



Elektrokemoterapi ve Veteriner Hekimlikte Kullanım Alanları

Ülfet TANDOĞAN¹, Duygu TARHAN², Banu DOKUZEYLÜL¹, A. Meltem ERCAN², M. Erman OR¹

¹ İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul/TÜRKİYE

² İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Cerrahpaşa, İstanbul/TÜRKİYE

◆ Geliş Tarihi/Received: 03.02.2022

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 24.02.2022

◆ Yayın Tarihi/Published: 30.06.2022

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Tandogan Ü, Tarhan D, DokuzeYLÜL B, Ercan AM, Or ME. Elektrokemoterapi ve Veteriner Hekimlikte Kullanım Alanları. Bozok Vet Sci (2022) 3, (1):5-11.

Özet: Elektrokemoterapi, doksanlı yılların başından itibaren beşeri hekimlikte kullanılmaya başlanan, son yıllarda da veteriner hekimlikte kullanılan önemli ve yeni bir lokal antitümöral tedavi yöntemidir. Elektroporasyon ile kemoterapinin birleşimi, hem kemoterapinin yüksek düzeydeki yan etkilerini minimuma indirmiş hem de elektroporasyon sayesinde, kullanılan kemoterapötik ilaçların sitotoksik etkinliğini maksimum seviyede tutmayı başarmıştır. Elektrokemoterapi uygulamaları 2006 yılından itibaren hem beşeri hekimlikte hem de veteriner hekimlikte Avrupa standartlarında belirlenmiş prosedürlere göre uygulanmaktadır. Veteriner hekimlikte elektrokemoterapi kedi, köpek, at ve son yıllarda egzotik hayvanlarda özellikle kutanöz tümörlerin tedavisinde kullanım alanı bulmuştur. Bu derlemenin amacı, elektrokemoterapinin çalışma mekanizmasını ve veteriner hekimlikte yer bulan uygulamalarını sunarak bu yeni teknik hakkında genel bir bilgi oluşmasına yardımcı olmaktır.

Anahtar Kelimeler: Elektrokemoterapi, Elektroporasyon, Veteriner hekimlik

Electrochemotherapy and Its Usefulness in Veterinary Medicine

Abstract: Electrochemotherapy is an important and new local antitumoral treatment method that has been used in human medicine since the beginning of the nineties and has been used in veterinary medicine in recent years. The combination of electroporation and chemotherapy both minimized the high-level side effects of chemotherapy and managed to keep the cytotoxic efficiency of the chemotherapeutic drugs used at the maximum level. Electrochemotherapy applications have been applied in both human medicine and veterinary medicine according to the procedures of European standards since 2006. In veterinary medicine, electrochemotherapy has been used in the treatment of cutaneous tumors in cats, dogs, horses and in recent years, exotic animals. The aim of this review is to give information about this new technique by presenting the working mechanism of electrochemotherapy and its applications in veterinary medicine.

Keywords: Electrochemotherapy, Electroporation, Veterinary medicine

1. Giriş

Elektrokemoterapi (EKT), elektroporasyon ile hücre zarının geçirgenliğini geri dönüşümlü bir şekilde artırarak, kemoterapötik ilaçların sitoplazmaya girişini kolaylaştıran, lokal olarak spesifik elektrik darbelerinin uygulandığı bir tedavi yöntemidir (18). Bu yöntem yalnız başına kullanılabileceği gibi onkolojik cerrahi ile birlikte de uygulanabilir. Onkolojik cerrahide hem intraoperatif hem de cerrahi müdahalenin öncesinde tümör hacmini küçültmek amacıyla "neoadjuvan" veya sonrasında lokal nüks olasılığını azaltmak için "adjuvan" tedavi olarak da kullanılabilir (25).

Uygulama kolaylığı, etkinliğinin yüksek olması, düşük morbidite oranı, minimum toksisite ve diğer tedavi yöntemlerine göre daha az maliyetli olması elektrokemoterapinin seçilme nedenleri arasında sayılabilir (3).

Bu derlemede elektrokemoterapinin çalışma mekanizması, uygulama şekli ve veteriner hekimlik alanında yapılan araştırmalara yer verilmiştir.

2. Elektrokemoterapi'nin çalışma mekanizması

EKT'nin antitümöral etkisinin belirlenmesinde biyolojik olarak önemli olan üç etki mekanizması bulunmaktadır. Bunlar; elektroporasyon, vasküler etkiler ve immün yanıtın katılımıdır (6).

2.1. Elektroporasyon

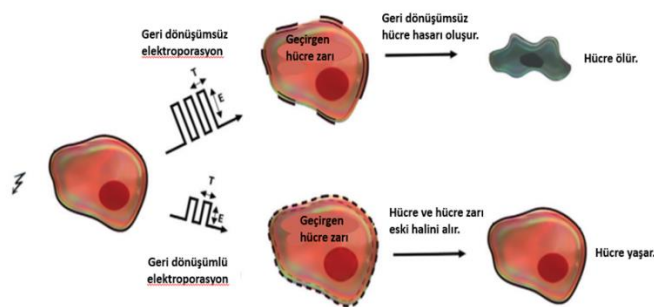
Yüksek voltajlı elektrik darbelerinin hücrelerin membran geçirgenliğini artırması prensibine elektroporasyon denir (6). Uygulanan elektrik darbelerinin genliğine, darbe sayısına ve süresine bağlı olarak elektroporasyon geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olabilir (Şekil 1) (6). Hamilton ve Sale (9) 1967 yılında yaptıkları çalışmada, bir hücre popülasyonunun ölüm sebebi olarak elektrik darbe uzunluğunu ve darbe sayısını göstererek geri dönüşümsüz

elektroporasyonun temellerini atmışlardır. 1972 yılında Neumann ve Rosenheck (16) elektrik darbelerinin geçici geçirgenlik değişikliklerine neden olduğunu ve membran özelliklerinin geri geldiğini bulmuşlardır. Bu keşif geri dönüşümlü elektroporasyonun kanıtı olarak kayıtlara geçmiştir.

2.1.1. Elektroporasyon'un temel ilkeleri

Fizyolojik şartlarda hücre zarının elektrik potansiyeli sabittir. Lipid yapıda olan hücre zarı üzerindeki iyon pompaları ve kanal sistemi tarafından dengede ve dinlenme potansiyelinde kalması sağlanır (18). Yüksek voltajlı elektrik darbeleri uygulandığında, sitoplazma ve dış ortamın elektriksel özellikleri arasındaki farktan dolayı, hücre zarı boyunca dinlenme potansiyeli değişir. Biriken transmembran potansiyeli kritik bir değeri aşarsa, membran kararsız hale gelir ve nano ölçekli gözenekler oluşur (6). Bu durum hücre zarı üzerinde lokalize bir olay olarak gerçekleşir (3). Gözenek oluşumu membran geçirgenliğini artırır ve normal şartlarda hücre içine girişi olmayan moleküllerin girişine izin verir (12). Bu sayede, geri dönüşümlü elektroporasyon, hücre canlılığına zarar vermeden hidrofilik ilaç moleküllerinin veya hücre zarını geçemeyecek kadar büyük olan genetik materyalin hücreye girişi için kullanılır (17).

Geri dönüşümsüz elektroporasyonda hücre zarını bozmak ve hücre ölümüne neden olmak için kısa ancak yoğun elektrik darbeleri kullanılır. Bu yöntem hücrelerin toparlanamaması için elektrik darbelerinin belirli bir eşiği (çok yüksek bir elektrik alanı, çok uzun darbeler veya çok fazla darbe) aşmasını gerektirir. Geri dönüşümlü elektroporasyon kısa fakat yoğun elektrik darbelerinin daha az kullanılmasıyla gerçekleşir. Bu yöntem ise hücre zarının geçirgenleşmesi için yeterli olan ancak zarın iyileşebilmesini ve hücrenin hayatta kalmasını sağlamak için belirli bir eşiğin altında olan elektrik darbeleri gerektirir (Şekil 1) (6).



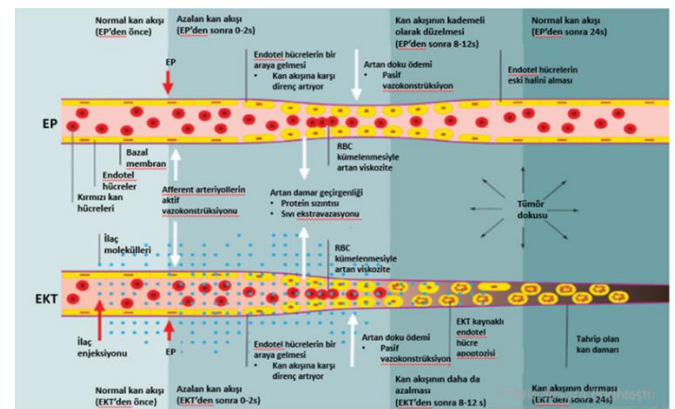
Şekil 1: Geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz elektroporasyonun şematik görünümü (6).

2.2. Vasküler etkiler

EKT uygulaması sırasında elektrik darbelerinin damar ağı üzerine etkisi sonucunda kan akışı ve damar geçirgenliğinde bozulmalar meydana gelir (18). Bu bozulmalar özellikle

vaskülerizasyonu iyi tümörlerde daha çok gözlemlenmiştir (6). Uygulanan elektrik akımıyla sempatik sinir sistemi ve prekapiller sfinkterler uyarılır. Bu uyarımı takiben ani bir lokal vazokonstriksiyon etkisi meydana gelir. Bu yanıt "vasküler kilit etkisi" de denmektedir. Bu etki sayesinde tümör hücreleri antitümöral ilaç moleküllerine daha uzun süre maruz kalmaktadırlar (2,10).

EKT'nin damarlar üzerindeki etkilerinden bir tanesi de antivasküler etkidir. Elektrik darbelerinin uygulanması endotel hasarına yol açarak tümörün kan akışında önemli bir azalmaya neden olur. Bu durum geçici olup, bu süre içerisinde tümörün beslenmesi engellenir ve tümürlü hücrelerin ölümüne katkı sağlar (3,6,10,18) (Şekil 2). EKT'nin bu etkisinden hemorajiye yatkın tümörlerin kanamalarını hafifletmek amacıyla da yararlanılmıştır (2).



Şekil 2: Elektroporasyon (EP) ve Elektrokemoterapi (EKT) tarafından indüklenen tümörlerde vasküler kilit etkisinin şematik gösterimi (6).

2.3. İmmün yanıt oluşumu

EKT'nin diğer bir etki mekanizması da bağışıklık sisteminin uyarılmasıyla açıklanır. Apoptoza uğrayan tümör hücrelerinden antijen dökülmesi nedeniyle sistemik bağışıklık devreye girer. İnterlökin 2 ve 12, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör ve sitotoksik T lenfosit (CD8) aktivasyonu görülür (2,3). Elektrokemoterapi sonrası bağışıklık sisteminin indüklenmesi tümör hücrelerinin yok edilmesinde önemlidir (2).

3. Elektrokemoterapi'nin sağlıklı dokular üzerine etkisi

Elektroporasyon eşiği hücrenin boyutu, şekli, iskelet yapısı ve zar bileşimi gibi fizyolojik ve biyolojik özelliklerin yanısıra elektrik akımının genliği, süresi, darbe sayısı vb. elektriksel parametrelere bağlıdır (14). Yapılan çalışmalarda sağlıklı karaciğer dokusunun kanserli karaciğer dokusundan daha yüksek empedansa sahip olduğu, bu sayede daha düşük iletkenlik özelliği gösterdiği belirtilmiştir. Elektroporasyonun sağlıklı dokular üzerinde etkisinin olmaması dokuların birbirinden farklı elektriksel empedansa sahip olduğunu gösterir (34). Aynı zamanda elektrokemoterapi uygulamasında kullanılan antikanser ilaçların etkisinin hızlı

bölünen hücrelerde daha çok olduğu bilinmektedir. Bu da elektrokemoterapi uygulamasının sağlıklı hücreler üzerinde etkinliğinin olmadığını bir diğer göstergesi olmuştur (5).

4. Elektrokemoterapi'nin uygulama şekli

Veteriner EKT'yi insan EKT'sinden ayıran bazı önemli noktalar vardır. İnsanlarda EKT genellikle lokal anestezi altında uygulanır. Hayvanlarda ise tam anlamıyla bir zapt-ı rapt sağlanamadığından EKT uygulamalarında ağır sedasyon veya genel anesteziye gereksinim vardır. Standartlaştırılmış protokollere göre butarfenol, medetomidin, asepromazin, metadon ve ketamin gibi farklı ilaçların kombinasyonları eşliğinde hasta sedasyona alınır. Anestezi derinliğini sağlamak için ise propofol veya barbitüratlar kullanılır. Daha sonrasında genellikle izofluran veya sevofluran gibi gazlarla anestezi idame ettirilir (25).

Hasta uygun şekilde anesteziye alındıktan sonra EKT uygulaması uluslararası standartlara uygun olarak belirlenmiş prosedürlere göre yapılır. Elektrokemoterapi için ilk olarak 2006 yılında Mir ve arkadaşları(15) tarafından Elektrokemoterapi için Avrupa Standart Çalışma Prosedürleri (ESOPE) yazılmıştır. Daha sonrasında geniş bir çalışma yelpazesi bulan bu yöntem için deneyimler artmış ve bu çalışma prosedürlerine 2018 yılında güncelleme getirilmiştir (8). Elektrokemoterapi sırasında kullanılan elektrik darbeleri genellikle elektrotlar arasındaki mesafeye ve şekillerine bağlı olarak, 100-1000 Volt genliği olan 100 µs süreli 8 darbeleri bir diziden oluşur. 1-5000 Hz'lik bir darbe tekrarlama frekansı kullanılır. Yüksek frekans, 8 darbenin sadece 1,5 ms' de iletilmesini sağlar (15).

4.1. Elektrokemoterapi'de kullanılan ilaçlar

4.1.1. Bleomisin

Elektrokemoterapi'de en sık kullanılan antitümör ilaç, sitotoksitesi yüksek olan bleomisindir. Normal şartlar altında hücreye girdikten sonra gerekli kofaktörler varlığında (Fe ve O₂ gibi) DNA sarmalının parçalanmasına yol açarak etkisini gösterir (4). Bunun yanında bleomisin lipofobik bir ilaçtır ve hücre zarından geçerken protein reseptörlerini kullanır. Bu reseptörlerin tümör hücreleri tarafından yok edilmesi, bleomisine karşı bir kemoterapi direnci oluşmasına neden olmuştur. Elektrokemoterapiyle birlikte kullanılan ilaç moleküllerinin porlar aracılığıyla hücre içine girişi ve aynı doğrultuda DNA parçalanmaları hızla artar ve kanserli hücreler apoptozise uğrar (25).

4.1.2. Sisplatin

Sisplatin de bleomisin gibi hücre zarından geçmekte zorluk çeken ancak hücre içine girdikten sonra oldukça sitotoksik olan bir ilaçtır. DNA pürin bazlarına çapraz bağlanarak DNA içindeki onarım mekanizmalarını engeller ve hücre ölümüne neden olur. Elektroporasyon, bu ilacın transmembran geçişini 4-8 kat artırır, böylece çapraz

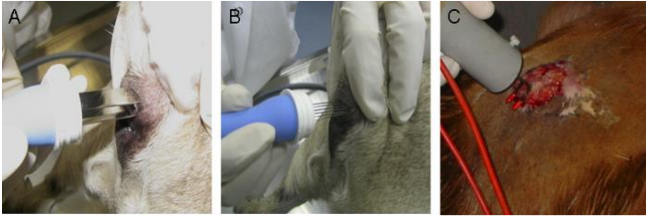
bağlantı sayısı ve apoptozis artmış olur (2,25). Gehl, Skovsgaard ve Mir (7) yaptıkları çalışmada hücrelerin elektroporasyonu ile birlikte bleomisin sitotoksitesinin 1000 kata kadar ve sisplatin sitotoksitesinin de 70 kata kadar arttığını gözlemlemişlerdir.

Tedavi stratejisini belirlemek için tümör boyutları ve sayısı önemlidir. Tümör sayısı ve boyutuna bağlı olarak intratümöral ilaç uygulaması yerine intravenöz uygulama yapılır. Sisplatin sadece intratümöral olarak kullanılabilirken, bleomisin intravenöz olarak da kullanılabilir (8,32). Köpeklerde EKT için sisplatin ya da bleomisin kullanılabilirken, kedilerde sisplatin kontraendike olduğu için sadece bleomisin kullanılır (32).

4.2. Elektrot seçimi

Elektrokemoterapi uygulanırken dikkat edilmesi gereken bir diğer husus elektrot seçimidir. Elektrotların dizilimindeki farklılıklar dokudaki elektrik alan dağılımını etkilediğinden uygun elektrot tipini seçmek oldukça önemlidir. Hayvanlarda üç tip elektrot kullanılır. Bunlar kontakt (L şekilli), plaka ve iğne uçlu elektrotlardır (25,32). Kedi ve köpeklerin elektrokemoterapisi için plaka ve iğne elektrotları kullanılırken, atların tedavisinde kontakt elektrotlar kullanılır (3,25) (Şekil 3). Plaka elektrotlar paralel paslanmaz çelik plakalardan oluşur ve elektrotlar arasındaki mesafeyi kaplayacak büyüklükteki yüzeysel tümörler için uygundur (25,32). İğne elektrotlar derinliği daha fazla olan tümörler için uygun olsa da invaziv olduğu için derisi kalın ve sert olan hayvanlarda kullanımı zordur (25). İğne elektrotlar paralel veya altıgen şekilde dizilmiş olarak bulunur. Tümör boyutu 3 cm'den küçükse plaka veya paralel iğne elektrotlar kullanılabilir. Daha büyük boyutlu tümörlerin tedavisinde ise altıgen iğne elektrotları kullanılır (8,32).

Elektrik darbelerinin uygulanmasını takiben kemoterapötik ilaç uygulaması yapılır. İlaç intratümöral olarak uygulandığında, sızıntıyı önlemek için yavaş uygulanmalıdır. İntravenöz uygulama için ise bolus halinde uygulanabilir. Eğer kemoterapötik ilaç intravenöz olarak veriliyorsa, ilaç dağılımının sağlanması için beklenmeli ve uygulamadan 8 dakika sonra elektrik darbelerine başlanmalıdır. İntratümöral olarak uygulanıyorsa da, elektrik darbeleri enjeksiyondan sonraki 1 dakika içerisinde uygulanmaya başlanmalıdır. Tümör boyutu paralel veya kontakt elektrotlar arasındaki mesafeden daha büyükse, uygulama tümörün kenarlarından başlamalı ve tümörün merkezine doğru ilerlemelidir. İğne elektrotlar kullanılıyorsa, elektrik alanının uygun dağılımını sağlamak için tüm iğnelerin dokuya girmiş olmasına dikkat edilmelidir. ESOPE'ye göre uygulama 40 dakikaya kadar sürebilir (32).



Şekil 3: Farklı elektrot tipleri ile elektrik darbelerinin uygulanması: (A) Plaka, (B) İğne, (C) Kontakt elektrotlar (3).

5. Elektrokemoterapi'nin Veteriner Hekimlikte kullanım alanları

5.1. Yumuşak doku sarkomları

Yumuşak doku sarkomları, genellikle çevre dokulara infiltrat olma özelliğine sahiptir. Cerrahi prosedürler sonrası bölgede infiltrat kenar dokular kalabilir ve böylece tümörün nüksmesine neden olur. Özellikle sınırları belli olmayan vakalar için adjuvan tedavi desteği gereklidir (22).

Spugnini ve ark. (2019) (26) kedi ve köpeklerde yumuşak doku sarkomlarının tedavisi için elektrokemoterapiyi içeren birkaç çalışma yapmış ve bunun cerrahi müdahaleden sonra tedaviye katkı sağladığını göstermişlerdir.

2006 yılında, enjeksiyon yeri sarkoması bulunan 72 kedi üzerinde çalışma yapan Spugnini ve ark. (21) elektrokemoterapinin postoperatif etkinliğini değerlendirmişlerdir. Bu çalışma, operasyon sonrası elektrokemoterapi uygulanan kedilerin, sadece cerrahi operasyonla tedavi edilen kedilerden daha iyi sağaltım sonucu aldığını göstermiştir. Bunun yanında yan etkilerin minimal düzeyde, metastaz oranının ise çok düşük ve ihmal edilebilir düzeyde olduğunu da kanıtlanmışlardır.

Bir diğer çalışmayı 2008 yılında yapan Spugnini ve ark. (22), 11 yaşındaki bir köpekte tekrarlayan yumuşak doku sarkomunun tedavisinde cerrahi operasyon ile elektrokemoterapiyi birlikte kullanmışlardır. Uygulanan tedavinin olumlu yanıt verdiği ve operasyondan sonra düzenli aralıklarla 2 yıl boyunca akciğer radyografisi çekilerek yapılan kontrollerde herhangi bir metastaz bulgusuna rastlanmadığı bildirilmiştir.

2020 yılında yayınlanan Spugnini ve ark.'nın (27) yaptığı başka bir çalışmada ise enjeksiyon bölgesi sarkomu olan ve cerrahi operasyon uygulanan 27 kediye antitümöral ajan olarak kombine intravenöz bleomisin ve lokal sisplatin kombinasyonu kullanılarak EKT uygulandığı bildirilmiştir. Kedilere operasyondan 2 hafta sonra başlayarak 2 hafta arayla iki seans EKT uygulanmış olduğu, sistemik yan etkilerin görülmediği, lokal inflamasyonların da bir anti inflamatuvar ilaç kullanılarak iyileştiği bildirilmiştir. Farklı zamanlarda yapılan kontrollerde 27 kediden 20'sinde nüks görülmemiş olup üçünde nüks, ikisinde lokal nüks ve metastaz, ikisinde de uzak metastaz gözlemlenmiştir.

Spugnini ve ark. çalışmalarını daha önceki çalışmalarla karşılaştırdıklarında, bu çalışmanın sonuçlarında tümörsüz sağkalım ve hastaliksız geçen sürenin daha uzun olduğunu bildirmişlerdir.

5.2. Sarkoidler

Sarkoidler, atlarda en sık karşılaşılan deri tümörleridir. Bu tümörler metastazik değildir fakat atların hem yaşam kalitesini hem de maddi değerini olumsuz etkiler. Sarkoidler bu zamana kadar genellikle klasik cerrahi eksizyon, lazer terapisi, kriyoterapi gibi uygulamalar kullanılarak tedavi edilmeye çalışılmıştır. Fakat bu uygulamalar tam sağaltım sağlamadığı gibi nükslere de yol açmıştır. Tamzali ve ark. (29), ilk olarak 2000 yılında, daha önce cerrahi operasyona alınan fakat sonradan nükseden sarkoidli 3 at üzerinde elektrokemoterapi uygulayarak her at için en fazla 3 seans yaptıklarını ve bir buçuk yıl sonrasında dahi nüks görmediklerini belirtmişlerdir.

Daha sonra 2011 yılında yine Tamzali ve ark. (30) 48 at üzerinde, bazı vakalarda cerrahi operasyonla birlikte bazılarında ise yalnız başına elektrokemoterapi uygulayarak toplamda 194 tane tümörü tedavi etmişler ve tüm hayvanların tedaviyi iyi tolere ettiklerini, 4 yıllık takip sürecinin sonunda da sadece bir tümörde nüks gördüklerini bildirmişlerdir.

5.3. Melanomlar

Melanomla ilgili ilk çalışmayı yapan Spugnini ve ark. (23) 2011'de melanom teşhisi konulan bir ata elektrokemoterapi uygulamışlardır. 2 seanstan sonra, nodüllerde %50 oranında gerileme kaydetmişler ve atın yaşam kalitesinde yükselme fark etmişlerdir. Tedavinin yarım kalması ve sadece 2 seans uygulanmasına rağmen 1 yıl sonra dahi mevcut nodüllerde çok küçük büyümeler olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu çalışma ile atlarda büyük melanomları hafifletmek için elektrokemoterapinin kullanılabilir bir uygulama olduğu belirtilmiştir (23,24).

Yine Spugnini ve arkadaşlarının (28) 2021 yılında yayınladıkları bir çalışmada 9 melanomlu, 4 fibrosarkomlu, 3 skuamöz hücre karsinomlu 16 at üzerinde EKT uygulamışlardır. 16 hastanın 7'sine intraoperatif kombinasyonla birlikte EKT uygulanırken, 9'una tek tedavi yöntemi olarak EKT uygulanmıştır. Tek başına EKT uyguladıkları 9 atın 2'sinden tam yanıt 5'inden de kısmi yanıt elde ederken, cerrahi operasyonla birlikte kombinasyon halinde EKT uyguladıkları 7 atın tamamından tam yanıt almışlardır ve 9 ila 60 ay arasında değişen farklı zamanlardaki kontrollerde tümör oluşumunun tekrarlanmadığı gözlemlenmiştir. Uygulanan prosedürler sırasında, sistemik bir toksisite olmaksızın geçici inflamasyonla sınırlı olmak üzere, minimum rahatsızlık gözlemlenmişlerdir. Büyük perianal melanomlu bir ata ilk EKT seansı sonrası yan etki olarak fistül oluştuğunu fakat

topikal tedaviyle spontan olarak iyileştiğini, tolere edilebilirlik açısından diğer atların tedaviyi iyi karşıladıklarını bildirmişlerdir.

5.4. Skuamöz hücreli karsinomlar

Skuamöz hücreli karsinom kedilerde ve köpeklerde en sık görülen kötü huylu tümörlerden biridir. Genel tedavi prosedürlerinin invaziv olması, maliyet yüksekliği, yan etkileri vb. nedenlerle alternatif tedavi seçenekleri aranmıştır. Tozon ve ark. (31) 2008-2011 yıllarında farklı klinik evrelerde bulunan toplamda 17 skuamöz hücre karsinomu olan 11 kedi üzerinde elektrokemoterapi uygulamış ve 17 nodülden biri hariç hepsinin elektrokemoterapiye cevap verdiğini ve bunlardan 14'ünde 2 aydan 3 yıla kadar devam eden tam yanıt elde edildiğini bildirmişlerdir. Kedilerin elektrokemoterapiyi iyi tolere ettikleri görülmüş ve lokal veya sistemik yan etkiye rastlanmamıştır.

Boncea ve ark. (2019) yaptıkları bir çalışmada yaygın skuamöz hücreli karsinom tanısı konulan 4 yaşlı Dogo Argentino ırkı köpekte elektrokemoterapi uygulaması yapmışlar ve antitümöral ajan olarak kullanılan sisplatin uygulamasından bir ay sonra tümör nodüllerinde tam gerileme kaydettiklerini belirtmişlerdir.

2021 yılında yayınlanan çok merkezli bir çalışmada (19) nazal planumda skuamöz hücre karsinomu bulunan 61 kedi üzerinde tek tedavi olarak EKT uygulanmış olup 61 kедiden 40'ından tam yanıt, 19'undan kısmi yanıt alındığı bildirilmiştir. Antitümöral ajan olarak intravenöz bleomisin kullanılan bu çalışmada tedaviye genel yanıt oranı %96,72'dir. Yapılan çok merkezli çalışmada lokal toksisite, ilk EKT uygulamasından sonra 6 noktalı bir toksisite skoru kullanılarak değerlendirilmiş; burada 0- toksisite yok, 1- hafif şişlik, 2- şişme/nekroz < 1 cm, 3- şiddetli şişlik, 4- derin nekroz ve 5- şiddetli şişlik ve doku kaybı olarak belirlenmiş olup EKT toksisitesinin kedilerin %51'inde > 2, %49'unda < 2 toksisite skoru gözlemlendiği bildirilmiştir.

Kore'de yapılan ve 2021 yılında yayınlanan bir başka çalışmada (33) ikisinde skuamöz hücre karsinomu (SHK) ve birinde liposarkom bulunan 3 köpeğe EKT uygulaması yapılmıştır. Tümör lokasyonları servikal, oral ve abdominal boşluk olan köpeklere antitümöral ajan olarak bleomisin intratümöral şekilde uygulanmış olup her birine uygulanan 2 EKT seansından sonra oral SHK'ü olan köpekten kısmi yanıt servikal SHK'ü olan köpekten tam yanıt alındığı bildirilmiştir. İntraabdominal liposarkomu olan köpeğin ultrasonografi eşliğinde uyguladıkları EKT tedavisi 3.seans sonrası bölgede meydana gelen nekrozun çok şiddetli olması sebebiyle durdurulmuş olup 8 hafta boyunca yapılan kontrollerde durumunun stabil olduğu gözlemlenmiştir. Yazarlar EKT'nin uygulanmasının nispeten kolay olduğunu, sistemik yan etkisinin bulunmadığını ve cerrahi müdahale

edilemeyecek durumda olan tümörlerin tedavisinde avantajlı bir adjuvan tedavi olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

5.5. Mast hücre tümörleri

Mast hücre tümörleri, köpeklerde tüm malign kutanöz tümörlerin %11- 27'sini oluşturmaktadır. Bu tip tümörlerin tedavisinde tercih edilen ilk yöntem cerrahi eksizyondur. Spugnini ve ark.(20), köpeklerde tam rezeke edilememiş mast hücre tümörlerinde adjuvan tedavi olarak elektrokemoterapi yöntemini uygulamıştır. Bu çalışmada bleomisin, EKT ile başarılı bir şekilde kullanılmış ve %85 oranında başarıya ulaşmışlardır.

2009 yılında Kodre ve ark. (11) tarafından yapılan bir çalışmada köpeklerde mast hücre tümörlerinin standart cerrahi tedavisi ile elektrokemoterapi tedavisinin etkinliği karşılaştırılmıştır. Bu çalışma sonunda EKT'nin mast hücre tümörlerinin tedavisinde cerrahi eksizyona hem alternatif tedavi hem de yardımcı tedavi yöntemi olarak kullanılabileceği görülmüştür. Özellikle sadece tek bir seans sonrasında uzun süreli tam yanıt alınabilen küçük nodüller için ve nodülün lokalizasyonu nedeniyle cerrahi prosedür uygulanamayacak durumlarda olan nodüller için alternatif bir tedavi olabileceği kanısına varılmıştır. Ayrıca, EKT ile tedavi edilen tümörler için tümörün nüks etme süresi daha uzun olarak hesaplanmıştır.

Lowe ve ark.'nın (13) yaptığı başka bir çalışmada mast hücre tümörlerinin tedavisinde EKT, cerrahi prosedürlerle kombine halde kullanılmıştır. Çalışmada 51 köpeği kapsayan 4 farklı grup olup bunlardan 15'i yalnızca EKT ile, 11'i intraoperatif EKT ile, 14'ü cerrahi adjuvan postoperatif EKT ile ve 11'i cerrahi uygulamayı takiben nüks sonrası EKT ile tedavi edilmiştir. Tek başına EKT'nin %80, intraoperatif EKT'nin %91 ve postoperatif EKT'nin %93 oranında tam remisyona sağladığı bu çalışma EKT'nin intraoperatif ya da postoperatif kullanılabilirliğini ve başarısını kanıtlamıştır.

6. Sonuç

Elektrokemoterapi gerek tek başına birincil tedavi yöntemi olarak gerekse intraoperatif ve postoperatif yöntemlerle cerrahi müdahalelere destek tedavi amacıyla onkolojik tedavi prosedürlerinde oldukça önemli bir yere sahiptir. Özellikle etkisinin elektriksel darbelere maruz kalan bölgelerle sınırlı olması hastayı olası sistemik yan etkilerden korumakta ve bu özelliğiyle tercih edilebilir bir yöntem olarak kabul görmektedir. Nüks durumlarında tekrarlanabilmesi özelliği EKT uygulamalarının kullanımını arttırmaktadır. Geliştirilmesi ve üzerine çalışılması gereken yeni bir yöntem olarak EKT uygulamalarının veteriner alanda da hem küçük hayvan hem de büyük hayvan pratiğinde yaygınlaşarak kullanılacağı görülmektedir.

Kaynaklar

- Boncea AM, Cristea A, Bourdeau P. Electrochemotherapy as treatment for generalised squamous cell carcinoma in a dog. *Veterinary Record Case Reports* 2019; 7: 787. doi:10.1136/vetreccr-2018-000787.
- Campana LG, Miklavčič D, Bertino G, Marconato R, Valpione S, et al. Electrochemotherapy of superficial tumors—Current status: Basic principles, operating procedures, shared indications, and emerging applications. In *Seminars in Oncology* 2019; 46: 173-191. doi:10.1053/j.seminoncol.2019.04.002.
- Cemazar M, Tamzali Y, Sersa G, Tozon N, Mir LM, et al. Electrochemotherapy in veterinary oncology. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2008; 22: 826-831. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0117.x.
- Chen J, Ghorai M K, Kenney G, Stubbe J. Mechanistic studies on bleomycin-mediated DNA damage: multiple binding modes can result in double-stranded DNA cleavage. *Nucleic Acids Research* 2008; 36: 3781-3790. doi:10.1093/nar/gkn302.
- Frandsen SK, Gehl JA. Review on differences in effects on normal and malignant cells and tissues to electroporation-based therapies: A focus on calcium electroporation. *Technology in Cancer Research and Treatment* 2018; 17. doi:10.1177/1533033818788077.
- Geboers B, Scheffer HJ, Graybill PM, Ruarus AH, Nieuwenhuizen S, et al. High-voltage electrical pulses in oncology: irreversible electroporation, electrochemotherapy, gene electrotransfer, electrofusion, and electroimmunotherapy. *Radiology* 2020; 295: 254-272. doi:10.1148/radiol.2020192190.
- Gehl J, Skovsgaard T, Mir LL. Enhancement of cytotoxicity by electroporation: an improved method for screening drugs. *Anti Cancer Drugs-International Journal on Toxic and Non Toxic Anti Cancer Agents* 1998; 9: 319-326. doi:10.1097/00001813-199804000-00005
- Gehl J, Sersa G, Matthiessen LW, Muir T, Soden D, et al. Updated standard operating procedures for electrochemotherapy of cutaneous tumours and skin metastases. *Acta Oncologica* 2018; 57: 874-882. doi:10.1080/0284186X.2018.1454602
- Hamilton, WA, Sale AJH. Effects of high electric fields on microorganisms: II. Mechanism of action of the lethal effect. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1967; 148: 789-800. doi:10.1016/0304-4165(67)90053-0
- Kanthou C, Kranjc S, Sersa G, Tozer G, Zupanic A, et al. The endothelial cytoskeleton as a target of electroporation-based therapies. *Molecular Cancer Therapeutics* 2006; 5: 3145-3152. doi:10.1158/1535-7163.MCT-06-0410
- Kodre V, Cemazar M, Pecar J, Sersa G, Cör A, et al. Electrochemotherapy compared to surgery for treatment of canine mast cell tumours. In *Vivo* 2009; 23: 55-62. 0258-851X/2009.
- Kotnik T, Miklavčič D. Theoretical evaluation of voltage inducement on internal membranes of biological cells exposed to electric fields. *Biophysical Journal* 2006; 90: 480-491. doi:10.1529/biophysj.105.070771
- Lowe R, Gavazza A, Impellizeri JA, Soden DM, Lubas G. The treatment of canine mast cell tumours with electrochemotherapy with or without surgical excision. *Veterinary and Comparative Oncology* 2017; 15: 775-784. doi:10.1111/vco.12217.
- Miklavčič D, Serša G, Breclj E, Gehl J, Soden D, et al. Electrochemotherapy: technological advancements for efficient electroporation-based treatment of internal tumors. *Medical and Biological Engineering and Computing* 2012; 50: 1213-1225. doi:10.1007/s11517-012-0991-8.
- Mir LM, Gehl J, Sersa G, Collins CG, Garbay JR, 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. *European Journal of Cancer Supplements* 2006; 4: 14-25. doi:10.1016/j.ejcsup.2006.08.003.
- Neumann E, Rosenheck K. Permeability changes induced by electric impulses in vesicular membranes. *The Journal of Membrane Biology* 1972; 10: 279-290. doi:10.1007/BF01867861.
- Probst U, Fuhrmann I, Beyer L, Wiggemann P. Electrochemotherapy as a new modality in interventional oncology: a review. *Technology in Cancer Research and Treatment* 2018; 17: 1-12. doi:10.1177/1533033818785329.
- Rangel MM, Luz J, Oliveira KD, Ojeda J, Freytag JO, et al. Electrochemotherapy in the treatment of neoplasms in dogs and cats. *Austral Journal of Veterinary Sciences* 2019; 51: 45-51. doi:10.4067/S0719-81322019000200045.
- Simcic P, Pierini A, Lubas G, Lowe R, Granziera V, et al. A Retrospective Multicentric Study of Electrochemotherapy in the Treatment of Feline Nasal Planum Squamous Cell Carcinoma. *Veterinary Sciences* 2021; 8: 53. doi:10.3390/vetsci8030053.
- Spugnini EP, Vincenzi B, Baldi F, Citro G, Baldi A. Adjuvant electrochemotherapy for the treatment of incompletely resected canine mast cell tumors. *Anticancer Research* 2006; 26: 4585-4589.
- Spugnini EP, Baldi A, Vincenzi B, Bongiorno F, Bellelli C, et al. Intraoperative versus postoperative electrochemotherapy in high grade soft tissue sarcomas: a preliminary study in a spontaneous feline model. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 2007; 59: 375-381. doi:10.1007/s00280-006-0281-y.
- Spugnini EP, Vincenzi B, Betti G, Cordahi F, Dotsinsky I, et al. Surgery and electrochemotherapy of a high-grade soft tissue sarcoma in a dog. *The Veterinary Record* 2008; 162: 186. doi:10.1136/vr.162.6.186.
- Spugnini EP, D'Alterio GL, Dotsinsky I, Mudrov T, Dragonetti E, et al. Electrochemotherapy for the treatment of multiple melanomas in a horse. *Journal of Equine Veterinary Science* 2011; 31: 430-433. doi:10.1016/j.jevs.2011.01.009.
- Spugnini EP, Baldi A. Electrochemotherapy in veterinary oncology: from rescue to first line therapy. Li S, Cutrera J, Heller R, Teissie J. Eds. In: *Electroporation Protocols: Preclinical and Clinical Gene Medicine*. Humana Press, New York, NY 2014; pp.247-256.
- Spugnini EP, Baldi A. Electrochemotherapy in veterinary oncology: state of the art and perspectives. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2019; 49: 967-979. doi:10.1016/j.cvsm.2019.04.006.
- Spugnini EP, Vincenzi B, Amadio B, Baldi A. Adjuvant electrochemotherapy with bleomycin and cisplatin combination for canine soft tissue sarcomas: A study of 30 cases. *Open Veterinary Journal* 2019; 9: 88-93. doi:10.4314/ovj.v9i1.15.
- Spugnini EP, Vincenzi B, Carocci F, Bonichi C, Menicagli F et al. Combination of bleomycin and cisplatin as adjuvant electrochemotherapy protocol for the treatment of incompletely excised feline injection site sarcomas: A retrospective study. *Open Veterinary Journal* 2020; 10: 267-271. doi:10.4314/ovj.v10i3.4.
- Spugnini EP, Scacco L, Bolaffio C, Baldi A. Electrochemotherapy for the treatment of cutaneous solid tumors in equids: A retrospective study. *Open Veterinary Journal* 2021; 11: 385-389. doi:10.5455/OVJ.2021.v11.i3.8.

29. Tamzali Y, Teissie J, Rols MP. Cutaneous tumor treatment by electrochemotherapy: preliminary clinical results in horse sarcoids. *Revue de Medecine Veterinaire* 2001; 152: 605-610.
30. Tamzali Y, Borde L, Rols MP, Golzio M, Lyazrhi F et al. Successful treatment of equine sarcoids with cisplatin electrochemotherapy: a retrospective study of 48 cases. *Equine Veterinary Journal* 2012; 44: 214-220. doi:10.1111/j.2042-3306.2011.00425.x.
31. Tozon N, Pavlin D, Sersa G, Dolinsek T, Cemazar M. Electrochemotherapy with intravenous bleomycin injection: an observational study in superficial squamous cell carcinoma in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2014; 16: 291-299. doi:10.1177/1098612X13507071.
32. Tozon N, Tratar UL, Znidar K, Sersa G, Teissie J, et al. Operating procedures of the electrochemotherapy for treatment of tumor in dogs and cats. *Journal of Visualized Experiments* 2016; 116. doi:10.3791/54760.
33. Yeom SC, Song KH, Seo KW. The application of electrochemotherapy in three dogs with inoperable cancers. *Korean Journal of Veterinary Research* 2021; 61: 1-9. doi:10.14405/kjvr.2021.61.e9.
34. Zielichowska A, Daczewska M, Saczko J, Michel O, Kulbacka J. Applications of calcium electroporation to effective apoptosis induction in fibrosarcoma cells and stimulation of normal muscle cells. *Bioelectrochemistry* 2016; 109: 70-78. doi:10.1016/j.bioelechem.2016.01.005.