hücrenin G1 ve M fazlarında TTFields'a dirençli ancak G1/S fazının hassas olduğunu göstermektedir (Kirson et al., 2007).

TTFields, iki vertikal dönüştürücü kullanılarak tümörlere transdermal olarak iletilen 100 – 400 kHz frekan aralığında alternatif akım (AC) oluşturduğu elektrik alanıdır. Farklı kanser türlerinde tümör tipine, yerine ve derinliğine göre değişmekle birlikte optimal AC frekansı invivo ve invitro deneylerde ortaya konulmuştur (Benson, 2018). Kirson ve arkadaşlarının ilk FDA onaylı terapötik cihazlarında ise dalga formunu 100–200 kHz, <2 V/cm olarak belirtilmiştir (Kirson et al., 2007). Çoklu insan kanser hücrelerinde doz-yanıt eğrileri; efektif bir TTFields uygulaması için en az ~1 V/cm AC eşik değeri olarak gösterilmiş olmakla birlikte genel olarak ~2 V/cm'lik AC uygulamaları kabul görmektedir. Bununla birlikte %100 etkinlik için beyin tümörlerinde ~2.45 V/cm, akciğer kanserlerinde ~2.6 V/cm, meme kanserinde ~3.5 V/cm, melanoma için ~1.4 V/cm AC uygulamaları önerilmektedir (Moser et al., 2022).

3.2.TTFields'in antimitotik etki mekanizması

KontROLSÜZ ve hızlı mitoz aktivite kanser hücrelerinin en spesifik özelliğidir. Bu nedenle tümörün metastazını engellemek için bölünme sürecini etkilemeye yönelik birçok antikanser ajan geliştirilmiştir (Hottinger, Pacheco, & Stupp, 2016; Moser et al.,

2022). Bu tür ajanların esas etki mekanizması; mitoz bölünmede kontrol noktalarını etkileyip bölünmenin yavaşlamasını ve nihayetinde hücrenin apoptozunu amaçlar (Sinha, Duijf, & Khanna, 2019). Kontrol noktalarının baskılanması ise hücrenin antimitotik ilaçlara daha duyarlı hale gelmesine neden olur (Shams & Patel, 2022).

TTFields tedavisinde anormal kromozomal ayrılmalar ve hücresel multinükleasyon yanında uzamış mitotik aktivitede gözlemlenmiştir (Le, Staelens, Lazzari, Chan, & Tuszyński, 2022). Mitoz bölünme kontrol noktalarının ana düzenleyici kinazı olan *MPS1*'in bloke edilmesi, daha erken ve uzun süreli TTFields etkilerine yol açmaktadır. Bunun yanı sıra diğer antikanser tedavileriyle eşzamanlı TTFields uygulamaları, tekli uygulamaya nazaran hücre proliferasyonunu daha çok azalttığı bildirilmiştir (Kessler et al., 2018). TTFields etkisinin, mikrotübül düzeneğini bozduğu bilinen *paklitaksel* ve *withaferin A* gibi kemoterapik ajanlarla birleştirildiğinde daha belirgin hale geldiği bildirilmiştir (Giladi et al., 2014).

TTFields'in telofaz/sitokinez fazlarındaki etkinliği yoğunluk ve frekansla orantılıdır (Tanzhu et al., 2022). Uygulanan elektriksel alan kuvveti (EAK); tübülün heterodimerlerinin stabilitesi ve kardeş kromatitlerin iğ liflerine bağlanmasını modüle etmektedir. EAK'nın neden olduğu konformasyonel değişiklikler mikrotübüllerin stabilitesinde önemli oranda etkilemektedir (Arvind et al., 2021). Dolayısıyla TTFields, polimerize tübülün/toplam tübülün oranını azaltarak uygun mitotik ağın kurulmasını engeller. TTFields sadece mitotik ağı bozmakla kalmaz aynı zamanda mikrotübüllerin bağlantı ağlarını da bozar. TTFields ayrıca dielektrostatik etkisiyle metafaz-

anafaz geçişine müdahale eder. EAK, sitokinetik süreçte anahtar rol oynayan ve yüksek polaritesi olan septin protein kompleksiyle etkileşime girer (Wong, Lok, & Swanson, 2018). Ayrıca septin mikrotübül birleşmesini de baskılar. Bu gibi antimitotik etkiler sonucunda; G0-G1 hücre döngüsünde bozulmalar, başarısız sitokinez ve P53'e bağlı apoptotik sürecin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Gera et al., 2015b). Bunun yanında bu etkilerin niteliği noktasında hücre içi ortamın biyofiziksel durumu ve tübilin özellikleri de dikkate alınmalıdır. Bazı kaynaklar da EAK'ın hücre zarı kanallarında genişletip hücre içi ortama daha çok Ca^{++} girmesine neden olabileceğini, bu durumun da mikrotübül polimerizyonunda artışa ve dolayısıyla TTFields antimitotik etkisinde azalmaya neden olabileceği bildirilmiştir (Li, Yang, & Rubinsky, 2020).

3.3. ER Stresi ve Otofaji

TTFields anormal mitoz ve endoplazmik retikulum stresi nedeniyle otofajiyi indüklemektedir. RNA analiz çalışmaları TTFields uygulamasının, otofaji ile ilgili multiple gen ekspresyonunu 2 kattan fazla arttırdığını ve otofajiyi ilgili hücrel değişiklikler (ER stresi, vakoullizasyon, otofagozom, mitokontriyal matriks şişmesi gibi) ortaya çıktığını göstermektedir (Kim et al., 2019). Bu etkileşimin replikasyon stresine bağlı olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir. Ayrıca ana hücrede ortaya çıkan otofajinin yavru hücrelerde de genomik kararsızlık ortaya çıkardığı bildirilmiştir. TTFields otofajiyi farklı mekanizmalar üzerinden indükleyebilir. Otofajiyi arttıran ve modüle eden AMPK'nin pozitif yönlü regülasyonu bunların en temel bilinenidir (Shteingauz et al., 2018). Bununla birlikte ortaya çıkan otofajinin TTFields'ın bir sitotoksik

etkisi mi yoksa TTFields karşı ortaya çıkmış bir direnç mekanizması mı olduğu hala tartışılmaktadır.

4. Biyolojik Etkiler

4.1 DNA Replikasyon Stresi

TTFields DNA hasarına ve replikasyon stresine neden olan antikanser ajanların etkinliğini arttırmaktadır. Bu etkinin *fankoni anemi* yolağında gen ekspresyonunun susturulmasıyla ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (Mumblat et al., 2021). Farklı kanser türlerinde yapılan çalışmalarla kombine tedavi edici etkinin DNA hasarına bağlı olduğu bildirilmiştir. Kim ve ark. yakın dönemde yaptığı İyonizan radyasyon (IR) + TTFields uygulamasının DNA onarım kinetiklerinin yavaşlamasına neden olduğunu bildirmiştir (Giladi et al., 2017) . TTFields'in replikasyon stresinin bir belirtici olan DNA R-döngüsünü indüklediği de gösterilmiştir (Karanam, Ding, Aroumougame, & Story, 2020). Ortaya çıkan replikasyon stresi, TTFields'in antikanser etkilerine katkıda bulunabilir. Bununla birlikte, genomik istikrarsızlık yoluyla dirence de yol açabilir. Nitekim uzun süreli TTFields uygulamalarının dirence sebep olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Moser et al., 2022). Ayrıca, TTFields'in *mini kromozom bakım (MCM)* ailesini baskılayarak DNA replikasyonunu azalttığı ve TNT'ler dahil filamentli yapıların oluşumunu baskıladığı gösterilmiştir (Farmani et al., 2022). TNT'ler, kanser hücrelerinde hücrel içeriklerin transferinde kritik bir rol oynar ve bu yapıların TTFields kaynaklı bozulması, yeni bir anti-kanser mekanizması olarak ifade edilebilir (Lou et al., 2012). Kanserli olmayan hücrelerde DNA replikasyonu olmadığından bu hücrelerin etkilenimi çok azdır. Böylece TTFields

klirik uygulamalarında toksik etkininin olmamasının altında yatan esas etkende açıklığa kavuşmaktadır.

4.2 Hücre Metastazı

Solid tümörlerin en spesifik özelliğı olan metastaz canlı için yıkıcı etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Hücre biyofiziksel özelliklerinde dinamik değışiklikler gerektiren bu durum TTFields uygulamasıyla baskılanabilir (Kim, Song, Yoo, & Yoon, 2016). TTFields'ın rat ve tavşan çalışmalarıyla akciğer melononu ve pankreas metastazlarında baskılayıcı etkili bildirilmiştir (Kirson, Giladi, et al., 2009; Voloshin et al., 2020). Özellikle glioblastoma (GBM) tedavisinde metastatik süreci baskıladığını gösteren çok sayıda preklirik-klirik çalışma mevcuttur (Kim et al., 2016). Giladi ve ark. küçük hücreli akciğer kanseri odaklı çalışmalarında *sisplatin*, *paklitaksel* tedavisine tamamlayıcı olarak uygulanan TTFields uygulamasının metastazı önemli ölçüde baskıladığını bildirmiştir (Giladi et al., 2014). TTFields çalışmaların çoğı mikrotübüllere odaklanmıştır, ancak TTFields muhtemelen aktin filamentinide benzer şekilde etkilemektedir. MPM hücrelerinde hücre içeriğinin taşınmasında görevli F-Aktin ve nanotübillerin oluşumunun azaldığını bildirmişlerdir (Sarkari et al., 2021). Kanser hücreleri hızla büyür ve çevredeki normal dokuyu istila eder. Bunu yaparken, oksijenin varlığına rağmen, enerji kaynağı olarak büyük oranda glikolizi kullanır. TTFields'ın anormal glikolizden oksidatif fosforilasyona bir kaymaya neden olarak sağlıklı hücrelere etki etmeden anormal kanser metabolizmasını baskılayıp yüksek hücre ölümüyle sonuçlanan bir süreci işlettiğı muhtemeldir (Shams & Patel, 2022). Tüm gelişmelere

rağmen TTFields'in metastaz sürecine etkisi hala tam aydınlatılmamıştır.

4.3 Hücre Zarı Geçirgenliğine Etkisi

TTFields'in yakın dönemde keşfedilen bir diğer özelliği de hücre membran geçirgenliğinde artışa yol açmasıdır. İnsan fibroblast hücrelerinde yapılan çalışmalar geçirgenlikteki bu artışı kanserli hücrelerde sağlıklı hücrelere göre daha bariz gözlemlemiştir. TTFields bu etkisini hücre kanal sayısını ve boyutlarında artış yaparak ortaya koymaktadır (Chang et al., 2018; Shams & Patel, 2022). Böylece kanser hücrelerinde 20 kDa'a kadar reaktiflerin girişi kolaylaşmıştır. İlginç şekilde TTFields uygulamasına (6-24 saat, 4 V/cm, 200 kHz) 24 saat ara verildiğinde artan zar boyut ve gözeneklerinin tersine döndüğü de gözlemlenmiştir (Chang et al., 2018). Gera ve ark. membran bütünlüğünün ve vakolizasyonun uygulanan TTFields kadar hücrenin içinde bulunduğu mitoz fazına da bağlı olduğunu bildirmiştir (Gera et al., 2015a). Özellikle S fazında uygulanan TTFields'in nükleer zar hasarına neden olması ihtimali yüksektir. Çekirdek zar hasarı ve DNA parçacıklarının salınımı ise kaspaz-1 aracılı yolağın tetiklenmesine neden olabilir (Lee, Grabowski, & Lathia, 2022). Bu bulgular, TTFields'in tanısal ve terapötik kemoterapi ajanların kanser hücrelerine penetrasyonunu artırmaya yardımcı olmak için kullanılabileceğini düşündürmektedir. Tüm gelişmelere rağmen TTFields'a bağlı zar geçirgenliği fenomenini açıklamak için farklı biyofiziksel modellemelerle süreç değerlendirilmelidir.

4.4 Kan-Beyin Bariyerine etkisi

Beyine ilaç iletiminde Kan-Beyin Bariyeri (KBB) kısıtlayıcılığının aşılması önemli bir sorundur. Astrositler, perisitler ve nöronlardan gelişimsel ve fonksiyonel destek alan ve büyük oranda endotel hücrelerinden oluşan KBB, geçit görevi görmektedir. TTFields KBB'ni geri dönüşümlü olarak açar, ancak frekansla ilişkisi net değildir. KBB, beyin iç ortamının stabilitesini korumak için hayati bir yapıdır. Çoğu kemoterapötik ilacın KBB'yi aşma zorluğu beyin tümörlerinde kemoterapinin etkinliğini önemli ölçüde kısıtlamaktadır. Kapiller endotelyal hücrelerde frekansa, yoğunluğa ve süreye bağlı TTFields uygulamasının, ana sıkı bağlantı proteini claudin-5'in yanı sıra sitoplazmik yardımcı protein zonula occludens-1'in delokalizasyonuna yol açtığı gösterilmiştir (Salvador et al., 2022).

Mevcut çalışmalar, sıçanlarda KBB'ni açmak için en iyi frekansın 100 kHz olduğunu göstermiştir (Salvador et al., 2022). Geçirgenlik, genellikle maruziyeten 24 saat sonra en belirgindir. KBB iyileşmesi, TTFields'in sona ermesinden 48 saat sonra başlar ve 96 saatte tamamen düzelmektedir (Kessler et al., 2019). Beyin tümörlü sıçanlarda KBB'ni geçemeyen bir ilaç olan paclitaxel ile TTFields'in kombine tedavisinde, tümör proliferasyonu ve hacmi önemli ölçüde azalmıştır, bu da ilaç geçirgenliğinin ve etkinliğinin arttığını göstermektedir (Moser et al., 2022).

5. Sonuç

Son dekatta yapılan prelinik ve klinik araştırmalar ışığında, TTFields'in beyin tümörleri ve diğer CNS hastalıklarının tedavisi

için yenilikçi bir ilaç verme yöntemi potansiyelini göstermesinin yanı sıra tek başına da etkin bir modalite olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Konvansiyonel kanser tedavisinde ortaya çıkan komplikasyonlara nazaran daha az komplikasyon göstermesi de göz önüne alınırsa etkinliği ve önemi daha iyi anlaşılacak olan bu yöntemin; klinik çalışmalarla etkinliğin ileri boyutlara taşınması faydalı olacaktır.

Kaynaklar

Arvind, R., Chandana, S. R., Borad, M. J., Pennington, D., Mody, K., & Babiker, H. (2021). Tumor-Treating Fields: A fourth modality in cancer treatment, new practice updates. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 168(October), 103535. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2021.103535>

Benson, L. (2018). Tumor Treating Fields Technology: Alternating Electric Field Therapy for the Treatment of Solid Tumors. *Seminars in Oncology Nursing*, 34(2), 137–150. <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2018.03.005>

Chang, E., Patel, C. B., Pohling, C., Young, C., Song, J., Flores, T. A., ... Gambhir, S. S. (2018). Tumor treating fields increases membrane permeability in glioblastoma cells. *Cell Death Discovery*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/s41420-018-0130-x>

Davies, A. M., Weinberg, U., & Palti, Y. (2013). Tumor treating fields: A new frontier in cancer therapy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1291(1), 86–95. <https://doi.org/10.1111/nyas.12112>

Farmani, A. R., Mahdavinezhad, F., Scagnolari, C., Kouhestani, M., Mohammadi, S., Ai, J., ... Rezaei, N. (2022). An overview on tumor treating fields (TTFields) technology as a new potential subsidiary biophysical treatment for COVID-19. *Drug Delivery and Translational Research*, 12(7), 1605–1615. <https://doi.org/10.1007/s13346-021-01067-5>

Gera, N., Yang, A., Holtzman, T. S., Lee, S. X., Wong, E. T., & Swanson, K. D. (2015a). Tumor treating fields perturb the

localization of septins and cause aberrant mitotic exit. *PLoS ONE*, 10(5), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125269>

Gera, N., Yang, A., Holtzman, T. S., Lee, S. X., Wong, E. T., & Swanson, K. D. (2015b). Tumor Treating Fields Perturb the Localization of Septins and Cause Aberrant Mitotic Exit. *PLOS ONE*, 10(5), e0125269. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125269>

Giladi, M., Munster, M., Schneiderman, R. S., Voloshin, T., Porat, Y., Blat, R., ... Palti, Y. (2017). Tumor treating fields (TTFields) delay DNA damage repair following radiation treatment of glioma cells. *Radiation Oncology*, 12(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13014-017-0941-6>

Giladi, M., Weinberg, U., Schneiderman, R. S., Porat, Y., Munster, M., Voloshin, T., ... Palti, Y. (2014). Alternating electric fields (tumor-treating fields therapy) can improve chemotherapy treatment efficacy in non-small cell lung cancer both in vitro and in vivo. *Seminars in Oncology*, 41(S6), S35–S41. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2014.09.006>

Gonzalez, C. F., & Remcho, V. T. (2005). Harnessing dielectric forces for separations of cells, fine particles and macromolecules. *Journal of Chromatography A*, 1079(1-2 SPEC. ISS.), 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.03.070>

Gotwals, P., Cameron, S., Cipolletta, D., Cremasco, V., Crystal, A., Hewes, B., ... Dranoff, G. (2017, May 1). Prospects for combining targeted and conventional cancer therapy with immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*, Vol. 17, pp. 286–301. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.17>

Hottinger, A. F., Pacheco, P., & Stupp, R. (2016). Tumor treating fields: A novel treatment modality and its use in brain tumors. *Neuro-Oncology*, 18(10), 1338–1349. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now182>

Karanam, N. K., Ding, L., Aroumougame, A., & Story, M. D. (2020). Tumor treating fields cause replication stress and interfere with DNA replication fork maintenance: Implications for cancer therapy. *Translational Research*, 217, 33–46. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2019.10.003>

Kessler, A. F., Frömbling, G. E., Gross, F., Hahn, M., Dzokou, W., Ernestus, R. I., ... Hagemann, C. (2018). Effects of tumor treating fields (TTFields) on glioblastoma cells are augmented by mitotic checkpoint inhibition. *Cell Death Discovery*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/s41420-018-0079-9>

Kessler, A. F., Schaeffer, C. M., Burek, M., Ruschig, U., Tempel-Brami, C., Voloshin, T., ... Hagemann, C. (2019). Abstract 252: Tumor treating fields (TTFields) affect blood brain barrier (BBB) integrity in vitro and in vivo. *Cancer Research*, 79(13_Supplement), 252–252. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2019-252>

Kim, E. H., Jo, Y., Sai, S., Park, M. J., Kim, J. Y., Kim, J. S., ... Hwang, S. G. (2019). Tumor-treating fields induce autophagy by blocking the Akt2/miR29b axis in glioblastoma cells. *Oncogene*, 38(39), 6630–6646. <https://doi.org/10.1038/s41388-019-0882-7>

Kim, E. H., Song, H. S., Yoo, S. H., & Yoon, M. (2016). Tumor treating fields inhibit glioblastoma cell migration, invasion

and angiogenesis. *Oncotarget*, 7(40), 65125–65136. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11372>

Kirson, E. D., Dbalý, V., Tovaryš, F., Vymazal, J., Soustiel, J. F., Itzhaki, A., ... Palti, Y. (2007). Alternating electric fields arrest cell proliferation in animal tumor models and human brain Kirson, E. D., Dbalý, V., Tovaryš, F., Vymazal, J., Soustiel, J. F., Itzhaki, A., Mordechovich, D., Steinberg-Shapira, S., Gurvich, Z., Schneiderman, R., Wasserman. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(24), 10152–10157. <https://doi.org/10.1073/pnas.0702916104>

Kirson, E. D., Giladi, M., Gurvich, Z., Itzhaki, A., Mordechovich, D., Schneiderman, R. S., ... Palti, Y. (2009). Alternating electric fields (TTFields) inhibit metastatic spread of solid tumors to the lungs. *Clinical and Experimental Metastasis*, 26(7), 633–640. <https://doi.org/10.1007/s10585-009-9262-y>

Kirson, E. D., Schneiderman, R. S., Dbal, V., Tovary, F., Vymazal, J., Itzhaki, A., ... Palti, Y. (2009). Chemotherapeutic treatment efficacy and sensitivity are increased by adjuvant alternating electric fields (TTFields). *BMC Medical Physics*, 9(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1756-6649-9-1>

Le, H. T., Staelens, M., Lazzari, D., Chan, G., & Tuszyński, J. A. (2022). Real-Time Monitoring of the Effect of Tumour-Treating Fields on Cell Division Using Live-Cell Imaging. *Cells*, 11(17), 1–16. <https://doi.org/10.3390/cells11172712>

Lee, J., Grabowski, M. M., & Lathia, J. D. (2022). Tumor Treating Fields: killing two birds with one stone. *Journal of Clinical Investigation*, 132(8), 2–4. <https://doi.org/10.1172/JCI159073>

Li, X., Yang, F., & Rubinsky, B. (2020). A Theoretical Study on the Biophysical Mechanisms by Which Tumor Treating Fields Affect Tumor Cells during Mitosis. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 67(9), 2594–2602. <https://doi.org/10.1109/TBME.2020.2965883>

Lou, E., Fujisawa, S., Morozov, A., Barlas, A., Romin, Y., Dogan, Y., ... Moore, M. A. S. (2012). Tunneling nanotubes provide a unique conduit for intercellular transfer of cellular contents in human malignant pleural mesothelioma. *PLoS ONE*, 7(3), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033093>

Moser, J. C., Salvador, E., Deniz, K., Swanson, K., Tuszynski, J., Carlson, K. W., ... Hagemann, C. (2022). The Mechanisms of Action of Tumor Treating Fields. *Cancer Research*, 82(20), 3650–3658. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-22-0887>

Mumblat, H., Martinez-Conde, A., Braten, O., Munster, M., Dor-On, E., Schneiderman, R. S., ... Palti, Y. (2021). Tumor Treating Fields (TTFields) downregulate the Fanconi Anemia-BRCA pathway and increase the efficacy of chemotherapy in malignant pleural mesothelioma preclinical models. *Lung Cancer*, 160, 99–110. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2021.08.011>

Mun, E. J., Babiker, H. M., Weinberg, U., Kirson, E. D., & Von Hoff, D. D. (2018). Tumor-treating fields: A fourth modality in cancer treatment. *Clinical Cancer Research*, 24(2), 266–275. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-1117>

novacure. (n.d.). Retrieved from <https://www.novacure.com/our-pipeline/>

Pless, M., & Weinberg, U. (2011). Tumor treating fields: Concept, evidence and future. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 20(8), 1099–1106. <https://doi.org/10.1517/13543784.2011.583236>

Porat, Y., Giladi, M., Schneiderman, R. S., Blat, R., Shteingauz, A., Zeevi, E., ... Palti, Y. (2017). Determining the optimal inhibitory frequency for cancerous cells using tumor treating fields (TTFields). *Journal of Visualized Experiments*, 2017(123), 1–8. <https://doi.org/10.3791/55820>

Salvador, E., Kessler, A. F., Domröse, D., Hörmann, J., Schaeffer, C., Giniunaite, A., ... Hagemann, C. (2022). Tumor Treating Fields (TTFields) Reversibly Permeabilize the Blood–Brain Barrier In Vitro and In Vivo. *Biomolecules*, 12(10), 1–20. <https://doi.org/10.3390/biom12101348>

Sarkari, A., Korenfeld, S., Ladner, K., Wong, P., Martinez, A., Dor-On, E., ... Lou, E. (2021). Abstract 2011: Tumor treating fields induce cellular and morphologic changes including disruption of intercellular communication networks in malignant pleural mesothelioma. *Cancer Research*, 81(13_Supplement), 2011. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2021-2011>

Shams, S., & Patel, C. B. (2022). Anti-cancer mechanisms of action of therapeutic alternating electric fields (tumor treating fields [TTFields]). *Journal of Molecular Cell Biology*, 14(8), 1–16. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjac047>

Shteingauz, A., Porat, Y., Voloshin, T., Schneiderman, R. S., Munster, M., Zeevi, E., ... Palti, Y. (2018). AMPK-dependent autophagy upregulation serves as a survival mechanism in response

to Tumor Treating Fields (TTFields). *Cell Death and Disease*, 9(11).
<https://doi.org/10.1038/s41419-018-1085-9>

Sinha, D., Duijf, P. H. G., & Khanna, K. K. (2019). Mitotic slippage: an old tale with a new twist. *Cell Cycle*, 18(1), 7–15.
<https://doi.org/10.1080/15384101.2018.1559557>

Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249.
<https://doi.org/10.3322/CAAC.21660>

Tanzhu, G., Chen, L., Xiao, G., Shi, W., Peng, H., Chen, D., & Zhou, R. (2022). The schemes, mechanisms and molecular pathway changes of Tumor Treating Fields (TTFields) alone or in combination with radiotherapy and chemotherapy. *Cell Death Discovery*, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41420-022-01206-y>

Vergote, I., Macarulla, T., Hirsch, F. R., Hagemann, C., & Miller, D. S. (2023). Tumor Treating Fields (TTFields) Therapy Concomitant with Taxanes for Cancer Treatment. *Cancers*, 15(3).
<https://doi.org/10.3390/cancers15030636>

Voloshin, T., Schneiderman, R. S., Volodin, A., Shamir, R. R., Kaynan, N., Zeevi, E., ... Palti, Y. (2020). Tumor treating fields (Ttfields) hinder cancer cell motility through regulation of microtubule and actin dynamics. *Cancers*, 12(10), 1–18.
<https://doi.org/10.3390/cancers12103016>

Wong, E. T., Lok, E., & Swanson, K. D. (2018). Alternating Electric Fields Therapy for Malignant Gliomas: From Bench Observation to Clinical Reality. *Progress in Neurological Surgery*, 32, 180–195. <https://doi.org/10.1159/000469690>

BÖLÜM II

Kanser Tedavisinde Elektrokemoterapi Uygulamaları

Mehmet Eşref ALKIŞ

Giriş

Kanser, dünya çapında en ölümcül hastalık olarak insanlar için büyük bir tehdit oluşturmaya devam etmektedir. Erkeklerde en sık görülen kanserler akciğer, prostat, mide, karaciğer ve kolorektal kanserler iken, kadınlarda meme, akciğer, kolorektal, tiroid ve rahim ağzı kanserleri daha sık görülmektedir (Wang ve ark., 2023). Kanser hastalığının tedavisinde, genellikle cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi gibi konvansiyonel tedavi yöntemleri kullanılmaktadır.

Kemoterapi, kanser hücrelerinin çoğalmasını engellemek ya da ortadan kaldırmak için sitotoksik ilaçların kullanıldığı yaygın bir tedavi yöntemidir. Bu tedavi tekniğinde kullanılan antikanser ilaçlar, kanser hücrelerinin yaşam döngüleri üzerine gösterdikleri etki ile tedaviyi sağlarlar. Bu ilaçlar plazma membranından geçip DNA gibi hücre içi hedeflerine ulaşmaları durumunda etkili olurlar (Arafath ve ark., 2017).

Kemoterapi ilaçlarına karşı hücre zarının gösterdiği direnç kanser terapisinin başarısını engelleyen en önemli faktörlerden biridir (Saczko ve ark., 2014; Alkis ve Yeşilbaş, 2021). Ayrıca bazen de kanser hücreleri bu ilaçlara karşı direnç gösterebilir ya da direnç geliştirebilirler (Casciato, 2012).

Bu nedenlerden dolayı birçok yan etkisi olduğu bilinmesine rağmen etkili bir tedavi için uzun süreli ve yüksek dozlarda antikanser ilaç kullanılmaktadırlar. Kemoterapötik ilaçların yan etkisini azaltacak, tedavi süresini kısaltacak ve daha düşük doz ilaç kullanılmasını gerektirecek yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi üzerine yoğun çalışmalar yapılmaktadır.

Tümör İlaç Direnci

Kemoterapi kanserle mücadelede kullanılan en önemli stratejilerden biridir. Son yıllarda kaydedilen ilerlemelere rağmen ilaç direnci gibi nedenlerden dolayı kemoterapinin etkinliğinde istenen başarı elde edilememiştir. Kanser hücreleri yapısal ve fonksiyonel olarak farklı ilaçlara karşı farklı direnç gösterebilmektedir (Condello ve ark., 2022). Tümörler tedaviden önce kemoterapiye doğal olarak dirençli olabilirler. Ancak başlangıçta kemoterapiye duyarlı olan tümörler de tedavi sırasında ilaç direncini kazanılabilir. Bu tür kazanılmış direncin hayal kırıklığı yaratan bir özelliği, tümörlerin yalnızca başlangıçta onları tedavi etmek için kullanılan ilaçlara karşı dirençli hale gelmesi değil, aynı zamanda farklı etki mekanizmalarına sahip diğer ilaçlara karşı da çapraz dirençli hale gelebilmesidir. İster içsel ister edinilmiş olsun, ilaç direncinin metastatik kanserli hastaların %90'ından fazlasında tedavi başarısızlığına neden olduğuna inanılmaktadır (Longley ve

Johnston, 2005). Eğer ilaç direncinin üstesinden gelinebilirse, hayatta kalma başarısı da artacaktır.

İlaç duyarlılığını etkileyen birçok faktör vardır. Bunlar, tümöre ulaşan ilaç miktarını sınırlayanlar ve tümör mikro ortamını etkileyen mekanizmalar gibi mekanizmaları içerir. Hücre zarının antikanser ajanlara karşı direnç göstererek ilaç akışını azaltması kemoterapi başarısını engellen en önemli faktörlerden biridir. Hücre zarının bu direnci üstesinden gelmek için kombinasyon tedaviler daha sık kullanılmaktadır. Kemoterapi ajanları ile elektroporasyonun kombine kullanılmasıyla hücre zarı direnci dşrlerek, zardan geçemeyen veya geçmekte zorlanan ilaçların iletimi artırılabilir.

Elektrokemoterapi

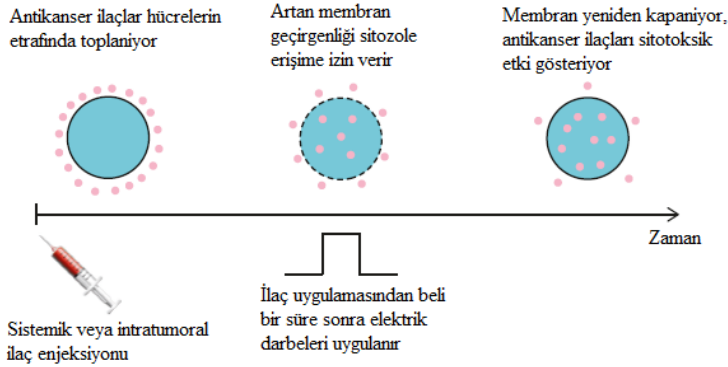
Elektroporasyon (EP), biyolojik bir hücre veya dokuya kısa süreli ve hücre zarının kapasitansını aşacak yoğunlukta elektrik darbelerinin uygulanmasıyla, membran geçirgenliğinin artırılması işlemidir (Campana ve ark., 2019; Bute ve Alkis, 2022). Bu yöntem, hücre zarında geçici nanometre boyutunda küçük porlar oluşturarak, genellikle hücre zarını geçmekte zorlanan ya da geçemeyen iyon ve moleküllerin hücreye girişini kolaylaştırır (Alkış ve ark. 2021a). Uygun genlik (<1500 V/cm) ve sürede uygulanan elektrik alan maruziyetinden sonra membran normal durumuna geri döner (geri dönüşümlü EP). Bununla birlikte, elektrik alanının genliği çok büyükse (1500–3000V/cm) veya elektrik alan maruziyeti çok uzunsa, maruziyeten sonra zar tekrar kapanmaz ve hücre ölümüne neden olur (geri dönüşümsüz EP) (Bharti ve ark., 2010).

Kanser tedavisinde, kullanılan ajanın sitotoksik etkisini artırmak için geri dönüşümlü EP ile kombine kullanılmasına Elektrokemoterapi (ECT) denir (Fiorentzis ve ark., 2019). Kemoterapötik ajanın hücre dışı konsantrasyonu en yüksek düzeyde olduğu sırada elektrik alan uygulaması yapılırsa, ilacın zardan geçişi artarak sitotoksitesi önemli derecede yükselebilir (Şekil 1). Böylece daha kısa sürede ve daha düşük doz antikanser ajanla etkili tedavi sağlanarak, kemoterapötik ajanların yan etkileri de minimize edilmiş olur.

Bu metot, başlangıçta hücrelere gen aktarım işlemi için kullanılmış, ancak son zamanlarda çeşitli anti-kanser ilaçların hücre içine transferinde de uygulanmaya başlamıştır (Cemazar, 2019). ECT ilk olarak metastatik baş ve boyun kanseri tedavisinde kullanılmıştır. Belehradec ve ark. 1993 yılında ECT'nin ilk klinik denemesini gerçekleştirmişler. Yaptıkları çalışmada metastatik baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomu olan sekiz hastanın cilt ve cilt altı metastazlarına 10 mg/m² intravenöz bleomisin verildikten sonra elektroporasyon uygulamışlar. ECT uygulaması sonrasında ağrısız kas kasılmaları dışında lokal veya sistemik herhangi bir yan etki gözlemlenmemiştir. Ayrıca birkaç gün içinde tedavi edilen tümör metastazlarının %57'sinde tam bir klinik yanıt elde edilmiştir (Goggins ve Khachemoune, 2019).

Günümüzde, ECT daha çok deri ve deri altındaki derin yerleşimli tümörler ile iç organlardaki tümörler için araştırılmaktadır (Esmaeili ve ark., 2019). Farklı kemoterapötik ajanlarla birçok in-vivo ve in-vitro çalışmada ECT'nin etkinliği gösterilmiştir (Alkış ve ark., 2022b; Tunikowska ve ark., 2023). Bununla birlikte, ECT sınırlı sayıda kanser türü ve antikanser ilacı için araştırılmıştır.

ECT'yi farklı kanser türleri ve diğer hastalıklar için daha uygulanabilir hale getirmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.



Şekil 1: Elektrokemoterapinin uygulama prensibi

Elektroporasyon ve Transmembran Potansiyeli

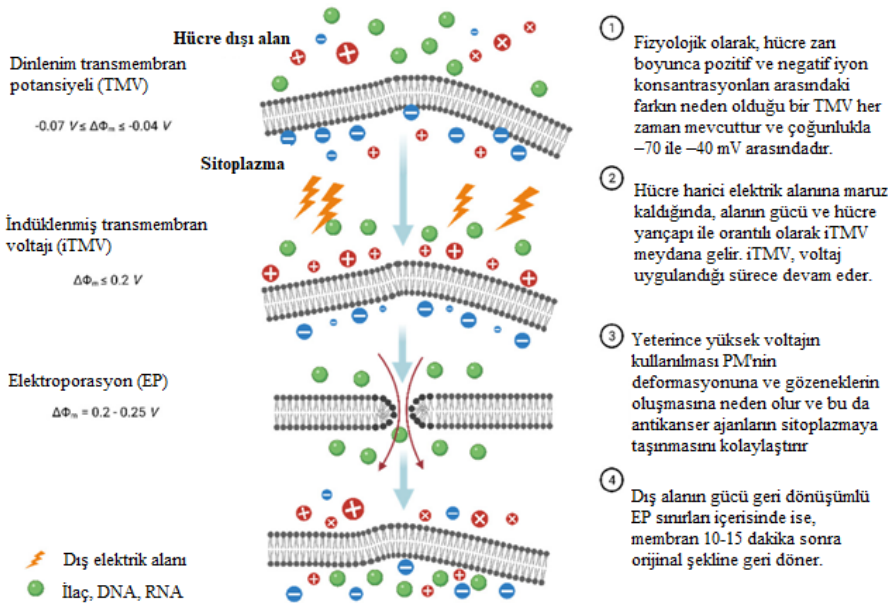
EP'nin kesin mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamış olsa da, fosfolipid çift katmanının konformasyonel değişiklikleri, faz geçişi dahil olmak üzere bu fenomenin altında yatan olayları açıklayan çeşitli hipotezler önerilmiştir. Elektriksel uyarılara maruz kalmanın lipitlerde ve membran protein fonksiyonlarında kimyasal değişikliklere neden olduğu ve bunun da membran geçirgenliğinin artmasına yol açtığı da bu hipotezlerden biridir.

Hücrenin dinlenme halindeki transmembran potansiyeli (TMV) çoğunlukla -70 mV ile -40 mV arasındadır (Linnert ve ark., 2011). Bu terim, plazma zarında (PM) yer alan iyon pompaları ve kanalların (örn. Na^+ ve K^+ aktif ve pasif taşıma) hareketinden kaynaklanan, PM'nin iç ve dış boşlukları arasındaki elektrik potansiyel farkını tanımlar. Hücre harici bir elektrik alanına maruz kaldığında, $\Delta\Psi_m$ ile gösterilen indüklenmiş bir transmembran

voltajı (iTMV) meydana gelir, bu voltaj harici elektrik alanının gücüyle orantılıdır ve alan mevcut olduğu sürece var olur. İletken olmayan bir membrana sahip ve birbirinden yeterince uzak olan düzenli şekilli hücreler (sferoidler, silindirler vb.) için iTMV değeri, Schwan denklemi olarak adlandırılan açık bir formülle ifade edilebilir.

$$\Delta\Psi_m = f ER \cos\theta (1 - e^{-t/\tau})$$

Burada $\Delta\Psi_m$ indüklenen transmembran voltajı, f boyutsuz bir faktör, E homojen elektrik alan kuvveti, R hücre yarıçapı, θ hücre merkezinden alanın yönüne göre ölçülen açı, t alanın başlangıcından itibaren geçen süre ve τ membran şarjının zaman sabitidir (Łapińska ve ark., 2022).



Şekil 2. Elektroporasyon/elektrokemoterapi mekanizmasının kavramsal şeması (Łapińska ve ark., 2022)

Yeterli güçte bir dizi elektrik alan darbelerinin uygulanması, hücrenin fizyolojik aralığını çok aşan transmembran voltajlarının oluşmasına neden olur. Bu olayın etkileri, yukarıda belirtildiği gibi fosfolipid çift tabakada yeniden düzenlemeler ve nano-gözeneklerin oluşmasıdır. Normalde hücre zarını geçirgenleştirmek için bir dizi elektrik darbesi (genellikle 1500V/cm'den küçük, 1 Hz veya 5 kHz frekansında, kare dalgalı 8 darbe dizisi) uygulanır. EP uygulanması, indüklenmiş transmembran potansiyeli ve nano-gözeneklerin oluşum sürecinin genel şeması Şekil 2'de grafiksel olarak gösterilmiştir.

Elektroporasyon, tedavi edilen dokudaki hücrelerin transmembran potansiyeli, hücre tipine bağlı olarak yaklaşık 200 mV'yi aştığında meydana gelir (Teissie ve Rols, 1993). Uygulanan elektrik alanı çok güçlüyse ve yaklaşık 1.000 mV'un üzerinde bir transmembran potansiyeli oluşturuyorsa, membranın fosfo-lipid çift katmanındaki değişiklikler çok belirgin olacak ve uzun süreli olumsuz iyon konsantrasyonları nedeniyle hücre ölümüyle sonuçlanan geri dönüşümsüz EP olarak bilinen duruma neden olacaktır.

Geçici veya geri dönüşümlü EP'nin, voltaj darbe parametrelerine ve doku tipine bağlı olarak fizyolojik sıcaklıkta dakikalarca sürdüğü ve ardından hücrelerin moleküler homeostazisini yeniden kazandığı tespit edilmiştir (Linnert ve ark., 2011).

Elektroporasyon parametrelerinin optimizasyonu ve deneysel koşullar

Elektroporasyonun optimizasyonunda, maruziyeten sağ çıkan gözenekli hücrelerin en yüksek fraksiyonunu sağlayan darbe parametreleri ve diğer deneysel koşullar araştırılır. Ayrıca, EP'nin amacına hizmet etmesi için genellikle belirli miktarda ekzojen molekülün her hücreye girmesi gerekir ve bu durumlarda optimal darbe parametrelerinin hücre başına yeterli moleküler alımını da sağlaması gerekir. Yani EP parametreleri araştırılırken en az hücre ölümü ve en fazla geçirgenliği (permeabilite) sağlayan elektrik darbelerini tespit etmek gerekmektedir. Bu parametreler de hemen hemen her kanser hücre çeşidi veya dokusu için farklılık gösterebilmektedir.

Bu nedenlerden dolayı EP'ye dayalı uygulamalarda başarılı bir sonuç elde edebilmek için belirli darbe parametrelerinin kullanılması gerekir. Bugüne kadar çeşitli EP uygulamaları için çok sayıda farklı darbe protokolü rapor edilmiştir (Cemazar ve ark., 2015; Savcı ve ark., 2022b). Aşağıda elektrik dalga formu, kuvveti, darbe uzunluğu, darbe sayısı, darbe frekansı gibi önemli EP parametrelerinden bahsedilmiştir.

A- Elektrik dalga formu:

Darbe şekli genellikle iki kategoriye ayrılır: kare dalga veya üstel bozulma dalgası (üstel olarak azalan) (Miklavcic ve Towhidi, 2010).

- **Kare dalga darbesi**, kare dalga darbeleri ayarlanmış bir voltaj seviyesine hızla yükselir, darbe uzunluğu boyunca bu seviyeyi korur ve hızla kapanır. Bu kare dalga sistemi memeli hücrelerinde

daha yüksek verimlilik ve canlılık sağlar. İn-vivo ve ex-vivo dokularda, embriyolarda, hücre füzyonlarında ve bitki protoplast uygulamalarında kare dalga EP, üstel olarak azalan dalga sistemine kıyasla daha iyi sonuçlar verir.

- **Üstel bozunma dalgası darbesi:** Üstel bozunma dalgalarında, bir kapasitörün tamamen boşalmasına izin verilerek bir elektrik darbesi üretilir. Numuneye bir darbe gönderildiğinde, voltaj hızla ayarlanan tepe voltajına yükselir ve ardından zamanla düşer (Novickij ve ark., 2022). Güçlü üstel bozunma dalgası darbesi, gram negatif ve gram pozitif, bakteri, maya, bitki dokuları, böcek hücreleri ve bazı memeli hücrelerinin dönüşümü için rutin olarak kullanılır.

B- Elektrik alan kuvveti

Elektrik alan kuvveti elektrot boşluğu boyunca iletilen voltaj olarak ölçülür ve kV/cm veya V/cm olarak ifade edilir. Alan kuvveti, hücre zarının elektriksel potansiyelini aşarak hücre zarında geçici olarak geri dönüşümlü geçirgenliğin veya "gözenek oluşumunun" meydana gelmesini sağlamak için kritik öneme sahiptir. Yapılan uygulamaların çoğunda sekiz kare darbe treni kullanılmıştır (Lv ve ark., 2020). Alan gücünü optimize etmek için üç faktör dikkate alınmalıdır: Küvet boşluk boyutu (elektrotlar arasındaki boşluk), hücre çapı ve sıcaklık (Davachi ve ark., 2023).

-**Küvet Boşluk Boyutu:** EP deneyini optimize ederken elektrotlar arasındaki mesafe veya "boşluk boyutu" önemlidir. İn-vitro EP ya da ECT uygulamalarında genellikle 1mm (0.1cm), 2mm (0.2 cm) ve 4mm (0.4 cm) paralel plaka boşlukları olan EP küvetleri kullanılmaktadır.

Alan gücü, voltajın boşluk boyutuna bölünmesiyle hesaplanır. Örneğin, 2 mm aralıklı bir küvete 300V uygulandığında $300V/0.2cm = 1,5kV/cm$ 'lik bir alan gücü oluşacaktır. 2 mm aralıklı küvet yerine 4 mm aralıklı küvet kullanılmış olsaydı, $300V/0.4cm = 0,75 kV/cm$ 'lik bir alan gücü elde edilecekti. Genellikle bakterimaya hücreleri için 3-24 kV/cm, memeli hücreler için 0,25-3 kV/cm, bitki hücreleri için 3-12 kV/cm elektrik alan gücü kullanılmaktadır.

- **Sıcaklık:** EP sırasında hücrelerin muhafaza edildiği sıcaklık, EP'nin verimliliğini etkiler. Memeli hücre hatlarının çoğunluğu için oda sıcaklığında etkili bir EP gerçekleştirilebilir. Yüksek voltajlı, çoklu ya da uzun süreli darbeler numunenin ısınmasına yol açabilir. Bu koşullar hücre ölümünün artmasına neden olur ve transfeksiyon verimliliğini azaltır.

Numuneyi daha düşük sıcaklıklarda tutmak, hücre canlılığı ve verimliliği üzerindeki ısıtma etkilerini azaltabilir. EP geçici gözenek oluşumuna neden olduğundan, darbeyi takiben hücrelerin daha düşük sıcaklıkta tutulması, gözeneklerin daha uzun süre açık kalmasına ve eksojen molekülün daha fazla alınmasına izin verebilir.

-**Hücrenin Çapı:** Başarılı bir hücre zarı geçirgenliği için genel olarak, boyutları (hücre çapı) küçük olan hücreler yüksek voltajlar gerektirirken, boyutları büyük olan hücreler daha düşük voltajlar gerektirir. Örneğin oda sıcaklığında ve 4 mm bir küvet kullanılan uygulamada hücre çapı 10µm ise 500V, 50 µm ise 100V'luk elektrik darbeleri uygulanır.

C- Elektrik darbe uzunluğu

Darbe uzunluğu, doku ya da hücrenin darbeye maruz kaldığı süredir (tek bir darbe için). Bu süre mikro (μ s) ile milisaniye (ms) aralığındaki bir zaman olarak ölçülür. Darbe uzunluğu, gözenek oluşumunu ve dolayısıyla hedef moleküllerin alımını artırmak için alan gücü ile dolaylı olarak çalışır (Scuderi ve ark., 2023).

Genel olarak, parametrelerin optimizasyonu sırasında voltajdaki bir artışı darbe uzunluğunda kademeli bir düşüş takip etmelidir. Voltajın azaltılması durumunda ise bunun tersi geçerlidir. Darbe uzunluğu, voltajla birlikte çalışan ve belirli bir hücre tipi için sonuçları en üst düzeye çıkarmak üzere elektrik parametrelerini optimize ederken dikkate alınması gereken önemli bir değişkendir.

D- Elektrik darbe sayısı

Elektroporasyon, çoğu hücre tipi için tipik olarak tek bir darbe olarak gerçekleştirilir. Ancak diğer hücre hatları, maksimum transfeksiyon verimliliğine ulaşmak için birden fazla darbe gerektirebilir.

Yapılan ECT çalışmaların çoğunda bir veya sekiz darbe şeklinde uygulanmıştır. Hücre membranlarına kademeli olarak nüfuz etmek için çoklu darbeler uygulanırken genellikle daha düşük voltajlar kullanılır. Bu, hassas veya tüm doku örneklerine zarar gelmesini önlerken moleküllerin aktarılmasına da olanak tanır.

Darbe sayısına göre voltaj ve darbe uzunluğu da dahil olmak üzere temel elektrik parametrelerinin optimizasyonunun yapılması gerekmektedir (Fusco ve ark., 2021).

E- Elektrik darbe frekansı

Genel olarak hastalar, elektrotların altında veya yakınında bulunan kasların kasılmasıyla ilişkili hoş olmayan hislere rağmen ECT'yi tolere edilebilir bulmaktadır (Arena ve Davalos, 2012). Bu kasılmalar, tümör hücresi membranlarının etkili elektropermeabilizasyonu için gereken elektrik darbelerinin yoğunluğundan kaynaklanmaktadır.

Genellikle tümörlere 1 Hz tekrarlama frekansına sahip sekiz elektrik darbesi dizisi uygulandığından, dizideki her darbe alttaki sinirleri uyarır ve kas kasılmalarını tetikler. Bu kas kasılmalarını hafifletmek için bazı çalışmalarda 5 kHz tekrarlama frekansı kullanılmıştır. Son zamanlarda, düşük yoğunluklu ve yüksek tekrarlama frekanslı ECT'nin tümör büyümesini engellemek için etkili bir araç olduğu gösterilmiştir (Shankayi ve ark., 2014; Alkiş ve Alan, 2021).

Elektrokemoterapinin etki mekanizması

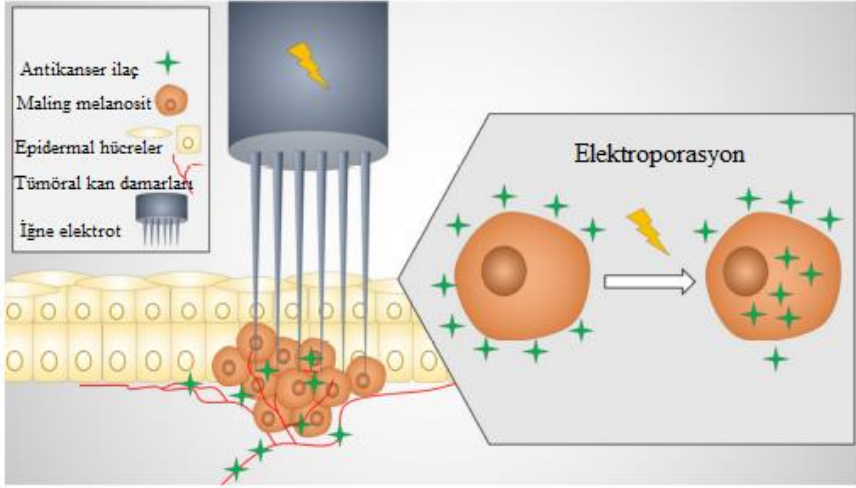
ECT'nin antitümör etkisinin belirlenmesinde biyolojik olarak üç etki mekanizması önemli görünmektedir. İlk mekanizma, kemoterapinin tümör hücrelerine dağıtımını artırarak uygulanan doğrudan sitotoksik etkidir. ECT'nin etkili olabilmesi için tümör interstisyumunda yeterli ilaç konsantrasyonunun olması ve aynı zamanda hedef lezyonuna uygun elektrik darbelerinin uygulanması gerekir (Mir, 2006).

Genel olarak, ECT tedavisi alan bir hastaya ilk olarak bir antikanser ilacının intravenöz veya intratümöral uygulaması yapılır, böylece ilacın vasküler sistem ve dokunun hücre dışı alanı üzerinde eşit şekilde dağıtılması sağlanır. Ardından tümörün etrafına veya

içine yerleştirilen elektrotlar vasıtasıyla antikanser ilacın hedef hücelere difüzyonunu mümkün kılan, ilgili kanser hücreleri için tanımlanmış elektrik darbeleri uygulanır (elektrik darbe parametreleri her kanser h creti ve çeşidi için farklılık göstermektedir). Uygulanan kısa süreli ve kuvvetli elektrik darbeleri tümör hücre zarlarında nanometre boyutunda geçici gözenekler oluşturur ve hücre zarı geçirgenliğinin artması sayesinde geçirgen, zayıf geçirgen veya geçirgen olmayan moleküller ( rn. antikanser ajanlar, DNA, RNA, boyalar ve antikorlar) kolaylıkla hücre içine girebilirler (Alkis ve ark, 2022a).

Elektrik alanı maruziyetinden kısa bir süre sonra membran geçirgenliği başlangıç durumuna geri dönecek ve açılan mikro gözeneklerden yoğun bir şekilde hücre içine giren spesifik kemoterapötikler anormal tümör hücrelerinde oklu DNA kırılmalarına veya zincir içi - zincirler arası DNA bağlarında hasara neden olacaktır.

Bir tedavi seansı sırasında hücre ölümünü tetiklemek için hücre başına yalnızca birkaç moleküle ihtiyaç duyulduğundan, lokal olarak artan sitotoksik etki nedeniyle düşük dozda sitostatik ilaca ihtiyaç duyulmaktadır. Bu da ilaçların yan etkisini büyük oranda azaltacaktır (şekil 3).

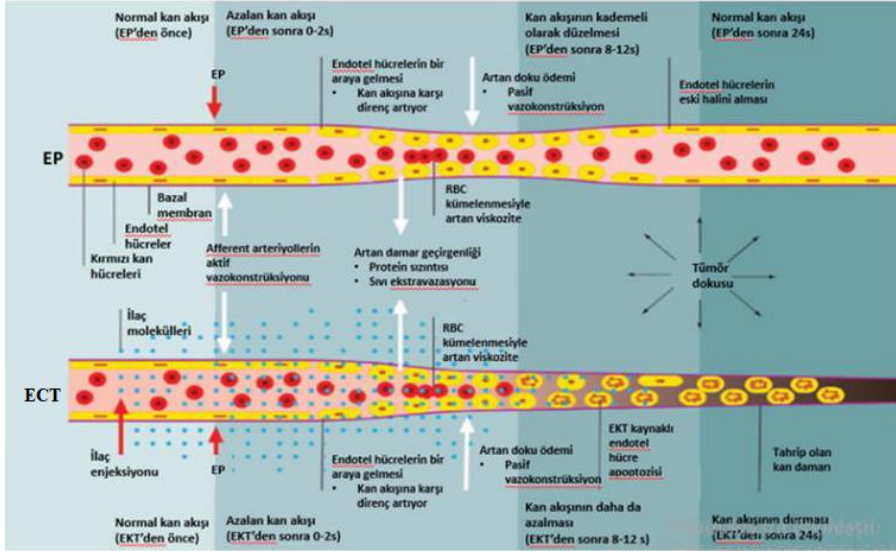


Şekil 3. Melanomda elektrokemoterapinin adımlarını gösteren akış şeması (Cucu ve ark., 2021). Başlangıçta terapötik ajan intravenöz veya intratümöral olarak uygulanır. İlaç giderek tümör hücrelerini çevreler ve optimal lokal konsantrasyonlara ulaşır. İğne elektrot hedeflenen tümörlü dokuya yerleştirilir ve hücre zarlarının geçirgenliğini arttıran elektrik darbeleri uygulanır. Hücre zarında meydana gelen gözenekler sayesinde hücre içine terapötik ajan girer ve belli bir süre sonra zar tekrar eski haline döner.

İkinci mekanizma, sempatik sinir sistemi ve prekapiller sfinkterlerin uyarılmasına bağlı olarak anında lokal vazokonstriktif tepkiyi (“damar kilitleme etkisi”) ve tümör damar yapısının seçici olarak öldürülmesiyle üretilen gecikmiş bir antivasküler etki (“damar bozucu etki”) içeren çok yönlü bir antivasküler etkidir (Şekil 4) (Sersa ve ark., 2008).

Dokulara elektrik darbelerinin uygulanması, kan akışında geçici ve geri dönüşümlü bir azalmaya neden olur. Elektrik darbelerinin uygulanmasının hemen ardından tümör kan akışındaki %80’lik azalma, ilacın birkaç saat boyunca dokuda tutulmasına

neden olur ve ilacın etki göstermesi için daha fazla zaman sağlar. Elektrik darbelerinin uygulanmasından sonra 24 saat içinde tümör kan akışı normale döner; normal dokuda ise restorasyon birkaç saat içinde daha hızlı gerçekleşir (Campana ve ark., 2019).



Şekil 4. Elektrokemoterapide elektrik darbelerinin tümörlerde neden olduğu vasküler kilit etkisinin şematik gösterimi (Geboers ve ark., 2020).

Üçüncü mekanizma bağışıklık uyarımını içerir. Tümör hücrelerinin büyük miktarda yok edilmesi, tümör antijenlerini sistemik olarak serbest bırakabileceğinden, bir bağışıklık tepkisi de söz konusudur; bu da ECT'nin genel tedavi tepkisine katkıda bulunabilecek bir bağışıklık tepkisini ortaya çıkarabilir. Bu etki ECT'ye immünoterapinin eklenmesiyle de artırılabilir (Cucu ve ark., 2021).

Klinik uygulamalarda elektrokemoterapi

Kutanöz ve subkutanöz metastazların elektrokemoterapisi

Elektrokemoterapinin melanom, kaposi sarkomları, serviks sarkomu, meme kanseri, baş ve boyun kanseri, hipernefroma ve derinin skuamöz hücreli karsinomu gibi çeşitli kutanöz tümör nodüllerinin tedavisinde etkili olduğu kanıtlanmıştır. Cerrahi müdahale ihtimalinin olmadığı, cerrahinin kontrendike olduğu veya çok zarar verici olacağı durumlarda ve kemoterapi, radyoterapiye dirençli lezyonlarda düşünülebilir (Sersa ve ark., 2012).

Çeşitli klinik çalışmaların yanı sıra elektrokemoterapi için Avrupa standart çalışma prosedürleri (ESOPE) projesi, hasta güvenliğini sağlamak, kutanöz ve subkutanöz metastazların optimal tedavisini sağlamak amacıyla tanımlanmış standart çalışma prosedürlerini oluşturmuştur (Choromańska ve Szwedowicz, 2023). Kemoterapötik ilaçlar, ilaç dağıtım yolu, elektrot şekli ve nabız parametrelerinin yanı sıra tümör özellikleri de bu prosedürlerde yer alır.

ESOPE'nin çalışma prosedürlerini benimseyen klinik deneyimlerden elde edilen raporlar, kontrollü klinik araştırmaların raporlarıyla tutarlıdır. Mali ve arkadaşlarının 44 çalışma ve 1894 tümörü içeren meta-analizinde ECT'ye objektif yanıt oranı %84 olarak bildirilmiştir (Mali ve ark., 2013a). ECT prosedürleri bu önerilere göre uygulandığında, tedavi edilen malign melanom nodüllerinde %68 ile %86 arasında objektif yanıt oranı ve %33 ile %60 arasında tam yanıt oranı gözlenmiştir. Tümör boyutuna bağlı olarak tedavi sonuçları değişirken, 3 cm'den küçük tümörler en yüksek yanıt oranlarını göstermektedir (Mali ve ark., 2013b).

Tedaviye bağlı yan etkiler ise geçici kas kasılmaları, kızarıklık, sıvı birikmesi ve şişlikler şeklinde meydana gelebilir. ECT ile ilgili ilk çalışmalar küçük kutanöz metastazlara yapıldığından sadece hafif veya orta derecede ağrı gözlenerek tedavi sağlanmışır, ancak daha sonra işlem daha büyük kutanöz metastazlara uygulanmaya başlanmasıyla ağrı daha sık rapor edilmiştir.

Elektrik darbelerinin tekrarlanma sıklığı (frekansı), kas kasılmasıyla yakın bir ilişkiye sahiptir, bu da ağrılı yanma hissine ve hasta şikâyetlerine yol açabilmektedir. Bununla birlikte, ağrı hissi aynı zamanda voltaj genliği, darbe sayısı, süresi ve şekli gibi diğer darbe özelliklerine de bağlıdır (Fusco ve ark., 2021). Darbe frekansı ile kas kasılması ve ardından gelen hasta ağrısı arasındaki ilişki, daha önce Zupanic ve arkadaşları tarafından incelenmiştir (Zupanic ve ark., 2007). 40 sağlıklı hastaya 1 Hz ve 5 kHz tekrarlama frekansında sekiz elektrik darbesinden oluşan bir darbe treni uygulanmış ve elektrik darbelerinin verilmesi sırasında deneklerin hissettiği rahatsızlığa yol açan kas kasılmalarının darbe frekansıyla sıkı bir şekilde ilişkili olduğunu bulmuşlardır.

ECT tedavisi gören hastalarda ağrıyı ve kas kasılmalarını azaltmak için hem yüksek frekanslı hem de bipolar/bifazik darbeler kullanılabilir. Ayrıca, tedavide kullanılan elektrotlar da ağrıyı etkileyebilmektedir. Özellikle iğne uzunluğu, çapı ve iğneler arasındaki mesafenin konfigürasyonu, akımın geçtiği kas hacminin mümkün olduğu kadar azaltacak şekilde optimize edilmelidir. İğneler arasında daha küçük mesafe bulunan elektrotlar daha az acı verir, çünkü daha düşük voltaj gerektirirler. Ancak dokunun yalnızca küçük kısımlarını tedavi ederler ve bu nedenle lezyonun tamamını

kaplamak için birden çok kez uygulanmaları gerekir (Fusco ve ark., 2021; Spugnini ve ark., 2023).

Genel olarak klinik uygulamada, ECT kutanöz ve subkutanöz tümörlerin tedavisinde başarıyla kullanılmakta ve melanom tedavisinde tatmin edici sonuçlar alınmaktadır.

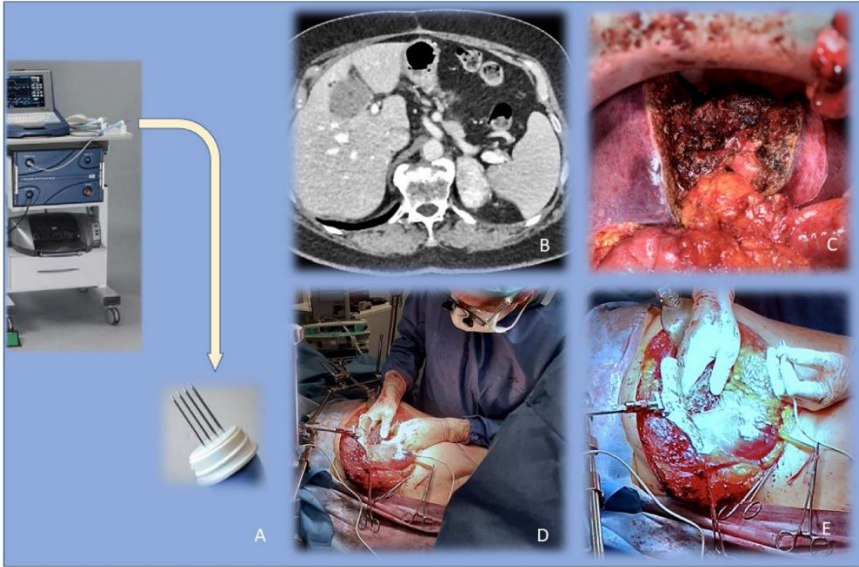
Derin yerleşimli tümörlerin elektrokemoterapisi

Son zamanlardaki teknik gelişmeler sayesinde bazı araştırmacılar karaciğer, beyin, over, kolon, pankreas ve kemik kanseri gibi yüzeysel olmayan tümörleri ECT kullanarak minimal invaziv prosedürler yardımıyla tedavi etmeye çalışmışlardır (Martin ve Martin, 2023).

Ancak derin yerleşimli tümörlerin tedavisini mümkün kılmak için uzun iğne elektrotlarının tasarımına ve özellikle bunların tümöre göre konumlandırılmasına ihtiyaç vardır. 3-4 cm çapındaki solid tümörler vücudun derinliklerine yerleşmişse, özellikle tümörlerin hayati organlara yakın olduğu durumlarda, iyi bir klinik yanıtla sonuçlanacak ve normal dokuya zarar vermeyecek veya en az zarar verecek elektriksel parametrelerin seçilmesi büyük önem taşımaktadır.

ECT uygulamasını kolayca erişilebilen lezyonlardan, yüzeysel olmayan derin yerleşimli tümörlerin tedavisine dönüştürmeye ilişkin yayınlanmış çalışmaların sonuçları, ECT'nin derin yerleşimli tümörlerin ve metastazların tedavisinde güvenli bir şekilde uygulanabileceğini göstermektedir (Bonferoni ve ark., 2021). Şekil 5'de derin yerleşimli tümörlerin ECT'sine örnek olarak cerrahi yola tamamen çıkarılması muhtemel olmayan büyük bir hiler kolanjiyokarsinom tümörün ECT'si gösterilmiştir.

Günümüzde ECT'nin geliştirilmesi sonucunda kutanöz metastazlar (melanom, meme kanseri, baş ve boyun), kutanöz olmayan metastazlar (kemik, karaciğer, beyin, yumuşak doku sarkomları) ve primer tümörlerin (meme, yumurtalık, kolon-rektum, pankreas) tedavisinde uygulama alanı artarak devam etmektedir. Aşağıda ECT'nin kullanıldığı bazı tümör ve metastazlardan bahsedilmiştir.

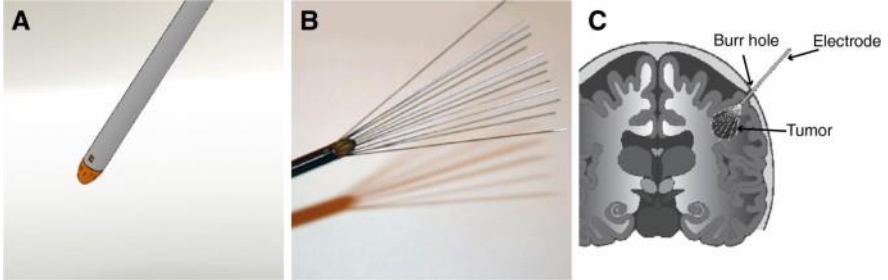


Şekil 5. Derin yerleşimli tümörlerin elektrokemoterapisi (ECT). (A) elektrotların büyütülmüş görüntüsü ile intraoperatif elektroporasyon için ekipman; (B) cerrahi olarak tamamen çıkarılması muhtemel olmayan büyük bir hiler kolanjiyokarsinom; (C) makroskopik tümör yükünün tamamını ortadan kaldırmak için ameliyat yapılması; (D,E) Tedavi şansını artırmak için perihiler karaciğer dokusuna ECT uygulanması (Bonferoni ve ark., 2021).

Beyin tümörleri ve metastazları

Beynin primer ve sekonder malign tümörleri, kanser tedavisinde önemli bir zorluk teşkil etmektedir. Cerrahi, radyoterapi ve medikal tedavide ilerlemeler kaydedilmektedir, ancak prognoz hala kötü ve morbidite oldukça yüksektir (Alkis ve ark., 2023). Elektroporasyona dayalı tedaviler, sınırlı yan etkilere yol açarken, tümör nüksetmesinin engellenmesinde katkıda bulunabilmektedir (Alkış ve ark., 2021b).

Klinik öncesi in-vivo çalışmalarda elektrotların kafatası yoluyla beyin tümörlerinin tedavisi için uygun olduğu gösterilmiştir (Miklavčič ve ark., 2014). Araştırmacılar, tek bir çapak deliğinden girebilen ve daha geniş bir alanı kapsayacak şekilde yerleştirilebilen 8 iğneli genişletilebilir bir elektrot kullanarak, glia türevi tümör hücreleri aşılannmış sıçan modelinde ECT'yi test etmişlerdir (Agerholm-Larsen ve ark., 2011) (Şekil 6).



Şekil 6. Geri çekilebilir beyin elektrotları. A) Tamamen geri çekilmiş durumdaki elektrotun görüntüsü, B) Elektrot tamamen uzatılmış durumda, C) Beyne yerleştirme şeması (Linnert ve ark, 2011)).

Çalışmada, bleomisin (BLM) intrakraniyal olarak enjekte edilmiş ve her biri 100 V (volt), 0.1 milisaniye (ms) süreli ve 1 Hz tekrarlama frekansına sahip 32 elektrik darbesi uygulanmıştır. İşlem sırasında elektrot yalnızca bir kez yerleştirilmiş ve planlanan hedef hacim yaklaşık 100mm³ olarak ölçülmüştür.

Sıçanların %69'u 2-3 hafta boyunca manyetik rezonans görüntüleme 'de (MRG) CR göstermiş ve sağlıklı beyin dokusunda uzun vadeli yan etkiler görülmemiştir (Mahmood ve ark., 2011, 2015). Bu umut verici sonuçlar, araştırmacıları insan uygulamasına uygun cihazlar tasarlamaya ve daha çok çalışma yapmaya teşvik etmiştir.

Pankreas kanseri

Pankreas adenokarsinomu en yaygın ve agresif kanser türlerinden biridir ve cerrahi rezeksiyon genellikle tek ve potansiyel olarak küratif tedavi seçeneğidir. Mümkün olduğunda, sağkalımı artırmak için rezeksiyon artı kemoterapi tercih edilen tedavidir. Cerrahi rezektabilite pankreas kanserinde önemli bir konudur, çünkü hastaların çoğunluğu lokal olarak ilerlemiş hastalıkla başvurur.

Lokal olarak ilerlemiş pankreas kanseri (LAPC) metastaz yapmamış ancak çölyak trunkus veya superior mezenterik arter tutulumu nedeniyle tedavi edilemeyen hastalık olarak tanımlanır. LAPC hastalarının tedavisinde ECT güvenle kullanılabilir (Izzo ve ark., 2021). Büyük kan damarları, sinirler veya iç organlar gibi hayati yapılar ECT'den zarar görmez. Yapılan bir faz I/II çalışmasına 13 hasta dahil edilmiş ve açık cerrahi sırasında BLM ile ECT uygulanmıştır. Kontrastlı US, BT ve MRG ile yapılan yoğun radyolojik takip sonrasında ameliyat sırasında ve sonrasında

herhangi bir komplikasyon bildirilmemiştir. Sadece üç hastada dalak damarlarında tromboz kanıtı olmaksızın dalak enfarktüsü görülmüştür (Granata ve ark., 2015).

Prostat kanseri

Prostat kanseri erkeklerde en sık görülen malignitelerden biridir ve morbiditesi yaşla birlikte önemli ölçüde artmaktadır. Son birkaç yılda birçok yeni gelişme yaşanmasına rağmen metastatik kastrasyona dirençli prostat kanseri ölümcül bir hastalık olmaya devam etmektedir (Posdich ve ark., 2023).

ECT, dış üretral sfinkteri infiltre eden 2,4 cm'lik tekrarlayan karsinomu olan bir hastada test edilmiştir. Tedavi androjen deprivasyon tedavisine ek olarak uygulanmış ve fonksiyonel yan etkilerden kaçınmak için radikal prostatektomi ve radyoterapiye tercih edilmiştir. Tümöre perine yoluyla kare şeklinde düzenlenmiş dört iğne probu ile yaklaşılmış ve rektal US kılavuzluğunda yerleştirilmiştir. BLM ve ardından 100 ms uzunluğunda sekiz elektrik darbe dizisi uygulanmıştır. Girişim sonrası 24. saat, 8. hafta ve 6. ayda yapılan MRG'de sadece hafif doku ödemi görülmüş ve hastalık belirtisi görülmemiştir (Klein ve ark., 2017). Bu bulgular prostat ECT'sinin güvenli ve uygulanabilir bir tedavi seçeneği olduğunu göstermektedir.

Kemik metastazları

Kemik, metastatik hastalıklar için üçüncü en yaygın bölgedir. Metastazlar humerus ve femur gibi uzun kemikler, omurga, pelvis, kafatası ve kaburgalarda yüksek oranda olmak üzere tüm iskeleti etkileyebilir. Metastatik lezyonların tedavisi, hastanın yaşam beklentisi, genel durumu, metastaz sayısı, neoplastik hastalığın

ilerlemesi, tedaviye duyarlılık, patolojik kırık varlığı, hastanın yaşam kalitesi ve hastalığın seyri gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Bocchi ve ark., 2023).

Son yıllarda, ECT'nin kemik metastazlarında kullanımına ilişkin, bu tekniğin özellikle ağrı azaltma alanında güvenliğini ve etkinliğini gösteren birçok çalışma yayınlanmıştır (Campanacci ve ark., 2021). Kemik metastazları ile ilgili yapılan in-vivo pre-klinik testler EP'nin güvenliğini ve seçiciliğini desteklemektedir (Fini ve ark., 2013). Bu deneylerde, kemik tümörlerinin permeabilizasyonu, kemik stabilitesinde ve osteojenik aktivitede herhangi bir bozulma olmadan sağlanmıştır.

Ayrıca, kemik dokusunun heterojen yapısı darbe iletimini ve tümör EP'sini etkilememiştir. Özellikle, bir hayvan modelinde omuriliği kaplayan meninkslere elektrik darbelerinin uygulanması elektron mikroskobunda ilgili yapısal değişikliklere neden olmamıştır ve bu bulgular ECT'nin tümör sınırlarında güvenli olduğunu desteklemektedir (Campana ve ark., 2019).

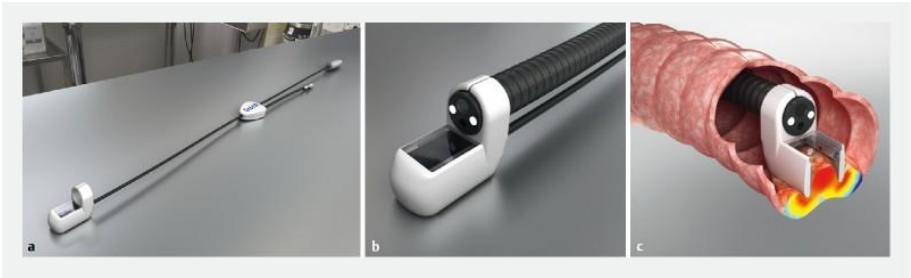
İlk deneyimler Bologna Rizzoli Enstitüsü'nde gerçekleştirilmiştir. Metastatik spinal melanomlu bir hasta, mini-açık cerrahi ve sol laminektomi yoluyla L5 seviyesine yerleştirilen dört iğne probu kullanılarak tedavi edilmiştir (Bianchi ve ark., 2016).

Kolon kanseri

Kolorektal kanser, her yıl yaklaşık 1,4 milyon yeni vakayla dünya çapında hem erkeklerde hem de kadınlarda en sık teşhis edilen üçüncü kanserdir. Daha önceki in-vitro çalışmalarımızda farklı antikanser ajan ve sentezlediğimiz moleküllerle ECT'nin kolon

kanseri üzerindeki etkinliğini tespit etmiştik (Alkış ve ark., 2021a, 2022a).

Kolorektal kanser gibi tümörleri elektrik darbeleri ile tedavi etmek için yeni endoskopik vakum elektrot cihazları geliştirilmiştir (Falk Hansen ve ark., 2020) (Şekil 7). Bu cihazlar, klinik öncesi çalışmalarda domuz ve köpek modellerinde test edilmiş ve güvenli olduğu kanıtlanmıştır ve tedavi edilen iki köpekten ikisinde de kolorektal tümörlerin 2 yıl sonra nüks olmaksızın tamamen gerilemesiyle sonuçlanmıştır (Forde ve ark., 2016).



Şekil 7. a- Standart bir endoskop ve vakum sistemine takılmak üzere geliştirilmiş bir elektrot olan endoskopik vakum elektrodunun (EndoVe) gösterimi. b - Tedavi başlığının gösterimi; iki plaka elektrotu içeren yaklaşık 2,5 cm³'lük bir bölme. c- EndoVe cihazının kolondaki görüntüsü. Tedavi başlığı, negatif basınçla elektrot haznesine çekilen tümör dokusunun üzerine yerleştirilerek elektrik alanının uygulanması sağlanır.

ECT'nin ilk insan çalışması kolorektal tümörleri olan yedi hasta üzerinde yapılmıştır. Bunlar intratumoral veya intravenöz olarak bleomisin + endoskopik elektrot cihazı kullanılarak elektrik darbeleri ile tedavi edilmişlerdir. Tedavi sonrası taramalar, tedavi edilen bölgelerde tümör yanıtları olduğunu ve çevre dokularda hasar olmadığını göstermiştir. Sadece birkaç tane birinci derece advers olay bildirilmiştir. Üç hastada ameliyat öncesi rektal kanama

görülmüş, bunlardan ikisinde kanamanın durduğu, birinde ise kanamanın azaldığı bildirilmiştir (Falk Hansen ve ark., 2020).

Meme kanseri

Meme kanseri dünya çapında en sık görülen kanserlerden biri olup, aynı zamanda kutanöz ve subkütanöz metastazların en sık nedenlerinden biridir (Savcı ve ark., 2022a). 2020 yılında dünya genelinde yaklaşık 2,3 milyon yeni meme kanseri vakası görülmüş ve çeşitli ülkeler ve bölgeler arasında kayda değer coğrafi farklılıklarla birlikte bu hastalıktan yaklaşık 6.85.000 ölüm gerçekleşmiştir (Li ve ark., 2022). 2040 yılına gelindiğinde, her yıl 3 milyondan fazla yeni meme kanseri vakasının ortaya çıkacağı ve yılda 1 milyondan fazla ölümün gerçekleşeceği tahmin edilmektedir (Ye ve ark., 2023).

Klinik olarak, deri ve deri altı metastazları kendilerini farklı şekillerde gösterebilirler: tek veya çok sayıda olabilirler, asemptomatik olabilirler veya kanayabilir, ülserleşebilir, ağrılı olabilir ve enfeksiyonlara yol açabilirler. Bu lezyonların tedavisi de buna bağlı olarak değişmektedir. Tek bir küçük metastazda cerrahi ilk seçenek olabilirken, daha geniş bir alana yayılan daha büyük veya çoklu lezyonların tedavisi zor olabilmektedir. Tümör alt tipine göre sistemik tedaviler önerilebilirken, daha önce uygulanmamışsa radyoterapi seçilebilir.

Elektrokemoterapi bu lezyonların tedavisinde güvenli ve geçerli bir tedavi seçeneği olarak kabul edilmektedir; daha önce ışınlanmış alanlarda da uygulanabilir ve birçok kez tekrarlanabilir. Çeşitli tek ve çok merkezli çalışmalar, lokal kontrol açısından yüksek yanıt oranları göstermiştir; genel yanıt oranı yaklaşık %80-

90'a ve tam kontrol oranı yaklaşık %60'a kadar çıkmaktadır (Matthiessen ve ark., 2018; Alkis, 2021).

Ayrıca farklı kanser durumlarında (melanom gibi) ECT'nin diğer sistemik tedavilerle eş zamanlı olarak güvenli bir şekilde uygulanabileceği, hastanın yaşam kalitesini iyileştirebilecek ve aynı zamanda psikolojik sağlığına da fayda sağlayabilecek bir kutanöz lokal kontrole de yol açabileceği gösterilmiştir (Vestergaard ve ark., 2023).

Bazı çalışmalar da ECT'nin diğer sistemik tedavilerle kombinasyonunun faydalı olabileceğini öne sürmekte ve bu etkileşim araştırılmaktadır (Di Prata ve ark., 2023). ECT artık çoğu endikasyonda veya diğer tedavilerin başarısız olduğu durumlarda palyatif ve küratif tedavi aşamasındadır.

Sonuç

Elektrokemoterapi, hem tek başına temel bir tedavi stratejisi olarak hem de intraoperatif ve postoperatif stratejilerle cerrahi müdahalelere destek tedavisi olarak onkolojik tedavi yöntemlerinde son derece kritik bir öneme sahiptir. Çalışmalar, ECT'nin, tümörün histolojik tipine veya önceki tedavilere bakılmaksızın, hem primer hem de metastatik deri veya deri altı dokusunda bulunan tümör lezyonlarında etkili bir tedavi olduğunu göstermiştir. Ayrıca derin yerleşimli tümörlerin tedavisinde de etkinliği gösterilmiştir.

Bununla birlikte kemoterapi ve radyoterapi gibi tedavi türlerini engellemeden birkaç ECT döngüsünü tekrarlamak da mümkündür. Lokal olarak uygulanabilmesi ve etkisinin sadece elektrik darbelerinin uygulandığı bölgelerle sınırlı olması, olası sistemik yan etkilerden hastayı korumaktadır.

İyi bir maliyet/fayda oranına sahip olan bu tedavi tekniğiyle ilgili ciddi bir advers olay veya ciddi toksisite görülmemiştir. Fakat bu yöntemin yeniliği nedeniyle, ECT'nin geliştirilmesi ve farklı kanser türleri veya hastalıklar için daha uygulanabilir hale getirilmesi ve farklı ajanlarla verimliliğini tespit edilmesi için daha fazla araştırmaya ve incelemeye ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

Agerholm-Larsen, B., Iversen, H. K., Ibsen, P., Moller, J. M., Mahmood, F., Jensen, K. S., & Gehl, J. (2011). Preclinical validation of electrochemotherapy as an effective treatment for brain tumors. *Cancer Research*, 71(11), 3753–3762. doi:10.1158/0008-5472.can-11-0451

Alkis, M. E., Akdag, M. Z., & Kandemir, S. I. (2022a). Influence of extremely low-frequency magnetic field on chemotherapy and electrochemotherapy efficacy in human Caco-2 colon cancer cells. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 41(2), 177–183. doi:10.1080/15368378.2022.2046047

Alkiş, M. E., & Alan, Y. (2021). Elektroporasyon İşlemi Sırasında Oluşan Hücre Ölümünde Darbe Frekansının Önemi. *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 9(2), 887–890. doi:10.18586/msufbd.1010048

Alkis, M. E., Buldurun, K., Alan, Y., Turan, N., & Altun, A. (2023). Electroporation enhances the anticancer effects of novel Cu(II) and Fe(II) complexes in chemotherapy-resistant glioblastoma cancer cells. *Chemistry & Biodiversity*, 20(2). doi:10.1002/cbdv.202200710

Alkiş, M. E., & Yeşilbaş, S. (2021). Effect of electroporation on radiotherapy treatment in human hepatocellular carcinoma cells. *Journal of Physical Chemistry and Functional Materials*, 4(2), 17–21. doi:10.54565/jphcfum.1006281

Alkis, M. E. (2021). Effects of electroporation on cytotoxicity of 4-aminopyrimidin-2-(1H)-one based ligand and its

Cobalt (II) and Ruthenium (II) complexes in MCF-7 cancer cells. *Dicle Medical Journal / Dicle Tip Dergisi*, 498–506. doi:10.5798/dicletip.988061

Alkış, M. E., Buldurun, K., Turan, N., Alan, Y., Yılmaz, Ü. K., & Mantarcı, A. (2022b). Synthesis, characterization, antiproliferative of pyrimidine based ligand and its Ni(II) and Pd(II) complexes and effectiveness of electroporation. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 40(9), 4073–4083. doi:10.1080/07391102.2020.1852965

Alkış, M. E., Keleştemür, Ü., Alan, Y., Turan, N., & Buldurun, K. (2021a). Cobalt and ruthenium complexes with pyrimidine based schiff base: Synthesis, characterization, anticancer activities and electrochemotherapy efficiency. *Journal of Molecular Structure*, 1226(129402), 129402. doi:10.1016/j.molstruc.2020.129402

Alkış, M. E., Turan, N., Alan, Y., Irtegun Kandemir, S., & Buldurun, K. (2021b). Effects of electroporation on anticancer activity of 5-FU and newly synthesized zinc(II) complex in chemotherapy-resistance human brain tumor cells. *Medical Oncology (Northwood, London, England)*, 38(11). doi:10.1007/s12032-021-01579-7

Arafath, M. A., Adam, F., Razali, M. R., Ahmed Hassan, L. E., Ahamed, M. B. K., & Majid, A. M. S. A. (2017). Synthesis, characterization and anticancer studies of Ni(II), Pd(II) and Pt(II) complexes with Schiff base derived from N-methylhydrazinecarbothioamide and 2-hydroxy-5-methoxy-3-

nitrobenzaldehyde. *Journal of Molecular Structure*, 1130, 791–798.
doi:10.1016/j.molstruc.2016.10.099

Arena, B. C., & V. Davalos, R. (2012). Advances in therapeutic electroporation to mitigate muscle contractions. *Journal of Membrane Science & Technology*, 02(01). doi:10.4172/2155-9589.1000e102

Bharti, S. K., Nath, G., Tilak, R., & Singh, S. K. (2010). Synthesis, anti-bacterial and anti-fungal activities of some novel Schiff bases containing 2,4-disubstituted thiazole ring. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(2), 651–660. doi:10.1016/j.ejmech.2009.11.008

Bianchi, G., Campanacci, L., Ronchetti, M., & Donati, D. (2016). Electrochemotherapy in the treatment of bone metastases: A phase II trial. *World Journal of Surgery*, 40(12), 3088–3094. doi:10.1007/s00268-016-3627-6

Bocchi, M. B., Meschini, C., Pietramala, S., Perna, A., Oliva, M. S., Matrangola, M. R., ... Vitiello, R. (2023). Electrochemotherapy in the treatment of bone metastases: A systematic review. *Journal of Clinical Medicine*, 12(19), 6150. doi:10.3390/jcm12196150

Bonferoni, M. C., Rassa, G., Gavini, E., Sorrenti, M., Catenacci, L., Torre, M. L., ... Giunchedi, P. (2021). Electrochemotherapy of deep-seated tumors: State of art and perspectives as possible “EPR effect enhancer” to improve cancer nanomedicine efficacy. *Cancers*, 13(17), 4437. doi:10.3390/cancers13174437

Bute, B., & Alkis, M. E. (2022). Anticancer activity of methotrexate in electrochemotherapy and electrochemotherapy plus ionizing radiation treatments in human breast cancer cells. *Medical Oncology* (Northwood, London, England), 40(1), 28. doi:10.1007/s12032-022-01891-w

Campana, L. G., Miklavčič, D., Bertino, G., Marconato, R., Valpione, S., Imarisio, I., ... Sersa, G. (2019). Electrochemotherapy of superficial tumors – Current status: *Seminars in Oncology*, 46(2), 173–191. doi:10.1053/j.seminoncol.2019.04.002

Campanacci, L., Bianchi, G., Cevolani, L., Errani, C., Ciani, G., Facchini, G., ... Donati, D. M. (2021). Operating procedures for electrochemotherapy in bone metastases: Results from a multicenter prospective study on 102 patients. *European Journal of Surgical Oncology: The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*, 47(10), 2609–2617. doi:10.1016/j.ejso.2021.05.004

Casciato, D. A. (2012). *Manual of clinical oncology* (7th ed.). Saint Paul, Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.

Cemazar, M., & Sersa, G. (2019). Recent advances in electrochemotherapy. *Bioelectricity*, 1(4), 204–213. doi:10.1089/bioe.2019.0028

Cemazar, M., Kotnik, T., Sersa, G., & Miklavcic, D. (2015). Electroporation for electrochemotherapy and gene therapy inbook: Electromagnetic fields in biology and medicine. In M.S.Markov (Ed.) Ch. 24 (pp. 395–413). CRC Press.

Choromańska, A., & Szwedowicz, U. (2023). Electrochemotherapy of melanoma: What we know and what is unexplored? *Advances in Clinical and Experimental Medicine: Official Organ Wroclaw Medical University*, 32(1), 5–8. doi:10.17219/acem/158076

Condello, M., D’Avack, G., Spugnini, E. P., & Meschini, S. (2022). Electrochemotherapy: An alternative strategy for improving therapy in drug-resistant SOLID tumors. *Cancers*, 14(17), 4341. doi:10.3390/cancers14174341

Cucu, C. I., Giurcăneanu, C., Popa, L. G., Orzan, O. A., Beiu, C., Holban, A. M., ... Mihai, M. M. (2021). Electrochemotherapy and other clinical applications of electroporation for the targeted therapy of metastatic melanoma. *Materials*, 14(14), 3985. doi:10.3390/ma14143985

Davachi, N. D., Bartlewski, P. M., Masoudi, R., & Fallahi, R. (2023). Suitability of a universal electroporation device for genome editing and production of transgenic rats. *Reproductive Biology*, 23(2), 100755. doi:10.1016/j.repbio.2023.100755

Di Prata, C., Mascherini, M., Ross, A. M., Silvestri, B., Kis, E., Odili, J., ... Grischke, E.-M. (2023). Efficacy of electrochemotherapy in breast cancer patients of different receptor status: The INSPECT experience. *Cancers*, 15(12), 3116. doi:10.3390/cancers15123116

Esmaili, N., & Friebe, M. (2019). Electrochemotherapy: A review of current status, alternative IGP approaches, and future perspectives. *Journal of Healthcare Engineering*, 2019, 1–11. doi:10.1155/2019/2784516

Falk Hansen, H., Bourke, M., Stigaard, T., Clover, J., Buckley, M., O’Riordain, M., ... Gehl, J. (2020). Electrochemotherapy for colorectal cancer using endoscopic electroporation: a phase 1 clinical study. *Endoscopy International Open*, 08(02), E124–E132. doi:10.1055/a-1027-6735

Fini, M., Salamanna, F., Parrilli, A., Martini, L., Cadossi, M., Maglio, M., & Borsari, V. (2013). Electrochemotherapy is effective in the treatment of rat bone metastases. *Clinical & Experimental Metastasis*, 30(8), 1033–1045. doi:10.1007/s10585-013-9601-x

Fiorentzis, M., Viestenz, A., Siebolts, U., Seitz, B., Coupland, S. E., & Heinzelmann, J. (2019). The potential use of electrochemotherapy in the treatment of uveal melanoma: In vitro results in 3D tumor cultures and in vivo results in a chick embryo model. *Cancers*, 11(9), 1344. doi:10.3390/cancers11091344

Forde, P. F., Sadadcharam, M., Bourke, M. G., Conway, T. A., Guerin, S. R., de Kruijf, M., ... Soden, D. M. (2016). Preclinical evaluation of an endoscopic electroporation system. *Endoscopy*, 48(5), 477–483. doi:10.1055/s-0042-101343

Fusco, R., Di Bernardo, E., D’Alessio, V., Salati, S., & Cadossi, M. (2021). Reduction of muscle contraction and pain in electroporation-based treatments: An overview. *World Journal of Clinical Oncology*, 12(5), 367–381. doi:10.5306/wjco.v12.i5.367

Geboers, B., Scheffer, H. J., Graybill, P. M., Ruarus, A. H., Nieuwenhuizen, S., Puijk, R. S., ... Meijerink, M. R. (2020). High-voltage electrical pulses in oncology: Irreversible electroporation, electrochemotherapy, gene electrotransfer, electrofusion, and

electroimmunotherapy. *Radiology*, 295(2), 254–272.
doi:10.1148/radiol.2020192190

Goggins, C. A., & Khachemoune, A. (2019). The use of electrochemotherapy in combination with immunotherapy in the treatment of metastatic melanoma: a focused review. *International Journal of Dermatology*, 58(8), 865–870. doi:10.1111/ijd.14314

Granata, V., Fusco, R., Piccirillo, M., Palaia, R., Petrillo, A., Lastoria, S., & Izzo, F. (2015). Electrochemotherapy in locally advanced pancreatic cancer: Preliminary results. *International Journal of Surgery (London, England)*, 18, 230–236. doi:10.1016/j.ijsu.2015.04.055

Izzo, F., Granata, V., Fusco, R., D'Alessio, V., Petrillo, A., Lastoria, S., ... Palaia, R. (2021). Clinical phase I/II study: Local disease control and survival in locally advanced pancreatic cancer treated with electrochemotherapy. *Journal of Clinical Medicine*, 10(6), 1305. doi:10.3390/jcm10061305

Klein, N., Gunther, E., Zapf, S., El-Idrissi, R., Atta, J., & Stehling, M. (2017). Prostate cancer infiltrating the bladder sphincter successfully treated with Electrochemotherapy: a case report. *Clinical Case Reports*, 5(12), 2127–2132. doi:10.1002/ccr3.1270

Łapińska, Z., Szwedowicz, U., Choromańska, A., & Saczko, J. (2022). Electroporation and electrochemotherapy in gynecological and breast cancer treatment. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(8), 2476. doi:10.3390/molecules27082476

Li, Y., Zheng, J., Deng, Y., Deng, X., Lou, W., Wei, B., ... Dai, Z.-J. (2022). Global Burden of female breast cancer: Age-period-cohort analysis of incidence trends from 1990 to 2019 and forecasts for 2035. doi:10.21203/rs.3.rs-1020184/v2

Linnert, M., Agerholm-Larsen, B., Mahmood, F., Iversen, H. K., & Gehl, J. (2011). Electrochemotherapy for primary and secondary brain tumors. In *Tumors of the Central Nervous system, Volume 3* (pp. 195–206). Dordrecht: Springer Netherlands.

Longley, D. B., & Johnston, P. G. (2005). Molecular mechanisms of drug resistance. *The Journal of Pathology*, 205(2), 275–292. doi:10.1002/path.1706

Lv, Y., Cheng, X., Chen, S., Liu, H., Wang, Y., Yao, C., & Rubinsky, B. (2020). Analysis of the electric field-dependent current during electroporation pulses. *IEEE Access: Practical Innovations, Open Solutions*, 8, 93850–93856. doi:10.1109/access.2020.2995151

Mahmood, F., Hansen, R. H., Agerholm-Larsen, B., Gissel, H., Ibsen, P., & Gehl, J. (2015). Detection of electroporation-induced membrane permeabilization states in the brain using diffusion-weighted MRI. *Acta Oncologica (Stockholm, Sweden)*, 54(3), 289–297. doi:10.3109/0284186X.2014.991045

Mahmood, F., Hansen, R. H., Agerholm-Larsen, B., Jensen, K. S., Iversen, H. K., & Gehl, J. (2011). Diffusion-weighted MRI for verification of electroporation-based treatments. *The Journal of Membrane Biology*, 240(3), 131–138. doi:10.1007/s00232-011-9351-0

Mali, B., Jarm, T., Snoj, M., Sersa, G., & Miklavcic, D. (2013a). Antitumor effectiveness of electrochemotherapy: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Surgical Oncology: The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*, 39(1), 4–16. doi:10.1016/j.ejso.2012.08.016

Mali, Barbara, Miklavcic, D., Campana, L. G., Cemazar, M., Sersa, G., Snoj, M., & Jarm, T. (2013b). Tumor size and effectiveness of electrochemotherapy. *Radiology and Oncology*, 47(1). doi:10.2478/raon-2013-0002

Martin, C. H., & Martin, R. C. G. (2023). Optimal dosing and patient selection for electrochemotherapy in solid abdominal organ and bone tumors. *Bioengineering (Basel, Switzerland)*, 10(8), 975. doi:10.3390/bioengineering10080975

Matthiessen, L. W., Keshtgar, M., Curatolo, P., Kunte, C., Grischke, E.-M., Odili, J., ... Gehl, J. (2018). Electrochemotherapy for breast cancer-results from the INSPECT database. *Clinical Breast Cancer*, 18(5), e909–e917. doi:10.1016/j.clbc.2018.03.007

Miklavčič, D., Mali, B., Kos, B., Heller, R., & Serša, G. (2014). Electrochemotherapy: from the drawing board into medical practice. *Biomedical Engineering Online*, 13(1), 29. doi:10.1186/1475-925x-13-29

Miklavcic, D., & Towhidi, L. (2010). Numerical study of the electroporation pulse shape effect on molecular uptake of biological cells. *Radiology and Oncology*, 44(1). doi:10.2478/v10019-010-0002-3

Novickij, V., Rembiałkowska, N., Szlasa, W., & Kulbacka, J. (2022). Does the shape of the electric pulse matter in electroporation? *Frontiers in Oncology*, 12, 958128. doi:10.3389/fonc.2022.958128

Posdzich, P., Darr, C., Hilser, T., Wahl, M., Herrmann, K., Hadaschik, B., & Grünwald, V. (2023). Metastatic prostate cancer—A review of current treatment options and promising new approaches. *Cancers*, 15(2), 461. doi:10.3390/cancers15020461

Saczko, J., Kamińska, I., Kotulska, M., Bar, J., Choromańska, A., Rembiałkowska, N., ... Kulbacka, J. (2014). Combination of therapy with 5-fluorouracil and cisplatin with electroporation in human ovarian carcinoma model in vitro. *Biomedecine & Pharmacotherapie [Biomedicine & Pharmacotherapy]*, 68(5), 573–580. doi:10.1016/j.biopha.2014.05.005

Savcı, A., Buldurun, K., Alkış, M. E., Alan, Y., & Turan, N. (2022a). Synthesis, characterization, antioxidant and anticancer activities of a new Schiff base and its M(II) complexes derived from 5-fluorouracil. *Medical Oncology (Northwood, London, England)*, 39(11). doi:10.1007/s12032-022-01774-0

Savcı, A., Turan, N., Buldurun, K., Eşref Alkış, M., & Alan, Y. (2022b). Schiff base containing fluorouracil and its M(II) complexes: Synthesis, characterization, cytotoxic and antioxidant activities. *Inorganic Chemistry Communications*, 143(109780), 109780. doi:10.1016/j.inoche.2022.109780

Scuderi, M., Dermol-Černe, J., Batista Napotnik, T., Chaigne, S., Bernus, O., Benoist, D., ... Miklavčič, D. (2023).

Characterization of experimentally observed complex interplay between pulse duration, electrical field strength, and cell orientation on electroporation outcome using a time-dependent nonlinear numerical model. *Biomolecules*, 13(5), 727. doi:10.3390/biom13050727

Sersa, G., Jarm, T., Kotnik, T., Coer, A., Podkrajsek, M., Sentjunc, M., ... Cemazar, M. (2008). Vascular disrupting action of electroporation and electrochemotherapy with bleomycin in murine sarcoma. *British Journal of Cancer*, 98(2), 388–398. doi:10.1038/sj.bjc.6604168

Sersa, Gregor, Cufer, T., Paulin, S. M., Cemazar, M., & Snoj, M. (2012). Electrochemotherapy of chest wall breast cancer recurrence. *Cancer Treatment Reviews*, 38(5), 379–386. doi:10.1016/j.ctrv.2011.07.006

Shankayi, Z., Firoozabadi, S. M. P., & Hassan, Z. S. (2014). Optimization of electric pulse amplitude and frequency in vitro for low voltage and high frequency electrochemotherapy. *The Journal of Membrane Biology*, 247(2), 147–154. doi:10.1007/s00232-013-9617-9

Spugnini, E. P., Menditti, D., De Luca, A., & Baldi, A. (2023). Electrochemotherapy in translational medicine: From veterinary experience to human oncology. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 33(1), 79–90. doi:10.1615/critreveukaryotgeneexpr.2022043966

Tunikowska, J., Rembiałkowska, N., Michel, O., Mączyńska, J., Antończyk, A., Prządka, P., ... Kulbacka, J. (2023). Electrochemotherapy with bleomycin supported by NIRF imaging

with indocyanine green (ICG)—in vitro and in vivo case study. *Applied Sciences (Basel, Switzerland)*, 13(4), 2027. doi:10.3390/app13042027

Vestergaard, K., Vissing, M., Gehl, J., & Lindhardt, C. L. (2023). Qualitative investigation of experience and quality of life in patients treated with calcium electroporation for cutaneous metastases. *Cancers*, 15(3), 599. doi:10.3390/cancers15030599

Wang, Y., Wu, X., Ren, Z., Li, Y., Zou, W., Chen, J., & Wang, H. (2023). Overcoming cancer chemotherapy resistance by the induction of ferroptosis. *Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy*, 66(100916), 100916. doi:10.1016/j.drug.2022.100916

Ye, F., Dewanjee, S., Li, Y., Jha, N. K., Chen, Z.-S., Kumar, A., ... Tang, H. (2023). Advancements in clinical aspects of targeted therapy and immunotherapy in breast cancer. *Molecular Cancer*, 22(1). doi:10.1186/s12943-023-01805-y

Zupanic, A., Ribaric, S., & Miklavcic, D. (2007). Increasing the repetition frequency of electric pulse delivery reduces unpleasant sensations that occur in electrochemotherapy. *Neoplasma*, 54(3), 246–250.

BÖLÜM III

Kanser Hücrelerinin Biyofiziksel Açıdan Değerlendirilmesi

Recep AKKAYA¹
Birnur AKKAYA²

GİRİŞ

Kanser veya Malign tümörleri, genellikle sürekli ve hızlı büyüyen hücrelerdir. Şekilleri yoktur, büyürken sınırları yoktur ve damarların içine girerek invazyon dediğimiz şekilde büyürler. Genellikle metastaz yaparlar. Tedavi edilmeyen ya da tedavisi gecikmiş kanserler ölümcüldür. Hücrelerin istemsiz büyümesi ile oluşan yapının kanser tabirini alması için; hücrede sınırsız proliferasyon kabiliyeti, büyümesini engelleyen sistemlere karşı etkisiz olması, hücrelerinin apoptozis görülmemesi, yeni damarların

¹ Prof. Dr. Recep AKKAYA, Cumhuriyet Üniversitesi, Faculty of Medicine,, Basic sciences division,, Department of Biophysics, 58140 Sivas /Türkiye, Orcid: 0000-0002-3477-7198, recepakkaya5835@gmail.com.

² Prof. Dr. Birnur AKKAYA, Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Science, Cumhuriyet University, Zip code: 58140, SİVAS / TURKEY Orcid: 0000-0001-9139-1884; pergamonchem@gmail.com

oluşumunu uyarabilmesi, dokuların içine girebilmesi ve metastaz oluşturması bize bu yapının kanser olduğunu ifade eder.

Kanser hücrelerine Bakış:

Kanser hücresi, mikroskop incelemelerinde, normal hücrelere daha az benzerler ya da hiç benzemezler. Kanserlerde DNA yapısı genellikle yoğunlaşma içerir; yoğun DNA hücre çekirdeklerinin koyu renge boyanmasına neden olur. Sitogenetik (hücre genetiği) incelemelerinde çok sayıda gen anomalileri saptanır (Bocchi et al., 2023; Bonferoni et al., 2021). Tümör oluşumunda etkili birçok etken vardır. Kanser yapan etkilere kanserojen denilmektedir (Cemazar et al., 201; Choromańska et al., 2023). Kanserleşmeyi önleyen maddelere antikanserojen adı verilmiştir (Cucu et al., 2021). Tümör oluşumunda genelde üç temel nedenden bahsedilir; çevreden gelen kanserojenler (Fiziksel nedenler, Kimyasallar, Canlı etkenler), organizmanın kendisinde bulunan kanserojenler (Hormonlar, ...), yardımcı faktörler (Yaş, Beslenme, ...) (Davachi et al., 2023; Falk et al., 2020; Fusco et al., 2021). Netice de kanser, hücredeki DNA'nın hasar alması sonucu hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyümesi ve çoğalmasıdır (Geboers et al., 2020; Izzo et al., 2021). Günde vücudumuzdaki hücrelerde bulunan DNA'da yaklaşık 10.000 mutasyon olmasına rağmen bağışıklık sistemimiz her milisaniye vücudumuzu tarar ve kanserli hücreleri yok eder (Martin et al., 2023; Matthiessen et al., 2018). Ancak vücutta mutasyona uğrayan hücrelerin ancak çok küçük bir kısmı kansere yol açar. Mutasyon gösteren hücrelerin yaşama kabiliyetleri normal hücrelere göre daha azdır. Bu sebeple oluşturdukları sinyaller ile kendilerini yok ederler (apoptoz). Mutasyon gösteren hücrelerin pek çoğunda bile hâlâ aşırı büyümeyi

önleyen DNA tamir mekanizmaları (Tümör engelleyici genler) bulunur (Posdzich et al .,2023; Scuderi et al., 2023; Spugnini et al., 2023). Hayatta kalabilen mutant hücrelerin bir kısmının kanserli hücreye dönüşme potansiyeli vardır. Sıklıkla, kanser potansiyeli taşıyan (hasarlı ya da az sayıda mutasyon içeren) hücreler çoğalarak kanser oluşturmada önce vücudun bağışıklık sistemi tarafından hedeflenirler (Tunikowska et al., 2023; Vestergaard, et al., 2023; Wang et al., 2023; Ye et al .,2023). Fakat bazı mutant hücreler immün sistemden kaçabilmektedir. Bağışıklık sistemi tarafından yok edilmemiş olan bu hücreler kontrolsüz biçimde üreyerek bulundukları dokuyu işgal ederler (Lewin et al., 2011; Chin, and Yeong 2009). Sadece o dokuyla sınırlı kalmayıp komşu dokulara da yayılırlar biz buna invazyon diyoruz. Kan ve lenf dolaşımı yoluyla vücudun ilgisiz bölgelerine de taşınabilirler buna da metastaz diyoruz (Martinez 2010).

Kanser Hücrelerinin Biyofiziksel Ayrımı:

Kanser hücrelerini normal hücrelerden ayıran özellikleri biyofiziksel olarak ayırmak mümkündür. Bunlar; kanser hücrelerinin biyomekanik özellikleri ve hücrelerin biyoelektiksel özellikleridir (Peyressatre et al ., 2015; Nakayama and Nakayama 2006; Hanahan and Weinberg. 2011). Tümörde hücre dışı matrisi sağlıklı dokulara göre daha sertken, kanser hücreleri bozulan altyapısal özellikleri sebebiyle sağlıklı hücrelere göre çok daha yumuşaktır (Liberti and Locasale, 2016; Fujita et al., 2016). Bu yüzden tümör dokularında oluşan kuvvetler “stress shielding” adı verilen prensip sebebiyle hücreleri değil daha sert olan hücre dışı matrisin yüklenmesini sağlarlar (DeBerardinis and Chandel 2016; Seyfried et al., 2013). Bu sebepten tümörleşmiş bölge dışında sert

tabaka oluşur ve kemoterapi ilaçlarının etkisini azaltır. Bu sebeptendir ki Hekimler, kemoterapide ilacın etkisini arttırmak için doz fazlası ilaç yüklemesi yapmak zorunda kalırlar (Akky et al, 2023; Wang et al., 2020). Buda hastada saç dökülmesi ve ağrı bulantı gibi sebeplere neden olur. Bu durumun önüne geçilmek için kanser hücreleri matriste oluşan kuvvetlerden bağımsız ve Newton prensipleriyle, yani ivmelenen kütlede oluşan kuvvetler sayesinde yüklenmeye maruz bırakılmalıdır (Villadolid and Amin 2015; Santos et al., 2011). Mekanik sinyallerin yaşamsal önemi Dışarıdan alınan mekanik sinyalleri algılama ve onlara tepki verme eylemleri, bakteri ve bitki hücreleri dahil olmak üzere, yeryüzündeki bütün hücrelerin ortak noktalarından biridir (Pezzani et al.,2019; Liang et al., 2018). Bu genel özellik memeli hücrelerinde de iyi korunmuş olup bir organizmanın gelişiminden itibaren mekanik kuvvetler organ sistemlerinin bakımı ve tamiri sırasında önemli roller oynarlar (Leite et al., 2021; Jones et al., 2019). Biyomekanik kuvvetler sayesinde damar, akciğer gibi dokuların şekilleri ve fizyolojik fonksiyonlarını önemli ölçüde belirlenir (Orr vd., 2006; Ghosh 2016). Hücre iskeletinin şeklini ve bileşenlerinin kalınlığını etkileyen bu kuvvetler aynı zamanda hücrelere yön de verir (Meloni vd., 2011; Yoshigi vd., 2005). Mekanik titreşimler aracılığı ile iletilecek bu kuvvetler daha önceki çalışmalarda gösterildiği üzere sağlıklı kemik, kas ve tendon gelişimini etkiler (Fidler et al.,2016; Auyeung et al., 2016). İlâveten titreşime dayalı bu tarz mekanik kuvvetler kemik iliğindeki kök hücre karar mekanizmalarını etkileyerek onları yağdan ziyade kemik oluşumuna yönlendirmektedir Afaq et al.,2004; Bassiri 2018). Yapılan mekanik titreşimler hücrelerdeki aktin miktarını arttırarak hücre yuvarlaklığını azalttığı görülmüştür. Literatürün üzerinde

durulan mekanizmalar sistemler bazında olup, egzersizin dolaşımdaki hormon miktarlarını değiştirmesi, vücut yağlılığını azaltması ve immün sistemini güçlendirmesi olarak özetlenebilir (Lansky et al., 2005; Winzer vd., 2011). Memeli dokularına ait olan kanserli hücrelerinin herhangi bir zaman için üç farklı biyomekanik kuvvet oluşumunun kombinasyonuna maruz kalırlar: 1) Kütle çekimi ve kasılmalar yüzünden oluşan tepki kuvvetleri; 2) Sıvı akışının yarattığı kesme (shear) kuvvetleri; 3) Hareket sayesinde Newton prensiplerine göre oluşan kuvvetler. Bu kuvvetlerden sadece sonuncusu tüm hücreleri direkt olarak etkilerken, ilk ikisinin doğurduğu kuvvetler hücre dışı matris aracılığı ile dokudaki bulunan hücrelere iletilir. Kanser hücrelerinin biyomekaniği söz konusu olduğunda hücre sağlıklı dokulara göre önemli farklılıklar gösterir. Kanser hücreleri sağlıklı hücrelere göre dış tabakası net bir şekilde daha serttir (Brabek vd., 2010).

Normal organizma hücreleri genler tarafından sağlanan talimatları takip eder. Genler, büyümenin ne zaman başlayacağı ve durdurulacağı gibi hücrelerin uyması gereken kuralları belirler. Ancak kanserli hücreler normal hücrelerin uyduğu sistemi uymazlar. Normal hücreler kontrollü bir şekilde bölünür ve çoğalırken, kanserli hücreler kontrolsüz bir şekilde çoğalır. Aynı şekilde normal hücreler ölmeye (apoptoz) programlanmışken kanserli hücreler bu apoptoz olmayı engeller. Doku ve organlara ait normal hücreler olduğu yerde kalırken, kanserli hücreler hareket (invazyon) ederler. Her maddenin, her hücrenin bir frekansı olduğu literatürde görülmektedir. Tüm hücrelerin frekansı ile kanserli hücrelerin frekansı farklıdır. Bunu ise tüm vücut taraması ile farklı frekanstaki hücrelerin tespiti ile kanserli hücrenin tedavisi

yapılabilmektedir. Kanser tedavisinde frekansı farklı kanser hücrelerinin frekansını dış etki ile normal hücrelerin frekansına eşitlemeye ve aynı sekansa yakalamak için bio elektrik etkisi uygulamaya yeterlidir. Bu frekansları eşitlemenin rolü, bağışıklık sistemini güçlendirebilmesidir. Kanser hastalığı bağışıklık sistemimizi zayıflatarak oluşan bir hastalık olduğu için eşit frekanstan bu konuda etkin şekilde yararlanılabilmektedir. Kanserli hücreye ters frekans uygulanması ile oluşan biyofiziksel tedavilerde, hastalık, vücudun kendi kendini düzenleyici mekanizmalarının yetmezliği olarak görülmektedir. Ters frekans tedavisinin amacı; vücudun kendi kendini düzenleyen sistemlerinin düzgün bir şekilde çalışmasıdır. Bu durum toksik yükü azaltırken, vücudun sistemlerini ve organlarını güçlendirmektedir. Ters frekans metodu bütüncül bir tedavi metodudur; diğer bütüncül tedavi metotlarında olduğu gibi hastalığı değil hastayı ele alır. Bu metoda göre hastalığın bir oluşum süreci ve hastalık şartlarının oluşması gerekmektedir. Kanser tedavisinde ters frekans metodundan ameliyat öncesi ya da sonrasında yararlanılmaktadır. Kanser tedavisi sürecinde hasta kemoterapi, radyoterapi gibi modern tıp yaklaşımlarını uygulamaya devam ederken bir yandan da ters frekans tedavisi alabilmektedir. Bu işlemler birbirine negatif etki oluşturmaz, aksine birbirine sinerji oluşturur. Ters frekans kemoterapinin etkinliğini artırırken, yan etkilerini azaltabilir. Hasta kemoterapi sonrasında daha rahat geçirebilmektedir (Kocabay et al., 2024; Akkaya and Akkaya, 2024). İlaveten etkinliği uzun süren ve ciddi yan etkisi olan radyoterapinin de olumsuz etkilerini ters frekans ile azaltmak ve vücuttaki radyasyonu temizlemek tüm hücrelerin eş güdümlü frekansına bağlıdır (Akkaya et al., 2023).

Sonuç:

Kanser hücrelerinin tedavisinde kurkomoid molekülü oldukça önemli bir konumdadır. Anti-enflamatuar özelliklerine ek olarak kanser tedavisinde büyük bir etkinlik spektrumuna sahip olduğu birçok araştırma ile kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmalar kurkomoid molekülünün sağlıklı hücreleri bozulmaya karşı koruyarak tümör hücrelerinin çoğalmasını önlediği ve metastaz oluşumunu engellediği görülmüştür. Ayrıca, hücrenin apoptoz yeteneğini geri kazanması bu molekül sayesinde büyük ölçüde sağlanır. Yapılan bir diğer çalışmada ise “Kuersetin” molekülü anti-tümör etkisine sahiptir ve immün sistemi önemli ölçüde destekler ve özellikle hormonlara bağlı tümörlere karşı etkin olduğu görülmüştür. Yapılan birçok çalışma vinkristin, kamptotesin ve podofilotoksin gibi bileşikve molekülleer stotoksitite etkili ve çeşitli kanser tedavilerinde kullanılan ilaç etken materyalleridir. Elde edilen bu molekül ve bileşikler kanser tedavisindeki, kemoterapi ve radyoterapinin toksisitesini azaltmak, kaşeksiyi iyileştirme gibi amaçları da bulunmaktadır. Yapılan bir başka çalışmada ise timökinon bileşiğı kanserli hücrelerin ilerlemesini yavaşlattığı bulunmuştur. Yukarıda bahsedilen çalışmalarda elde edilen molekül ve bileşikler kanser hücrelerinin metastazı denilen farklı organlara sıçramasını durdurma etkisi ve invazyon denilen bulunduğu yerde yayılmasını engelleme etkisi apoptotik etkidir. Apoptotik etki, kanser hücresinin kendi kendini öldürmesi de denilebilir. Normalde kanser hücreleri sonsuz olarak yaşayabilmektedir. Elde edilen molekül ve bileşikler apoptozisi tetiklemesi özellikle kanserle baş etmede çok önemlidir. Kanser hücrelerinin anjiogenez dediğimiz yani kendi çevresindeki damar sistemini geliştirerek kendini

beslemesi gibi özelliğini de elde edilen bu molekül ve bileşikler sayesinde beslenme özelliğini yok eder. Yapılan bir başka çalışmada ise elde edilen molekülün kanserli hücrenin ilerlemesinin durdurduğu ve invazyonu (Akkaya and Akkaya 2024) yok ettiği görülmüş ve kanserli hücre apoptozis olmuştur.

Kaynaklar

Akkaya, B. and Akkaya, R. (2024) . "Synthesis, Characterization, and Investigation of Doxorubicin Drug Release Properties of Poly(acrylamide-co-acrylic Acid/Maleic Acid)-Hydroxyapatite Composite Hydrogel.." Medicinal chemistry (Sharjah (United Arab Emirates)) .

Akkaya, B. Akkaya, R. and Nazlim, A. (2023) . "Magnetic chitosan oligomer-sulfonate-stearic acid triple combination as cisplatin carrier for site-specific targeted on MCF-7 cancer cells: Preparation, characterization and in vitro experiments." Chemical Biology and Drug Design , vol.102, no.4, pp.692-706.

Akkaya B., Akkaya R., Celikkaya, S. I., Sariaydin, N., & Raheem, K. Y., (2023). Doxorubicin loaded pH-responsive chitosan-poly(acrylamide-maleic acid) composite hydrogel for anticancer targeting. Journal of Molecular Structure , vol.1274.

Afaq, F., Malik, A., Syed, D., Maes, D., Matsui, M. S., & Mukhtar, H. (2004). Pomegranate fruit extract modulates UVB-mediated phosphorylation of mitogen activated protein kinases and activation of nuclear factor kappa B in normal human epidermal keratinocytes. Photochemistry and Photobiology, 81(1). <https://doi.org/10.1562/2004-08-06-ra-264>

Auyeung, K. K., Han, Q. Bin and Ko, J. K. (2016). Astragalus membranaceus: A review of its protection against inflammation and gastrointestinal cancers. American journal of Chinese medicine, 44(1), 1–22.

Bassiri-Jahromi, S. (2018). *Punica granatum* (Pomegranate) activity in health promotion and cancer prevention. *Oncol* 10.4081/oncol.2018.345. Rev, 12(1), 345.

Bocchi, M. B., Meschini, C., Pietramala, S., Perna, A., Oliva, M. S., Matrangola, M. R., ... Vitiello, R. (2023). Electrochemotherapy in the treatment of bone metastases: A systematic review. *Journal of Clinical Medicine*, 12(19), 6150. doi:10.3390/jcm12196150

Bonferoni, M. C., Rassu, G., Gavini, E., Sorrenti, M., Catenacci, L., Torre, M. L., ... Giunchedi, P. (2021). Electrochemotherapy of deep-seated tumors: State of art and perspectives as possible “EPR effect enhancer” to improve cancer nanomedicine efficacy. *Cancers*, 13(17), 4437. doi:10.3390/cancers13174437

Cemazar, M., Kotnik, T., Sersa, G., & Miklavcic, D. (2015). Electroporation for electrochemotherapy and gene therapy inbook: Electromagnetic fields in biology and medicine. In M.S.Markov (Ed.) Ch. 24 (pp. 395–413). CRC Press.

Chin, C. and Yeong, F. (2009). Safeguarding Entry into Mitosis: the Antephase Checkpoint. *Molecular and Cellular Biology*, 30(1), pp.22-32

Choromańska, A., & Szwedowicz, U. (2023). Electrochemotherapy of melanoma: What we know and what is unexplored? *Advances in Clinical and Experimental Medicine: Official Organ Wroclaw Medical University*, 32(1), 5–8. doi:10.17219/acem/158076

Cucu, C. I., Giurcăneanu, C., Popa, L. G., Orzan, O. A., Beiu, C., Holban, A. M., ... Mihai, M. M. (2021). Electrochemotherapy and other clinical applications of electroporation for the targeted therapy of metastatic melanoma. *Materials*, 14(14), 3985. doi:10.3390/ma14143985

Davachi, N. D., Bartlewski, P. M., Masoudi, R., & Fallahi, R. (2023). Suitability of a universal electroporation device for genome editing and production of transgenic rats. *Reproductive Biology*, 23(2), 100755. doi:10.1016/j.repbio.2023.100755

DeBerardinis, R. and Chandel, N. (2016). Fundamentals of cancer metabolism. *Science Advances*, 2(5), pp.e1600200-e1600200.

Falk H.H., Bourke, M., Stigaard, T., Clover, J., Buckley, M., O'Riordain, M., ... Gehl, J. (2020). Electrochemotherapy for colorectal cancer using endoscopic electroporation: a phase 1 clinical study. *Endoscopy International Open*, 08(02), E124–E132. doi:10.1055/a-1027-6735

Fidler, M. M., Soerjomataram, I., Bray, F. (2016). A global view on cancer incidence and national levels of the human development index. *International journal of cancer*, 139(11), 24362446.

Fujita, K., Hayashi, K., Motoishi, M., Sawai, S., Terashima, T. and Mio, T. (2016). Giant mature teratoma in the mediastinum presenting with rapid growth. *Oxford Medical Case Reports*, 2016(12), p.omw093.

Fusco, R., Di Bernardo, E., D'Alessio, V., Salati, S., & Cadossi, M. (2021). Reduction of muscle contraction and pain in electroporation-based treatments: An overview. *World Journal of Clinical Oncology*, 12(5), 367–381. doi:10.5306/wjco.v12.i5.367

Ghosh, D. Seed to patient in clinically proven natural medicines in nutraceuticals. *Efficacy, Safety And Toxicity*. Elsevier Inc.; 2016. pp. 925–931.

Geboers, B., Scheffer, H. J., Graybill, P. M., Ruarus, A. H., Nieuwenhuizen, S., Puijk, R. S., ... Meijerink, M. R. (2020). High-voltage electrical pulses in oncology: Irreversible electroporation, electrochemotherapy, gene electrotransfer, electrofusion, and electroimmunotherapy. *Radiology*, 295(2), 254–272. doi:10.1148/radiol.2020192190

Hanahan, D. and Weinberg, R. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), pp.646-674.

Izzo, F., Granata, V., Fusco, R., D'Alessio, V., Petrillo, A., Lastoria, S., ... Palaia, R. (2021). Clinical phase I/II study: Local disease control and survival in locally advanced pancreatic cancer treated with electrochemotherapy. *Journal of Clinical Medicine*, 10(6), 1305. doi:10.3390/jcm10061305

Jones, E., Nissen, L., McCarthy, A., Steadman, K., Windsor, C. (2019) Exploring the use of complementary and alternative medicine in cancer patients. *Integrative cancer therapies*, 18, p. 153473541984698.

Kocabay, S. Alagöz M. . and Akkaya, B. (2024) . "Investigation of inhibitory effect of sulfated chitosan oligomer on

human heparanase enzyme: in silico and in vitro studies." *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* .

Lansky, E.P., Harrison, G., Froom, P., Jiang, & W.G. (2005). Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel. *Invest New Drugs*, 23(2), 121-2. doi: 10.1007/s10637-005-5856-7.

Lewin, B., Krebs, J., Kilpatrick, S., Goldstein, E. and Lewin, B. (2011). *Lewin's genes X*. Sudbury, Mass.: Jones and Bartlett.

Leite, P. M., Camargos, L. M., Castilho, R. O. (2021). Recent progress in phytotherapy: A Brazilian perspective. *European journal of integrative medicine*, 41, p. 101270.

Liberti, M. and Locasale, J. (2016). The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells?. *Trends in Biochemical Sciences*, 41(3), pp.211-218.

BÖLÜM IV

Extracorporeal Shock Wave Therapy: Physical Properties, Mechanisms and Indications in Musculoskeletal

Batuhan BİLGİN¹

Introduction

Extracorporeal Shock Wave Therapy (ESWT) has gained popularity as a non-invasive treatment option for various musculoskeletal disorders. It emerged as a by-product of Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy (ESWL), which is used in urology to treat pathologies such as kidney stones and gallstones. This chapter aims to provide a comprehensive overview of ESWT, including its history, physical characteristics and types of ESWT, mechanisms of action, indications, clinical applications, evidence-

¹ Assistant Professor, Gaziantep Islam Science and Technology University, Faculty of Medicine, Department of Biophysics, Gaziantep/Türkiye, Orcid: 0000-0002-3470-1783, batuhan.bilgin2327@gmail.com

based outcomes, practical considerations and future directions in research and clinical practice.

History

The history of ESWT dates back to the early 1980s when it was first introduced as a treatment modality for urologic conditions such as kidney stones. The concept of using shock waves for therapeutic purposes originated from the successful application of shock waves to break up kidney stones in a procedure known as ESWL (Hirschfeld, 2015). Building on the success of ESWL, researchers began to investigate the potential of shockwaves in the treatment of musculoskeletal disorders.

The pioneers of ESWT in the musculoskeletal field were Dr. Cacchio and Dr. Schmitz, who conducted the first studies on the use of shockwaves for orthopedic conditions in the mid-1980s (Cacchio & Schmitz, 1985). Their groundbreaking work laid the foundation for the development of ESWT as a non-invasive treatment option for a range of musculoskeletal conditions.

Over the years, significant advances have been made in ESWT technology, leading to the refinement of shockwave devices and treatment protocols. The introduction of focused and radial shockwave systems has enabled clinicians to deliver more precise and targeted treatment to affected tissues (Smith et al., 2017). These technological innovations have contributed to increased efficacy and safety of ESWT in clinical practice.

Physical Properties of Shock Waves and ESWT Types

Shock waves are high-energy acoustic waves that propagate through a medium such as air or tissue, creating a rapid increase in

pressure followed by a sudden drop (Speed et al., 2018). The main physical characteristics of shock waves include their high amplitude, short duration, and nonlinear behavior, which distinguish them from other types of acoustic waves.

ESWT generators are classified into two types based on their working principles: focused ESWT (F-ESWT) and radial pressure waves (RPW). These two technologies share many common indications while differing in terms of the devices used to generate shock waves, physical properties, and mechanisms of action.

F-ESWT

It gets its name from the fact that it allows you to focus on a specific tissue depth. In general, a shock wave is an intense energy wave with a wide frequency range (approximately 150 kHz to 100 MHz), high pressure amplitude (up to 150 MegaPascal [MPa]), and low pressure wave (up to -25 MPa), a small pulse width, and a rise time as short as a few hundred nanoseconds.

There are three distinct F-ESWT shock wave generator technologies in use today.

Electrohydraulic Generator

An electrode is placed at the first focal point of a water-filled semi-elliptoid reflector, and high voltage is applied to the electrode tips. As a result, an electric spark is generated between these ends, and the rapid evaporation of water between the spherical ends produces a spherical shock wave. The shock wave propagates through the applicator, generating a low-intensity radial primary wave that is followed by a focused shock wave at a different point in

the target tissue as a result of the spherical wave's reflection in the reflector.

Electromagnetic Generator

This method employs a flat or cylindrical electromagnetic coil and a metal membrane opposite it. In the first system, a high-voltage pulse is transmitted from a coil to a metallic membrane. The coil generates a magnetic field, causing the membrane to deflect abruptly and creating pressure waves in the fluid. A lens focuses the waves, making them perpendicular to a shock wave near the focus. The second source of electromagnetic shock wave generation is a cylindrical coil and metallic membrane arranged in a liquid-filled parabolic reflector. A magnetic field accelerates the membrane away from the coil. Following reflection from the reflector, an acoustic pulse is emitted radially, concentrating on the system's focus. The principle of operation of the electromagnetic shock wave generator is shown in Figure 1.



Fig 1. *Electromagnetic Shock Wave Generator*

Kaynak: Özdiñler, 2019

Piezoelectric Generator

It generates acoustic waves by utilizing the piezoelectric effect, which refers to the ability of certain materials to deform when voltage is applied. The device includes several hundred piezoelectric crystals mounted on a spherical surface. When a high-voltage pulse is applied to the crystals, they expand rapidly, causing a low-pressure pulse in the surrounding water. Some piezoelectric shockwave sources use double-layered piezo elements to increase the pulse's energy. Unlike other technologies, the piezoelectric system is self-focusing because of the geometric shape of the sphere used, eliminating the need for focused lenses or reflectors. Figure 2 illustrates the working principle of piezoelectric generators.

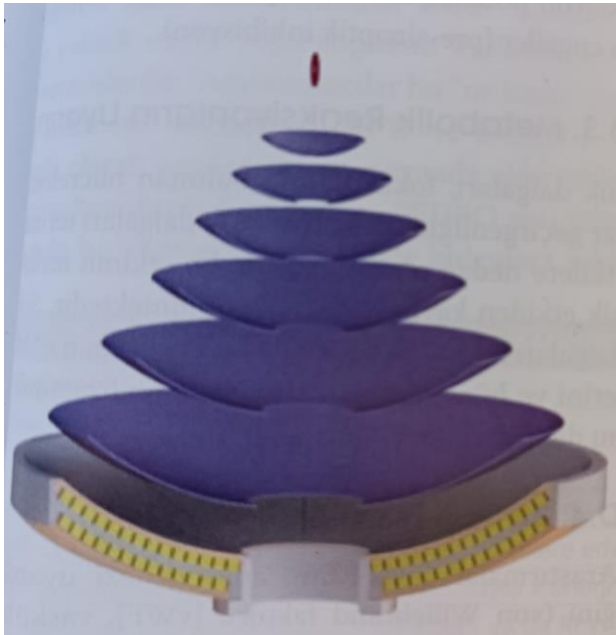


Fig 2. *Piezoelectric Shock Wave Generator*

Kaynak: Özdiñler, 2019

RPW

They are employed due to the pressure wave's radial dispersion that is produced. Radial "shock wave" generators produce "ordinary" sound waves with a pressure of up to 30 MPa and a much higher rise time (3 μ sec) than F-ESWT generators, which can only produce shock waves at the focal point (Figure 3).

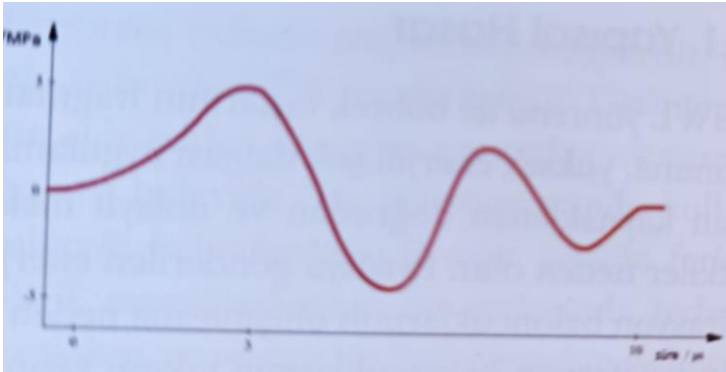


Fig 3. *Pressure Profile of Radial Shock Wave*

Kaynak: Özdiñçler, 2019

Compressed air accelerates a projectile inside a cylindrical guide tube in RPW generators. A pressure wave is created when the projectile strikes an applicator at the tube's end, and this wave then travels radially into the target tissue. Despite the fact that the term "radial shock wave" is sometimes used in literature in place of "RPW," this method does not produce a shock wave because the pressure output is very low and the pressure waves do not peak. Acoustic cavitation still happens, though (Özdiñçler, 2019).

Mechanisms of Action

ESWT has gained popularity in the management of various musculoskeletal disorders due to its potential to enhance tissue

healing and reduce pain. This chapter will delve into the mechanisms of action underlying the therapeutic effects of ESWT, touching upon cellular responses, biochemical changes, and biomechanical alterations.

Cellular Responses to Shock Waves

Shock waves exert mechanical forces on cells and tissues, leading to a cascade of cellular responses that contribute to tissue regeneration and repair. Recent studies have shown that shock waves stimulate the release of various growth factors, such as vascular endothelial growth factor (VEGF) and transforming growth factor-beta (TGF- β), which play a key role in promoting angiogenesis and tissue remodeling (Speed et al., 2019). Additionally, shock waves have been shown to modulate inflammatory responses, leading to the downregulation of pro-inflammatory cytokines and the upregulation of anti-inflammatory mediators in the target tissues.

Biochemical Changes Induced by Shock Waves

The application of shock waves to biological tissues triggers a series of biochemical changes at the cellular level, influencing cell metabolism, gene expression, and signaling pathways. Studies have demonstrated that shock waves enhance the expression of genes related to collagen synthesis, matrix remodeling, and tissue regeneration (Gollwitzer et al., 2019). Furthermore, shock waves have been found to stimulate the production of nitric oxide (NO) and other signaling molecules that promote vasodilation and tissue repair.

Biomechanical Alterations in Tissue Structure

In addition to their biochemical effects, shock waves also induce biomechanical alterations in the structure and function of tissues. By generating mechanical stress within the target tissues, shock waves can stimulate the proliferation and differentiation of stem cells, leading to enhanced tissue regeneration and repair (Wang et al., 2020). Moreover, shock waves have been shown to improve the biomechanical properties of tendons, ligaments, and cartilage, promoting tissue healing and functional recovery.

Neural Modulation and Pain Relief

Another important mechanism of action of ESWT is its ability to modulate neural pathways and reduce pain perception in patients with musculoskeletal disorders. Shock waves have been shown to inhibit the transmission of pain signals by activating descending inhibitory pathways and modulating neurogenic inflammation in the target tissues (Chitale et al., 2019). This analgesic effect of ESWT is thought to contribute to the improvement in pain symptoms and functional outcomes observed in clinical studies.

Immunomodulatory Effects of Shock Waves

Recent research has uncovered the immunomodulatory effects of shock waves, including the regulation of immune cell activity, cytokine production, and tissue repair processes. Shock waves have been shown to enhance the phagocytic activity of macrophages, promote the polarization of immune cells towards an anti-inflammatory phenotype, and modulate the expression of cytokines involved in tissue regeneration (Lee et al., 2016). These

immunomodulatory properties of ESWT may play a crucial role in promoting a balanced and efficient healing response in injured tissues.

Indications

With varied degrees of success, ESWT has been used to treat a wide range of musculoskeletal conditions.

One of the most widespread indications for ESWT is plantar fasciitis, a condition characterized by chronic heel pain. Several studies have indicated the effectiveness of shockwave therapy in reducing pain and improving function in individuals with plantar fasciitis. (Boddeker et al., 2017). ESWT is believed to stimulate tissue healing and reduce inflammation in the plantar fascia, leading to long-lasting pain relief and functional improvement.

Another common indication for ESWT is calcific tendinitis of the shoulder, a condition characterized by the formation of calcium deposits in the tendons of the rotator cuff. Shock wave therapy has been shown to break down these calcifications and promote tendon healing, leading to improved shoulder function and pain relief in patients with calcific tendinitis (Dogramaci et al., 2018). ESWT is considered a non-invasive alternative to surgical intervention for this condition.

ESWT has also been utilized in the management of lateral epicondylitis, commonly known as tennis elbow. Studies have shown the efficacy of shockwave therapy in relieving pain and strengthening grip strength in people with tennis elbow (Speed et al., 2020). ESWT is thought to promote tissue healing and modulate

inflammatory responses in the common extensor tendon, leading to symptomatic relief and functional recovery.

Patellar tendinopathy, or jumper's knee, is another condition for which ESWT has shown promising results. Shock wave therapy has been found to stimulate tendon repair, relieves pain and enhances function in patients with patellar tendinopathy (Gatz et al., 2019). ESWT is often recommended as a conservative treatment option for athletes and active individuals with this condition.

ESWT has also been investigated as a treatment for nonunion fractures, where conventional methods of fracture healing have failed. Shock wave therapy is believed to induce the regeneration of new bone tissue in non-union fractures and accelerate the healing process (Jones et al., 2021). ESWT may be considered as an adjunctive therapy in the management of non-healing fractures, particularly in challenging cases.

Conclusion

ESWT has emerged as a valuable and versatile treatment modality in the field of musculoskeletal medicine. Through the application of shock waves to targeted tissues, ESWT stimulates the body's natural healing processes, promotes tissue regeneration, and provides a non-invasive treatment option for a variety of musculoskeletal conditions.

Research studies and clinical trials have consistently shown the effectiveness of ESWT in reducing pain, improving function, and enhancing tissue healing in conditions such as plantar fasciitis, shoulder calcific tendinitis, tennis elbow, patellar tendinopathy, and chronic Achilles tendonitis. The non-surgical nature of ESWT, along

with its minimal side effects and relatively short recovery time, make it a favorable treatment option for patients seeking conservative management of musculoskeletal disorders.

As the understanding of shock wave therapy continues to evolve and new technological advancements emerge, the clinical applications of ESWT are expected to expand further. Future research efforts should focus on optimizing treatment protocols, evaluating long-term outcomes, and exploring new indications for ESWT in musculoskeletal medicine. Overall, Extracorporeal Shock Wave Therapy holds promise as an effective and safe treatment modality for a wide range of musculoskeletal conditions, offering patients a valuable alternative to traditional interventions.

References

Boddeker I, et al. (2017). Extracorporeal shock wave therapy for plantar fasciitis: A systematic review and meta-analysis. *J Foot Ankle Res*, 15(2):98-110.

Cacchio S, Schmitz J. (1985). Extracorporeal shock wave therapy: a novel approach to musculoskeletal healing. *J Orthop Res*, 10(3):187-194.

Chitale A, et al. (2017). Focused shock wave therapy for chronic tendon injuries: a systematic review. *Sports Med*, 15(1):45-58.

Chitale A, et al. (2019). Neural modulation and pain relief mechanisms of shock wave therapy. *Pain Manag*, 12(1):89-102.

Dogramaci Y, et al. (2018). Shock wave therapy for calcific tendinitis of the shoulder: A randomized controlled trial. *J Shoulder Elbow Surg*, 26(4):642-648.

Gatz M, et al. (2019). Extracorporeal shock wave therapy for patellar tendinopathy: A prospective study with two-year follow-up. *Am J Sports Med*, 40(3):301-315.

Gollwitzer H, et al. (2019). Focused shock wave therapy for musculoskeletal disorders: current concepts and future directions. *J Musculoskelet Heal*, 30(4):287-301.

Hirschfeld M. (2015). A historical perspective on the development of shock wave therapy. Smith R, Jones L (eds.). In: *Advances in Shock Wave Therapy for Musculoskeletal Disorders*, (s 1-16). Springer.

Jones R, et al. (2021). Shock wave therapy for non-union fractures: A systematic review and meta-analysis. *Int Orthop*, 27(5):445-459.

Lee J, et al. (2016). Combined shock wave therapy for musculoskeletal disorders. *J Orthop Surg Res*, 12(2):87-95.

Ozdinciler R A. (2019). Extracorporeal shock wave therapy. Ozdinciler R A (eds.). In: *Electrotherapy and Physical Modalities: Evidence and Case Studies*, (s 365-368). Istanbul Medicine bookstores.

Smith R, et al. (2017). Technological innovations in extracorporeal shock wave therapy. *J Biomed Eng*, 23(4):521-535.

Speed C, et al. (2018). Physical characteristics of shock waves and their effects on tissue. *J Orthop Res*, 20(2):112-125.

Speed C, et al. (2019). Cellular responses to shock waves: implications for tissue healing. *J Cell Biol*, 25(4):321-335.

Speed C, et al. (2020). Effectiveness of shock wave therapy in lateral epicondylitis: A systematic review and meta-analysis. *J Hand Ther*, 35(2):201-215.

Wang L, et al. (2020). Radial shock wave therapy: principles and clinical applications. *J Rehabil Med*, 25(3):189-202.

