

## Electroporation of Cells Using Electric and Magnetic Fields with Approach of Cancer Treatment: A Review Article

Shankaii Z. <sup>1</sup> *PhD*, Firoozabadi S.M. \* *PhD*

\*Medical Physics Department, Medical Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

<sup>1</sup>Medical Physics Department, Medical Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

### Abstract

**Introduction:** Sometimes materials that do not have the ability to penetrate into the membrane will need to be widely entered into the cell. Therapeutic methods are among the methods that sometimes feel this change in permeability when using different drugs and genes. Electroporation (EP) is a new technique that increases the permeability of cell membranes when cells exposed to an external electric field more than a threshold voltage and is used to introduce different non-permanent molecules. The major application of EP in the treatment of cancer combined with chemotherapy drugs such as Bleomycin and Cisplatin is electrochemotherapy. The aim of this study was to review the electroporation of cells, using electric and magnetic fields with approach of cancer treatment.

**Conclusion:** In pre-clinical studies, this method has first been optimized on the animal and cell, and after clinical trials, today, the standard and clinical protocol of electrochemotherapy has been proposed as a safe and effective method for some tumors. This is a simple method with minimal side effects, but in new pre-clinical studies, with the use of high frequency electrons, low electromagnetic fields, and the use of pulsed magnetic fields, it has been tried to overcome the limitations of this standard method.

### Keywords

Electroporation [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68018274>];  
Electrochemotherapy [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68053672>];  
Cancer [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68009369>]

---

\*Corresponding Author

Tel: +98 (21) 82883821

Fax: +98 (21) 82883828

Post Address: Medical Physics Department, Medical Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Nasr Bridge, Jalal-Ale-Ahmad Highway, Tehran, Iran

[pourmir@modares.ac.ir](mailto:pourmir@modares.ac.ir)

Received: September 02, 2016

Accepted: January 10, 2018

ePublished: June 21, 2018

## منفذسازی الکتریکی یاخته‌ها با استفاده از میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی با رویکرد کاربرد در درمان سرطان (شیمی‌درمانی الکتریکی): مطالعه مروری

زینب شنکایی PhD

گروه فیزیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

سیدمحمد فیروزآبادی \* PhD

گروه فیزیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

### چکیده

**مقدمه:** گاهی نیاز است موادی که قابلیت نفوذ به داخل غشا را ندارند به‌طور گسترده‌ای وارد یاخته شوند. روش‌های درمانی از جمله روش‌هایی هستند که گاهی این تغییر نفوذپذیری را هنگام استفاده از داروهای مختلف و ژن‌ها احساس می‌کنند. منفذسازی الکتریکی یاخته‌ها (منفذسازی الکتریکی) روشی نوین در افزایش نفوذپذیری الکتریکی یاخته‌ها است. تولید منفذهای غشایی با اعمال ولتاژهای الکتریکی بیش از آستانه تراوایی غشای یاخته، قابل دستیابی است. این روش کاربردهای متفاوتی در ورود مولکول‌های غیرقابل نفوذ به داخل سیتوپلاسم یاخته‌ای دارد که همراه کردن این پالس‌ها با داروهای شیمی‌درمانی مانند بلومایسین و سیس‌پلاتین که به شیمی‌درمانی الکتریکی معروف است از مهم‌ترین کاربردهای ضدسرطانی این روش شناخته می‌شود. هدف مطالعه حاضر، مروری بر منفذسازی الکتریکی یاخته‌ها با استفاده از میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی با رویکرد کاربرد در درمان سرطان (شیمی‌درمانی الکتریکی) بود.

**نتیجه‌گیری:** در مطالعات پیش‌کلینیکی، ابتدا این روش روی حیوان و یاخته بهینه‌سازی شده است و پس از آزمون‌های بالینی، امروزه پروتکل استاندارد و بالینی شیمی‌درمانی الکتریکی به‌عنوان روشی ایمن با اثربخشی بالا برای برخی تومورها مطرح است. این روش درمانی، روشی ساده با حداقل اثرات جانبی است، اما در مطالعات پیش‌کلینیکی جدید با به‌کارگیری پالس‌های الکتریکی با فرکانس‌های بالا، شدت میدان‌های الکتریکی پایین و همچنین استفاده از میدان‌های مغناطیسی پالسی سعی شده تا محدودیت‌ها و کاستی‌های این روش استاندارد برطرف شود.

**کلیدواژه‌ها:** منفذسازی الکتریکی، شیمی‌درمانی الکتریکی، سرطان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۰

\*نویسنده مسئول: pourmir@modares.ac.ir

### مقدمه

غشا از نشانه‌های یاخته زنده است که محیط داخل یاخته را از بخش خارجی آن جدا می‌کند. یون‌ها و مولکول‌ها در مواردی قابلیت نفوذ به غشا را دارند، اما گاهی نیاز است موادی که قابلیت نفوذ به داخل غشا را ندارند به‌طور گسترده‌ای وارد یاخته شوند. روش‌های درمانی از جمله روش‌هایی هستند که گاهی این تغییر نفوذپذیری را هنگام استفاده از داروهای مختلف و ژن‌ها احساس می‌کنند. پدیده منفذسازی الکتریکی غشا، یک روش الکتریکی برای نفوذپذیرکردن غشای لیپیدی و لیپید-پروتئینی، به‌طور گزرا و قابل بازگشت با پالس‌های الکتریکی است. وقتی یک یاخته تحت تأثیر یک میدان الکتریکی قرار بگیرد، یک ولتاژ بین غشایی در غشای آن القا و اگر این ولتاژ از یک مقدار آستانه بیشتر شود، افزایش معنی‌داری در رسانندگی الکتریکی و نفوذپذیری غشا حاصل می‌شود. تشکیل یک حالت با نفوذپذیری افزایش‌یافته غشا توسط اعمال میدان الکتریکی، منفذسازی الکتریکی (EP) نامیده می‌شود [1-3].

با القای این پالس‌ها تغییر ساختاری غشا رخ داده و موجب ایجاد

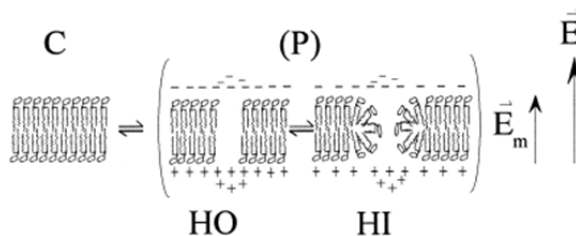
سایت‌های نفوذپذیر درازمدت کانال‌ها و حفره‌ها می‌شود. این تغییرات خود سبب افزایش نفوذپذیری شده و اجازه ورود به ماکرومولکول‌ها، داروها و یون‌ها را در یک بازه زمانی پس از القای میدان می‌دهند. به این ساختارهای نفوذپذیر محلی، حفره‌های محلی یا کانال‌های الکتریکی (Electropores) گفته می‌شود [3].

4. تغییر ساختاری در غشای یاخته، پدیده‌ای دارای آستانه با انتخاب مناسب پهنای پالس و شدت میدان الکتریکی است؛ غشا بعد از اتمام اعمال میدان الکتریکی، به حالت طبیعی خود برگشته و منفذسازی الکتریکی برگشت‌پذیر اتفاق می‌افتد [5, 6]. در حالی که اگر شدت یا پهنای پالس از حدی بیشتر باشد، یاخته، توانایی برگشت به حالت عادی خود را ندارد و غشای آن و در نتیجه خود یاخته از بین می‌رود که در این صورت منفذسازی الکتریکی برگشت‌ناپذیر رخ داده است [7-10].

به‌دلیل افزایش تراوایی بالا و کم‌هزینه‌بودن این روش، منفذسازی الکتریکی به‌سرعت در انتقال ژن، تهیه آنتی‌بادی‌های تک‌کلونی و شیمی‌درمانی تومورها کاربرد یافته است. امروزه این روش در بسیاری از شاخه‌های بیوشیمی، بیولوژی مولکولی و پزشکی جا باز کرده است. اگر استفاده از منفذسازی الکتریکی بازگشت‌پذیر را با شیمی‌درمانی همراه کنیم به روشی موثر در درمان تومورهای سرطانی به نام شیمی‌درمانی الکتریکی (ECT) دست خواهیم یافت [2, 11-13].

مقاله حاضر، مروری بر روش منفذسازی الکتریکی یاخته‌ها با استفاده از میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی با رویکرد کاربرد در درمان سرطان (شیمی‌درمانی الکتریکی) است. هدف مقاله حاضر کمک به تحقیقات بیشتر، بهینه‌سازی و برنامه‌های بالینی براساس گردآوری مطالعات تجربی الکتروپوریشن در بخش پیش‌کلینیک و کلینیکی گروه‌های تحقیقاتی در سال‌های گذشته است. بدین منظور نتیجه سال‌ها تحقیقات تجربی، بررسی کتب و مقالات در پژوهش‌های مختلف انجام‌شده در دانشگاه تربیت مدرس به‌صورت ارایه اطلاعات سازمان‌یافته در مقاله حاضر بیان شده است.

**تئوری:** اعمال یک میدان الکتریکی به یک یاخته بیولوژیک می‌تواند انواع مختلف پاسخ‌های فیزیکی و شیمیایی را ایجاد کند [14]. میدان‌های الکتریکی به‌طور مستقیم روی بارهایی از قبیل یون‌های آزاد، دوقطبی‌ها و گروه‌های قطبیده اثر مستقیم ندارند. وقتی میدان الکتریکی به اندازه کافی قوی باشد، مولکول‌ها و ساختارهای مولکولی که در غشا به کار رفته‌اند، دچار تغییر ساختاری می‌شوند. این تغییر ساختاری، پدیده‌ای دارای آستانه برای آشکارشدن این پدیده است؛ عامل‌های پالس باید از مقدار آستانه‌ای بیشتر باشند (شکل ۱) [3, 15-17].



شکل ۱) مدل فضایی حفره‌ها و افزایش نفوذپذیری

شکست الکتریکی برگشت‌پذیر غشا، اولین بار در سال ۱۹۵۸ توسط استامفلی گزارش داده شد ولی برای مدت طولانی بعد از این مقاله، به این گزارش توجهی نشد. تقریباً یک دهه بعد، تخریب الکتریکی

است رخ دهد، ولی در هر دو نظریه، این تغییرات ساختاری و به‌وجود آمدن کانال‌های آبی هستند که متضمن کاهش پتانسیل غشایی‌اند و در هر دو مورد افزایش عبور یون‌ها از عرض غشا بیش از حالت معمولی است [3, 6].

**شیمی‌درمانی الکتریکی:** در روش‌های شیمی‌درمانی، مشکل اصلی سد قوی غشایی یاخته است که مانع عبور داروهای شیمی‌درمانی می‌شود. در روش کلاسیک با افزایش دوز داروی مصرفی سعی در غلبه بر این مشکل شده است ولی این راهکار سبب افزایش اثرات جانبی این داروها می‌شود. بنابراین غلبه بر این سد غشایی لیپیدی و افزایش کارایی داروها به معنی پیشرفت چشمگیر در روش شیمی‌درمانی محسوب می‌شود. یکی از این روش‌ها که به‌منظور افزایش تمرکز دارو در تومور و کم‌کردن غلظت دارو در بافت‌های سالم کاربرد یافته است، شیمی‌درمانی الکتریکی نامیده می‌شود. شیمی‌درمانی الکتریکی به‌عنوان یک درمان موضعی با استفاده از پالس‌های الکتریکی برای افزایش نفوذپذیری غشای یاخته‌ها به داروهای شیمی‌درمانی، مطرح است.

اولین ورود روش شیمی‌درمانی الکتریکی به محیط "درون موجود زنده" به سال ۱۹۸۷ بازمی‌گردد [21, 22] و پس از مدت کوتاهی در سال ۱۹۹۱ شیمی‌درمانی الکتریکی توسط میر و همکاران در درمان روی بیماری با ندول‌های سر و گردن مورد ارزیابی قرار گرفت. در شیمی‌درمانی الکتریکی مرسوم قطاری متشکل از ۸ پالس مربعی با فرکانس ۱هرتز، شدتی در حدود ۱۳۰۰ ولت بر سانتی‌متر و پهنای پالسی برابر با ۱۰۰ میکروثانیه برای درمان استفاده می‌شود. علاوه بر انتخاب پالس به‌منظور درمان، داروهای شیمی‌درمانی نیز مورد بررسی قرار گرفتند و نهایتاً انتخاب، در دو داروی بلوماپسین و سیس‌پلاتین خلاصه شد [11, 12, 21-23].

سازوکار اثر منفذسازی الکتریکی کاملاً شناخته‌شده نیست، ولی دو اثر قابل بررسی در این روش، ایجاد کانال‌های آبی برای ورود داروی شیمی‌درمانی به یاخته‌های تومور و اثر بر پرفیوژن خون است. در اثر تحریک الکتریکی کانال‌های آبی شکل گرفته و نفوذپذیری غشا افزایش یافته و دارو با با حجم بیشتری در یاخته تمرکز می‌یابد و سپس پالس الکتریکی اثر ثانویه خود را القا کرده و با کاهش پرفیوژن خون سبب می‌شود دارو برای مدتی در یاخته تومور باقی بماند [24-26].

**مشخصات پالس الکتریکی:** نقش عامل‌های پالس و شرایط تجربی، معمولاً با استفاده از ترکیبی از آزمون‌ها، تخمین کسر یاخته‌های منفذسازی‌شده، کسر یاخته‌های زنده‌مانده بعد از درمان، میزان میانگین مولکول‌های بیرونی جذب‌شده به داخل یاخته و گاهی زمان ترمیم یاخته‌ها به حالت غیرمنفذسازی‌شده، تعیین می‌شود.

عامل‌هایی که بازده انتقال مولکول‌ها به یاخته‌ها را تعیین می‌کنند عبارت از شدت، پهنای، شکل، فرکانس و تعداد پالس‌ها هستند. بررسی همه این عامل‌ها با هم بسیار مشکل است، مخصوصاً که مولکول‌هایی که باید منتقل شوند، می‌توانند ترکیب عامل‌های بهینه را تغییر دهند، ولی به هر حال برخی ادعاهای کلی در مورد مهم‌ترین عامل‌ها (اغلب شدت میدان و پهنای پالس) ارایه شده است [15].

**شکل پالس الکتریکی:** دو نوع موج جریان مستقیم مربعی و نمایی برای منفذسازی الکتریکی انتخاب شدند. پالس‌های نمایی علی‌رغم تولید ساده، کاربردی در شیمی‌درمانی الکتریکی به دست نیاوردند زیرا کنترل این پالس‌ها برای ایجاد منفذسازی الکتریکی برگشت‌پذیر چندان ساده نبود و این در حالی بود که پالس‌های

غیرگرمایی میکروارگان‌ها با استفاده از پالس‌های الکتریکی گزارش شد. در سال ۱۹۷۲، نیومن نشان داد که پالس‌های الکتریکی، افزایش زیادی در نفوذپذیری غشای وزیکول‌های طبیعی ایجاد می‌کنند [18, 19].

در حالی که ولتاژ استراحت روی غشای یاخته همواره وجود دارد، اعمال یک میدان الکتریکی به یاخته باعث ظهور یک مولفه جدید علاوه بر اختلاف پتانسیل استراحت، در اختلاف پتانسیل دو طرف غشا (ITV) می‌شود که با ولتاژ استراحت جمع می‌شود. به‌دلیل همین مولفه القایی، ولتاژ غشایی تابعی از مکان خواهد شد و می‌تواند در شرایط خاصی از مقدار فیزیولوژیک به حدی بیشتر شده و باعث تغییر ساختاری غشای یاخته و ایجاد کانال‌های آبی شود. کانال‌ها زمانی در غشا به وجود می‌آیند که انرژی ذخیره‌شده در غشا از مقداری که سبب مقابله با ایجاد کانال‌ها و انقباض غشا است، متجاوز شود [16, 17]. این انرژی برای تولید کانالی با شعاع  $r$  برابر با رابطه زیر است:

$$E_p = 2\pi\gamma - \pi^2 \Gamma$$

که  $\gamma$  بیشترین تغییر طول در وا حد زمان،  $2\pi\gamma$  بیشترین انرژی برای ساخت لبه و  $\Gamma$  انرژی یک غشای مسطح و در دو طرف غشا است. مقدار بیشینه انرژی کانال زمانی است که شعاع آن به مقدار بحرانی  $r_c = \gamma/\Gamma$  برسد. اگر شعاع کانال از این مقدار کمتر باشد کانال شروع به بسته‌شدن کرده و اگر بزرگ‌تر باشد در شرایطی که یاخته تحت کشش است، کانال گسترش می‌یابد [20].

با توجه به این نکته که غشای یک حالت خازنی دارد مقدار انرژی ذخیره‌شده در این خازن برابر با مقدار زیر است:

$$E_p = \pi r^2 \epsilon_0 (\epsilon_w - \epsilon_m) V^2 / 2d$$

$V$  ولتاژ بین غشایی است که توسط پالس الکتریکی به یاخته تحمیل می‌شود. پس با توجه به معادلات بالا یک کانال زمانی ایجاد می‌شود که  $E_p$  از  $E_e$  بزرگ‌تر باشد. این ولتاژ، مقدار ولتاژ شکست را نیز تعیین می‌کند که اگر  $r < r_c$  باشد، این شکست برگشت‌پذیر خواهد بود [20].

یکی از عملکردهای پالس‌های الکتریکی که منتج به ایجاد کانال‌ها می‌شود، کاهش معنی‌دار در انرژی بورن (Born) است. در تئوری، یک ذره باردار در عبور از غشای لیپیدی با سد انرژی بورن مواجه می‌شود که این سد برابر با رابطه زیر است:

$$\Delta G_B = Z_i^2 e^2 \left( \frac{1}{\epsilon_m} - \frac{1}{\epsilon_w} \right) (8\pi\epsilon_0 r_i)$$

که در این رابطه  $\epsilon_m$  ثابت گذردهی در غشا و برابر با ۲ و  $\epsilon_w$  ثابت گذردهی در آب و برابر با ۸۰ است. اگر یونی تک‌ظرفیتی مانند سدیم را با شعاع ۰.۲۲ نانومتر در دمای مطلق ۲۹۸ کلوین مد نظر بگیریم، مقدار انرژی بورن برابر با ۶۸kt خواهد شد و این مقدار به اندازه کافی بزرگ است که بتوان از انتقال خودبه‌خودی یون‌ها در اثر نوسانات حرارتی صرف نظر کرد. به‌منظور غلبه بر این سد غشایی، پتانسیل بین غشایی  $(|\Delta\phi| = \Delta G_B / |z_i \cdot e|)$  لازم است تا یون از غشا عبور کند. این مقدار در یون‌های تک‌ظرفیتی برابر با ۱.۷۵ ولت و برای یون‌های دوظرفیتی برابر با ۳.۵ ولت است، در حالی که این مقدار از ۰.۵ ولت، پتانسیل بین غشایی در حالت استراحت، بسیار بزرگ‌تر است [1, 3].

کاهش معنی‌دار در این انرژی به دو دلیل جای‌گیری یون‌ها در حفره‌های آبی و توانایی عبور این یون‌ها از کانال‌های آبی ممکن

مربعی قابلیت تولید کانال‌های برگشت‌پذیر را دارا هستند. در روش شیمی‌درمانی الکتریکی هدف ورود آسان‌تر دارو به یاخته‌های توموری است نه از بین بردن مستقیم این یاخته‌ها. بنابراین پالس‌های مربعی در این نوع درمان نسبت به پالس‌های نمایی ارجحیت می‌یابند [21, 22].

**شدت میدان الکتریکی:** شدت میدان الکتریکی باید این توانایی را داشته باشد که پتانسیل بین غشایی را به آستانه شیمی‌درمانی الکتریکی برساند. به ازای رسیدن  $\Delta\psi_i$  به آستانه ۲۵۰ میلی‌ولت، غشای یاخته تراوا خواهد شد و تراوایی غشا به وسیله شدت میدان کنترل می‌شود [27, 28]؛ شدت میدانی که بزرگ‌تر از میزان بحرانی ( $E_p$ ) در سوسپانسیون یاخته بایستی اعمال شود تا تراوایی غشای یاخته در پی آن رخ دهد. اما باید توجه داشت در ابتدا یاخته‌های قرارگرفته در زاویه صفر و  $\pi$  (قرارگرفته در مقابل الکترودها) نفوذپذیر خواهند شد و میزان شدت میدان نیز باید برابر با  $E_p$  باشد:

$$\Delta\psi_{perm} = fg(\lambda) r E_p$$

در نتیجه این شدت میدان، میزان سطح تراوا شده یک یاخته کروی ( $A_{perm}$ ) با رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$A_{perm} = A_{tot}(1 - E_p/E)/2$$

که در معادله فوق  $A_{tot}$  سطح یاخته و  $E$  برابر با شدت میدان مورد استفاده است. بنابراین بخش تراوا شده سطح یاخته تابع خطی از شدت میدان است.

نتایج تجربی با مشاهده تغییرات امپدانس در سوسپانسیون یاخته و بررسی فلورسانسی در سطح تک‌یاخته انجام شده است و نتایج نشان داده‌اند محل و مقدار تراوایی قویاً به وسیله پهنای پالس و مساحتی از غشا که الکتروپوریت می‌شود، با  $E$  کنترل می‌شود.

**پهنای پالس و فرکانس:** به‌غیر از اولین مقاله / وکینو در دیگر مقالات از ۴، ۶ و ۸ پالس مربعی با پهنای باند ۱۰۰ میکروثانیه و فرکانس تکرار اهرتز استفاده شده است. انتخاب این پهنای باند بر پایه مطالعات یاخته ابتدایی و تحقیقات پیش‌کلینیکی استوار است. در شدت میدان الکتریکی  $E$ ، بیشتر از شدت میدان بحرانی، افزایش پهنای پالس باعث افزایش بازده منفذسازی الکتریکی می‌شود. مساحتی از غشا که منفذسازی می‌شود، به پهنای پالس وابسته نیست، بلکه با  $E$  کنترل می‌شود، ولی قطر کانال‌های الکتریکی به شدت با پهنای پالس (و نه با  $E$ ) کنترل می‌شود. در تحقیقات "محیط سلولی" نشان داده شده است که پالس با پهنای ۱۰۰ میکروثانیه به‌عنوان بهترین گزینه‌ای است که نه تنها به اندازه کافی بزرگ است که خود سبب شکست غشایی می‌شود، به قدر کافی نیز کوچک است که از ایجاد منفذسازی الکتریکی بازگشت‌ناپذیر جلوگیری می‌کند. براساس این نتایج یاخته، این عامل در مطالعات حیوانی نیز پیاده شد و نتایج نشان داد که این پهنای باند در شرایط "درون موجود زنده" نیز می‌تواند بهترین گزینه درمان باشد.

با تراوا شدن یاخته، آب و مایعات خارج یاخته وارد یاخته شده که این تراوایی سبب متورم شدن گذرای یاخته می‌شود. در اثر افزایش حجم یاخته، غشا گاهی دچار از هم گسیختگی شده و این افزایش حجم به شدت با پهنای پالس قابل کنترل است. استفاده از پالس‌هایی با پهنای میکروثانیه سبب تورم یاخته نمی‌شود (البته به‌استثنای یاخته‌های خونی)، اما حجم یاخته‌ها در صورت استفاده از پالس‌های با پهنای چند میلی‌ثانیه افزایش می‌یابد [15].

**تعداد پالس:** کسری از سطح یاخته که نفوذپذیر می‌شود، به تعداد

پالس بستگی ندارد ولی چگالی عبور یا بازده نفوذپذیری با تعداد پالس ( $N$ ) کنترل می‌شود. افزایش  $N$  در منفذسازی الکتریکی سبب می‌شود شکست غشایی افزایش یابد. بدین منظور تعداد ۱ تا ۱۶ پالس در مطالعات شیمی‌درمانی الکتریکی مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعات، مشاهده شد که در صورت تزریق داروی شیمی‌درمانی در دوز پایین، ۸ پالس الکتریکی پی‌درپی سبب می‌شود تا بهترین اثر ضدتوموری دارو نمایان شود و این اثر زمانی بهتر می‌شود که اعمال پالس‌های الکتریکی به‌صورت ضربدری صورت گیرد [24, 27, 28].

**داروهای شیمی‌درمانی:** مولکول‌های کوچک بیگانه در نوع ورود به یاخته به ۳ دسته تقسیم می‌شوند: ۱- دسته اول به‌راحتی وارد یاخته می‌شوند زیرا به‌وسیله انتقال‌دهنده‌های غشایی این مولکول‌ها داخل می‌شوند، ۲- دسته دوم مولکول‌های بیگانه فعال هستند که این دسته چربی‌دوست بوده و به‌راحتی از طریق پلازما وارد سیتوزول می‌شوند، ۳- این گروه با نام غیرقابل نفوذها شناخته می‌شوند و به‌راحتی وارد یاخته نمی‌شوند. این مولکول‌ها غالباً از نظر فیزیولوژیک فعال هستند و ورود تعداد کمی از آنها عملکرد یاخته را مختل می‌کند. ترکیب این گروه از مولکول‌های بیگانه با روش‌های نفوذپذیرکننده غشا بسیار موثر است. در ضمن باید به این نکته توجه کرد که داروهای شیمی‌درمانی اغلب اجزای داخلی یاخته‌ها را هدف قرار می‌دهند که نفوذپذیری را دارای اهمیت می‌کند [29-31].

غشای پلاسمایی یک سد به‌منظور ورود مولکول‌های آب‌گریز محسوب نمی‌شود. بنابراین اثر داروهای با این خاصیت به میزان ذخیره این مواد در داخل یاخته بستگی دارد. اما اغلب این نوع داروها دارای سمیت کمی هستند و تنها دلیل استفاده از این مواد قابلیت تجمع زیاد و ورود آسان آنها به یاخته است. در مطالعات ابتدایی، منفذسازی الکتریکی این نوع داروها نیز مورد مطالعه قرار گرفتند و تنها میزان سمیت این دسته از داروها ۲ الی ۴ برابر شد [29-31]. اما گروه دیگر، مولکول‌هایی آب‌دوست مانند داروی شیمی‌درمانی بلومایسین هستند که امکان نفوذ به یاخته را از راه سازوکارهای یاخته و در غیاب روش‌های نفوذپذیرکننده ندارند. اثرگذاری بلومایسین وابسته به شکست‌های دوگانه DNA است. بنابراین نیاز است تعداد مولکول‌های وارد شده در زمان محدود به قدری باشند که توانایی تولید شکست‌های دوگانه کافی و عدم ترمیم آن برای مرگ یاخته را فراهم آورند. در یاخته‌های منفذسازی‌نشده، مقادیر زیادی بلومایسین در حفره‌های آندوسیتوز گیر می‌افتند و نمی‌توانند از دیواره حفره نفوذ کنند تا به داخل یاخته، سیتوزول و هسته برسند، ولی در صورت ورود، سمیت بسیار بالایی را در تومور القا می‌کنند. به همین دلیل با افزایش ۲ الی ۱۵ مرتبه‌ای دارو در داخل تومور، اثری ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر بیشتر قابل رویت است. بنابراین دو خصوصیت مشخصه داروی بلومایسین یعنی غیرقابل نفوذبودن و در عین حال سمیت بالای آن در هنگام ورود، سبب شده است در مطالعات ابتدایی نظر محققان به سمت این دارو جلب شود. با استفاده از منفذسازی الکتریکی، محدودیت در داخل شدن داروی بلومایسین به داخل یاخته برطرف می‌شود [27-33].

در میان داروهای شیمی‌درمانی داروی سیس‌پلاتین بعد از بلومایسین، بهترین پاسخ را در روش درمانی شیمی‌درمانی الکتریکی به‌همراه داشته است. با استفاده از پالس میزان نفوذ دارو ۳ تا ۸ مرتبه افزایش می‌یابد. با افزایش ورود داروی سیس‌پلاتین به داخل تومور، پاسخ تومور نیز افزایش یافته و در ضمن سازوکار شکست پلازما و ورود دارو سبب می‌شود تومورهایی که به این

برابر بیش از یاخته‌های سرطانی است. حساسیت یاخته‌های اندوتلیال در این روش درمانی نسبت به ECT چندین برابر بیش از یاخته‌های سرطانی است [42].

اثر تخریبی پالس‌های الکتریکی بر یاخته‌های اندوتلیال، سبب مرگ آشاری یاخته‌های توموری، در نتیجه کاهش اکسیژن، کاهش مواد مغذی و تجمع مواد زاید تولیدشده در یاخته می‌شود و می‌تواند دلیلی باشد تا روش شیمی‌درمانی الکتریکی را وارد قلمرو روش‌های درمانی هدف‌گیرنده عروق تومور کند. این اثر باعث می‌شود در روش شیمی‌درمانی الکتریکی یاخته‌هایی که با داروی شیمی‌درمانی نمرده‌اند به‌علت کمبود اکسیژن از بین بروند [25, 37, 43].

**مطالعات سلولی و حیوانی:** در مطالعه نفوذپذیری یاخته‌ها از تعداد زیادی مارکرهای فلورسانس و رادیواکتیو غیرقابل نفوذ به داخل یاخته استفاده شده است. مطالعات با مواد فلورسانس این مزیت را دارند که میزان جذب را به‌صورت مستقیم پس از پالس‌دهی یا پس از بازه مشخصی به دست آورند. مزیت قابل مشاهده‌بودن این تغییرات نیز سبب شده است تا به‌عنوان مارکرهای کلاسیک کاربرد بسیاری داشته باشند [31, 44]. با توجه به اندرکنش مواد فلورسانس با اجزای یاخته، داروی شیمی‌درمانی بلومایسین می‌تواند به‌عنوان نشانگر نفوذپذیری بهتری مطرح باشد. این ماده به‌طور عادی غیرقابل نفوذ است، بنابراین مرگ ناشی از ورود داروی بلومایسین می‌تواند به‌عنوان نشانگر نفوذپذیری مطرح باشد. خصوصیات شیمیایی این داروی شیمی‌درمانی سبب شده این دارو را به‌عنوان مارکر یاخته حساس در بررسی نفوذپذیری غشا مطرح کنند. با توجه به اینکه نفوذ ۵۰۰ مولکول باعث مرگ میتوزی می‌شود، محققان مدعی هستند که داده‌های کمی نفوذپذیری غشا نیز در این نوع مطالعه قابل دست‌یابی است [16, 30, 31, 45]. در ادامه مطالعه اثرات منفذسازی الکتریکی در محیط یاخته، دالاس و همکاران در سال ۲۰۰۲، یک روش برای تصویربرداری غیرتهاجمی از پروسه منفذسازی الکتریکی به نام برش‌نگاری امپدانس الکتریکی (EIT) پیشنهاد دادند [46]. این روش در حین منفذسازی الکتریکی می‌تواند یک تصویر بلادرنگ از یاخته تولید کند. EIT به‌طور غیرتهاجمی یک تصویر از توزیع امپدانس براساس الگوی تزریق جریان سطحی و اندازه‌گیری پتانسیل‌های سطحی حاصل، ایجاد می‌کند. این کار بر این اساس صورت می‌گیرد که اگر غشای یاخته در حین منفذسازی الکتریکی به ماکرومولکول‌ها تراوا شود، امپدانس الکتریکی یاخته باید تغییر کند [46, 47].

درمان تومورها در شرایط "درون موجود زنده" از سال ۱۹۸۷ روی تعداد بی‌شماری از حیوانات مانند موش، خرگوش، گربه، سگ و اسب صورت گرفته است. این درمان‌ها همه حکایت از درمان جزیی در ۱۰۰٪ حیوانات و درمان کامل بیش از ۸۵٪ عدد توموری داشتند، ولی در گروهی از تحقیقات این درمان به کاهش حجم تومور و تعویق در رشد تومور خلاصه شده است [21, 22, 48-51].

در سال ۱۹۸۷، اوکینو و همکاران درمان تومور در موش‌های صحرایی با داروی بلومایسین را آغاز کردند و در پی آن میر و همکاران این تحقیقات را ادامه دادند و در سال‌های بعد با گسترده‌شدن این تحقیقات دیگر گروه‌ها نیز افزایش چشمگیر اثر درمانی بلومایسین همراه با پالس الکتریکی روی تومورهای حیوانات آزمایشگاهی را گزارش کردند و این افزایش در درمان در پی افزایش بیش از ۱۰۰۰ (برابری اثر بلومایسین در شرایط "درون موجود زنده" به وجود می‌آید [21, 22].

این درمان‌ها در حیوانات نیز در ابتدا روی تومورهای سطحی انجام گرفتند ولی با افزایش تنوع الکترودها این روش روی تومورهای

دارو مقاوم بودند و قابلیت ترمیم را نیز داشتند، حساسیتشان افزایش یابد [34].

**سازوکار و نحوه اثر شیمی‌درمانی الکتریکی:** مبنای اصلی اثر شیمی‌درمانی الکتریکی، ترکیب و هم‌افزایی اثرات پالس‌های الکتریکی و داروی شیمی‌درمانی است. اثرات ترکیب این دو عامل فیزیکی و شیمیایی، سازوکارهای بیولوژیک است که در ادامه آورده شده‌اند.

**مرگ یاخته‌ای:** این نکته در روش شیمی‌درمانی الکتریکی دارای اهمیت است و همواره در این روش عامل‌های منفذسازی الکتریکی بازگشت‌پذیر استفاده می‌شوند. بسته‌شدن کانال‌ها عاملی است که یاخته‌ها بتوانند سطح تعادل یونی خود را به دست آورند. لذا مرگ نکروزه‌ای که به سبب عدم تعادل یونی رخ می‌دهد، سازوکار اصلی مرگ یاخته نیست. اثر مستقیم مولکول‌های بلومایسین و سپس پلاتین، ایجاد شکست در رشته DNA است. در صورت وجود تعداد کمی شکست DNA، یاخته‌ها به‌صورت متابولیک فعال هستند ولی قدرت تقسیم‌شدن در میتوز بعدی را ندارند؛ در این صورت کروموزوم‌ها قطعه‌قطعه شده و یاخته‌های دختر به‌طور کلی معیوب هستند. در نتیجه مرگ یاخته رخ خواهد داد. این نوع مرگ یاخته روش اصلی در شیمی‌درمانی الکتریکی است زیرا یاخته‌های توموری در حال تقسیم از بین رفته ولی یاخته‌های سالم آسیب نمی‌بینند [12, 35].

**اثر شیمی‌درمانی الکتریکی بر عروق تومور:** تومورهای جامد به‌طور معمول، سطح پرفیوژن و اکسیژن پایین‌تری نسبت به بافت سالم دارند. رشد ساختار عروقی جدید خود سبب تشکیل شبکه عروقی نامنظم در تومور می‌شود. این شبکه نامنظم سبب ایجاد حوضچه خونی ساکن و جریان خون کند در تومور جامد می‌شود. این عاملی برای ایجاد محدوده هایپوکسیک در تومور است. برخلاف بافت سالم که دارای جریان خون و اکسیژن یکنواخت است، در تومور بافت محیطی به اکسیژن بیشتری دسترسی دارد. بنابراین تخریب عروق تومور یک روش درمانی محسوب می‌شود [36].

در ساعت اولیه پس از درمان شیمی‌درمانی الکتریکی و منفذسازی الکتریکی تفاوتی در شارش جریان خون قابل مشاهده نیست. اما این تفاوت در بازه زمانی ۴ الی ۸ ساعت پس از درمان خود را نشان می‌دهد. پس از این زمان جریان خون در روش منفذسازی الکتریکی شروع به ترمیم می‌کند، اما در روش شیمی‌درمانی الکتریکی این بهبود قابل مشاهده نیست [37-39]. برخلاف EP که اثری عمیق اما گذرا و قابل بازگشت بر پرفیوژن خون می‌گذارد، ECT سبب کاهش جریان خون طولانی‌مدت می‌شود [37, 38, 40].

هنگامی که مشخصات الکتریکی بافت‌های متفاوت مورد نظر قرار گیرد و ابعاد واقعی شبکه عروق در محاسبات وارد شود، شدت میدان الکتریکی در مرزهای بین خون و دیواره عروق خونی تقریباً ۴۰٪ بیش از بافت اطراف است. این اتفاق به‌دلیل هدایت بیشتر خون در مقایسه با بافت رخ می‌دهد. شکل و جهت‌گیری نسبی یاخته‌های اندوتلیال در میدان الکتریکی نیز می‌تواند سبب حساس‌ترشدن این یاخته‌ها به میدان‌های الکتریکی و دریافت ولتاژ بین غشایی بیشتر شود [41]. علاوه بر این، در روش تزریق وریدی داروی شیمی‌درمانی، یاخته‌های اندوتلیال در معرض دوز بیشتری از دارو قرار می‌گیرند که این امر نیز دلیلی بر اثرپذیری بیشتر این نوع یاخته‌ها در روش ECT است. در نهایت می‌توان گفت اثرپذیری یاخته‌های اندوتلیال و تخریب عروق تومور در این روش درمانی سبب مرگ ایسکیمیک یاخته‌های تومور می‌شود [36]. بنابراین حساسیت یاخته‌های اندوتلیال نسبت به ECT چندین

بافت به وسیله ژنراتور ولتاژ و الکترودهایی که انتقال موثر ولتاژ را بر عهده دارند، صورت می‌گیرد و جزء سومی به‌عنوان نمایش‌دهنده بین سیستم ژنراتور و الکترودها به‌عنوان ارتباط‌دهنده این دو قرار گرفته است تا به اندازه‌گیری عامل‌های عبوری پالس الکتریکی بپردازد.

مولد پالس الکتریکی در سیستم منفذسازی الکتریکی، منفذساز نامیده می‌شود. این سیستم پالس خروجی تولید و به الکترودها منتقل می‌کند و در نهایت این اختلاف پتانسیل در حجم بین الکترودها گسترش می‌یابد. بنابراین انتخاب صحیح الکترودها، انتقال و القای بهتر اختلاف پتانسیل به بافت را به‌همراه خواهد داشت. در صورتی که تومور کوچک و سطحی باشد به‌طور معمول از الکترودهای صفحه‌ای خارجی استفاده می‌شود. این درمان در این نوع تومورها به‌خوبی انجام می‌گیرد زیرا سطح تومور توسط این الکترودها کاملاً پوشش داده می‌شود. در تومورهایی که با سطح نازک بافت پوشیده شده‌اند از الکترودهای صفحه‌ای سطحی استفاده شده اما در تومورهای بزرگ‌تر یا عمیق‌تر الکترودهای داخلی یا الکترودهای سوزنی چندگانه توصیه می‌شود. با استفاده از این الکترودهای سوزنی توزیع میدان به ازای اشکال هندسی مختلف یکنواخت‌تر و کارآتر می‌شود و در ارگان‌های توخالی از الکترودهای نوع Catheter استفاده می‌شود [59-61].

**ژنراتورهای پالس مربعی:** در شرایط "محیط سلولی" انواع مختلفی از پالس‌ها مورد آزمایش قرار گرفتند ولی بهترین پالس، پالس مربعی است. بدین منظور پروتکل درمانی بر مبنای استفاده از پالس‌های مربعی برنامه‌ریزی شده است. اما ساخت ژنراتورهای مربعی به دلیل تولید پالس مربعی توسط تخلیه جزیی خازن‌های مورد استفاده، سخت است. ژنراتورها در سیستم منفذسازی الکتریکی باید ولتاژهای بزرگی را تولید کنند و این ولتاژها به‌نوبه خود می‌توانند ایست قلبی را برای بیمار به‌همراه داشته باشند. بنابراین در طراحی این سیستم‌ها ایمنی بودن و حفاظ مناسب باید مد نظر گرفته شود تا ایمنی بیمار و کاربر را تامین کند [62].

**ژنراتورهای پالس مربعی Cliniporator و ECT-SBDC:** امروزه سیستم‌های متفاوتی به‌عنوان مولدهای شیمی‌درمانی الکتریکی به بازارهای جهانی عرضه شده‌اند، اما در این میان سیستم Cliniporator با داشتن تاییدیه کمیسیون اروپایی (CE) به‌عنوان سیستم بالینی در این روش درمانی شناخته شده است. در ایران نیز سیستم شیمی‌درمانی الکتریکی با نام ECT-SBDC در سال ۱۳۸۵ در آزمایشگاه بیوالکترومغناطیس دانشگاه تربیت مدرس ساخته و در شرایط یاخته و حیوانی مورد ارزیابی قرار گرفت [39, 63-66]. در ادامه به‌منظور ارزیابی این سیستم، درمان همزمان با دستگاه Cliniporator (IGEآ؛ ایتالیا) و سیستم ECT-SBDC روی تومور پستان موش Balb/c صورت گرفت و تفاوت معنی‌داری در درمان مشاهده نشد. مشخصات الکتریکی دستگاه حاضر به شرح زیر است:

ولتاژ: ۶۰۰-۱۰ ولت با رزولوشن ۲ ولت؛ عرض پالس: ۹۹۹-۲۰ میکروثانیه با رزولوشن ۲ میکروثانیه، ۹۹-۱ متر بر ثانیه با رزولوشن ۲ متر بر ثانیه، ۱۰-۱۰۰ ثانیه با رزولوشن ۱۰ ثانیه؛ فاصله بین دو پالس: ۹۹۹-۱۰۰ متر بر ثانیه با رزولوشن ۲ متر بر ثانیه، ۱۰-۱۰۰ ثانیه با رزولوشن ۱۰ ثانیه؛ تعداد پالس: ۹۹-۱

**الکترودها:** پس از ژنراتورها جزء مهم دیگر در اعمال پالس به تومورها الکترودها هستند که با توجه به نوع تومور انتخاب بهترین نوع الکترودها اهمیت می‌یابد. ساده‌ترین نوع الکترودها، استفاده، الکترودهای صفحه‌ای است.

داخلی‌تر حیوانات مانند تومورهای مغزی و تومورهای کلیه، پانکراس، مغزی رت‌ها، خرگوش‌ها و گربه‌ها نیز مورد آزمایش قرار گرفت [22]. در ادامه برای افزایش بازده شیمی‌درمانی الکتریکی سه راهبرد توسط محققان مورد بررسی قرار گرفت که عبارت از: ۱- جایگزینی تزریق محلی داروهای شیمی‌درمانی به‌جای تزریق وریدی، ۲- بهینه‌کردن توزیع جریان پالس‌های الکتریکی و ۳- استفاده از تکرار درمان [52] بودند.

در مطالعات حیوانی ابتدایی مشاهده شد که روش شیمی‌درمانی الکتریکی در مورد تومورهای کاملاً سطحی و کوچک به‌خوبی پاسخگو است و این در حالی است که با افزایش قطر تومور و عمقی‌تر شدن آن بهره درمان هم کاهش می‌یابد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت در این نوع تومورهای درمان‌نشده به‌طور حتم یاخته‌هایی نفوذپذیر نشده و زنده باقی مانده‌اند که توانایی رشد دوباره را دارا هستند. بنابراین هر یک از سه روش بالا این امکان را فراهم می‌کنند که بقای یاخته‌های توموری را کاهش و در پی آن بازده درمان را افزایش دهند [22, 48, 53].

تغییر امیدانس بافت در آزمایش‌های حیوانی نیز مورد ارزیابی قرار گرفته است. با توجه به تغییرات امیدانسی در پی اعمال پالس الکتریکی این حقیقت منفذسازی الکتریکی که در اثر اعمال پالس‌های الکتریکی غشا دچار شکست می‌شود و پس از گذشت زمان کوتاهی این کانال‌ها بسته می‌شوند، کاملاً به نمایش درمی‌آید [54, 55].

**مطالعات بالینی:** ورود ECT به کلینیک به سال ۱۹۹۱ بازمی‌گردد که این درمان روی بیماری با ندول‌های سر و گردن انجام شد. در قدم‌های بعدی ایالات متحده، فرانسه و اسلونی درمان‌های بالینی را آغاز کردند و این تحقیقات روی انواع تومورهای ملانوما و کارسینوما متمرکز شده بود. در اکثر این تحقیقات درمان جزیی در ۸۰٪ و درمان کامل در ۴۴٪ تومورها قابل مشاهده بوده است [56].

در شیمی‌درمانی الکتریکی کلینیکی مرسوم از قطاری متشکل از ۸ پالس مربعی با شدتی در حدود ۱۳۰۰ ولت بر سانتی‌متر و پهنای پالس برابر با ۱۰۰ میکروثانیه و فرکانس اهرتز برای درمان استفاده می‌شود. از سال ۱۹۹۱ تا ۲۰۰۶ حدود ۹۴ بیمار با بیش از ۶۴۰ تومور ملانوما در جهان درمان شده‌اند که در کل میزان پاسخ کلی برابر با ۶۷٪ و پاسخ جزیی برابر با ۱۸٪ گزارش شده است و تا سال ۲۰۰۸ تعداد ندول‌های درمان‌شده به دو برابر افزایش یافت [57]. در سال ۲۰۰۷، مقایسه بین تزریق داروی بلومایسین به‌صورت داخل توموری و وریدی و همچنین اندازه تومور انجام گرفته است. در این مطالعه، ۱۲ بیمار با ۱۲۷ تومور پستان مورد مطالعه قرار گرفتند که ۴۸٪ تومورها کوچک‌تر از ۳ سانتی‌متر و ۵۲٪ بزرگ‌تر از ۳ سانتی‌متر بودند. پاسخ هدف (OR) تومورهای کوچک برابر با ۹۷٪ و پاسخ کامل آنها ۷۶٪ گزارش شد و در تومورهای بزرگ‌تر OR برابر با ۹۱٪ و پاسخ کامل ۶۸٪ بود. این مطالعه نشان داد درمان به روش تزریق داخل توموری و داخل رگی تفاوت معنی‌داری ندارد [56, 58]. در سال ۲۰۰۸، ۱۱ بیمار با ۱۷۴ ندول پستان و ۵۲ بیمار با ۶۰۸ انواع دیگر ندول‌های سطحی تحت درمان قرار گرفتند. در اروپا در مجموع ۱۷۱ بیمار با ۱۱۰۰ ندول سرطان پستان تا سال ۲۰۰۸ به روش شیمی‌درمانی الکتریکی مورد درمان قرار گرفته‌اند و در سال ۲۰۱۱، بیش از ۲۰۰۰ بیمار در اروپا به این روش درمان شده‌اند [56, 58].

**تجهیزات مورد نیاز در منفذسازی الکتریکی:** در روش منفذسازی الکتریکی، بایستی بر یاخته‌ها پالس‌هایی با دامنه، پهنای باند و نوع پالس مناسب القا شود تا در نهایت پروسه دلخواه افزایش نفوذپذیری مورد نظر طی شود. بدین منظور تولید و دخول میدان به

می‌دهد و امکان درمان تا ۱۵ غده توموری را در یک نوبت درمان دارد؛ در ضمن درمان مجدد غده‌های توموری که بعد از ۲ تا ۴ هفته پاسخی به درمان نشان ندهند، امکان‌پذیر است. اهمیت دیگر و مزیت برتر شیمی‌درمانی الکتریکی نسبت به روش‌های متداول درمان، کاهش متاستاز در تومورهای بدخیمی است که پس از درمان سبب عود تومور در نواحی دیگر می‌شود. این مزیت شیمی‌درمانی الکتریکی دارای پشتوانه علمی مطالعه‌شده‌ای نیست ولی در مطالعات حیوانی و انسانی این عدم تحریک و کاهش متاستاز کاملاً قابل مشاهده بوده است. این کاهش متاستاز در روش ترکیبی شیمی‌درمانی الکتریکی و ایمونوتراپی کاملاً خود را نشان داده است [11, 22].

منفذسازی الکتریکی علاوه بر مزایا، معایبی را نیز به‌همراه دارد. این تکنیک، یک درمان موضعی است که تنها برای تومورهای جامد و سطحی مورد استفاده قرار می‌گیرد و می‌تواند در درمان تعداد محدودی ضایعه توموری با قطر کمتر از ۳ سانتی‌متر موثر باشد. اگر تعداد غده‌ها از حدی بیشتر باشد، درمان برای تمام ضایعه‌ها نمی‌تواند در یک جلسه صورت بگیرد. بنابراین به‌دلیل سرعت تکثیر بیماری، غده‌های بیشتری (که در جلسه قبل آشکار نبوده‌اند) تشکیل می‌شوند. عیب دیگر این روش این است که با الکترودهای موجود، غده‌هایی که در عمق قرار دارند و نیز غده‌های بزرگ درمان نمی‌شوند. غده‌های بزرگ به چند جلسه درمان نیاز دارند تا همه سطح تومور پوشانده شود و لایه‌های عمیق آن از بین برود. همچنین اعمال پالس به‌صورت موضعی ایجاد درد می‌کند. این حس ناخوشایند مربوط به این انقباضات است که شدت آن از مریضی به مریض دیگر تغییر می‌کند و به مکان محل مورد درمان بستگی دارد که البته در تمام حالات، این احساس ناخوشایند به محض قطع میدان الکتریکی متوقف می‌شود. واکنش‌های دیگر در محل مورد درمان، شامل ورم جزئی و سرخی غیرعادی پوست، ۱ تا ۲ ساعت بعد از درمان آغاز و بعد از ۲۴ ساعت ناپدید می‌شود [11, 70].

### راهکارهای رفع معایب شیمی‌درمانی الکتریکی

**استفاده از الکترکموتراپی با شدت‌های پایین:** از سال ۱۹۸۷ به بعد با آغاز بررسی‌ها روی درمان‌های پیش‌کلینیکی و بعد از آن در سال ۱۹۹۱ با شروع درمان‌های کلینیکی (در درمان تومورهای برآمده سر و گردن) این روش درمانی با همان استاندارد (دامنه‌ای برابر با اکیلوولت بر سانتی‌متر، پهنای پالس ۱۰۰ میکروثانیه و فرکانس تکرار ۱ هرتز و قطار موجی شامل ۸ پالس مربعی پی‌درپی) مورد استفاده قرار گرفته است [70]. این شدت‌ها سبب می‌شوند دردی ناخواسته بر بیمار تحمیل شود. در بررسی‌های انسانی طی افزایش ولتاژ در تومورهای بزرگ‌تر این درد در بیماران بیشتر گزارش شده است. بنابراین استفاده از ولتاژهای پایین با زمان اعمال پالس بیشتر مورد توجه محققان قرار گرفته و این بررسی‌ها نتایج بسیار خوبی را هم در بر داشته است [70-76].

**شیمی‌درمانی الکتریکی با استفاده از فرکانس‌های بالا:** به‌منظور کاهش ناراحتی بیماران، بررسی فرکانس‌های بالا برای کاهش انقباض‌های عضلانی نیز در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. در این مطالعات نشان داده شده که با افزایش فرکانس، انقباض‌های عضله از ۸ به ۱ تقلیل می‌یابد و این در حالی است که بازده درمان نیز با فرکانس پایین قابل مقایسه است. اما نتیجه دیگر استفاده از فرکانس‌های بالا کاهش مدت درمان است که این کاهش بازه درمانی در درمان با الکترودهای شش‌وجهی که مدت‌زمان

نوع دیگری از الکترودها که کاربرد وسیعی نیز در شیمی‌درمانی الکتریکی دارند آرایه‌های سوزنی هستند که سبب می‌شوند عمق درمان نسبت به الکترودهای صفحه‌ای افزایش یابد. در رابطه با الکترودهای سوزنی باید به این نکته توجه داشت که عمق نفوذپذیرشده همواره کمتر از طول سوزن‌ها است؛ بدین منظور در هنگام استفاده از این الکترودها عمقی که سوزن‌ها در آن داخل شده‌اند باید عمیق‌تر از عمیق‌ترین بخش تومور باشد. به‌منظور کارایی بهتر آرایه‌های سوزنی، معمولاً الکترودها دوه‌دو با هم جفت شده‌اند و پالس‌ها در بیش از یک جهت به این جفت‌الکترودها منتقل می‌شوند تا نفوذپذیری در این یاخته‌ها بیشتر افزایش یابد. اولین نوع الکترود سوزنی که مورد استفاده قرار گرفت الکترودهای جفت‌سوزنی است. این الکترودها در شیمی‌درمانی الکتریکی و ژن‌درمانی بافت‌های عضله و بافت تومور حیوانات مورد آزمایش قرار گرفتند. مشکل اصلی این الکترودها واگرابودن آنها است که سبب می‌شود میدان در اطراف سوزن‌ها تمرکز بیشتری یابد. بنابراین کارایی این نوع الکترود پایین‌تر از الکترودهای صفحه‌ای گزارش شده است [59-62, 67]. چینش ۴ الکترود در یک میدان مربعی پوشش مناسبی از میدان را در داخل محدوده توموری ایجاد می‌کند که تجمع میدان در مرکز و همگنی آن در این چینش بهتر از حالت یک‌جفت الکترود سوزنی است. این نوع آرایه، آرایه مربعی نامیده می‌شود و نوع دیگر چینش ۴ الکترود، قراردادن ۴ الکترود در ۴ گوشه یک لوزی است [59, 61]. الکترود دیگر الکترود آرایه سوزنی دایروی است؛ در این مورد ۶ الکترود در گوشه‌های یک شش‌گوش با فاصله‌های مساوی چیده می‌شوند، بنابراین در این چینش که ۳ جفت الکترود سطح بافت را پوشش می‌دهند، یکنواختی خوبی از میدان در محدوده درمان به وجود می‌آید. این نوع الکترود در درمان بیش از ۵۰۰ تومور به کار رفته است و بازده مناسب خود را در این روش درمانی نشان داده است [59, 61].

امروزه به‌منظور افزایش کارایی روش منفذسازی الکتریکی، ساخت میکروسوزن‌ها با روش‌های متفاوت، متداول شده است. این نوع الکترودها توانایی افزایش تراوایی و ایجاد کانال‌ها در محدوده وسیعی را دارند و انتقال مواد را به‌طور چشمگیری افزایش داده‌اند. این وسیله برای انتقال ماکرومولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، آنتی‌بادی‌ها و هورمون‌ها تا ذرات کوچکی مانند داروها کاربرد دارد [68]. اما روش بسیار جدید اعمال پالس الکتریکی استفاده از کاتترهاست؛ از این الکترودها برای ورود دارو و DNA به داخل دیواره رگ‌های خونی استفاده می‌شود. این الکترودها زمانی اهمیت بیشتری می‌یابند که بدانیم در درمان بسیاری بیماری‌ها ژن‌های موثر شناخته شده‌اند که منتظر راهی ایمن برای ورود آنها به داخل عروق هستند [61]. امروزه با استفاده از گروهی از الکترودها که به الکترودهای انعطاف‌پذیر معروف هستند تحقیق روی درمان تومورهای عمقی‌تر نیز امکان‌پذیر شده است. این الکترودها با تلفیق به سیستم آندوسکوپی و لاپروسکوپی برای انتقال پالس‌های الکتریکی به اعضای داخلی به کار برده می‌شوند [69].

**معایب و مزایای روش الکترکموتراپی:** شیمی‌درمانی الکتریکی، به‌دلیل تمرکز موضعی زیاد داروی شیمی‌درمانی در تومور باعث اثر بیشتر دارو می‌شود؛ این روش ساده و ارزان است و امکان درمان را تنها با داشتن سیستم مولد و الکترودها امکان‌پذیر می‌کند، همچنین به مراقبت‌های ویژه یا دارویی بعد از درمان احتیاج ندارد. از آنجا که تزریق دوز داروی شیمی‌درمانی به مقدار کم، تنها در ناحیه مورد درمان انجام می‌شود، عوارض جانبی را نیز کاهش

بیشتری را برای درمان نیاز دارند و الکترودهایی که به صورت جفت فعال می‌شوند، خود را بیشتر نشان داده و زمان جلسه درمانی را کاهش می‌دهد [48, 77, 78].

با القای پالس‌های الکتریکی، فیبرهای عصبی مجاور الکترودها تحریک شده و این تحریک‌ها به صورت پتانسیل عمل در طول فیبر عصبی انتقال یافته تا به محل اتصال عضله عصب برسند و سبب انقباض عضلانی شوند. پس از پالس اول، غشای آکسون عصبی در بازه زمانی دوره بی‌پاسخی تحریک نمی‌شود، بنابراین با افزایش فرکانس و کاهش زمان وقفه بین دو پالس می‌توان تعداد انقباض‌ها را کاهش داد.

نتایج در رابطه با تعداد انقباض‌ها، حاکی از آن بود که تعداد انقباض‌ها به ازای ۸ پالس ۵۰ هرتزی و بالاتر برابر با یک انقباض است و این در حالی است که به ازای ۸ پالس ۱ هرتزی، ۸ انقباض قابل مشاهده است، ولی این افزایش فرکانس باعث می‌شود که شدت نیروی انقباضی افزایش یابد و یک انقباض کزازی در عضله ایجاد شود. اما بنا به نظر بیماران تحت درمان، تحمل یک انقباض کزازی راحت‌تر از ۸ انقباض پی‌درپی در عضله است [48, 78]. در ادامه، میزان توانایی شیمی‌درمانی الکتریکی با فرکانس‌های بالا در درمان تومورهای سرطانی در سال ۲۰۰۵ توسط گروه تحقیقاتی پوکیهار بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که در فرکانس‌های بالا نیز می‌توان انتظار درمانی قابل مقایسه با فرکانس ۱ هرتز را داشت که در میان فرکانس‌های مورد بررسی ۱۰ هرتز، ۱۰۰ هرتز، ۱ کیلوهرتز و ۵ کیلوهرتز، بازه درمانی فرکانس ۵ کیلوهرتز قابل مقایسه با فرکانس ۱ هرتز گزارش شده است [77].

بنابراین پروتکل جدید در شیمی‌درمانی الکتریکی شامل یک قطار پالس مربعی ۸ تاایی با شدتی در حدود ۱۳۰۰ ولت بر سانتی‌متر و پهنای پالس برابر با ۰.۱ میکروثانیه و فرکانس ۵ کیلوهرتز برای درمان در شرایط حیوانی و کلینیکی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیقات تفاوت معنی‌داری را در کاهش رشد تومور بین این گروه درمانی و پروتکل استاندارد نشان نداد [39, 40, 45, 48].

**شیمی‌درمانی الکتریکی با استفاده از فرکانس بالا و شدت میدان الکتریکی پایین:** در مطالعات گذشته هر یک از شرایط بهینه (فرکانس بالا و شدت میدان الکتریکی پایین) جداگانه مورد بررسی قرار گرفته است. در مقاله چاپ شده در سال ۲۰۱۰ توسط شنکایی و همکاران با ترکیب این دو شرط اثر تعداد پالس مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه، هر پالس ۵۰ میلی‌ثانیه با ۵۰۰ پالس ۰.۱ میکروثانیه معادل‌سازی شده و در فرکانس ۵ کیلوهرتز با شدت ۱۰۰ ولت بر سانتی‌متر بر تومور اعمال شده است. به منظور انتخاب بهترین تعداد پالس، تعداد ۵۰۰ (معادل یک پالس ۵۰ میلی‌ثانیه)، ۲۰۰۰ پالس، ۴۰۰۰ پالس و ۵۰۰۰ پالس در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد تعداد پالس ۴۰۰۰ (معادل با ۵ پالس ۵۰ میلی‌ثانیه) و ۵۰۰۰ (معادل با ۱۰ پالس ۵۰ میلی‌ثانیه) بهترین نتایج را به همراه داشتند و از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه مشاهده نشد. لذا در پایان نویسندگان تعداد ۴۰۰۰ پالس را در هنگام شیمی‌درمانی الکتریکی با فرکانس ۵ کیلوهرتز و شدت میدان الکتریکی پایین پیشنهاد کردند [79].

در ادامه، شدت میدان‌های پایین ۵۰ الی ۱۵۰ ولت بر سانتی‌متر در ۳ فرکانس ۴، ۵ و ۶ کیلوهرتز در محیط یاخته و حیوانی، توسط همین گروه مورد ارزیابی قرار گرفته است. نتایج نشان داد شدت میدان الکتریکی ۷۰ ولت بر سانتی‌متر بهترین نتیجه درمان را در پی دارد. برای بررسی بیشتر، اثر پروتکل پیشنهادی با پروتکل استاندارد مورد

مقایسه قرار گرفته است. نتایج نشان داد شیمی‌درمانی الکتریکی در شدت میدان الکتریکی ۷۰ ولت بر سانتی‌متر، فرکانس ۵ کیلوهرتز با تعداد ۴۰۰۰ پالس به طور معنی‌داری بازه شیمی‌درمانی الکتریکی را نسبت به پروتکل‌های بالینی (شدت میدان ۱۰۰۰ ولت بر سانتی‌متر، فرکانس ۱ و ۵۰۰۰ هرتز با تعداد ۸ پالس) بهبود می‌بخشد [64-66, 80, 48].

**نفوپذیری بیومغناطیسی:** وقتی عملکرد میدان‌های الکترومغناطیس روی یک سیستم بیولوژیک در نظر گرفته می‌شود، غشای یاخته به عنوان مکان اولیه برهم‌کنش، در بیشتر مطالعات مورد بررسی قرار می‌گیرد. در واقع اکثر حرکت یون‌های آزاد در نزدیکی کانال‌های پروتئینی غشا مورد توجه قرار می‌گیرد. مطالعات نشان داده است که در حضور میدان الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار کم یا میدان‌های مغناطیسی استاتیک، یک تغییر در غلظت یون‌های آزاد محیط داخل و خارج یاخته به وجود می‌آید [81-83].

از نکات مهم در اثرات میدان‌های مغناطیسی افزایش نفوذپذیری غشای یاخته‌ها است [63, 84]. نتایج برخی مطالعات وجود یک رفتار تشدید برای برخی فرکانس‌ها و در نتیجه آن تغییراتی در نفوذپذیری غشا، ساختار و مشخصات دینامیکی یاخته را نمایان می‌کند. همچنین اندرکنش میدان‌های مغناطیسی با آنزیم‌های داخل یاخته عامل دیگری است که نفوذپذیری را تسهیل می‌کند، [82, 83, 85]. به علاوه، اثربخشی میدان مغناطیسی استاتیک و پالسی کم‌فرکانس همراه با داروهای شیمی‌درمانی بر جذب مولکولی یاخته‌ها و درمان تومور مورد بررسی قرار گرفته است و مشاهده شده است که جذب مولکولی در اثر اعمال این میدان‌ها افزایش و رشد تومور کاهش پیدا می‌کند [63, 86, 87].

طبق قانون فارادی، هرگاه میدان مغناطیسی B با زمان تغییر کند، یک نیروی محرک القایی ایجاد می‌شود که میدان الکتریکی E را به وجود می‌آورد. در واقع اعمال این پالس‌های مغناطیسی نیاز به دو قسمت جداگانه دارد: اول، یک مولد پالس قوی جریان که جریان دشارژ در حدود ۵۰۰۰ آمپر یا بیشتر تولید کند و دوم، یک پیچیه تحریک‌کننده (پروب) که پالس‌های مغناطیسی ایجاد کند. میدان الکتریکی القایی توسط میدان مغناطیسی وابسته به زمان، مستقیماً به خواص پیچیه استفاده شده و جریان عبوری از پیچیه بستگی دارد. بنابراین میدان‌های مغناطیسی پالسی با شدت بالا با تولید جریان‌های ادی در محدوده یاخته سبب تغییر در ساختار غشایی و بلوک کردن کانال‌های کلسیمی داخل یاخته از اثرات این جریان‌ها است. القای الکتروآندوسیتوز در اثر این نوع میدان‌ها عاملی است که سبب افزایش نفوذپذیری یاخته‌ها می‌شود [83, 88-90].

استفاده از میدان‌های مغناطیسی همراه با داروهای شیمی‌درمانی سبب معرفی روش نوین مگنتوکموتراپی شده است. این روش بر محدودیت شیمی‌درمانی الکتریکی در نفوذ به عمق غلبه کرده است و احساس ناخوشایند درد و سوختگی را نیز در بیمار القا نمی‌کند. در روش مگنتوکموتراپی از سیستم تحریک مغناطیسی مغز (TMS) و کوئل پروانه‌ای برای اعمال میدان مغناطیسی پالسی در محدوده ۲ الی ۳ تسلا استفاده می‌شود. این میدان مغناطیسی سبب ایجاد میدان الکتریکی حدود ۶ ولت بر سانتی‌متر در یاخته می‌شود [88, 90]. [91]. بر مبنای تحقیقات انجام شده در اثر اعمال این میدان‌ها، جذب مولکولی یاخته‌ها به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. مکانیزم پیشنهادی برای این پدیده، اندوسیتوز القایی است که الکتروآندوسیتوز نامیده شده است [88].



mechanisms. *Methods Mol Biol.* 1995;47:1-26.

2- Davalos R, Huang Y, Rubinsky B. Electroporation: BIO-electrochemical mass transfer at the nano scale. *Microscale Thermophys Eng.* 2000;4(3):147-59.

3- Neumann E, Kakorin S, Toensing K. Principles of membrane electroporation and transport of macromolecules. In: Jaroszeski MJ, Heller R, Gilbert R, editors. *Electrochemotherapy, electrogenetherapy, and transdermal drug delivery, methods in molecular medicine.* 37<sup>th</sup> Volume. New York City: Humana Press; 2000. pp. 1-35.

4- Pliquett U, Gift EA, Weaver JC. Determination of the electric field and anomalous heating caused by exponential pulses with aluminum electrodes in electroporation experiments. *Bioelectrochem Bioenerg.* 1996;39(1):39-53.

5- Lee EW, Gehl J, Kee ST. Introduction to electroporation. In: Kee ST, Gehl J, Lee EW, editors. *Clinical aspects of electroporation.* Heidelberg: Springer Science & Business Media; 2011. pp. 3-8.

6- Gehl J. Electroporation: Theory and methods, perspectives for drug delivery, gene therapy and research. *Acta Physiol Scand.* 2003;177(4):437-47.

7- Miller L, Leor J, Rubinsky B. Cancer cells ablation with irreversible electroporation. *Technol Cancer Res Treat.* 2005;4(6):699-705.

8- Onik G, Mikus P, Rubinsky B. Irreversible electroporation: Implications for prostate ablation. *Technol Cancer Res Treat.* 2007;6(4):295-300.

9- Rubinsky J, Onik G, Mikus P, Rubinsky B. Optimal parameters for the destruction of prostate cancer using irreversible electroporation. *J Urol.* 2008;180(6):2668-74.

10- Nickfarjam A, Firoozabadi SMP, Kalaghchi B. A Multi Objective Genetic Algorithm (MOGA) for optimizing thermal and electrical distribution in tumor ablation by irreversible electroporation. *J Biomed Phys Eng.* 2013;3(1):13-24.

11- Sersa G, Miklavcic D, Cemazar M, Rudolf Z, Pucihar G, Snoj M. Electrochemotherapy in treatment of tumours. *Eur J Surg Oncol.* 2008;34(2):232-40.

12- Mir LM, Gehl J, Sersa G, Collins CG, Garbay JR, Billard V, et al. Standard operating procedures of the electrochemotherapy: Instructions for the use of bleomycin or cisplatin administered either systemically or locally and electric pulses delivered by the Cliniporator™ by means of invasive or non-invasive electrodes. *Eur J Cancer Suppl.* 2006;4(11):14-25.

13- Heller R, Gilbert R, Jaroszeski MJ. Clinical trial for solid tumors using electrochemotherapy. In: Jaroszeski MJ, Heller R, Gilbert R, editors. *Electrochemotherapy, electrogenetherapy, and transdermal drug delivery, methods in molecular medicine.* 37<sup>th</sup> Volume. New York City: Humana Press; 2000. pp. 137-56.

14- Pavlin M, Kandušer M, Reberšek M, Pucihar G, Hart FX, Magjarević R, et al. Effect of cell electroporation on the conductivity of a cell suspension. *Biophys J.* 2005;88(6):4378-90.

15- Teissié J, Escoffre J, Rols M, Golzio M. Time dependence of electric field effects on cell membranes, a review for a critical selection of pulse duration for therapeutical applications. *Radiol Oncol.* 2008;42(4):196-206.

16- Towhidi L, Kotnik T, Pucihar G, Firoozabadi SM, Mozdarani H, Miklavcic D. Variability of the minimal transmembrane voltage resulting in detectable membrane electroporation. *Electromagn Biol Med.*

اعمال چنین پالس‌هایی به یاخته، منجر به دو اثر اولیه جداگانه در غشای یاخته می‌شود: ۱) قطبش الکتريکی غشا و القای یک ولتاژ غشایی، ۲) الکتروفورز عرضی پروتئین‌های باردار و لیپیدها در صفحه غشای یاخته. با توجه به اینکه ولتاژ غشایی اعمالی برای ایجاد تراوایی کافی نیست (هر چند نمی‌توان کامل از آن صرف نظر کرد)، دلیل اصلی نفوذپذیری را می‌توان حرکت عرضی الکتروفوریتیک بارها، پروتئین‌ها و لیپیدهای غشا به دلیل مولفه مماسی میدان الکتريکی در محل غشا دانست. این امر موجب عدم تقارن در توزیع عوامل تشکیل‌دهنده در دو لایه غشا و نهایتاً القای اندوسیتوز (الکترواندوسیتوز) در غشا می‌شود [89, 92, 93].

هر چند در مطالعات انجام شده میزان اثر این روش در افزایش جذب و درمان سرطان کمتر از شیمی‌درمانی الکتريکی گزارش شده است [88]، اما با توجه به مزایای آن، می‌تواند در آینده نزدیک به‌عنوان روشی در بهینه‌سازی بازده شیمی‌درمانی در درمان تومورهای عمقی‌تر با کاربردهای کلینیکی مطرح شود.

باید به این نکته توجه داشت که با انجام مطالعات بسیار و ساخت دستگاه شیمی‌درمانی الکتريکی در ایران، این روش تاکنون در داخل کشور مورد ارزیابی بالینی قرار نگرفته است. امید است در این بخش نیز همقدم با دیگر کشورها بتوانیم به پیشرفت‌های چشمگیر دست یابیم. با وجود پیشرفت‌های بسیار، همچنان مشکلاتی مانند عدم توانایی در دسترسی عمقی وجود دارد که نیازمند مطالعه بیشتر است. استفاده از روش نوین مگنتوپوریشن راه حلی برای دستیابی به تومورهای عمقی را مطرح می‌سازد که این روش با توجه به پیچیدگی اثرگذاری این نوع میدان‌ها بر بدن مطالعات اولیه خود را پشت سر گذاشته و امید است در آینده نزدیک به‌عنوان روشی موثر جایگاه علمی خود را در درمان سرطان به دست آورد.

## نتیجه‌گیری

شیمی‌درمانی الکتريکی امروزه به‌عنوان روشی نوین با بازده بالا در درمان تومورهای سطحی مطرح شده است. در مطالعات پیش‌کلینیکی، ابتدا این روش روی حیوان و یاخته بهینه‌سازی شده است و پس از آزمون‌های بالینی، امروزه، پروتکل استاندارد و بالینی شیمی‌درمانی الکتريکی به‌عنوان روشی ایمن با اثربخشی بالا برای برخی تومورها مطرح است. این روش درمانی، روشی ساده با حداقل اثرات جانبی است، اما در مطالعات پیش‌کلینیکی جدید با به‌کارگیری پالس‌های الکتريکی با فرکانس‌های بالا، شدت میدان‌های الکتريکی پایین و همچنین استفاده از میدان‌های مغناطیسی پالسی سعی شده تا محدودیت‌ها و کاستی‌های این روش استاندارد برطرف شود.

**تشکر و قدردانی:** با توجه به اجرای تحقیق فوق در دانشگاه تربیت مدرس لازم می‌دانیم از این دانشگاه به‌دلیل حمایت‌های مالی و معنوی‌اش تشکر و قدردانی صورت پذیرد.

**تابییدیه اخلاقی:** موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

**تضاد منافع:** هیچگونه تضاد منافی در مقاله حاضر وجود ندارد.

**سهم نویسندگان:** زینب شنکایی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/روش‌شناسی/پژوهشگر اصلی (۶۰٪)؛ سیدمحمد فیروزآبادی (نویسنده دوم)، روش‌شناسی/نگارنده بحث (۴۰٪).

**منابع مالی:** موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

## منابع

1- Weaver JC. Electroporation theory, concepts and

[Persian]

- 34- Cemazar M, Golzio M, Escoffre JM, Couderc B, Sersa G, Teissié J. In vivo imaging of tumor growth after electrochemotherapy with cisplatin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;348(3):997-1002.
- 35- Tounekti O, Kenani A, Foray N, Orłowski S, Mir LM. The ratio of single- to double-strand DNA breaks and their absolute values determine cell death pathway. *Br J Cancer*. 2001;84(9):1272-9.
- 36- Jarm T, Cemazar M, Miklavcic D, Sersa G. Antivascular effects of electrochemotherapy: Implications in treatment of bleeding metastases. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2010;10(5):729-46.
- 37- Sersa G, Jarm T, Kotnik T, Coer A, Podkrajsek M, Sentjerc M, et al. Vascular disrupting action of electroporation and electrochemotherapy with bleomycin in murine sarcoma. *Br J Cancer*. 2008;98(2):388-98.
- 38- Siemann DW, Horsman MR. Vascular targeted therapies in oncology. *Cell Tissue Res*. 2009;335(1):241-8.
- 39- Raeisi E, Firoozabadi SM, Hajizadeh S, Rajabi H, Hassan ZM. The effect of high-frequency electric pulses on tumor blood flow in vivo. *J Membr Biol*. 2010;236(1):163-6.
- 40- Sersa G, Kranjc S, Scancar J, Krzan M, Cemazar M. Electrochemotherapy of mouse sarcoma tumors using electric pulse trains with repetition frequencies of 1 Hz and 5 kHz. *J Membr Biol*. 2010;236(1):155-62.
- 41- Valic B, Golzio M, Pavlin M, Schatz A, Faurie C, Gabriel B, et al. Effect of electric field induced transmembrane potential on spheroidal cells: Theory and experiment. *Eur Biophys J*. 2003;32(6):519-28.
- 42- Cemazar M, Parkins CS, Holder AL, Chaplin DJ, Tozer GM, Sersa G. Electroporation of human microvascular endothelial cells: Evidence for an anti-vascular mechanism of electrochemotherapy. *Br J Cancer*. 2001;84(4):565-70.
- 43- Sentjerc M, Cemazar M, Sersa G. EPR oximetry of tumors in vivo in cancer therapy. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2004;60(6):1379-85.
- 44- Engström PE, Persson BR, Salford LG. Studies of in vivo electropermeabilization by gamma camera measurements of (99m) Tc-DTPA. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1473(2-3):321-8.
- 45- Snoj M, Cemazar M, Slekovec Kolar B, Sersa G. Effective treatment of multiple unresectable skin melanoma metastases by electrochemotherapy. *Croat Med J*. 2007;48(3):391-5.
- 46- Davalos RV, Rubinsky B, Otten DM. A feasibility study for electrical impedance tomography as a means to monitor tissue electroporation for molecular medicine. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2002;49(4):400-3.
- 47- Davalos RV, Otten DM, Mir LM, Rubinsky B. Electrical impedance tomography for imaging tissue electroporation. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2004;51(5):761-7.
- 48- Shankayi Z, Firoozabadi SM. Antitumor efficiency of electrochemotherapy by high and low frequencies and repetitive therapy in the treatment of invasive ductal carcinoma in Balb/c Mice. *Cell J*. 2012;14(2):110-5.
- 49- Dev SB, Hofmann GA, Nanda GS. Treatment of human pancreatic tumors xenografted in nude mice by chemotherapy combined with pulsed electric fields. In: Jaroszeski MJ, Heller R, Gilbert R, editors. *Electrochemotherapy, electrogenetherapy, and transdermal drug delivery, methods in molecular* 2008;27(4):372-85.
- 17- Towhidi L, Firoozabadi SM, Mozdarani H, Kotnik T, Pucihar G, Miklavcic D. Effect of cell size and shape on electric field threshold and critical transmembrane voltage for electroporation. *Iran J Med Phys*. 2008;5(3-4):1-14. [Persian]
- 18- Stampflj R. Reversible electrical breakdown of the excitable membrane of a Ranvier node. *An Acad Brasil Ciens*. 1958;30(1):57-61.
- 19- Neumann E, Rosenheck K. Permeability changes induced by electric impulses in vesicular membranes. *J Membr Biol*. 1972;10(1):279-90.
- 20- Hui SW. Effects of pulse length and strength on electroporation efficiency. *Methods Mol Biol*. 1995;55:29-40.
- 21- Heller R. Overview of electroporation. *Technol Cancer Res Treat*. 2002;1(5):317-8.
- 22- Serša G. Electrochemotherapy. In: Jaroszeski MJ, Heller R, Gilbert R, editors. *Electrochemotherapy, electrogenetherapy, and transdermal drug delivery, methods in molecular medicine*. 37<sup>th</sup> Volume. New York City: Humana Press; 2000. pp. 119-36.
- 23- Mir LM. Bases and rationale of the electrochemotherapy. *Eur J Cancer Suppl*. 2006;4(11):38-44.
- 24- Sersa G, Cemazar M, Parkins CS, Chaplin DJ. Tumour blood flow changes induced by application of electric pulses. *Eur J Cancer*. 1999;35(4):672-7.
- 25- Sersa G, Krzic M, Sentjerc M, Ivanusa T, Beravs K, Kotnik V, et al. Reduced blood flow and oxygenation in SA-1 tumours after electrochemotherapy with cisplatin. *Br J Cancer*. 2002;87(9):1047-54.
- 26- Jarm T, Wickramasinghe YA, Deakin M, Cemazar M, Elder J, Rolfe P, et al. Blood perfusion of subcutaneous tumours in mice following the application of low-level direct electric current. *Adv Exp Med Biol*. 1999;471:497-506.
- 27- Mir LM, Orłowski S. The basis of electrochemotherapy. In: Jaroszeski MJ, Heller R, Gilbert R, editors. *Electrochemotherapy, electrogenetherapy, and transdermal drug delivery, methods in molecular medicine*. 37<sup>th</sup> Volume. New York City: Humana Press; 2000. pp. 99-117.
- 28- Puc M, Kotnik T, Mir LM, Miklavcic D. Quantitative model of small molecules uptake after in vitro cell electropermeabilization. *Bioelectrochemistry*. 2003;60(1-2):1-10.
- 29- Van Deurs B, Sandvig K, Petersen OW, Olsnes S, Simons K, Griffiths G. Estimation of the amount of internalized ricin that reaches the trans-Golgi network. *J Cell Biol*. 1988;106(2):253-67.
- 30- Pron G, Mahroun N, Orłowski S, Tounekti O, Poddevin B, Belehradek J Jr, et al. Internalisation of the bleomycin molecules responsible for bleomycin toxicity: A receptor-mediated endocytosis mechanism. *Biochem Pharmacol*. 1999;57(1):45-56.
- 31- Silve A, Mir LM. Cell electropermeabilization and cellular uptake of small molecules: The electrochemotherapy concept. In: Kee ST, Gehl J, Lee EW, editors. *Clinical aspects of electroporation*. Heidelberg: Springer Science & Business Media; 2011. pp. 69-82.
- 32- Shil P, Bidaye S, Vidyasagar PB. Analysing the effects of surface distribution of pores in cell electroporation for a cell membrane containing cholesterol. *J Phys D Appl Phys*. 2008;41(5):055502.
- 33- Hall E. *Radiobiology for the radiologist*. Mozdarani H, translator. Tehran: Tarbiat Modares University; 2000.

- Mice. *Koomesh*. 2012;13(4):486-90. [Persian]
- 65- Shankayi Z, Firoozabadi SM, Hassan ZS. Optimization of electric pulse amplitude and frequency in vitro for low voltage and high frequency electrochemotherapy. *J Membr Biol*. 2014;247(2):147-54.
- 66- Shankayi Z, Pourmirjafari Firoozabadi SM, Saraf Hassan Z. The endothelial permeability increased by low voltage and high frequency electroporation. *J Biomed Phys Eng*. 2013;3(3):87-92.
- 67- Miklavcic D, Corovic S, Pucihar G, Pavselj N. Importance of tumour coverage by sufficiently high local electric field for effective electrochemotherapy. *Eur J Cancer Suppl*. 2006;4(11):45-51.
- 68- Wilke N, Hibert C, O'Brien J, Morrissey A. Silicon microneedle electrode array with temperature monitoring for electroporation. *Sens Actuator A Phys*. 2005;123-124:319-25.
- 69- Soden DM, Larkin JO, Collins CG, Tangney M, Aarons S, Piggott J, et al. Successful application of targeted electrochemotherapy using novel flexible electrodes and low dose bleomycin to solid tumours. *Cancer Lett*. 2006;232(2):300-10.
- 70- Horiuchi A, Nikaido T, Mitsushita J, Toki T, Konishi I, Fujii S. Enhancement of antitumor effect of bleomycin by low-voltage in vivo electroporation: A study of human uterine leiomyosarcomas in nude mice. *Int J Cancer*. 2000;88(4):640-4.
- 71- Miyazaki S, Gunji Y, Matsubara H, Shimada H, Uesato M, Suzuki T, et al. Possible involvement of antitumor immunity in the eradication of colon 26 induced by low-voltage electrochemotherapy with bleomycin. *Surg Today*. 2003;33(1):39-44.
- 72- Kitamura A. Bleomycin-mediated electrochemotherapy in mouse NR-S1 carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2003;51(4):359-62.
- 73- Plotnikov A, Fishman D, Tichler T, Korenstein R, Keisari Y. Low electric field enhanced chemotherapy can cure mice with CT-26 colon carcinoma and induce antitumor immunity. *Clin Exp Immunol*. 2004;138(3):410-6.
- 74- Matsuki N, Ishikawa T, Imai Y, Yamaguchi T. Low voltage pulses can induce apoptosis. *Cancer Lett*. 2008;269(1):93-100.
- 75- Entin I, Plotnikov A, Korenstein R, Keisari Y. Tumor growth retardation, cure, and induction of antitumor immunity in B16 melanoma-bearing mice by low electric field-enhanced chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 2003;9(8):3190-7.
- 76- Fulimoto T, Maeda H, Kubo K, Sugita Y, Nakashima T, Sato E, et al. Enhanced anti-tumour effect of cisplatin with low-voltage electrochemotherapy in hamster oral fibrosarcoma. *J Int Med Res*. 2005;33(5):507-12.
- 77- Pucihar G, Mir LM, Miklavcic D. The effect of pulse repetition frequency on the uptake into electroporated cells in vitro with possible applications in electrochemotherapy. *Bioelectrochemistry*. 2002;57(2):167-72.
- 78- Miklavcic D, Pucihar G, Pavlovic M, Ribaric S, Mali M, Macek-Lebar A, et al. The effect of high frequency electric pulses on muscle constriction and antitumor efficiency in vivo for a potential use in clinical electrochemotherapy. *Bioelectrochemistry*. 2005;65(2):121-8.
- 79- Shankayi Z, Firoozabadi SM, Hassan ZM. The effect of rectangular electric pulse number in electrochemotherapy by low voltage and high frequency on breast tumors in Balb/c Mice. *Cell J (Yakhteh)*. 2010;12(3):381-4.
- medicine. 37<sup>th</sup> Volume. New York City: Humana Press; 2000. pp. 277-83.
- 50- Jaroszeski MJ, Gilbert R, Heller R. Treatment of liver malignancies with electrochemotherapy in rat model. In: Jaroszeski MJ, Heller R, Gilbert R, editors. *Electrochemotherapy, electrogenetherapy, and transdermal drug delivery, methods in molecular medicine*. 37<sup>th</sup> Volume. New York City: Humana Press; 2000. pp. 319-26.
- 51- Salford LG, Engström P, Persson BR. Treatment of rat glioma with electrochemotherapy. In: Jaroszeski MJ, Heller R, Gilbert R, editors. *Electrochemotherapy, electrogenetherapy, and transdermal drug delivery, methods in molecular medicine*. 37<sup>th</sup> Volume. New York City: Humana Press; 2000. pp. 313-7.
- 52- Sersa G, Kranjc S, Cemazar M. Improvement of combined modality therapy with cisplatin and radiation using electrochemotherapy of tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2000;46(4):1037-41.
- 53- Spugnini EP, Citro G, Dotsinsky I, Mudrov N, Mellone P, Baldi A. Ganglioneuroblastoma in a cat: A rare neoplasm treated with electrochemotherapy. *Vet J*. 2008;178(2):291-3.
- 54- Blad B, Persson B. An electrical impedance indicator to assess electroporability in tissue, a preliminary study. *ITBM-RBM*. 2005;26(5-6):328-32. [French]
- 55- Ivorra A, Rubinsky B. In vivo electrical impedance measurements during and after electroporation of rat liver. *Bioelectrochemistry*. 2007;70(2):287-95.
- 56- Sersa G, Cufer T, Paulin SM, Cemazar M, Snoj M. Electrochemotherapy of chest wall breast cancer recurrence. *Cancer Treat Rev*. 2012;38(5):379-86.
- 57- Sersa G. The state-of-the-art of electrochemotherapy before the ESOPE study; advantages and clinical uses. *Eur J Cancer Suppl*. 2006;4(11):52-9.
- 58- Larkin JO, Collins CG, Aarons S, Tangney M, Whelan M, O'Reilly S, et al. Electrochemotherapy: Aspects of preclinical development and early clinical experience. *Ann Surg*. 2007;245(3):469-79.
- 59- Hafmann GA. Instrumentation and electrodes for in vivo electroporation. In: Jaroszeski MJ, Heller R, Gilbert R, editors. *Electrochemotherapy, electrogenetherapy, and transdermal drug delivery, methods in molecular medicine*. 37<sup>th</sup> Volume. New York City: Humana Press; 2000. pp. 37-58.
- 60- Rebersek M, Corović S, Sersa G, Miklavcic D. Electrode commutation sequence for honeycomb arrangement of electrodes in electrochemotherapy and corresponding electric field distribution. *Bioelectrochemistry*. 2008;74(1):26-31.
- 61- Rabussay D. Applicator and electrode design for in vivo DNA delivery by electroporation. In: Li S, editor. *Electroporation protocols, methods in molecular biology™*. 423<sup>rd</sup> Volume. New York City: Humana Press; 2008. pp. 35-59.
- 62- Hofmann GA. Instrumentation. In: Nickoloff JA, editor. *Plant cell electroporation and electrofusion protocols, methods in molecular biology™*. 55<sup>th</sup> Volume. Totowa: Springer; 1995. pp. 41-59.
- 63- Mansourian M, Firoozabadi SM, Shankayi Z, Hassan ZM. Magnetic fields with frequency of 217 Hz can reduce cell apoptosis caused by electrochemotherapy. *Electromagn Biol Med*. 2013;32(1):70-8.
- 64- Shankayi Z, Firoozabadi SM, Saraf Hassan Z. Comparison of low voltage amplitude electrochemotherapy with 1 Hz and 5 kHz frequency in volume reduction of mouse mammary tumor in Balb/c

- 87- Tofani S, Barone D, Berardelli M, Berno E, Cintorino M, Foglia L, et al. Static and ELF magnetic fields enhance the in vivo anti-tumor efficacy of cis-platin against lewis lung carcinoma, but not of cyclophosphamide against B16 melanotic melanoma. *Pharmacol Res.* 2003;48(1):83-90.
- 88- Towhidi L, Firoozabadi SM, Mozdarani H, Miklavcic D. Lucifer yellow uptake by CHO cells exposed to magnetic and electric pulses. *Radiol Oncol.* 2012;46(2):119-25.
- 89- Rols MP, Femenia P, Teissie J. Long-lived macropinocytosis takes place in electropermeabilized mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;208(1):26-35.
- 90- Shankayi Z, Firoozabadi SM, Mansourian MG. The effect of pulsed magnetic field on the molecular uptake and medium conductivity of leukemia cell. *Cell Biochem Biophys.* 2013;65(2):211-6.
- 91- Chen C, Evans JA, Robinson MP, Smye SW, O'Toole P. Electroporation of cells using EM induction of ac fields by a magnetic stimulator. *Phys Med Biol.* 2010;55(4):1219-29.
- 92- Antov Y, Barbul A, Korenstein R. Electroendocytosis: Stimulation of adsorptive and fluid-phase uptake by pulsed low electric fields. *Exp Cell Res.* 2004;297(2):348-62.
- 93- Antov Y, Barbul A, Mantsur H, Korenstein R. Electroendocytosis: Exposure of cells to pulsed low electric fields enhances adsorption and uptake of macromolecules. *Biophys J.* 2005;88(3):2206-23.
- 80- Shankayi Z, Firoozabadi SM. Tumor growth inhibited by low-voltage amplitude and 5-kHz frequency electrochemotherapy. *J Membr Biol.* 2011;244(3):121-8.
- 81- Moghadam MK, Firoozabadi M, Janahmadi M. Effects of weak environmental magnetic fields on the spontaneous bioelectrical activity of snail neurons. *J Membr Biol.* 2011;240(2):63-71.
- 82- Santini MT, Ferrante A, Rainaldi G, Indovina P, Indovina PL. Extremely Low Frequency (ELF) magnetic fields and apoptosis: A review. *Int J Radiat Biol.* 2005;81(1):1-11.
- 83- Ikehara T, Yamaguchi H, Hosokawa K, Houchi H, Park KH, Minakuchi K, et al. Effects of a time-varying strong magnetic field on transient increase in Ca<sup>2+</sup> release induced by cytosolic Ca<sup>2+</sup> in cultured pheochromocytoma cells. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1724(1-2):8-16.
- 84- Mansourian M, Firoozabadi SM, Mohammad Hassan Z, Shankayi Z. The effect of 217 Hz magnetic field of cell phone with different intensities on apoptosis of normal and cancerous cells treated with chemotherapy drug. *Zahedan J Res Med Sci.* 2012;14(3):29-33.
- 85- Mikirova N, Jackson JA, Casciari JJ, Riordan HD. The effect of alternating magnetic field exposure and vitamin C on cancer cells. *J Orthomol Med.* 2001;16(3):177-82.
- 86- Mahna A, Firoozabadi SM, Shankayi Z. The effect of time-varying low intensity ELF magnetic field on growth rate of invasive ductal carcinoma on Balb/c Mice. *Zahedan J Res Med Sci.* 2012;14(3):24-8.