

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

HÜCRE MANİPÜLASYONU İÇİN DARBELİ ELEKTRİK
ALAN JENERATÖRÜ TASARIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖVÜL ESKİ

DENİZLİ, KASIM- 2022

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**



**HÜCRE MANİPÜLASYONU İÇİN DARBELİ ELEKTRİK
ALAN JENERATÖRÜ TASARIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖVÜL ESKİ

DENİZLİ, KASIM-2022

**Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi tarafından
2022FEBE004 no'lu proje ile desteklenmiştir.**

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

Övül ESKİ

ÖZET

HÜCRE MANİPULASYONU İÇİN DARBELİ ELEKTRİK ALAN JENERATÖRÜ

TASARIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖVÜL ESKİ

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. SEVİLAY ÇETİN)

DENİZLİ, KASIM- 2022

İnsanlık geçtiğimiz yüzyılın başlarından beri günlük hayatın hemen her alanına yerleşen elektrik ve ilgili teknolojileri modern çağla ilişkilendirme eğiliminde olsa da tarih ve arkeoloji çalışmaları, tıbbi elektriğin kullanımının tarih kadar eski coğrafya kadar geniş olduğunu göstermektedir. Bu çalışma kapsamında genel olarak elektromanyetik alanlar, biyoelektromanyetik ve canlı bilimi, özellikle de hücrenin plazma membran gerilimi ve bunda etkisi olan mekanizmalara kısaca değinen bir giriş sonrasında canlı biliminde elektrik alan uygulamaları, daha derin bir şekilde elektroporasyon, elektropermeabilizasyon gibi fenomenler ve ilgili açıklamalara yer verilmiştir. Daha sonra bu uygulamalar için gereken darbeli elektrik alan üretimi, temel darbeli elektrik alan üretici şemaları kısaca gözden geçirilerek yarım köprü alt modüllü multilevel modular konvertör yapısında bir topoloji ile yüksek frekanslı bipolar ve unipolar konfigürasyon ve olasılıkları bilgisayar benzetim çalışmaları ile değerlendirilmiştir. Canlı bilimleri için çok çeşitli alanlarda kullanım bulan darbeli elektrik alan uygulamaları multidisipliner çalışmalar gerektiren, gelecek umut verici sonuçlar vaat eden bir yapıdadır.

ANAHTAR KELİMELEER: PEF (Darbeli elektrik Alan), Elektroporasyon, Elektropermeabilizasyon, PG (Puls jeneratörü), MMC (Modüler Multilevel Konvertör)

ABSTRACT

DESIGN OF A PULSED ELECTRIC FIELD GENERATOR FOR CELL MANIPULATION

MSC THESIS

ÖVÜL ESKİ

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BIOMEDICAL ENGINEERING

(SUPERVISOR: ASSOC.PROF.DR. SEVILAY CETIN)

DENİZLİ, NOVEMBER 2022

Even though humankind tends to consider that electricity and the related technologies, which are settled in almost every aspect of daily life, are somewhat related to modern life, historical and archeological studies show that the use of medical electricity is as old as history and as wide as geography. In this study, after a general introduction to electromagnetic fields, bioelectromagnetics, and life sciences and particularly on the issue of cell plasma membrane voltage and the mechanisms affecting this potential, the application of electric fields on life sciences and explicitly the phenomena such as electroporation and electropermeabilization are mentioned with related explanations. Later, the pulsed electric field generation which is necessary for those applications, basic pulsed electric field generator topologies are reviewed first to make a later assessment using computer simulations on modular multilevel converters with half bridge submodules to work on high frequency unipolar and bipolar topologies and possible uses with their wide variety of applications in life sciences. The pulsed electric field applications, which require multidisciplinary studies, offer promising results for the future.

KEYWORDS: PEF (Pulsed Electric Fields), Electroporation, Electropermeabilization, PG (Pulse Generator), MMC (Modular Multilevel Converters)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	1
ABSTRACT	2
İÇİNDEKİLER.....	3
ŞEKİL LİSTESİ.....	4
TABLO LİSTESİ.....	5
SEMBOL LİSTESİ.....	6
ÖNSÖZ.....	9
1. GİRİŞ.....	10
1.1 Tezin Amacı	10
1.2 Literatür.....	10
1.2.1 Hücre ve biyoelektromanyetik	10
1.2.1.1 Elektromanyetik alan ve temel terminoloji	11
1.2.1.2 Biyoelektromanyetik ve ilintili kavramlar	15
1.2.2 Canlı bilimleri ve elektromanyetik alan	19
1.2.3 Darbeli (Pulsed) elektrik alan üretimi	33
2. HÜCRE VE DOKULARDA DARBELİ ELEKTRİK ALAN (PEF)	
KULLANIMI	39
2.1 Elektrik Alan Hücre Etkileşimi	39
2.2 Canlı Bilimlerinde PEF Kullanım Alanları.....	46
2.2.1 Gıda Endüstrisi.....	47
2.2.2 Çevre Teknolojileri.....	47
2.2.3 Biyoteknoloji.....	47
2.2.4 Klinik uygulamalar.....	47
3. ÇOK SEVİYELİ MODÜLER KONVERTÖRLERE (MMC) VE TÜRLERİ	
.....	49
3.1 MMC Tipi Konvertörlere Genel Bakış.....	49
3.2 MMC Altmodül Türleri	49
3.2.1 Yarım köprü	50
3.2.2 Tam Köprü.....	50
3.3 Dört Yarım Köprü Kullanılarak Oluşturulmuş Modüler Çok Seviyeli Topolojiye Genel Bakış.....	51
3.3.1 Yarım köprü alt modüller ile oluşturulan altmodüllerin çalışması ve analizi	53
3.3.2 Tasarım kriterleri ve ilgili değerlendirmeler.....	55
4. SİMULASYON SONUÇLARI.....	57
4.1 Salt direnç yükü kullanılarak elde edilen sonuçlar.....	57
4.2 Biyolojik yük modeli kullanılarak elde edilen sonuçlar	60
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
6. KAYNAKLAR	65
7. ÖZGEÇMİŞ.....	79

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Elektromanyetik spektrum ve boyutlar.	14
Şekil 1.2: Hücre zarı ve ilintili yapıların şematik bir gösterimi	16
Şekil 1.3: Sinir hücresi zarı iç ve dış ortamı arası oluşan TMV, başlıca iyonlar ile ilgili RC devre modeli ve ilgili matematiksel eşitlik.	17
Şekil 1.4: Manyetik alan ve çeşitli tıbbi kullanım modaliteleri	20
Şekil 1.5: a) Elektrikli hava banyosu b) Bergonik koltuk (EKT).	21
Şekil 1.6: a)Elektroporator, b)uygulama arayüzü, c)elektrotlar, d)kalp ritmi.	29
Şekil 1.7: a) Elektrik alan maruziyet parametreleri ve etkileri b) RE, EKT, IRE... ..	32
Şekil 1.8: a) Marx ve b) PFN tipi Darbe Jeneratörü	34
Şekil 2.1: Elektrik alan etkisiyle membranda por oluşumu modeli.....	39
Şekil 2.2: Elektroporasyon kaynaklı hücre ölümü mekanizmaları.....	40
Şekil 2.3: Dış elektrik alana maruz bırakılmış küresel membran.....	45
Şekil 3.1: Yarım köprü ve çıkış gerilimi.....	50
Şekil 3.2: Tam köprü ve çıkış gerilimi.....	50
Şekil 3.3: Bu çalışmada değerlendirilen alt modüllerle oluşturulan iki farklı üreteç	51
Şekil 3.4: Şarj ve deşarj devreler	54
Şekil 4.1: Unipolar konfigürasyon için benzetim, çıkış gerilimi ve alt modül gerilimleri, 50MHz.	58
Şekil 4.2: Bipolar konfigürasyon için benzetim, çıkış gerilimi ve alt modül gerilimleri ve akımları 50MHz.	58
Şekil 4.3: Bipolar çoklu pulse için benzetim, çıkış gerilimi ve alt modül gerilimleri ve akımları 50MHz.	59
Şekil 4.4: Bipolar üçgen benzeri pulse için benzetim topoloji ve anahtarlama, çıkış gerilimi 50MHz.	60
Şekil 4.5: Uyarlanmış biyolojik model ve devre konfigürasyonu	61
Şekil 4.6: Biyolojik model ve resistif yük ile çıkış gerilimi formları.....	62

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Maxwell denklemleri ve anlamlarına dair tablo	13
Tablo 1.2: Darbe üretici çeşitlerinden bazıları.....	36
Tablo 2.1: Elektropermeabilizasyon aşamaları.....	46
Tablo 3.1: Çoklu/Multipulse darbe anahtarlama	52
Tablo 3.2: Unipolar darbe anhtarlama	53
Tablo 3.3: Benzetim çalışmalarında kullanılan parametreler.....	57

SEMBOL LİSTESİ

PEF	:	Darbeli Elektrik Alan (pulsed electric field)
F	:	Kuvvet
k	:	Coulomb sabiti
Q, q	:	Elektriksel yük
r	:	Yarıçap, uzaklık
E	:	Elektrik alan
v	:	Hız
B	:	Manyetik alan, manyetik akı yoğunluğu
θ	:	Açı
J	:	Akım yoğunluğu
l	:	Uzunluk
C	:	Eğri
s	:	Alan
D	:	Elektrik akı yoğunluğu, displacement (yer değiştirme)
Φ	:	Manyetik akı
ϵ	:	Permitivite
ρ_v	:	Hacim yük
T	:	Periyod
f	:	frekans
Hz	:	Hertz, frekans birimi
λ	:	Dalga boyu
h	:	Planck sabiti
c	:	Işık hızı
m	:	Metre, uzunluk birimi
J	:	Joule, enerji birimi
s	:	Saniye, zaman birimi
Hz	:	Hertz, frekans birimi
nm	:	Nanometre, uzunluk birimi
γ	:	Gamma
THz	:	Terahertz, frekans birimi
GHz	:	Gigahertz, frekans birimi
MHz	:	Megahertz, frekans birimi
I	:	Akım
R	:	Gaz sabiti
z	:	İyonun valans değeri
T	:	Sıcaklık
P	:	Yoğunluk
g_x	:	Transkondüktans
ln	:	Megahertz, frekans birimi
V	:	Volt, Voltaj
m-	:	Mili-
TMV	:	Transmembran Voltajı(gerilimi/potansiyeli)
FDA	:	The United States Food and Drug Administration
MEG	:	Manyetoensefalografi
MRI	:	Magnetorezonans görüntüleme
PEMF	:	Darbeli elektromanyetik alan
kHz	:	Kilohertz, frekans birimi

T	:	Tesla
TMS	:	Transmanyetik stimölasyon
EEG	:	Elektroensefalografi
IRE	:	Geri dönuşümsüz (irreversible) elektroporasyon
A	:	Amper, akım birimi
μ-	:	Mikro-
TEP	:	Transepitelyal potansiyel
DNA	:	Deoksiribonökleik asit
ECT	:	Elektrokemoterapi
EGT	:	Elektrogenterapi
GET	:	Gen elektrottransferi
NTIRE	:	Termal olmayan doku ablasyonu
WBG	:	Geniş bant aralıklı (wide band gap)
DBS	:	Derin beyin uyartımı, beyin pili
tDCs	:	Transkranyal doğru akım uyartımı
PFGE	:	Atımlı (Darbeli) Alan Jel Elektrofözezi
RMP	:	Dinlenim zar gerilimi
RE	:	Geri dönuşümlü elektroporasyon
cm	:	Santimetre, uzunluk birimi
H-FIRE	:	Yüksek frekanslı geri dönuşümsüz elektroporasyon tekniğı
TTFields	:	Tümör tedavici alanlar
TMZ	:	Temozolomide
AEFs	:	Çok hızlı değışen elektrik alan
GBA	:	Glioblastoma
GBM	:	Glioblastoma multiforme
MD	:	Moleküler dinamik
C	:	Kondansatör, kapasitör, kapasite
U	:	Enerji
L	:	Bobin, indüktör
PG	:	Puls jeneratörü
PFN	:	Darbe oluşturan ağlar
V_s	:	Kaynak gerilimi
r_c	:	Şarj direnci
SSM	:	Solid State Marx puls jeneratörü
SMPS	:	Switch Mode Power Supply (Anahtarlama Güç Kaynağı)
CDVM	:	Kapasitör Diyot Voltaj Çarpan (Multiplier)
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
MMC	:	Modüler çoklu seviyeli (multilevel) konvertörleri
ITMV	:	Membran üzerinde indüklenen gerilim
$\Delta\Psi_m$	:	Membran geriliminde değışim
σ	:	Kondüktans, iletkenlik
τ_m	:	Membranın zaman sabiti
C°	:	Santigrat derece, sıcaklık birimi
DC	:	Doğru akım
C_{SM}	:	Altmodül kapasitörü
V_{CSM}	:	Altmodül kapasitörü gerilimi
T	:	Altmodül anahtar
$\bar{T}$	:	Altmodül komplementer anahtar
D/B	:	directing/blocking
N	:	Sayı, adet

C_{eq}	:	Eşlenik kapasitör
$V_{o,out}$	:	Çıkış gerilimi
X_c	:	Kapasitör reaktansı
π	:	Pi sayısı
Ω	:	Ohm, direnç birimi
SM	:	Altmodül, submodule
U	:	Enerji
MosFET	:	Metal oksit yarı iletken alan etkili transistör

ÖNSÖZ

Bu tez, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı, Biyomedikal Mühendisliği Yüksek Lisans Programı'nda yapılan bir çalışmadır.

Başta yüksek lisans tezi danışmanlığımı üstlenerek bana bu muhteşem konuda çalışma olanağı ve gelişimime olan desteklerini sunan tez danışmanım Doç. Dr. Sevilay Çetin'e, Güç Elektroniğı Araştırma Laboratuvarındaki arkadaşlarıma ve elbette Teknoloji Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümüne teşekkürlerimi sunarım.

Varlıkları ile yalnızca bu süreçte değil her zaman yaşamıma değer katan başta aileme, dostlarıma, özellikle de sevgili annem ve gücü hep güzel kalsın dilediğim biricik Alaz Kara Eski 'ye sonsuz sevgilerim ve şükranlarımla.

1. GİRİŞ

Bu bölümde tezin amacı ve teorik altyapısını oluşturan biyoelektrik/biyoelektromanyetik kavramları, canlı bilimlerinde elektromanyetik alan kullanımı ile darbeli elektrik alan (PEF) üreteçleri üzerine literatür araştırması bulunmaktadır.

1.1 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında hücre manipülasyonunda ve deneylerde yararlanılmak üzere farklı karakteristiklerde darbeler (pulse) üretmek için kullanılabilecek, yüksek frekanslı çalışabilen, dört yarım köprü alt-modüllü, çok seviyeli modüler konvertörler (MMC) kullanılarak elektrik puls (darbe/atım) üretici tasarımı üzerine çalışılmış; resistif ve biyolojik yük modelleri kullanılarak benzetim çalışmaları yapılarak elektrik alanın canlı bilimlerinde uygulanmasında kullanılabilecek darbe jeneratörleri konusuna katkıda bulunulması hedeflenmiştir.

1.2 Literatür

Bu bölümde, özellikle canlı bilimlerinin temellerini oluşturan hücre ve dokularda elektromanyetik alan ve bu birimlerle dış elektromanyetik alan etkileşimi ve darbeli elektrik alan üreteçleri (PEF jeneratörleri) hakkındaki literatür araştırması, hücre ve biyoelektromanyetik, canlı bilimlerinde elektromanyetik alan, darbeli (pulsed) elektrik alan üretimi alt-başlıkları altında aktarılmaktadır.

1.2.1 Hücre ve biyoelektromanyetik

Bu alt bölümde öncelikle elektromanyetik alanlar ve ilgili temel kavramlara genel bir bakış sunulacak ve sonrasında sırasıyla biyoelektromanyetik, canlı bilimleri ve elektromanyetik alan, darbeli (atımlı) elektrik alan başlıkları altında ilgili temel kavramlar tarihsel gelişim gibi konularda yapılan teorik literatür sunumu ile tezin üzerine oturduğu bir zemin oluşturulacaktır.

1.2.1.1 Elektromanyetik alan ve temel terminoloji

Benjamin Franklin'in pozitif ve negatif yükleri tanımlamasıyla başlatılan günümüz elektrik anlayışı, fiziğin doğa felsefesi olarak tanımlandığı dönemden çok önce, adını Antik Yunan'da kehribar için kullanılan sözcükten alan elektron henüz tanımlanmamışken başlar, Volta ve Coulomb gibi isimlerle gelişir (Lewin ve Goldstein 2012). Ludwig ve Bogdanov (2000), Steinmetz, Edison, Siemens, Tesla gibi isimlerin öncü çalışmalarını enerji üretimi ve dağıtımı konusunda anar, ama elbette tarih öncesinden başlayan bu yolculuk Hertz, Maxwell gibi temel ilişkileri gösterenlerin yanısıra farklı alanlardan katkılarla geliştikçe özelleşir. Örneğin, günümüzde tamamen kendine özgü bir altyapısı olan haberleşme alanında Bell ve Morse gibi iyi bilinen isimler yanında Hedy Lamarr ve George Antheil gibi tamamen farklı sektörlerden eklenen büyüklü küçüklü birçok katkıyla geline nokta, devasa ekipmanları olan enerji iletim sistemleri ile elimizdeki minicik iletişim aletlerinin tek ortak noktasının şarj aletinin küçük ucu olduğu yanılıısına düşmek oldukça olasıdır. Bu özelleşmiş alanlar birbirinden zaman zaman uzaklaşsa zaman zaman iç içe geçse de aynı temeller üzerine oturmaktadır ve bu temel kavramlar her geçen yılla daha da gelişerek yaşamımızın neredeyse tüm alanlarında önemini korumaktadır. Bu çalışmanın kendisi de günümüz elektrik kavrayışının temellerinin atıldığı dönemde çok daha yakın değeriendirilen canlı bilimleri ve elektromanyetik alan kavramlarının yollarının kesiştiği alana değinmektedir.

Çalışmanın ana konusu elektrik alan kullanımı olsa da elektromanyetiğin temelini oluşturan Maxwell denklemleri ile elektrik ve manyetik alan etkileşimini burada yeniden hatırlamak kaçınılmaz görünmektedir. Ancak öncesinde, insanın bilgiye erişmeyi yeni öğrenmiş çocuk merakıyla doğaya dair fenomenleri yeniden tanıyıp anlamlandırdığı 18. yüzyıl ve sonrasındaki döneme kısaca bir dönüp terminoloji ve altyapıyı oturtmak sanırız iyi bir başlangıç noktası oluşturacaktır. Newton 17. yüzyıl sonlarında basılan *Philosophiæ Naturalis Principia Mathematica*'sı ve optik deneyleriyle bu dönemin en göz önünde müjdeleyicilerinden olsa da söz konusu elektrik ve manyetik alanlar olduğunda biraz daha beklemek gerekecektir. Elbette, bu noktada, Newton ve günümüzde sıklıkla kullandığımız matematiksel modellemelerin temelini oluşturan kalkülüsün ortaya çıkışından söz ederken Leibniz'e ve kalkülüste notasyonun önemine değinmeden geçemeyiz. Deleuze'un

Kıvrım:Leibniz ve Barok kitabın girişinde sözünü ettiği “ Gereken, hem doğayı sayıp döken” diye başlayan cümlelerin yüklemine oluşturan “gizli yazı tekniği” kavramı, Deleuze (2006), kalkülüsün sonrasında görülen bilimsel ve teknik gelişmelere katkısıyla birebir örtüşür demek abartı sayılmaz. Deleuze (2021), bilimsel ve teknolojik gelişmelerin tarihinde sıklıkla görüldüğü üzere Newton ve Leibniz arasındaki tartışmaların kıta Avrupası ve İngiltere’deki gelişmelere etkisini, “gizli dil”in alfabesi sayılabilecek notasyonun farkıyla aktarır. Türev alırken bağımsız değişkeni göz önüne seren sembolik kullanım daha sonra elektromanyetik alanla uğraşan birçok modelin, dönüşümün ve formülasyonun da içeriğini oluşturacaktır (Wikipedia, 2022^b).

1789 yılı, yalnızca Fransız Devrimi’ni işaret etmez. Coulomb’un, Newtoncu bir temelle yürüttüğü çalışmaları sonucunda elektrik yükleri arasındaki etkileşimi aralarındaki mesafenin karesiyle ters orantılı olarak ilişkilendirdiği matematiksel ifadeye de ulaştığı zamandır, elbette bu yakınlardaki Amerikan devrimi liderlerinden Franklin’in adını koyduğu pozitif ve negatif yüklerin ilişkisini açıklayan, pekala da devrimci bir gelişme sayılmalıdır. r uzaklığındaki, iki elektriksel yükün (q, Q) birbirine uyguladığı kuvveti veren aşağıdaki formülde, $k, k=9 \times 10^9 \text{ Nm}^2\text{C}^{-2}$ değerli, Coulomb sabitidir (elektrostatik sabit) (March 2003):

$$F = k \frac{qQ}{r^2} \quad (1.1)$$

Daha sonra Ørsted, üzerinden akım geçen bir iletkeni yönlenen pusula iğnesini; Faraday, alan ve kuvvet hatlarını (lines of force) çalışarak ilgili kavramlarla bugünün elektrik alanının matematiksel ifadesine ulaştığında artık elimizde iki formül bulunmaktadır (March 2003):

$$E = k \frac{Q}{r^2} \quad (1.2)$$

$$F = qE \quad (1.3)$$

19.yüzyıl başlarında Volta ve Galvani’nin çalışmaları da devam etmektedir ancak bu noktada Faraday’ın elektrik ve manyetik alan arasındaki ilişkiyi açıkladığı ifadeye dönmek daha doğru olacaktır. Hareket eden/değişen elektrik alan manyetik

alan, hareket eden/değişen manyetik alan ise elektrik alan oluşturmaktadır ve manyetik alan hareket halindeki yüklere kuvvet uygulamaktadır (March 2003):

$$F = qvB\sin\theta \quad (1.4)$$

1873 yılına gelindiğinde ise, elektromanyetik alanla bir şekilde yolu kesişmiş herkesin bugün formüllerine değilse bile yorumlanmasına aşına olduğu denklemler uzun yolculuklarındaki ilk adımlarını atarlar: Maxwell'in ünlü "Treatise on Electricity and Magnetism"i basılır. Işık ve elektromanyetik alan ilişkisine ve dolayısıyla dalgalar ve frekans konusuna girmeden önce, burada, frekans birimine verdiği adı ile dinlediğimiz radyodan, kullandığımız telefona, notalardan radarlara yaşamımızın her noktasının bir parçası olmuş Heinrich Hertz ve çalışmalarının da bu yıllarda sürmekte olduğunu hatırlatmak yerinde olacaktır.

Tablo 1.1: Maxwell Denklemleri ve anlamlarına dair tablo (Cheng 1993) 'deki Tablo 6-1'den

Diferansiyel Formda	İntegral Formunda	Anlamı
$\nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t}$	$\oint_C \mathbf{E} \cdot d\mathbf{l} = \int_S \frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} \cdot d\mathbf{s} = -\frac{d\Phi}{dt}$	Faraday Kanunu Manyetik alanda zamana göre değişim elektrik alan oluşturur
$\nabla \times \mathbf{H} = \mathbf{J} + \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t}$	$\oint_C \mathbf{H} \cdot d\mathbf{l} = I + \int_S \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} \cdot d\mathbf{s}$	Amper Kanunu Elektrik alanda zamana göre değişim manyetik alan oluşturur
$\nabla \cdot \mathbf{D} = \rho_v$ $\nabla \cdot \mathbf{E} = \rho/\epsilon$	$\oint_S \mathbf{D} \cdot d\mathbf{s} = Q$	Gauss Kanunu Elektrik alanı oluşturan yükler vardır, bir hacimden çıkan elektrik alan içerdeki yüklerle orantılıdır
$\nabla \cdot \mathbf{B} = 0$	$\oint_S \mathbf{B} \cdot d\mathbf{s} = 0$	Manyetik monopoller, izole manyetik yük, yoktur, kapalı bir alanda toplam manyetik akı sıfırdır

Bu noktada elektromanyetik alana odaklanmadan önce, periyodik dalgalar ile temel dalga frekans ilişkisinden söz etmek gerekecektir. Ancak her ne kadar optik uygulamalar da elektrik alanın canlı bilimlerinde kullanılmasına benzer bazı çalışmalar dahilinde tek başına ya da ortaklaşa kullanılmakta olsa da bu çalışmanın kapsamında değildir. Burada yalnızca temel dalga karakteristikleri arasındaki ilişkiler

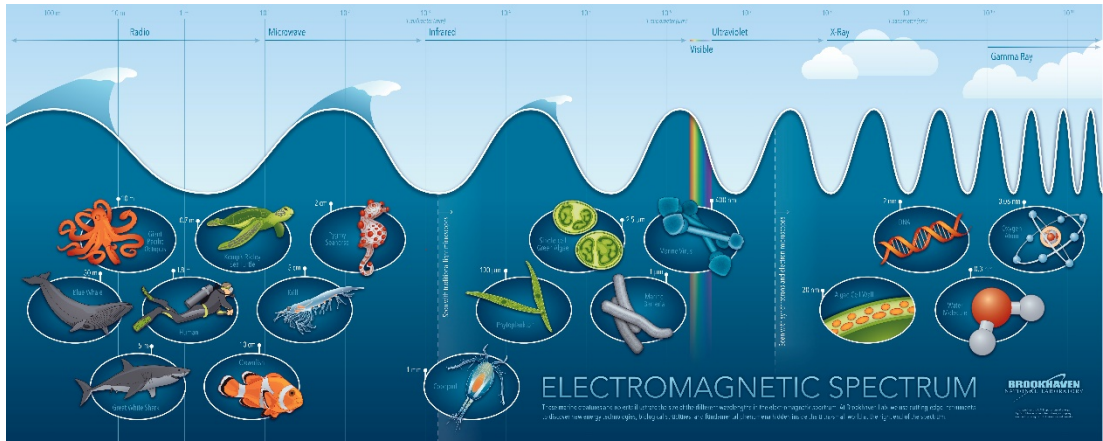
ve canlı bilimleri ile ilgili dalga boylarının karşılaştırılmasına değinilecektir. Temel olarak periyodik bir dalga, birimi saniye olan periyod (T), birimi saniye ⁻¹ (Hz) olan frekans (f), ve birimi metre olan dalga boyu (λ) bileşenleri ile tanımlanır. Işık hızı c (m/s) ile dalga boyu λ (m) ile gösterilmiştir, temel ilişki şu şekilde gösterilir (Wilmink ve Grundt 2012):

$$f = c/\lambda \quad (1.5)$$

Elbette dalga bileşenlerinin temel bileşenlerinden söz etmişken dalganın penetrasyon yeteneği ve enerjisi gibi birçok önemli özelliğinin bir saniyede bir noktadan geçen dalga sayısını gösteren frekansına bağlı olduğunu hatırlatmak ve enerji frekans ilişkisini gösteren ünlü Planck formülünü yeniden görmek de gerekir, (Wilmink ve Grundt 2012):

$$E = hv = hc/\lambda \quad (1.6)$$

Burada formülün kuantum mekaniğinde bilinen halini kullanmak adına frekans bilindik f sembolü yerine v sembolü ile temsil edilmiştir. Planck sabiti h=6.62607015×10⁻³⁴ J.s değerindedir.



Şekil 1.1: Elektromanyetik spektrum ve boyutlar (Eure 2015)

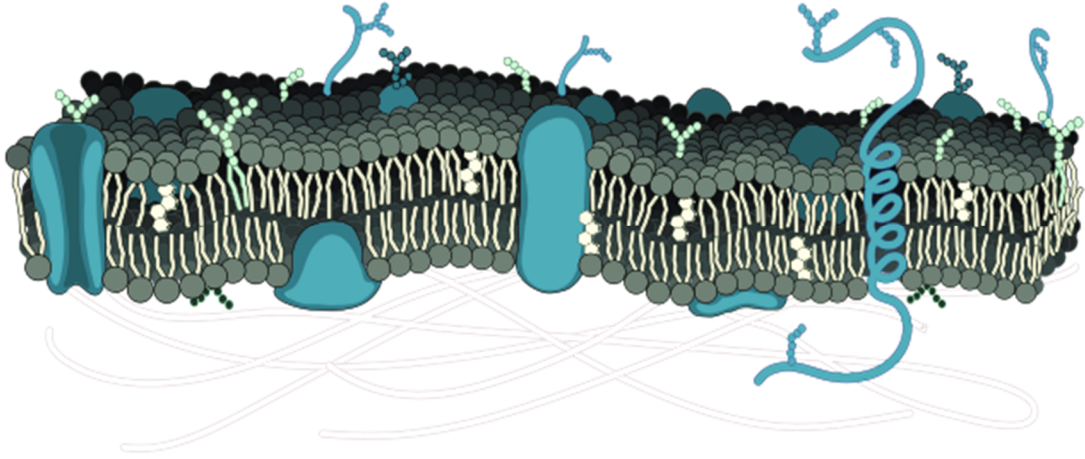
Şekil 1.1’de de görüldüğü üzere elektromanyetik spektrumun içerdiği dalga boyları canlı biliminin kapsamında incelenen en küçük atomik düzeylerden en büyük canlıların beden büyüklükleri ile karşılaştırılabilir kadar geniş bir aralığa sahiptir. Burada her ne kadar elektromanyetik spektrumun detaylarına değinilmeyecekse de üstteki şekilde renk tayfıyla gösterilmiş dar alanın, yani görünür ışık dediğimiz aralığın

(720nm -380nm dalga boyu aralığına denk gelen kırmızı-mor aralığındaki gökkuşağı tayfı), genel skala içinde ne kadar küçük bir yer kapladığı, iyonize etkileri olan X ışınları γ dalgaları gibi iyonize radyasyona dair yüksek enerjili dalgaların şeklin sağ tarafında daha moleküler ve atomik düzeyde dalga boyları varken, kızıl ötesi ve burada daha sonra da sözü edilecek olan terahertz (THz), gigahertz (GHz), megahertz (MHz) ve daha düşük seviyeli frekansların ise frekans azaldıkça artan dalga boyu ile şeklin sol tarafındaki karşılaştırmaların kapsamına girmekte olduğunun altı çizilmelidir. Benzer bir frekans, dalga boyu ve element karşılaştırmasını elektrik devreleri derslerinin girişinde bahsi geçen ve elektrik devreleri gibi uzamsal (spatial) olarak ayrı fiziksel sistemlerin lumped (yığın / toplu) modellenmesinde dalga boyunun etkisi konusundan da hatırlamak, elektromanyetik alanla çalışırken frekansla değişen modelleme gerekliliklerini hatırlatması açısından önemlidir.

1.2.1.2 Biyoelektromanyetik ve ilintili kavramlar

Hücre canlı bilimlerin temel birimi olsa da organeller, çekirdek ve hücre iskeleti gibi içindeki yapılarla çevresinin etkileşimi ve dengesi canlılık kavramının merkezini oluşturmaktadır denilebilir. Deleuze (2006)'da Leibniz'in "Système Nouveau de la Nature" kitabından yaptığı alıntı da insanın yaptığı makinaların makine olmayan temel parçalardan oluştuğundan ama "organizmanın sonsuzca makinesel"liğinden söz edilir ve elbette üzerine yoğun ve verimli felsefi tartışmalar gerçekleştirilebilir. Gerçekten de hücrenin mikrotübüllerine kadar her bir birimi eksojen (dış) ve endojen (iç) uyaranlara göre sürekli değişen mekanik, kimyasal, elektriksel çeşitli etkileşimler göstermektedir ve bunlar günümüzde proteomiks gibi moleküler düzeyde küçük çalışmalara ve hatta ötesinde halen tartışılan R.Penrose'un "Orch OR" bilinç teorisi gibi kuantum düzeyi açıklama çalışmalarına konu olmaktadır (Hameroff ve Penrose 2014), (Hameroff 2021), (Coşan ve Algın 2021). Bu etkileşimde hücrenin sınırlarını oluşturan yaklaşık 100 Å genişliğinde temel olarak sırt sırta dizilmiş iki sıra yağ molekülünden oluşmuş hücre zarının rolü önemlidir (Gulrajani 1998). Yapısı nedeniyle plazma membran olarak da adlandırılan bu yarı akışkan yapının üzerinde, altında ve içinde protein ve karbonhidrat içeren başka moleküller de bulunur (Öztürk 2021). Özellikle protein yapıların oluşturduğu kanallar, porlar ve kapılar hücre içine (sitoplazma yönüne) veya dışına (interstisyel

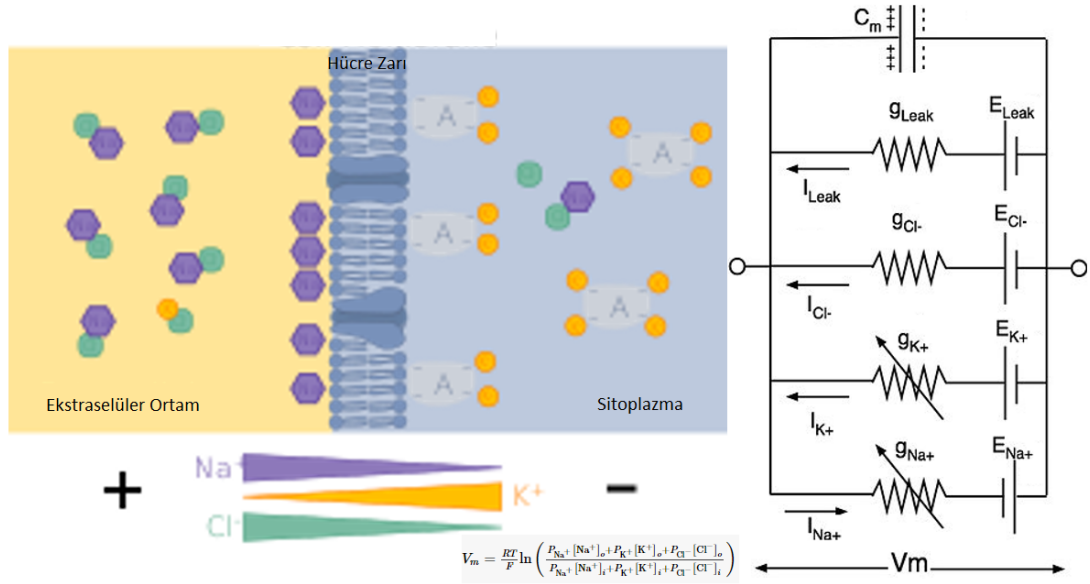
/ekstraselüler aralığa) doğru bazı molekül ve iyonların akışında/geçişinde görev alırlar (Öztürk 2021), (Kandel ve diğ. 2000).



Şekil 1.2: Hücre zarı ve ilintili yapıların şematik bir gösterimi ((Wikipedia,2022^a)’dan değiştirilerek)

Bu akış ve benzeri hareketler arasında, ozmos ve difüzyon gibi enerji harcamadan gerçekleşenleri olduğu gibi aktif, yani enerji harcanarak gerçekleştirilen türleri de bulunmakta, geçişler mekanik, kimyasal ya da elektriksel olarak da kontrol edilebilmektedir. Bu geçişlerle sağlanan ve korunan hücre içi ve dışı kimyasal konsantrasyon gradyanı, özellikle yüklü iyonların oluşturduğu denge, hücre zarının iki yanı arasında bir gerilim farkı oluşturur (Öztürk 2021). Bu gerilim farkı, genellikle (trans)membran gerilimi (voltaj / potansiyel) olarak farklı sözcük gruplarıyla adlandırılabilir, bu metinde transmembran voltajı açılımıyla TMV olarak kısaltılacaktır. Bu gerilim, konumuzun odak noktasını oluşturmakta olsa da Şekil 1.2’de gösterilen yapıların bizim için neden önemli olduğuna kısaca değinmekte yararlı olacaktır. Kabul edilen hücre zarı modeli yapısına göre, hücre zarının büyük çoğunluğunu oluşturan amfipatik (hidrofilik ve hidrofobik uçları bulunan) fosfolipit moleküllerinin su seven polar başları hücrenin iç ve dış ortamına dönükken hidrofobik kuyruklar birbirine bakmaktadır ve ayrıca sallanma, dönme, yer değiştirme gibi kendi içlerinde hareketlidirler (Öztürk 2021). Bunların üstünde, altında ya da gömülü şekillerde bulunabilen farklı moleküler yapılar ise bazen hücrenin kimlik bilgilerini taşıyan glikokaliksler (Öztürk 2021) gibi karbonhidrat yapısında olsalar da integral veya periferik özellikli protein molekülleri ve onların oluşturduğu çeşitli kanal ve kapılar ve hatta sinyal yolları bu çalışma kapsamında daha öne çıkmaktadır. Benzer

şekilde hücre iskeletini oluşturmak gibi çeşitli görevleri bulunan mikrotübüller ve benzeri filamenter strüktürlere de hücre içi taşıma, hücreyi şekillendirme ve hücre bölünmesindeki görevleri nedeniyle bu çalışmada zaman zaman değinilecektir.



Şekil 1.3: Sinir hücresi zarı iç ve dış ortamı arası oluşan TMV, başlıca iyonlar ile ilgili RC devre modeli ve ilgili matematiksel eşitlik ((Wikipedia 2022^d) ve (Wikipedia 2022^e)’den değiştirilmiş)

Her hücrenin kendine özgü fiziksel, kimyasal ve hatta morfolojik karakteristiği, hücrenin ortamı ve işlevi gibi çeşitli parametrelere göre değişen bir membran potansiyeli (TMV) bulunur. Yukarıda Şekil 1.2’de gösterildiği üzere, uyarılabilen hücreler denilince ilk akla gelen sinir hücrelerinin (nöronların) yaklaşık -70mV olan dinlenme (resting) membran potansiyelinin oluşmasında başat rol oynayan iyonlar olarak Na^+ , K^+ , Cl^- olarak sayılabilir (Öztürk 2021), (Kandel ve diğ. 2000). Bu süreçte aktif rol oynayan kapı ve diğer geçişlerin elektriksel devre elemanları ile yapılmış ünlü modellenmesi ise 20. yüzyıl ortalarında Hodgkin ve Huxley’in çalışmaları ile şekillenmiştir (Gulrajani 1998). Elbette farklı işlevli hücreler ve dokularda farklı iyonların (Ca^{2+} , Mg^{2+} ...vs.) da çeşitli aktif roller oynadığı da bilinmektedir (Ağar 2021). Biyoelektrik kavramının, genellikle uyarılabilir hücrelerle ilgili kullanılsa da moleküler biyoelektrik ile oluşan endojen elektrik alanların, proliferasyon (çoğalma), diferensiyasyon (farklılaşma), migrasyon (göç), şekil değişikliği, apoptosis (programlı ölüm) gibi hücresel eylemlerde veya rejenerasyon, yara iyileşmesi, şekil değişikliği gibi dokusal işlemlerde oldukça etkin rol oynamakta olduğu çeşitli çalışmalarla incelenmiştir (Levin 2014). Hücreler, oluşturdukları dokuların / canlıların yapısına, işlevlerine göre veya bulundukları ortama, oluşan yeni denge (homeostaz) koşullarına

ve bazı benzeri değişikliklere uyumlanabilmektedir (Plonsey 2000). Li ve diğ. (2020)'de de gösterildiği üzere tümör hücrelerinde normal hücrelere göre çok daha az negatif olan (-25mV) membran potansiyeli (TMV), proliferatif olmayan sinir hücrelerinde ise -aksiyon potansiyeli ile gerçekleşen depolarizasyon/repolarizasyon etkinliği oluşmamış, dinlenme potansiyeli olarak geçer- daha önce de belirtildiği üzere çok daha negatiftir; yaklaşık olarak -70mV civarındadır (Kandel ve diğ. 2000).

Hücresinin membran potansiyelindeki değişiklikler aracılığıyla etkilenen çeşitli sinyal yolları ve/veya buna benzer etkilerle, hücrelerin çoğalması veya ölümü tetiklenmekte, hücrenin yönelimi ya da hareketi etkilenmekte, farklılaşması kontrol edilmektedir (McLaughlin ve Lewin 2018). Örneğin, 2005 tarihli bir çalışmada, (McCaig ve diğ. 2005), elektrofizyoloji konusuna genel bir giriş yapıldıktan sonra ekstraselüler ve intraselüler alanların embriyo gelişimi, yara iyileşmesi ya da sağ sol organ asimetrisi gibi şekil farklılaşması konusundaki etkileri tartışılmış, elektrik alan uygulaması ile sinir büyümesindeki artış, elektrotaksis tartışmaları ile ilgili etkenler değerlendirilmiştir. Başka bir çalışmada ise, McCaig ve diğ. (2009), fizyolojik ya da patolojik olarak değişen, eksojen elektrik alanların ister intraselüler ister ekstraselüler kaynaklı olsun hücrenin eylemlerini nasıl derinden etkilediği incelenerek milimetrede milivoltluk değişimlerin nöron büyümesi ve yöneltmesi etkileri yanında, astrositler, Schwann hücreleri gibi glial hücreler üzerindeki etkileri de değerlendirilmiştir. Yine bazı çalışmalar, iskelet kası, glialar, nöronlar gibi çoğalma özelliği olmayan hücrelerin tipik olarak daha negatif TMV değerlerine sahipken proliferatif karaciğer hücreleri ya da fertilize yumurta gibi hücrelerin -50mV ve daha az negatif değerlere sahip olduğunu tartışmış, ayrıca benzer şekilde kanser hücrelerinin de benzer bir eğilim gösterdiğini işaret etmiştir (Abdul-Kadir ve diğ. 2018).

TMV'nin oluşturduğu endojen elektrik alanın yara iyileşmesi gibi durumlarda galvanotaksis ve bazı diğer mekanizmalarla gerekli hücre ve molekülleri yöneltici etkisi dışında iletişim sinyali olmak ya da hücre döngüsündeki etkisi çeşitli çalışmalarda incelenebilmektedir (McCaig ve diğ. 2005). İşin gerçeği yara ve elektrik akımı ilişkisinin kuruluşu çok da yeni tarihli değildir; 19. yüzyılda Emil Du Bois Reymond tarafından insan deri dokusunda yara oluşumu ile oluşan elektrik akımın gözlenmesi bazı kaynaklarca modern elektrofizyolojinin başlangıcı olarak gösterilmektedir (Liu ve Song 2014).

Membran aracılığıyla oluşan elektrik akımlarındaki değişim Maxwell denklemlerinin öngördüğü üzere çok zayıf da olsa bir manyetik alan ya da biyomanyetik alan oluşumuna da yol açar (Gulrajani 1998). Gulrajani (1998), kalp için bunun dünyanın manyetik alanının milyonda biriyken beyin söz konusu olduğunda milyarda biri civarında olduğu şeklinde bir karşılaştırma da yapar.

Elbette hem biyoelektromanyetik alanların ölçülmesi çabaları hem de bunlarda gerçekleştirilebilecek değişiklikler ile hücre ve dokulara etki edilebilmesi biyomedikal mühendisliği açısından önemli sonuçlar doğurmuş ve umut veren çalışmalara başlangıç noktası olmaya devam etmektedir. İlerleyen bölümlerde yalnızca çok sınırlı bir bölümüne değinilecek olunan bu çalışmalar, günümüzde karşılaştığımız gıda güvenliğinden, çevresel koşulların iyileştirilmesine, veteriner ve halk sağlığı uygulamalarından, kişiselleştirilmiş tıbbi uygulamalara hatta kozmetiğe çok farklı alanlara dokunan çeşitliliği ve daha nicesine kadar uzanan birçok gelişmeyi de yanında getirmektedir.

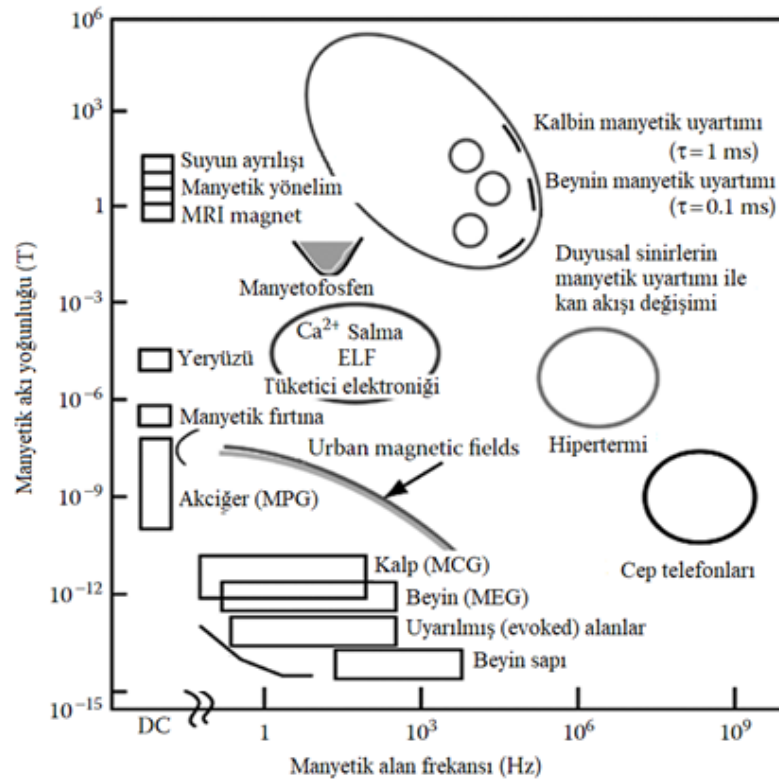
1.2.2 Canlı bilimleri ve elektromanyetik alan

Magnetoterapinin antik Çin'den Mısır ve Pers uygarlıklarına uzanan uzun geçmişi vardır ve Galen ve manyetizmanın tıbbi kullanımı İbni Sina'yı da kapsayarak ulaştığı 16.yüzyılda Paracelsus tarafından "Tıbbın Prensi" olarak tanımlanacak kadar önem verilmiş bir konumu işgal etmiştir (Giordano ve diğ. 2009). Ancak bu çalışmada manyetik ve elektromanyetik etkilerden kısaca söz edilecektir.

Uygulanan manyetik alanın frekansı, homojenitesi gibi değişiklikler biyolojik yapının modellemesini de değiştirdiği için etki mekanizmaları için elektrik iletkenlik, yoğunluk, zaman ve özgül ısı gibi farklı parametreleri içeren formülasyonlar kullanılabilmektedir (Lin 2012). Manyetik alanın canlılar üzerine etkisi söz konusu olduğunda ilk akla gelen özel emilim oranı (Specific Absorption Rate), SAR, olur. Günümüzde gittikçe daha sık çalışılan terahertzler seviyesindeki çalışmalarda, en yüksek frekans seviyesinde, derinin alt tabakalarında SAR en düşük seviyesinde görülmektedir çünkü artan frekans penetrasyonu düşürmektedir. Yine zamanla değişen ancak düşük frekanslı uygulamalar ise oluşturdukları girdap akımları (eddy akımları) etkisiyle sinir uyartımına yol açabildikleri için günümüzde transkranyal (kafatası

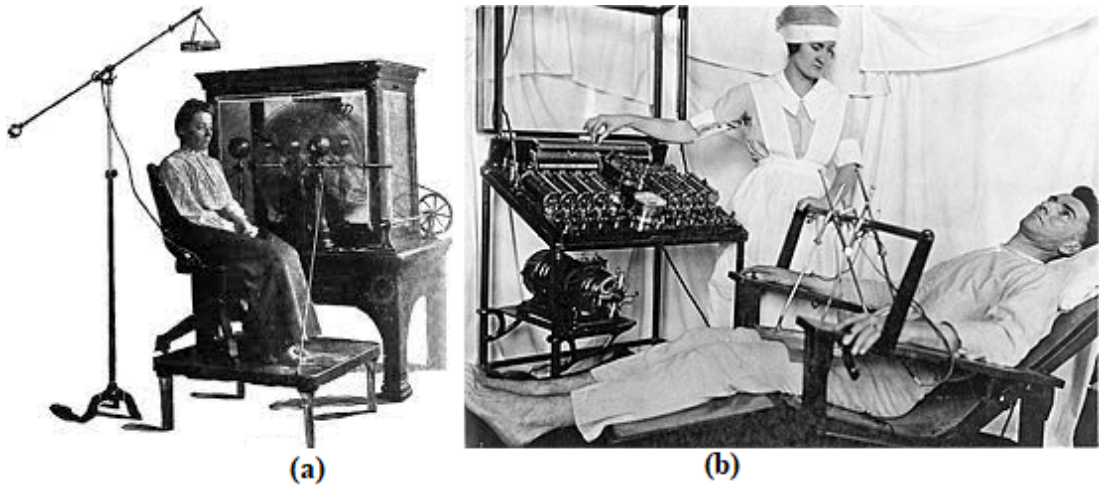
üstünden) manyetik uyartım (TMS) gibi çeşitli uygulamalarla klinik olarak kullanılabilir (Ueno ve Okano 2012). Statik manyetik alanlar ise biyolojik hücrelerin ayrıştırılmasında kullanılabilir (Ueno ve Okano 2012). Manyetik yönlendirme ile biyoteknolojik çalışmalarda kullanılabilen manyetik cımbızlar ya da uyartım uygulamalarının yanında, MEG (manyetoensefalografi) ya da MRI (magnetorezonans görüntüleme) gibi teknikler de yine tıbbi manyetik alan uygulamaların en bilinenlerinden sayılabilir.

FDA'nın kemik fraktürleri (kırık / çatlak) üzerinde PEMF (Darbeli elektromanyetik alan) kullanımı onayı 1970'lerin sonuna kadar gitmektedir (Jahns ve diğ. 2007), (Zhu ve diğ.2022). Günümüzde düşük frekanslı (1kHz) 1mT'lık PEMF uygulaması primer lumbar füzyon cerrahisinde etkinliği kabul edilen bir ortopedik modalitedir, 1 T ve daha güçlü alanlar ise daha önce adı geçen TMS uygulamalarında kullanılabilir (Royer ve diğ. 2022). Elektromanyetik alanların (Aguilar ve diğ. 2021) reolojik etkileri de değerlendirmeye alınacak olursa çalışma alanı oldukça derinleşecektir. Ancak bu çalışma kapsamında tek başlarına mekanoelastik etkileri dışında ultrason ve optik gibi farklı kaynaklarla hibrid uygulamalarında var olduğundan söz etmek yeterli olacaktır (Liu ve diğ.2020).



Şekil 1.4: Manyetik alan ve çeşitli tıbbi kullanım modaliteleri (Ueno ve Okano 2012).

Elektriğin tedavi amacıyla kullanılışının öyküsü de çoğumuzun düşündüğünden daha eskiye dayanmaktadır, arkeolojik buluntular bir kenara bırakıldığında bile elektrik üreten balıkların yarattığı gevşeme halinin baş ağrısı için kullanılmasını Galen'den İbni Sina'ya takip etmek yine de mümkündür (Kellaway 1946). Ancak, elektrik üretebilen balıkların insanı sersemletebildiğini gözlemleyebilen, milattan altı yüzyıl öncesinde Thales'in sürtünen amberle statik elektriği gözlemlediği deneylerine şahit olmuş, Giordano ve diğ. (2009), insanlığın, biyoelektrik kavramı ve yapay elektrik üreteçleri için daha yakın zamanları, 17.-18. yüzyılların entelektüel ve teknolojik meraklara susamış dönemini beklemesi gerekmektedir; bu yöntemlerden elektrikli hava banyoları gibi bazıları tarihe karışırken, elektrokonvulzif terapi (EKT) gibi hala tartışmalı da olsa sürekli yenilenerek uygulanmaya devam eden kullanımlar da bulunmaktadır (Şekil 1.5).



Şekil 1.5: a) Elektrikli hava banyosu (McCaig ve diğ. 2005) b) Bergonik koltuk (EKT) (Wikipedia, 2022°)

Tarihsel olarak bakmak gerekirse, Cardano 16. yüzyılda amber elektriği ve manyetizmayı ayırır (Cambridge 1977). Ludwig ve Bogdanov (2000)'da elektrik devre tasarımının Volta tarafından geliştirilen ilk güvenilir doğru akım kaynakları sayılabilecek dengeli pillere uzandığı bahsiyle giriş yapılır. 18. yüzyıla gelindiğinde ise, Galvani'nin içsel "hayvan elektriği (animal electricity) açıklamasına karşı Volta'nın dışsal bir potansiyel farkı tartışmasına (Giordano, 2009) şahit olunurken, çeşitli medikal denemeler başlamıştı bile (Cambridge 1977). 19. yüzyılın sonlarında

ise elektrokoterden elektrokardiyografiye bugün aşına olduğumuz birçok kullanım tanımlanmıştı (Cambridge 1977).

Bu genel giriş sonrası, ayrıntılandırmak gerekirse, 17.-18.yüzyıllarla beraber, insanın tıp ve bilime yaklaşımına paralel olarak elektrik konusunda merakı ve anlayışı da değişmeye başlar. J.A.Nollet, 18. yüzyılda Galvani'nin hayvan elektriği tanımlamasını yapmasından birkaç on yıl önce, statik elektrik boşalması nedeniyle ciltte oluşan lezyonları, dentritik Lichtenberg figürleri, tanımlamış aslında böylece ilk defa geri dönüşümsüz (irreversible) elektroporasyonun (IRE) derideki etkisini de kayda geçirmiştir (Mattison ve diğ. 2019), (Rolong ve diğ. 2018). Carlo Matteucci, adını Galvani'den alan, galvanometre ile sinir ve kas dokularının kesildiği uçtan yara potansiyelini ölçmüştür (McCaig ve diğ. 2005).

18.-19. yüzyılların meraklı bilimsel ve teknolojik girişimleri içinde elektrik uygulamaları ve tabii tıbbi elektrik uygulamaları da oldukça geniş yer tutuyordu, bugün kullanılan elektrokoter, elektroensefalografi (EEG) gibi bir çok tekniği 20. yüzyıl başlarına kadar uzanan o dönem çalışmalarına borçlu olduğumuz gibi, aynı dönemlerde uykusuzluktan kelliğe, migrenden başlangıç aşamasındaki böbrek sorunlarına bir çok soruna çözüm olarak sunulan negatif meltem (elektrikli hava banyosu) (bkz. Şekil 1.5 a) gibi bazı garip statik elektrik uygulamaları da görülebiliyordu (McCaig ve diğ. 2005).

19.yüzyıl ortalarında, Emil Du-Bois Reymond, yine galvanometre kullanarak Matteucci'nin yara potansiyeli ölçümlerini tekrarlayanın yanı sıra aksiyon potansiyelinin ilerlemesini de ölçer (McCaig ve diğ. 2005), (Liu ve Song 2014). Deri yaralarında oluşan yaklaşık $1\mu A$ 'lık akımın ölçümü ise, McCaig ve diğ. (2005), günümüzde transepitelyal potansiyel (TEP) olarak adlandırdığımız, epitel dokudaki endojen elektrik alanların varlığının, modern anlamda tekrarlanabilen ölçümlere dayalı gözlemler sonucu bilimsel bilgi olarak dağarcığımıza dahil olması anlamına da gelmektedir. 1898'de G.W. Fuller su örneklerinde bakterisidal (bakteriden arındırma) işlem için ilk geri dönüşümsüz elektroporasyon (IRE) uygulamasını önermiştir (Rolong ve diğ. 2018). Ancak günümüz medikal uygulamalarının temeli üzerinden bir değerlendirme gerekirse, milisaniyeler civarında puls genişlikli elektrik darbelerinin biyolojik hücreler ve zarları üzerindeki etkileri konusunda Staempfli tarafından 50'li yıllarda gerçekleştirilen deneyler ile hücre zarı permeabilizasyonunun

(geçirgenliğinin), Neumann ve Rosenheck tarafından elektroporasyon olarak adlandırılacak olan, artışı etkisini gösterilmesi, daha sonra bu etkinin hücre içine ilaç ya da DNA plazmidleri gibi etkenlerin yerleştirilmesini içeren elektrokemoterapi (ECT) ya da elektrogenterapi (EGT), gen elektrotransferi (GET) ya da transdermal ilaç aktarımı gibi çeşitli uygulamaların temelini oluşturduğu gibi, termal olmayan doku ablasyonu (NTIRE_nonthermal irreversible electroporation) gibi permeabilite artışının ötesinde geri dönüşümsüz uygulamalara da önayak olmuştur (Yarmush ve diğ., 2014) (Schoenbach 2018). Günümüzde hücre ölümünden, Ca^{2+} mobilizasyonuna çeşitli etkileri kalp aritmilerine müdahale, yara iyileşmesi, kanser tedavisi gibi birçok uygulamaya konu olan daha kısa genişlikli darbeler, 1970'ler ve 80'lere gelindiğinde ise on nanosaniyelik dalgaların zar üzerindeki etkisini odağına alan çalışmalarla başlayan yolculuklarını, Schoenbach (2018), hücre içi farklı etkilerinin tartışılmaya başlanması ile devam ettirir. Membran zaman sabitinden daha kısa darbe genişlikli uygulamaların membranı etkilemeden sitoplazma ve organellere ulaşabiliyor olması, Schoenbach (2018), Weaver ve diğ. (2012) gibi çalışmalar ve paralelinde gelişen geniş bant aralıklı (WBG) yarı iletkenler gibi çeşitli teknolojik gelişmelerin, Gachovska ve Hudgins, (2018), Sarnago ve diğ. (2020), de etkisiyle daha uygulanabilir ve denetlenebilir hale gelmesi, mikrosaniyeden daha kısa (submicrosecond) darbe genişliğine sahip dalga uygulamalarını da daha erişilebilir araştırma odakları haline getirmiştir. Örneğin, hücre iskeletini oluşturmaları üzerinden tanımlanmış olmalarına rağmen mitoz bölünmeden hücre yönelmesine ve migrasyonuna çeşitli fonksiyonel ve strüktürel görevleriyle bilinen mikrotübüllerin (Öztürk 2021) polimerizasyon ve depolimerizasyonu üzerindeki etkileri çeşitli çalışmalarla incelenmektedir (Chafai ve diğ. 2020), (Marracino ve diğ. 2019). Ayrıca, Goswami ve diğ. (2018)'de PEF uygulamalarının hücre iskeleti ile mitokondri ilişkisinde yaptığı değişiklikler ve bunların hücre solunumuna etkisini değerlendirirken, Graybill ve Davalos (2020)'de 10 nanosaniyelerden 10 milisaniyelere değişen bir aralıkta farklı puls genişlikli elektrik alan uygulamalarının PEF terapileri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir.

Harici elektrik alan uygulamaları değerlendirildiğinde günümüze ulaşan uygulamalar arasında gelişen anestezi tekniklerle uygulama şekli çok daha insanileşen elektrokonvulzif terapi (EKT), birçok insan için ikinci bir şans anlamına gelen defibrilatörler olduğu gibi, elektro şok cihazları korunma amaçlı olarak da kullanılabilmektedir. Bugünlerde elektriğin canlı hücre ve dokuları ile etkileşimi

kozmetikten, gıdaya, enerjiden tıp ve biyoteknolojiye birçok alan ve sektörde yaygın olarak kullanılmaktadır. Uygulamada kullanılan gerilimin genliği, süresi ve değişkenliği kullanılan tekniğin amacı ve yöntemine göre değişse de uyartım (stimülasyon) uygulamalarında genellikle daha düşük gerilimlerden yararlanılmaktadır. Örneğin, uyartım tekniklerinin arasında en ilgi çekici ve tanınır olanlardan biri, beyin pili olarak da bilinen derin beyin uyartımı DBS (deep brain stimulation), invazif bir yöntem olarak esansiyel tremor, distoni gibi semptomlar ve yaygın olarak Parkinson hastaları için kullanılırken (Coleman ve diğ. 2022), tDCs (transkranyal (kafatası üstünden) doğru akım stimülasyonu) çevresel sinir sistemi uyartımından (van Boekholdt ve diğ. 2021), bilişsel geliştirmeye birçok deneysel uygulamada karşımıza çıkabilmektedir. Uyartım teknikleri arasında kozmetik, Dürrenberger ve diğ. (2018), farklı tip dış elektrik alan uyartımlarıyla yara iyileşmesi, Rajendran ve diğ. (2021), Luo ve diğ. (2021), embriyoloji, Thorp (2022), nöronal gelişim (Medvedev ve Pierani 2020) ve akson rejenerasyonu / remiyelinasyonu, Deng ve diğ. (2018) kırıldak ya da kemi doku uyartımı, Khalifeh ve diğ. (2018), Massari ve diğ. (2019), diş hekimliği gibi, Vanegas-Acosta ve diğ. (2014), alanlarda ticari olarak kullanımda olanları olduğu gibi deneysel çalışmalar da devam etmektedir. Elektroforez, dielektroforez, elektrorotasyon, elektroozmoz gibi elektrokinetik teknikler hücre ve partiküllerin ayrımı, tanılama, yönlendirme gibi çeşitli işlemler için kullanılabilirken, benzer tekniklere farklı adlarla hücre içine DNA, RNA ve benzeri moleküllerin aktarılmasına genetik çalışmaları, aşı üretimi gibi çeşitli alanlarda başvurulmaktadır (Agarwal ve Maiti 2019), (Liu ve diğ. 2020).

Elektrokinetik tekniklerden söz edilmişken çalışmanın ana odağı olan darbeli elektrik alanın (pulsed (atımlı / pulslu) electric fields (PEF)) hücre ve dokular üzerine kullanımına odaklanmadan önce özellikle teşhis konusunda oldukça umut verici çalışmalara yön veren elektrodinamik uygulamalara kısaca bir değinmek yerinde olacaktır. Biyomoleküler ayırma tekniklerine kromatografi adı verilir ve molekül yoğunlukları bu amaçla kullanılabilir (Carpi ve diğ. 2020). Biyomoleküller ve virüsler, bakteriler, mantarlar gibi çeşitli patojenlerin veya hücrelerin karakteristik elektriksel yapıları ve yükleri kullanılarak da hücre ayırma, sıralama, tanılama gibi çeşitli işlemler yapılabilir ve elektroforez(is), dielektroforez(is) gibi yöntemler bu konuda sıklıkla başvuru alan fenomenler olarak karşımıza çıkar; etimolojik olarak elektrikle taşımak anlamına gelen elektroforez, kullanılan elektrik alanın türüne ya da uygulama

şekline nötr ya da yüklü parçalar ya da hücre kültürleri üzerinde, mesela sinir hücresi yakalamak (cell trapment) için, kullanılabilir (Pethig, 2017), (Heida, 2003). F.F.Reuss, 1807 yılında su içindeki kil parçalarının, uygulanan harici elektrik alana göre, migrasyonunu gözlemleyerek, statik elektrik altında yapılan uygulamaları kapsayan, elektroforez fenomenini ilk tanımlayan olur. (Carpi ve diğ. 2020). Bu teknikle yüklü parçacıklar ayırt edilebilmektedir (Carpi ve diğ. 2020). Yüklü olmayan ama polarize olabilir parçalar söz konusu olduğunda ise 19.yüzyıl ortalarından Clausius-Mossotti formülü devreye girer ancak dielektrik özelliklere dayanan, polarize olabilir nötr örneklerin üzerine uygulanan, uniform olmayan elektrik alandan kaynaklı dielektroforetik kuvvet ve ilgili fenomeni 1920'lerin başına kadar kullanımda göremeyiz (Carpi ve diğ. 2020). 1979'da H.A. Pohl uniform olmayan elektrik alanda dielektrik partiküllerin maruz kaldığı kuvveti tanımlayarak dielektroforezis olarak tanımlanan elektrokinetik etkiyi deneysel olarak ilk tanıtan olur (Agarwalve Maiti 2019). Tiselius'un Nobel almasını da sağlayan elektroforez 1930'larda tanımlanmış prensibi değişmese de elektromigrasyon yöntemleri bugün biyofarmasötikten klinik kimyaya metabolomiksten derive moleküllere çeşitli alanlarda kullanılmakta, kapiler elektroforez gibi gelişip çeşitlenmeye devam etmektedirler (Toraño ve diğ. 2019). Benzer şekilde, manyetize olabilen örnekler için dielektromagnetoforez tekniğinden de söz edilmektedir (Carpi ve diğ. 2020). 1984 yılında geliştirilen ve DNA moleküllerinden karışımların analiz çözünürlüğünü konvansiyonel elektroforeze göre oldukça geliştiren PFGE (Pulsed Field Gel Elektrophorezis/Atımlı (Darbeli) Alan Jel Elektroforezi) de bu yöntemlerden biridir (Lopez-Canovas ve diğ. 2019). Burada belirtilmelidir ki, bu yöntemlerin sağlık sistemi için ciddi bir tehdit unsuru olan S. aureus gibi Gram pozitif, E. coli gibi Gram negatif bakterileri, C. albicans gibi mantarları ya da Herpes simpleks gibi çeşitli patojenlerin yol açtığı nozokomiyal enfeksiyonlarla (Denstaedt ve diğ. 2018) ve / veya biyofilm oluşumu ile (Dhar ve Han 2020) mücadelede elektrokinetik tekniklerle teşhis süreçlerine katkılarının yanında; özellikle dirençli patojenlere karşı geliştirilmeye çalışılan alternatif ve deneysel yöntemlerin arasında da bulunmaktadır (Garner 2019), (Sen ve diğ. 2020).

Hücresinin kendi elektrik alanı dışında, eksojen (dış) elektrik alanının kullanımlarından biri de farklı dokulara uygulanabilen stimülasyon, diğer bir deyişle uyartım, hem klinik hem deneysel çeşitli medikal uygulamalarla karşımıza çıkmaktadır. Elektrokonvulzif terapi gibi yan etkileri oldukça tartışmalı ve kötü

şöhretli olanların yanında, defibrilasyon gibi hayat kurtarması ile bilinen örnekleri de bulunan, harici elektrik alan uygulamalarının yanında, zayıf akım içerikli stimülasyon çalışmaları yara iyileşmesi, derin beyin stimülasyonu (DBS) ve bunlara benzer invazif ya da girişimsel olmayan çeşitli modaliteler içermektedir. Uygulanan dokulara bağlı olarak ilgili aktive olmamış hücrelerin zar gerilimi (TMV), dinlenim zar gerilimi (resting membrane potential_RMP) farklılık gösterse de bu değerin 10-20mV civarında, voltaj kapılı sodyum ya da kalsiyum kapılarının eşik değerine yaklaşacak şekilde, depolarize olması ile uyartım ya da hücre aktivasyonu gerçekleşir (Pakhomov ve Pakhomova 2020). Konvansiyonel mikro-milisaniye gibi puls (darbe / atım) genişliği içeren uygulamalar söz konusu olduğunda hücreleri uyartımı (eksitasyon) ya da aktive edilmesi için gereken gerilim seviyeleri elektroporasyon eşiğinin onda biri hatta yüzde biri gibi bir değerde (Pakhomov ve Pakhomova 2020) olduğu için uyartım ve elektroporasyon farklı uygulama alanları olarak değerlendirilebilmekteyken, söz konusu olan nanosaniyeler gibi aralıklar olduğunda bu sınır oldukça daralmaktadır (Pakhomov ve Pakhomova 2020).

Bazı durumlarda ise elektrik alan, akustik veya ultrason gibi mekanik uyartılarla beraber kullanılabilir (Ferson ve diğ. 2020), (Ntourtoglou ve diğ. 2022). Ancak bu çalışma kapsamında, daha çok geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz çeşitleriyle (RE, IRE) elektriksel darbelerin (puls) kullanıldığı uygulamalara odaklanılacaktır. Bu tip uygulamalar gıda ve içecek endüstrisinde patojen mikroorganizmaları öldürmek amacıyla (Wu ve diğ. 2004), veya gıda, alg ya da farklı mikroorganizmalardan polifenol ya da biyoyakıt gibi hedef içerik ekstraksiyonu (Ntourtoglou ve diğ. 2022), (Goettel ve diğ. 2013), (Martínez ve diğ. 2020) ve hatta pestisit veya fungusit gibi kimyasalların kalıntılarından kurtulmak amacıyla, Pallarés ve diğ. (2020), hatta eti olgunlaştırmak için, Kahraman ve diğ. (2022), kullanım bulmakta, benzeri deneysel çalışmalar sürmektedir (Singh ve diğ. 2016)

Geri dönüşümsüz (irreversible), (IRE) ve dönüşümlü (reversible), (RE) elektroporasyon 1957'de Stämpfli ve Wili tarafından tanımlanırken, 1961'de Doeverspeck, endüstriyel et işleme sürecinde termal etki olmadan elektrik darbeleri ile hücresel parçalanmanın ticari kurulumlarını aktarır (Rolong ve diğ. 2018). 1980'ler ama özellikle 90'lar sonrasında çalışmalar hızlanır. 1982'de Neumann ve arkadaşları hücrelere gen aktarımı için geri dönüştürülebilir elektroporasyonu tanımlarlar (Rolong

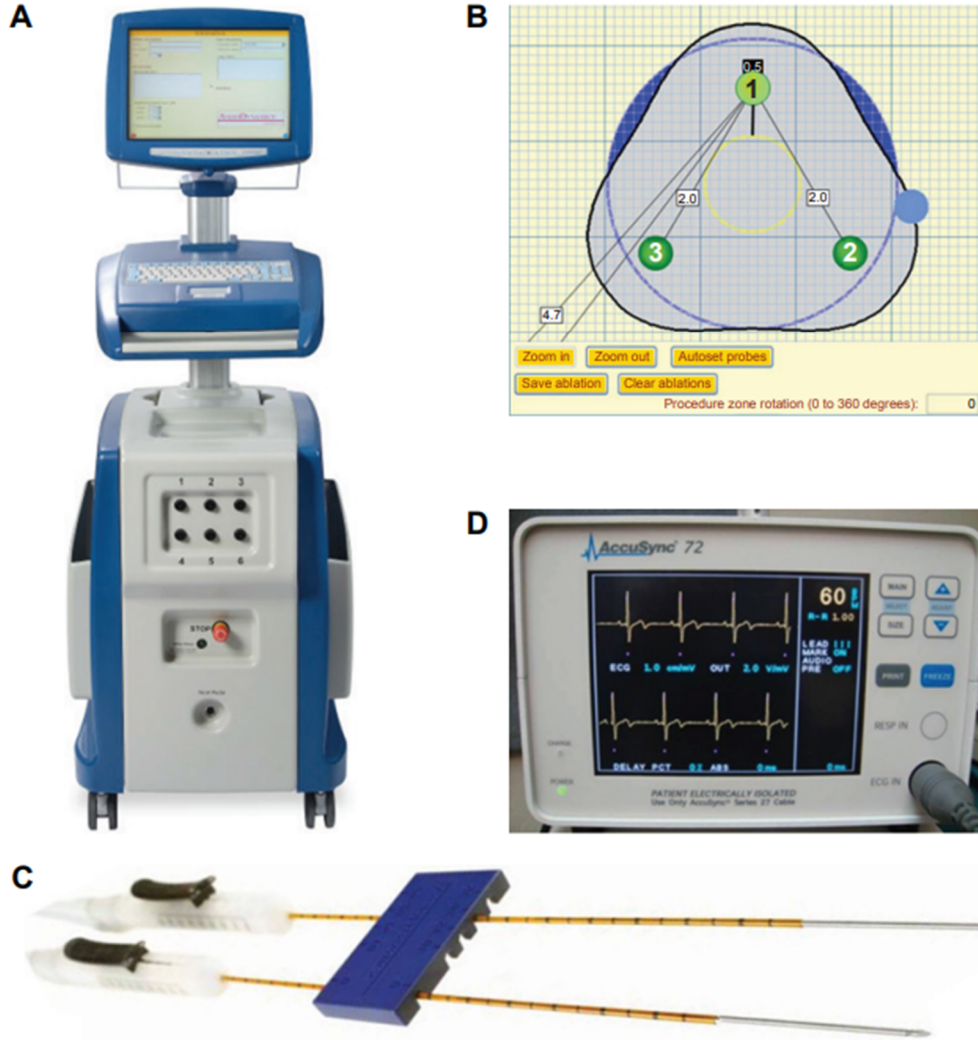
ve diğ. 2018). 1987'de ise malin (kötü huylu) hücrelere sitotoksik ajanların aktarılmasını öneren kanser tedavisi, Orkowski ve arkadaşları ile Okino ve Mohri tarafından gerçekleştirilen bağımsız iki çalışmayla duyurulur (Rolong ve diğ. 2018). 1993'te Prausnitz ve arkadaşları transdermal ilaç aktarımı konusunda ilk çalışmaları yayımlarlar (Rolong ve diğ. 2018). K.H. Piñero vd. elektroporasyonun yalnızca nekroza değil apoptozise de yol açtığını gösteren ilk in vitro çalışmayı sunar (Rolong ve diğ. 2018). 1998 daha sonra Gehl tarafından vasküler kilit (vascular lock) olarak tanımlanacak olan, dönüştürülebilir elektroporasyon sırasında elektrik alanın uygulandığı bölgede kan akışının bloke oluşu, Ramirez vd. tarafından ilk kez gösterilir (Rolong ve diğ. 2018). 2000'lerde doku ablasyonu çalışmaları dikkat çekicidir, 2010'larda ise farklı bölgelerde farklı tümör dokuları için klinik deneyler dikkat çeker. Ticari üretime geçen tümör ablasyon cihazları bazı tıp merkezlerinde kullanılmaya başlar (Geboers ve diğ.). 2015 tarihli "T.Saito editörlüğünde basılan "Sinirbilimlerinde Elektroporasyon Metotları" isimli kitapta fare embriyoları üzerinde in utero ve ex utero veya postnatal in vivo çalışmalar, zebra balıkları, civcivler gibi başka örneklerin merkezi sinir sistemleri, koku soğancıkları, retina ya da hücre kültürleri üzerinde yapılmış gen aktarımı veya gen ifadesi gibi genetik manipülasyonlarını da içeren farklı çalışmalar ve protokoller incelenebilir (Saito 2015). 2020 basımı "Elektroporasyon Protokolleri: Mikroorganizmalar, Memeli sistemleri ve Nanogereçler (Electroporation Protocols: Microorganism, Mammalian System, and Nanodevice)" isimli kitabın üçüncü basımında mikro ve nano elektroporasyon üzerine bölümler, in vivo uygulamalar için yeni değerlendirmeler ve mikroorganizmalarda genetik modifikasyonlardan elektrotransformatasyona farklı uygulamalar üzerine farklı başlıklarda çalışmalar incelenebilmektedir (Li ve diğ. 2020). 2008 tarihli bir makalede, fonksiyonel elektrik uyartımının (functional electrical stimulation (FES)) omurga yaralanmalarında rejenerasyon ve rehabilitasyon uygulanması üzerine genel bir değerlendirme, Hamid ve Hayek (2008) yapılmıştır. 2016 tarihli bir çalışmada ise endonöral tüpün zarar görmüş olması ya da olmamasına bakmaksızın çevresel sinir sistemindeki aksonların düşük frekanslı elektriksel uyartımın etkinliği, Gordon (2016) incelenirken, benzer bir şekilde 2017 tarihli başka bir araştırma makalesinde KCl çözeltisinde sıçan siyatik siniri kültüründe yapılan kontrollü deneylerin değerlendirmeleri görülmektedir (Goganau ve diğ. 2018). Yine 2017 tarihli bir makalenin özeti, "Nano- ve pikosaniyelik elektrik atımların (puls)" "nörouyartım

(neurostimulation), Ca^{2+} sinyalizasyonu ve doku ablasyonu” konusunda “yeni bir yaklaşım” olduğundan söz ederek başlar (Pakhomov ve diğ. 2017).

Günümüzde geniş kullanım alanları bulmasına rağmen, elektrik alanın hücre membranı üzerindeki etkileri ve geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz elektroporasyona yol açan membran dinamikleri konusuna ne yazık yeterince hakim değiliz (Kotnik ve diğ. 2019). Bu alanda matematiksel modellemeler, biyokimyasal ya da biyofiziksel açıklamaların kapsamını arttırmak amacıyla çok farklı açılardan çalışmalar devam etmektedir. Proteomiks, metabolomiks gibi yeni alanların ortaya çıkışı, görüntüleme ve ölçme araçlarındaki gelişmeler her ne kadar hücre ve membran konusundaki bilgilerimizi oldukça geliştirmiş olsa da temel mekanizma olarak görebileceğimiz membran porasyonu ve bunun deneysel olarak tespiti, Napotnik ve Miklavčič (2018), elektrik alan darbeleri/atımlarının ve yeni kullanım olasılıklarının çalışılmasını bekleyen dikkate değer bir alanını oluşturuyor. Bu nedenle farklı darbe karakteristikleri kullanılarak farklı ortamlarda ve farklı hücre ve/veya doku türlerine uygulamalar üzerine yapılan çalışmalar devam etmektedir.

Geboers ve diğ. (2020)’de onkolojide kullanılan yüksek gerilim elektrik pulsarı içeren teknikleri geri dönüşümsüz elektroporasyon (IRE), elektrokemoterapi (ECT), gen elektrotransferi (GET), elektrofüzyon ve elektroimmunoterapi olarak sıralamış ve incelemiştir. Tümör ablasyonu için, Nanoknife (Natanel Jourabchi, 2014), ePore, Cliniporator gibi bazı elektroporatorlar günümüzde deri kanserinden gastrointestinal tümörlere, ablasyondan elektrokemoterapiye çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (Cvetkoska ve diğ. 2020). FDA onaylı 500-3000V aralığında 50 A çıkışlı maksimum 100µs’lik pulsalar üretebilen NanoKnife® (Rossmeisl ve diğ. 2015) ve sonrasında bazı diğer ticari ürünlerle klinik kullanımı ile deneysel protokol çalışmaları devam eden tümör ablasyonu konusunda, 2010’lardan itibaren, pankreas, böbrek, karaciğer, prostat gibi farklı dokular üzerinde prospektif veya retrospektif çeşitli çalışmalardan veriler bulunmaktadır (Wagstaff ve diğ. 2016). 1,5-2 cm aralıklı elektrotların aktif uçları 1-1,5 cm civarındadır ve bu elektrotlardan 1500V/cm’lik 70-90µs genişlikli 70-90 puls uygulaması sonucu hedeflenen dokunun hücrelerinde geri dönüşümsüz elektroporasyon (IRE) oluşturulması prensibiyle çalışan bu modalite kas kasılıp gevşemelerine karşı genel anestezi eşliğinde ve özellikle kalbe yakın olması

durumunda aritmiye yol açabileceği için, kalp ritmiyle senkronize olacak şekilde uygulanmaktadır (Wagstaff ve diğ. 2016) (bkz Şekil 1.7 d))



Şekil 1.6: a) Elektroparatör, b) uygulama arayüzü, c) elektrotlar, d) kalp ritmi (Wagstaff ve diğ. 2016)

Bleomycin veya cisplatin gibi kimyasal etkenler kullanılarak uygulanan bir diğer modalite olan elektrokemoterapi ise, PEF uygulaması ile hedef dokudaki hücre zarlarının geçirgenliği artırılarak kullanılan sitotoksik ajana maruziyetinin artırılması prensibine dayanır (Tasu ve diğ. 2022). Kullanılan terapötik ajanın her zaman zehirli olması gerekmez, bir sinyal molekülü, Ca^{2+} gibi bir iyon da olabilir (Frandsen ve diğ. 2020), (Frandsen ve Gehl 2018). Asıl prensip, bazen elektropermeabilizasyon olarak da adlandırılan, uygulanan dış elektrik alan ile hücre zarı geçirgenliğinin artırılmasıdır (Rols 2006).

Termal olmayan bir ablasyon yöntemi olarak yüksek frekanslı geri dönüşümsüz elektroporasyon tekniği (H-FIRE)'nün uygulanan doza bağlı olarak, membran hasarı, metabolik etkiler gibi geri dönüşümlü ve dönüşümsüz etkileri ile apoptozdan kurtularak proliferasyona devam edebilen kanserli hücrelerin tartışıldığı, Murphy ve diğ. (2022) gibi, kimi çalışmalar 3000V/cm gibi büyüklüğe ulaşan, değişken puls büyüklükleri ve 2µs pozitif puls, 5µs ara ve 2µs negatif puls (2-5-2) olmak üzere tanımlanmış farklı puls karakteristikleri ile metastatik ve/veya primer beyin kanserlerinde elektrik alan uygulamaların doza bağımlı sonuçlarını gösterir. Benzer şekilde, Novickij ve diğ. (2022)'de yüksek frekanslı elektrokemoterapi uygulamaları sırasında tek kutuplu pulsar arası sürenin etkileri incelenmiş ve yalnızca bu parametre ile bile etkinliğin değiştirilebildiği sonucuna varılmıştır.

Bu noktada, elektrokemoterapi ya da kalsiyum iyonu gibi yardımcı etkenler kullanılan uygulamaların yanında, 2019 yılından bu yana glioblastoma tedavisinde aktif kullanımı bulunan TTFields gibi, yüksek frekanslı uygulamalara dikkat çekmek yerinde olacaktır. Yetişkinlerde halen en yaygın ve cerrahi ve radyo/kemoterapi uygulamalarına rağmen olumsuz sonuçlanan primer beyin tümörlerinden olan GBM (Glioblastoma multiforme) tedavisi konusunda TTFields klinik uygulamaları ve bunların geleceğinin tartışıldığı, Rominiyi ve diğ. (2021)'de, bu modalitenin başlıca etki mekanizmaları olarak antimitotik, DNA tamir mekanizması ile ilgili, otofajik, immunojenik, antimigrasyon etkisi ve elbette geçirgenlik gibi etkiler sıralanmış; 2019 yılında 3000'e yakın kişi tarafından aktif kullanıldığı belirtilmiştir (Rominiyi ve diğ. 2021). Temozolomide (TMZ) ile kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi müdahalenin yanında GBA (glioblastoma için FDA onaylı dördüncü tedavi yöntemi olan TTFields, Rominiyi ve diğ. (2021), çok hızlı değişen elektrik alanın (alternating electric fields (AEFs-AEA)) medikal kullanımı ve etkileri anlamında dikkat çekici bir uygulamadır ve kafatasına yerleştirilen elektrotlar aracılığıyla uygulanır (Aguilar ve diğ. 2021). GBA tedavisinde kullanılmak üzere 1-3V/cm büyüklüğünde 100-300 kHz aralığında değişken elektrik alan kullanımını içeren TTFields'in antikanser uygulamaları konusunda pilot çalışmalar, 2000'li yılların ortalarına doğru başlar, 2015 yılına gelindiğinde FDA onayı alınır (Rominiyi ve diğ. 2021). TTFields (TTA)'nın anti-kanser etki mekanizmaları henüz tam netleşmemiş, Li ve diğ. (2020), olsa da tübül dimerleri, Aguilar ve diğ. (2021), ve/veya dielektroforetik kuvvet etkisi, Li ve diğ. (2020), dolayısıyla mitotik bölünme üzerindeki etkisi yanında; AEFs (AEA)'nın hücre

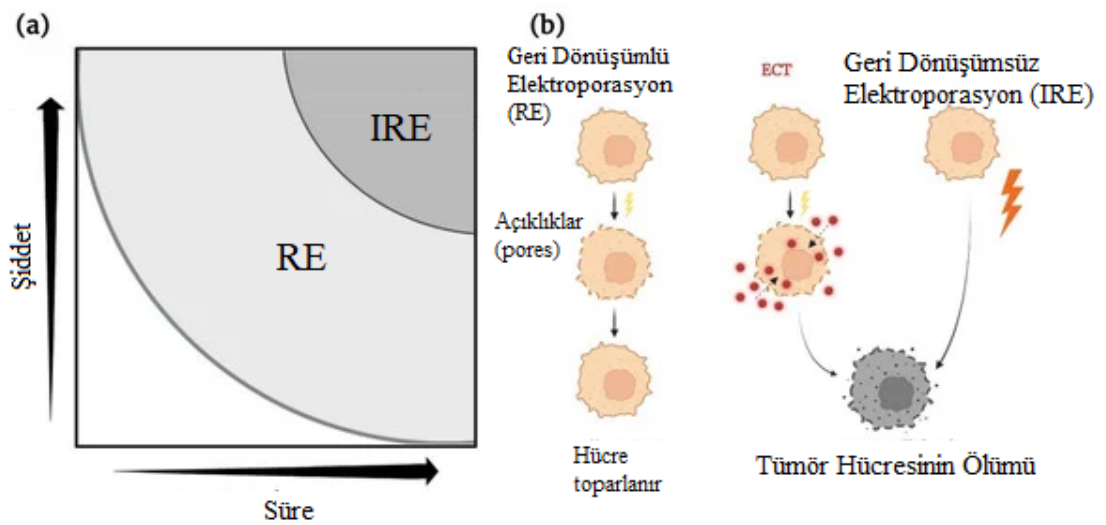
zarının hem geçirgenliği hem de Ca^{++} kanalları, Li ve diğ. (2020) ve/veya voltaj kanallı iyon kanalları üzerine etkisi Aguilar ve diğ. (2021), ve bioelektrolojik etkileri Aguilar ve diğ. (2021), tartışılmakta ve çalışılmaktadır. Elbette numunelerin ve ortamların çeşitliliğinin yanı sıra kontrol edilebilen puls parametreleri gibi değişkenlerin sayısının da yüksek olması hem modelleme çalışmalarını hem de standardizasyon denemelerini oldukça geciktirici bir etki göstermektedir.

Bu çalışmanın ana konusunu oluşturan eksojen elektrik alanla hücre zarı geçirgenliğinde değişiklik yapmak için, TMV değerinde yaklaşık olarak $\pm 200-500$ mV aralığında bir değişiklik gerekmektedir (Pakhomov ve Pakhomova 2020). Buradaki değişikliğin hiperpolarize ya da depolarize edici yönde oluşu permeabilizasyon artışı anlamında bir fark oluşturma da elbette oluşan değişiklikler hücrenin uyartılabilirliğini etkilemektedir, Pakhomov ve Pakhomova (2020), ancak bu çalışma kapsamında bu ve benzeri etkiler değerlendirilmeyecektir. Aycock ve Davalos (2019)'da farklı doku tümörleri üzerinde yapılan klinik elektroporasyon çalışmaları değerlendirilmiş, pankreas, karaciğer ve prostat üzerinde gerçekleştirilen ve büyüklükleri 890-3000 V/cm civarında değişen elektrik alan uygulamaları içeren bu çalışmalarda tümör büyüklükleri, kullanılan darbe (puls) özellikleri gibi diğer parametrelerde karşılaştırılmıştır.

Günümüzde mikro ve milisaniyelerle ölçülen yaygın elektroporasyon tekniklerinin yanında gittikçe artan bir şekilde mikrosaniye altı (submicrosecond) nanosaniyeler seviyesinde ve/veya daha dar pulsların kullanımı da çalışılmaktadır. Bu çalışmalar daha çok, örneğin, memeli hücreleri için, genellikle 100ns altı gibi bir değere denk gelen hücre zarı zaman sabitinin altında kalan pulsların kullanımı ile hücre içini hedefleyen çalışmaları içermektedir (Schoenbach ve diğ. 2007). 2000'lerin başlarından itibaren, hücre içinde kromozomların ayrılması, hücre içi iletim ve hücre şeklinin korunması gibi çeşitli işlevlerde önemli rol oynayan ökaryotik organeller olan mikrotübüller ve elektrik alan etkileşimine dair çeşitli çalışmalar (Stracke ve diğ. 2002) bulunmaktadır. Retelj ve diğ. (2013)'de hücre içi lipozomlar üzerinde nanosaniyelik pulslar ile oluşturulan elektroporasyon tartışılırken, Napotnik ve diğ. (2016)'da ökaryotik hücrelerde in vitro olarak gerçekleştirilen nanosaniyelik uygulamaların genel bir değerlendirilmesini yapılarak 203 rapor gözden geçirilmiş ve kalsiyum alımı, mitokondriyal etkiler, apoptoz veya stres etkileri gibi sonuçlar

incelenmiştir. Berghöfer ve diğ. (2009)'da apoptosis gibi hücre için ölüm kalım meselesi, anlamına gelen birçok eylemde rol oynayan aktin filamentlerinin yoğun elektrik alan pulslarından nasıl etkilendiğine dair bitki hücrelerinde 33kV/cm'lik 800ps'lik darbe yükselme süresi olan 10ns'lik 1 veya 2 puls kullanılarak yapılan deneylerin sonuçları değerlendirilmiştir. Marracino ve diğ. (2019)'da 20-300MV/m'lik 30ns'lik pulsların tubulinler üzerindeki etkileri MD (molecular dynamics) simülasyonları aracılığıyla incelenmiş ve bazı deneysel sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Yine aynı tarihli, Chafaive diğ. (2019) ise 1Hz tekrarlı 20kV/cm'lik 1ns'lik pulsların kullanıldığı ve (0,100,200,400 ve 800) şeklinde uygulanan puls sayısının değişken parametre olarak belirlendiği tubulin PEF etkileşiminin geçici ve kalıcı etkileşimlerini inceleyen deneysel bir çalışmadır. Benzer bir şekilde, (Liu ve Song 2014)'de olduğu gibi elektrik alanın hücrenin bütün işlevini ve hatta deyim yerindeyse varoluşunu düzenleyen sinyal molekülleri üzerindeki etkileri de incelenmektedir.

İyonize olmayan terahertzler (THz) seviyesi söz konusu olduğunda ilk akla gelen spektroskopi gibi hücresel veya doku seviyesinde görüntüleme teknikleri (Nourinovin ve diğ. 2022) olsa da bunların hücresel etkileşimlerinden yararlanılan biyolojik ve medikal uygulamalar (Sitniko ve diğ. 2022), (Ueno ve diğ. 2022), teknik alanda uygulanabilirliği arttıran gelişmelerle beraber daha da dikkat çekici olmaktadır (Wilmink ve Grundt 2012).



Şekil 1.7: a) Elektrik alan maruziyet parametreleri ve etkileri b) RE, ECT, IRE (Justesen ve diğ. 2022)

1.2.3 Darbeli (Pulsed) elektrik alan üretimi

Darbeli güç (pulsed power) teknoloji genel olarak biriktirilmiş enerjinin kısa sürede ani olarak salıverilmesi ile oluşan yoğun enerji atımlarının (impulse) oluşturduğu etkilerin kullanılmasını içerir. Günümüze kadar olan gelişmeler sayesinde yüksek tekrarlamaların yapılabilirdiği, etkin ve verimli üreteçlerin yapılabilirliği, PEF jeneratörlerinin canlı bilimlerinde kullanımını giderek arttırmaktadır. 2006 tarihli "Darbeli Güç Sistemleri (Pulsed Power Systems)" isimli manyetik güçten radyasyona farklı kaynakları ve yöntemleri değerlendirdiği kitabında Bluhm, uygulamalar başlığının altında darbeli elektrik alanlar (PEF) olarak bir alt başlık açarak bakteriyel dekontaminasyonu da değerlendirmiş olsa da kitabın genelinin, 'bakteriyel dekontaminasyon' da dahil olmak üzere endüstriyel uygulamalar üzerine kuruludur (Blum 2006). 2020 yılında bu konuda standardizasyon üzerine bir makale (Cvetkoskave diğ. 2020) yazılmış olsa da hem tıbbi kullanım alanlarının henüz hala üzerinde çalışılmakta olması nedeniyle kullanılan darbe/atım (puls) karakteristikleri ve uygulama yöntemleri gibi eğilimlerin değişmesi hem de nano teknoloji gibi teknolojideki diğer gelişmeler nedeniyle farklı topolojiler ve alternatifler üzerinde çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir. Örneğin, 2020 tarihli Elektro-Kalem (Electro-Pen) çalışması küçük ve pratik uygulama önerisiyle oldukça çarpıcı bir örnek olarak gösterilebilir (Byagathvalli ve diğ. 2020).

Söz konusu elektrik alan atımları (PEF) olduğundan elektrik enerjisini depolayabilen komponentleri, kapasitörler ve bobinler, akla gelmesi olağandır. Bu noktada bu komponentlerin temel matematik modellerini ve enerji eşitliklerini anımsatmak yerinde olacaktır.

İki iletkenin bir yalıtkanla ayrılmasıyla oluşan ve elektrik alan içeren kapasitörler için:

$$I = \frac{dQ}{dt} = C \frac{dV}{dt} \quad (1.7)$$

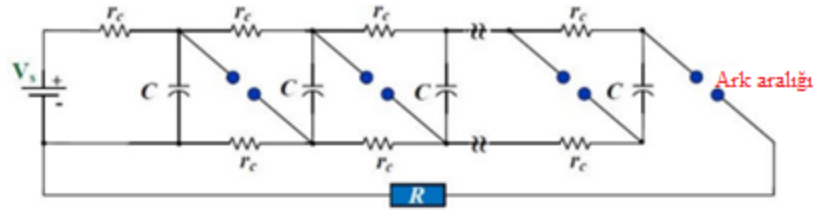
$$U = \frac{1}{2} CV^2 \quad (1.8)$$

En yaygın şekli selenoid sargılar olan ve üzerinden geçen akımın değişimi ile manyetik alan üreten indüktörler için:

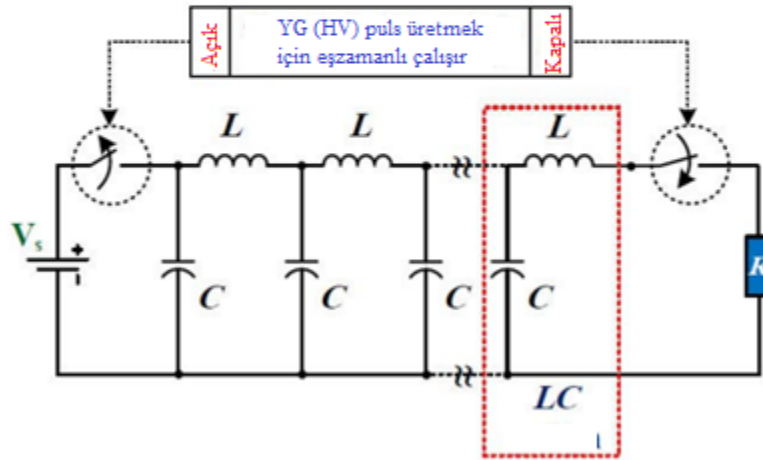
$$V = \frac{d\phi}{dt} = L \frac{dI}{dt} \quad (1.9)$$

$$U = \frac{1}{2} LI^2 \quad (1.10)$$

Marx jeneratörleri aralarında izolasyon empedansları ile paralel bağlanmış kapasitörlerin bu empedanslar üzerinden beslenerek şarj edilmesi ve uygun anahtarlama ile seri biçimde yükün üzerine kısa sürede boşaltılması prensibine dayanırken, yine konvansiyonel PEF jeneratörlerinden olan Blumlein jeneratörleri iletim hatlarının indüktif içerikli empedanslarından yararlanan puls oluşturan hatlar (PFL) sınıfına girmektedir (Schoenbach ve diğ. 2017).



a) Marx tipi darbe jeneratörü (PG)



b) PFN tipi darbe jeneratörü (PG)

Şekil 1.8: a) Marx ve b) PFN tipi Darbe Jeneratörü (Abadi ve diğ. 2022)

Klasik çözümlerden biri olan PFN (darbe oluşturan ağlar) ise arka arkaya kaskat bağlı LC bölümlerinde oluşur ve $t_p = 2N\sqrt{LC}$ darbe genişliği olan kare pulsar elde edilebilir (Abadi ve diğ. 2022). 1937'de Alan Blumlein tarafından önerilen Blumlein jeneratörleri ise iletim hatlarının (transmission line) empedans karakteristiğinden yararlanarak kareye yakın pulsar üretebilen yapıyı kullanır (Abadi

ve diğ. 2022). Kolb ve diğ. (2006), Blumlein konseptini kullanarak 10 nanosaniye puls genişliğine sahip 40kV'luk unipolar puls üretmiş ve bunu intraselüler manipülasyon deneylerinde kullanmışlardır.

Erwin Marx tarafından 1920'lerin başlarında tasarlanan Marx darbe jeneratörü şekilde de görülebildiği üzere, tek bir, V_s , kaynağı ile, r_c , şarj dirençleri üzerinden paralel şarj olan N adet kapasitörden oluşur ve V_s değerinin biraz üstüne ayarlı ark aralıklarının (spark gap) sağladığı sıralı bağlantı ile seri bağlı kapasitörler aracılığıyla $t_p=0.7RC/N$ darbe genişliği olan, RC yapısı nedeniyle eksponansiyel unipolar pulsar elde edilmesini sağlar, elbette $-V_s$ kaynağı ile beslenen negatif pulsar oluşturularak bipolar yapılar da tasarlanabilmektedir ancak klasik Marx jeneratörleri kompakt olmaktan uzaktır (Abadi ve diğ. 2022). Marx jeneratörleri, özellikle enerji depolama ve serbest bırakma iletim kontrolünde kullanılan ark aralıkları, anahtarlama elemanları gibi komponentlerin yapısı ve hantal formlarına rağmen tek atımlık ya da az tekrarlı atımlar üretmek üzere askeri alandan yüksek enerji fiziğine birçok alanda aktif olarak kullanılmıştır ancak daha yüksek frekanslar ve kullanım süreleri söz konusu olduğunda katı hal anahtarlama yapıları kullanıldığı güç elektroniği kapsamında değerlendirilebilecek tipleri de farklı tasarımlarla yaygın olarak karşımıza çıkmaktadırlar (Zhong ve diğ. 2021). 1960'lar sonunda geleneksel ark aralıkları yerine çığ tipi (avalanche) transistörlerin gerilim yüksekliği nedeniyle (overvoltage) teker teker sırayla çökmelerini (breakdown) kullanarak nanosaniyelik pulsar üretmek üzere önerilen tamamen katı hal temelli Marx jeneratörü çalışmaları benzeri uygulamalarla günümüzde daha sık ve uzun süreli puls gerekliliklerinde de sıklıkla başvurulmuş bir topoloji olarak kullanılmaya devam etmektedir (Zhong ve diğ. 2021). Ren ve diğ. (2021), çalışmalarında genellikle kapasitif enerji depolama prensibi ile paralel şarj seri deşarj prensipleri ile çalışan Marx jeneratörlerine indüktif enerji depolama yaklaşımı ile çalışmışlardır, bu ve bunun gibi farklı yaklaşımlar yalnızca teknik bir merak olmaktan çok giderek artan puls uygulamalarının gereksinimleri ve teknolojiye gelişmelerin doğal sonucudur.

Temel olarak aynı fenomene dayansa da birbirinden çok farklı uygulamalar için farklı kriterler, puls karakteristikleri ve çözümlerin karşılanması gereksiniminin yanında teknolojik gelişmelerin daha önce uygulanamaz topolojileri birbirinin yerine kullanmayı olanaklı hale getirmesi sonucu PEF üreteçlerinin çeşitliliği sınıflandırma

abalarına da yansımış bulunmaktadır. On yılı aşkın zaman önce yapılmış elektroporasyon jeneratörlerinde farklı konseptlerin avantaj ve dezavantajlarının değerdendirilmesinde, Reberšek ve Miklavčič (2011), elektrokemoterapi, elektrofüzyon (elektrobirleştirme), elektroinsersiyon (elektroekleme), pastörizasyon, doku ablasyonu, gen elektrotransfery, tek hücre veya organel elektroporasyonu gibi çok farklı modaliteden yalnızca bir kaçını sayarak gerekli puls genliğinin milivoltlar ile kilovoltlar, puls genişliğinin ise nanosaniyeler ile milisaniyeler arasında değışen çeşitliliğini örneklendirmiş ve daha sonra kapasitör deşarjı, kare dalga jeneratörü, analog jeneratör, Blumlein ve diyot açma jeneratörleri olarak sıraladığı konseptleri karşılaştırılmıştır. 2015 tarihli bir incelemede ise, Bernal ve diğ. (2015), klinik elektroporasyon için puls üretci (darbe jeneratörü) topolojileri trafo temelli, çoklu seviyeli (multilevel) ve rezonant olmak üzere üçe ayrılarak değerdendirilmiştir.

Tablo 1.2: Darbe üretci çeşitlerinden bazıları (Abadi ve diğ. 2022)

Elektroporasyon için Darbe Üreteçleri (EPG)	Klasik	Marx	
		Darbe Oluşturan Ağlar (PFN)	
		Blumlein	
			
	Güç Elektroniğı temelli	MMC temelli olmayan	SSM SMPS CDVM
		MMC Temelli	
		Karma(Hibrit)	Trafosuz Trafo izoleli •Nanokristalli •Rezonanlı Devre Şarjlı

Söz edilen çalışmalar ve tabloda da görüldüğü üzere sınıflandırmalar çeşitlendirilip daha fazla dallandırılabilir. Modalitelerin ve protokollerin çeşitliliğı de hesaba katıldığında bu alanda standardizasyon çabalarının henüz devam ettiğı açıktır ve bu yönde çalışmalar devam etmektedir, elbette bu çalışmalar burada değinilmemiş

olan elektrot ve uygulama haznesi çeşitliliğini de değerlendirmektedir (Cvetkoska ve diğ. 2020).

Bu noktada her ne kadar elektrotlar ve hazneler konusunun değerlendirilmeyeceğinden söz edilmiş olsa da farklı alanlarda görülen gelişmelerin olasılıkları çoğaltırken kriterleri ve gereksinimleri nasıl çeşitlendirdiğini göstermesi açısından mikrofluidik (mikroakışkan) uygulamalardan söz etmek yerinde olacaktır. Çok yakın bir geçmişte tek hücre ve organel elektroporasyonu biyoteknoloji çalışmalarının ve deneysel araştırmaların konusuyken, nanoteknoloji ve mikrofluidik alanındaki gelişmeler sonucu yaygınlaşmaktadır (Hur ve Chung 2021). Benzer şekilde yüksek frekanslı uygulamaların her geçen gün daha uygulanabilir hale gelmesi ile daha önce söz edilen nanosaniyelik puls genişliği alt sınırından bugün pikosaniyelerin değerlendirildiği çalışmalara gelinmiş bulunmaktadır (Zamponi ve diğ. 2021).

Sürekli artan bu çeşitlilik ve yarıiletken teknolojisindeki gelişmeler, modüler çoklu seviyeli konvertörleri (modular multilevel converters), ki bu çalışmada MMC'ler olarak geçecektir, daha ayrıntılı çalışılması gereken topolojiler arasında ön plana çıkarmaktadır. Dar puls genişliği, daha önce de belirtildiği üzere, uygulanan şiddetli elektrik alanının membranda bir değişikliğe yol açmadan hücre içine, ökaryotik hücreler için konuşacak olunursa organel membranlarına, etki edebilme olanağını sunmaktadır. Hızlı yapıdaki komponentlerin sağladığı düşük puls genişliğine avantajına eklenen MMC'lerin modüler yapıları, daha düşük gerilim seviyeleri kullanılarak yüksek gerilim seviyelerinin elde edilmesi ve istenilen puls şekilleri konusunda esneklik sağlamaktadır.

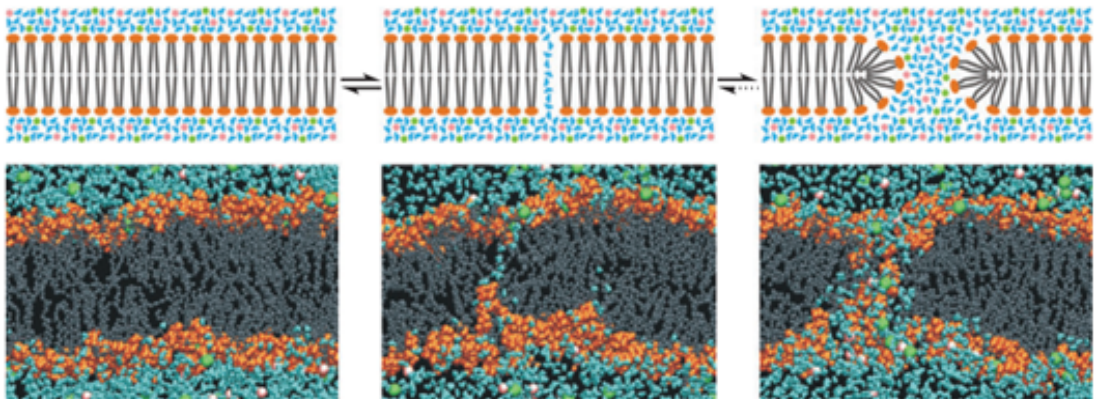
Bu tez çalışmasında yarım köprü altmodüllerle oluşturulan MMC temelli bir puls jeneratörü topolojisi, Elgenedy ve diğ. (2019), resistif ve biyolojik yük modelleri, Schoenbach ve diğ. (2002), Krishnaveni ve diğ. (2017), Ellappan ve Sundararajan (2005), kullanılarak simüle edilmiştir. Bir sonraki bölümde, hücre ve dokularda darbeleri (puslu) elektrik alan kullanımı üzerine teorik yaklaşımlara, sonrasında ise MMC'lere değinilmiştir. Yukarıdaki bölümlerde de aktarıldığı üzere membranın zaman sabitinde daha hızlı değişen yoğun pulsalar canlı biliminin temel yapısının iç dünyasına ulaşmak için yeni olanaklar sunmaktadır ve teknik ve teorik bütün gelişmelere rağmen her birimizi oluşturan hücrelerimiz hakkında henüz bildiklerimiz çok sınırlıdır. Çalışılan topolojinin yüksek frekanslarda değerlendirmesi ile farklı yapılarda ancak

mikrosaniyelerden dar (submicrosecond) genişlikli darbelerin oluşturulabilme olanağı araştırılmış böylece bu konudaki literatüre ve çalışmalara küçük de olsa bir katkı sunulması hedeflenmiştir. Bu nedenle benzetimler megahertzler düzeyinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonuçları ve gelecekteki olası yaklaşımlar sonuç bölümünde değerlendirilecektir.

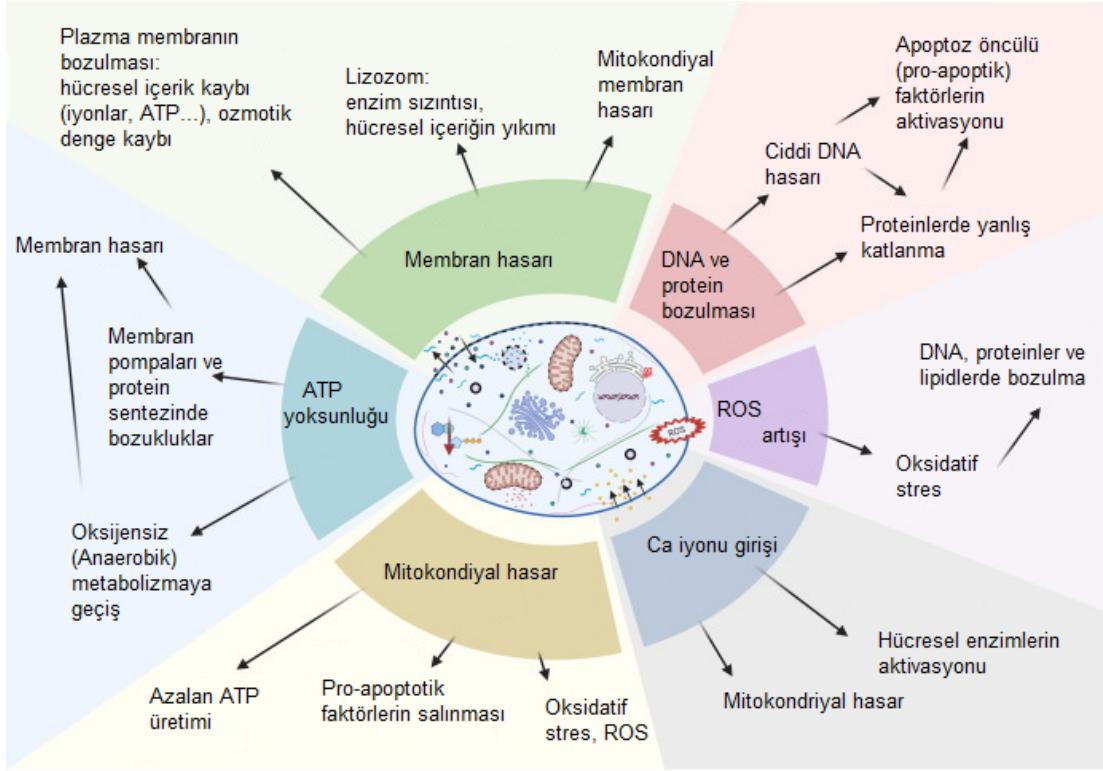
2. HÜCRE VE DOKULARDA DARBELİ ELEKTRİK ALAN (PEF) KULLANIMI

2.1 Elektrik Alan Hücre Etkileşimi

Daha önceki bölümlerde söz edildiği üzere geniş anlamda elektromanyetik alanın hücre ve doku etkileşimi ya da daha özeldir darbeli elektrik alanın, PEF, kullanımı bu bölümde detaylandırılacaktır. Şekil 2.1’de, yukarıdaki bantlarda, ideal moleküler şema stilize edilerek gösterilmiş, kuyrukları birbirine dönük çift sıra hidrokarbon membranı gösterirken, membranın üstünde ve altında kalacak şekilde gösterilen intraselüler ve ekstraselüler ortamlar birbiriyle aynı ve homojen olacak şekilde modellenmiştir; altta ise bu şemanın moleküler dinamik simülasyonu gösterilmektedir (Yarmushve diğ. 2014). Elektrik alan uygulaması sonrası önce hidrofobik kuyrukları geçen bir “su hattı” (water wire) oluşmuş ve daha sonrasında bu polar başların da yönelmesiyle “stabilize olarak” bir açıklığa (por) dönüşmüştür (Yarmush ve diğ. 2014). PEF kullanımına dair geçerli mekanizmaların hepsini kapsayan, geçerli bir model henüz oluşturulamamış olsa da fenomenin kendisi ve etkisi iyi çalışılmıştır ve giriş bölümündeki literatür incelemesinde de aktarılmış olduğu üzere gıdadan biyoteknolojiye, kozmetikten tıp ve cerrahiye birçok alanda kullanımı görülmektedir. Bu bölümde, bu kullanımlara örnekler verilmeden önce geçerli mekanizmalar ve modellemeler konusunda bilinen açıklamalara değinilecektir.



Şekil 2.1: Elektrik alan etkisiyle membranda por oluşumu modeli (Yarmush ve diğ. 2014)



Şekil 2.2: Elektroporasyon kaynaklı hücre ölümü mekanizmaları (Napotnikve diğ. 2021)

Geri dönüşümsüz uygulamalar için, öncelikle, Şekil 2.2’de gösterildiği üzere, yalnızca hücre ölümü söz konusu olduğunda bile ne kadar farklı mekanizmaların devreye girebildiğine göz atmak yerinde olacaktır. Temel olarak apoptoz, nekroz, piroptoz gibi farklı mekanizmalara sahip farklı hücre ölümü tiplerinin hepsinin elektroporasyon ile ilişkilendirildiği bazı çalışmalarda çeşitli mekanizmaların bahsi geçer, bu mekanizmalar (Napotnikve diğ. 2021)’de gösterildiği üzere membran bozulması, ATP yoksunluğu, mitokondriyal hasar, Ca^{2+} girişi, reaktif oksijen türleri (ROS) artışı, DNA ve protein bozulmaları olarak sıralanmıştır, elbette eklenebilecek farklı mekanizmalar olduğu gibi hepsi üzerindeki tartışmalar ve deneyler devam etmektedir. Söz konusu olan elektroporasyon olduğunda ilk akla gelen elbette membran bozulması olacaktır. Ancak daha sonra açıklanacağı üzere söz konusu olan yalnızca hücre zarının geri dönüşümlü olarak geçirgenliğinin artırılması ya da elektroporasyon sonucu hücre zarında geri dönüşümsüz rüptür (yırtıkların) oluşması değildir. Elbette elektroporasyon ile osmotik dengenin bozulması ya da daha ileri düzeyde parçalanmalar ile hücre içeriğinin kaybı ilk akla gelen sonuçlar olacaktır. Örneğin, yüksek frekanslı mikrosaniyelerden daha dar (submicrosecond) pulsların uygulanması sonucu hücre zarı sağlam kalırken mitokondri membranına hasar

verilebilir, bu ise hücrenin temel enerji molekülü ATP (adenozin trifosfat) eksikliği ile sonuçlandığı durumda hücre zarının iki yanındaki dengeyi sağlayan aktif pompa ve kapıların işlevini yerine getirememesi ve/veya anaerobik solunuma geçiş gibi sonuçlar doğurabilir (Napotnik ve diğ. 2021). Mitokondriyal hasar ATP yoksunluğu nedeniyle oksidatif stres ve ROS artışına yol açarak hücrenin dışarıyla etkileşimde önemli rol oynayan protein moleküllerinin denatürasyonuna, DNA sorunları nedeniyle yanlış katlanmış protein moleküllerine de yol açabilir (Napotnik ve diğ. 2021). Yüksek frekanslı dar pulslar mitokondriler yerine lizozomları hedef alırsa intraselüler yapının geri kalanından güvenli şekilde ayrılmış enzimatik içerikler sitoplazmaya yayılarak hücrenin kendi kendini sindirmesiyle sonuçlanabilir (Napotnik ve diğ. 2021). Geri dönüşümsüz yalnızca geçirgenliği arttıran bir tür elektroporasyon olarak tanımlanabilecek elektropermeabilizasyon yalnızca geçirgenliği arttırsa da örneğin önemli bir sinyal molekülü de olan Ca^{2+} iyonunca zengin bir ortamda bunu gerçekleştirdiğinde ise yine mitokondriyal hasar ya da hücresel enzimlerin aktivasyonu gibi hücreyi ölüme sürükleyebilecek şartlara neden olabilir (Napotnik ve diğ. 2021). Bu ve benzeri birçok olasılık elektroporasyon temelli modalitelerin çeşitliliğinin ve gerekli farklı protokollerin oluşmasının altında yatan nedenlerden yalnızca biridir

Giriş bölümünün başında da belirtildiği üzere hücre zarı temel olarak çift sıra lipid moleküllerinin hidrokarbon kuyrukları birbirine dönük olacak şekilde sırt sırta yerleştiği yarı akışkan bir yapıdır. Yine daha önce söz edildiği üzere, hücreyi dış ortamdan ayıran bu sınır yapının üzerinden osmoz, difüzyon gibi çeşitli mekanizmaların yanı sıra, enerji kullanımı gerektiren aktif pompalar, sinyal kontrollü kapılarla geçişler, başka bir deyişle çeşitli sınır kapıları, bulunmaktadır. Elektrik alanın hücre zarı üzerine etkisini modellerken hidrodinamik model, viskohidroeleastik model, faz değişimi (phase transition) mod, alan-arayüz yıkım (domain-interface breakdown) modeli gibi yaklaşımların yanı sıra su geçitleri oluşumu (aqueous pore formation) modeli gibi yaklaşımlar bulunmaktadır (Markov 2010) Modelleme çalışmaları membranı geçirgen ve geçirgen olmayan halleri ile gerçekçi olarak tanımlayabilme, puls parametrelerinin geçit (pore / por) oluşumuna etkisi, bu oluşumların permeabilizasyonda belirgin bir etki göstermesi için indüklenmesi gereken TMV değerini belirleme ve elbette oluşan değişikliklerin geri dönüşümsüz olacağı kritik değeri belirleme gibi hedeflerle yapılmaktadır (Markov 2010). Stokastik

olarak ise lipid moleküllerinin oluşturduğu yapıda oluşan küçük boşlukların (pore) oluşma sıklığı ve çapları dikkate alınır (Weaver ve Chizmadzhev 1996). Burada değerlendirilecek olan su geçitleri oluşumu (aköz por formasyonu) modellemesi PEF uygulamaları sonucu oluşan elektroporasyonu lipid çift katmanında oluşan geçici (transient) su geçitleri (aqueous pore) ile açıklarken, elektrik alanın bu moleküllerin polar başlarını etkileyerek hidrofilik geçitler oluşturmaya odaklanır (Markov 2010). Ayrıca, membranın iki yanında bulunan su moleküllerinin güçlü etkileşimler sonucu olarak membrana doğru oluşturdukları küçük çıkıntıların spontan nanoporlar (nano açıklıklar) temel alınır (Aycock ve Davalos 2019). Yapılan açıklamalar uygulanan eksojen (dış) etki (elektrik alan darbeleri) ile aktivasyon enerjisi düşen akuapor (su geçişleri) oluşumunun stokastik olarak artışı matematiksel olarak modeller (Aycock ve Davalos 2019). Elbette kullanım yöntemi ve alanı bu kadar çeşitli olan bir fenomen için farklı modeller, açıklamalar ve yaklaşımlar da bulunmaktadır (Voyer ve diğ. 2018), (Krassowskave Filev 2007), (Goldberg ve diğ. 2018). Burada modellerin hepsine değinilmesi olası görünmemektedir ancak elektrik alan altında membranın davranışına dair en sık başvuru matematiksel modeli ayrıntılandırmadan önce burada hücrenin elektrik alan etkisinde gösterdiği reolojik yanıtların da çeşitli çalışmalarla araştırıldığından söz etmeden geçmek konuya yaklaşımı eksik bırakma riski taşımaktadır. Aguilarve diğ. (2021), sitoplazma ve hücre dışının viskoz olmayan membranın ise elastik ve viskoz tanımlandığı bu modelde oluşan kesme (shear) ve izotropik stres yüklerini elektrik ve geometrik parametrelerle ilişkilendirir glioblastoma için verdiği olumlu sonuçlarla çeken TTFields (Tumor Treating Fields)'ın çalışma aralığı (100-400kHz) ile bioelektroreolojik etkilerin çakıştığını aktarır.

Daha önceki bölümlerde belirtildiği üzere proliferatif olmayan sağlıklı hücrelerin TMV değerleri hücre içi hücre dışına göre daha negatif olacak şekilde yaklaşık olarak $- (0,01-0,1)$ volt aralığında değişmektedir. Hücre üzerine elektrik alan uygulanması durumunda membran üzerinde oluşan potansiyel değişimi (indüklenen gerilim ITMV), $\Delta\Psi_m$, membranın pozisyonuna ve uygulana alanın şiddetine göre değişecektir (Yano ve diğ. 2017). Bir hücrenin iki elektrot arasına yerleştirilerek step (adım) fonksiyonu şeklinde elektrik alan uygulanması durumunda, elektrodlar arasında oluşan elektrik alan öncelikle su ve lipid moleküllerinin baş kısımları ve bazı proteinler gibi dipolar molekülleri polarize ederek döndürme etkisi yapacaktır (Yano

ve diğ. 2017). Zar arayüzündeki dipol moleküllerin polarizasyonu indüklenen gerilimi arttıracaktır (Yano ve diğ. 2017). Ayrıca yüklü iyon ve moleküllerin elektroforetik güçlerin etkisiyle membranın iç ve dış tarafında yer değiştirmeleri de bu sürece katkıda bulunacaktır (Yano ve diğ. 2017). Su moleküllerinin depolarizasyon süresi saf su içinde 8ps iken membran yüzeyinde 100ps'lere, lipid moleküllerinin baş kısımları nanosaniyeler civarındayken proteinler için bu süre 100 nanosaniyeleri bulmaktadır; elektroforetik kuvvetlerin etkisi de hücre büyüklüğüne çözeltilerin iletkenliğine göre değişmektedir (Yano ve diğ. 2017). Bu durumda fizyolojik sıvı içindeki bir hücrenin membranını tam şarj etmek için geçen süre mikrosaniyeler sürecektir (Yano ve diğ. 2017). Hücre zarının şarj olmaya devam ettiği süreç boyunca hücre içini koruyan bir zırh görevi göremeyeceği için ve membranın iç kısmı da elektrik alana maruz kalarak organel zarları da benzer süreçleri geçirecektir (Yano ve diğ. 2017). Hücre zarı tamamen şarj olarak kararlı duruma geçtiğinde, $\Delta\Psi_m$ ulaşarak, bir zırh gibi davranacak ve hücrenin iç kısmını elektrik alan maruziyetinden koruyacaktır (Yano ve diğ. 2017). Bu süreç Yano ve diğ. (2017)'de matematiksel olarak şöyle ifade edilmiştir:

$$\nabla \left[\left(\sigma + \varepsilon \frac{\partial}{\partial t} \right) \nabla \Psi(x, y, z, t) \right] = 0 \quad (2.1)$$

Bu eşitlikte σ iletkenliği, ε dielektrik permitiviteyi ifade eder ve değişken sinüs ya da herhangi tip puls uygulamaları için Laplace dönüşümü ile çözülebilir (K.Yano, 2017). Dışarıdan uygulanan mikro saniyeden çok daha geniş puls genişlikli düşük frekanslı uygulamalar için dengeli durumda membran üzerinde indüklenen gerilim için şu şekilde tanımlanır, (Aycock ve Davalos 2019):

$$\Delta\Psi_m(r, \theta) = \Delta\Psi_m(R_c, \theta) - \Delta\Psi_m(R_c + h, \theta) = f_s E R_c \cos \theta \quad (2.2)$$

Bu eşitlikte E uygulanan homojen elektrik alanın büyüklüğü, θ , elektrik alanın normal vektörü ile membran üzerinde indüklenen değişiminin hesaplandığı kısım arasındaki açıyı gösterirken, f_s her bir komponentin elektriksel özelliklerini ilişkilendirir:

$$f_s = \frac{3\sigma_e [3hR_c^2\sigma_i + (3h^2R_c - h^3)(\sigma_m - \sigma_i)]}{2R_c^3(\sigma_m - 2\sigma_e) \left(\sigma_m - \frac{1}{2}\sigma_i \right) - 2(R_c - h)^3(\sigma_e - \sigma_m)(\sigma_i - \sigma_m)} \quad (2.3)$$

Bu eşitlikte σ_i , σ_m ve σ_e sırasıyla sitozol, membran ve ekstraselüler sıvının iletkenliğini temsil etmektedir (Aycock ve Davalos 2019).

Dengeli hale geçiş süreci (transient) için ise lipid çift katmanın (bilayer) dielektrik geçirgenliği (permittivite) de dikkate alınır ve genellikle:

$$\Delta\Psi_m(r,\theta,t) = f_s E R \cos\theta \left(1 - e^{-t/\tau_m}\right) \quad (2.4)$$

eşitliği ile tanımlanır. Ancak bu eşitlikte membranın iki yanındaki hücre içi ve dışı sıvıların permittiviteleri ihmal edilmiştir, ayrıca bu frekansı 1 MHz'in altında sinüs dalgaları ve puls genişliği 1 μ s'den büyük kare (dikdörtgensel, yoğun şiddetli) dalgalar için geçerlidir.

Membranın zaman sabiti (Aycock ve Davalos 2019):

$$\tau_m = \frac{R_c \epsilon_m}{2h \left(\frac{\sigma_i \sigma_e}{\sigma_i + \sigma_e} \right) + R_c \sigma_m} \quad (2.5)$$

In vitro uygulamalar için lipid çift katmanın tamamen yalıtkan ($\sigma_m \approx 0$) olduğu varsayılarak f_s genellikle 1,5 alınır. (Aycock ve Davalos 2019) Bu durumda elde edilen indüklenen gerilimi elektrik ile yapılan açı ($\cos\theta$), hücrenin büyüklüğü(r), ve elektrik alanın şiddeti ile ilişkilendiren ünlü Schwann denklemi elde edilir:

$$\Delta\Psi_m = -1,5 r E \cos\theta \quad (2.6)$$

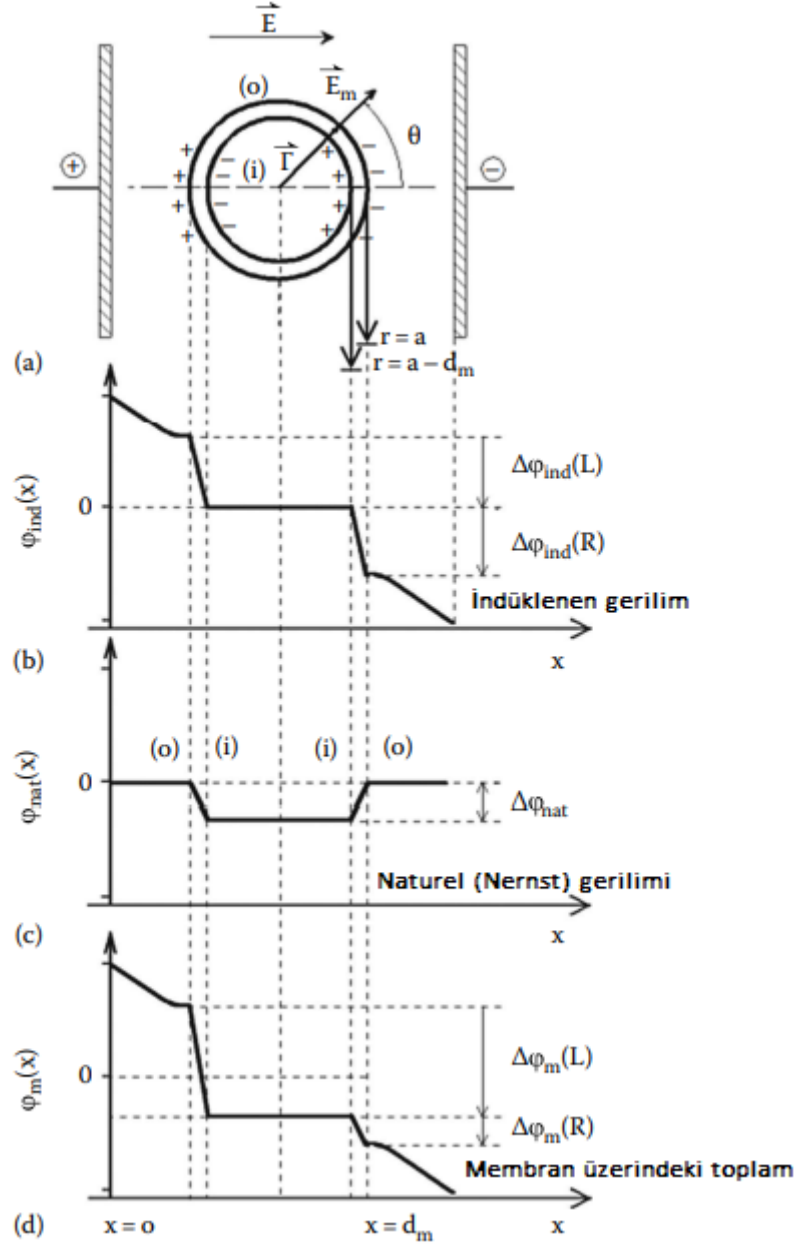
Schwann denklemi hücre zarında oluşan gerilim farkını doğrudan hücre büyüklüğüne bağladığı gibi eşik değerini geçmek için gerekli kritik elektrik alan değerinin de dairesel bir hücrenin yarı çapı ile ters orantılı olarak ilişkilendirir (Mercadal ve diğ. 2016):

$$E_c = 2TMV/3R \cos\theta \quad (2.7)$$

Şekil 2.3'te doğal iyon dağılımı nedeniyle sahip olduğu Nernst gerilimi, Ψ_m ile gösterilmiş küresel homojen bir kabuk olarak modellenmiş membrana dışarıdan yine homojen bir elektrik alan uygulanması sonucu oluşan polarizasyon ve membran potansiyeli değişimi gösterilmiştir (Neumann ve Kakorin 2010). Bu noktada Nernst geriliminin ne olduğunu hatırlamak yerinde olacaktır.

$$\Psi_m = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[X]_{out}}{[X]_{in}} \quad (2.8)$$

Bu eşitlikte $R=8.314 \text{ JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$ (gaz sabiti), $F=96,485 \text{ C.mol}^{-1}$ ve T sıcaklıktır (K°). $[X]_{out}$ ve $[X]_{in}$ membranın içi ve dışındaki herhangi bir iyonun konsantrasyonunu gösterirken, z pozitif veya negatif yükü göstermektedir ve her iyonun dinlenme (resting) membran potansiyeline katkısını hesaplamakta kullanılır. Ancak bu formülasyon oldukça sınırlı bir model sunmakta yaklaşık bir sonuç vermektedir.



Şekil 2.3: Dış elektrik alana maruz bırakılmış küresel membran (Neumannve Kakorin 2010)

Ancak bu ilişkinin en azından Schwann eşitliğinde gösterildiği kadar belirgin gözlemlenemediği deneysel çalışmaların da bulunduğu bildirilmiş olması Mercadal ve diğ. (2016), ve buna benzer bazı model deney uyumsuzlukları bu konuda modelleme çabalarımızın ötesinde bazı açıklamalara çıkacak yeni deneyler gerektiğini göstermektedir.

Tipik bir darbe (puls) uygulaması sonrasında tek bir hücrenin membranında görülen geçirgenlik artışının aşamalarını değerlendirmek oldukça açıklayıcı olacaktır. Aşağıdaki Tablo 2.1’de de söz edildiği üzere temel şart uygulanan elektrik alan sonucu oluşan TMV’nin belli bir kritik eşiği aşmasıdır. Eğer uygulanan darbe (puls) genişliği hücre membranının tepki sürelerinden daha dar ancak yeterince güçlü ise bu durumda hücre içi organellere ve/veya onların membranlarına etki edebilmektedir (Kotnik ve diğ.2019).

Tablo 2.1: Elektroporabilizasyon aşamaları (Kotnik ve diğ. 2019)

Aşama	Süre
<u>Başlama:</u> TMV belli bir kritik değeri aştığında membranın iletkenliği ve geçirgenliği belirgin şekilde artar	İletkenlik (Nanosaniyeler) Geçirgenlik (Mikrosaniyeler)
<u>Genişleme:</u> TMV kritik değerin üstünde kaldığı sürece iletkenlik ve geçirgenlik ya kendini korur ya da güçlenir	Uygulanan pulsun sonuna kadar (milisaniyeler)
<u>Kısmi toparlanma:</u> TMV kritik değerin altına düştüğü anda membran iletkenliği ve geçirgenliği de belirgin şekilde düşer ancak tamamen eski haline gelmez	İletkenlik (Mikrosaniyeler) Geçirgenlik (Milisaniyeler)
<u>Tekrar kapanma:</u> Eğer geri dönüşümsüz hasar oluşmamışsa membran kendi fizyolojik geçirmezlik seviyesine geri döner	(~20-37 C°) saniyeler ya da dakikalar (~4 C°) saatler
<u>Hafıza:</u> Tam kapanma sonrası bile hücre fizyolojik süreçlerinde farklılıklar dalgalanmalar gösterebilir, stressörlere tepki verebilir	Saatler

2.2 Canlı Bilimlerinde PEF Kullanım Alanları

2015 yılında ilki gerçekleşen biyoloji, tıp ile gıda ve çevre teknolojilerinde üzerine elektroporasyon ve darbeleri elektrik alanı hakkında dünya kongresinin, “WC2015 1st World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Fields in Biology, Medicine and Food & Environmental Technologies”, bildiri başlıklarına

genel olarak bakıldığında ilk dikkati çeken gıda ve biyokütle işleme uygulamaları, çevre teknolojileri, klinik uygulamalar gibi başlıklar olsa da bu çalışmada darbeli elektrik alan kullanım alanları için aşağıdaki alt başlıklar altında değerlendirilecektir (Jarm ve Kramar 2016).

2.2.1 Gıda Endüstrisi

Gıda endüstrisinde katı ve sıvı gıdalarda bakterisidal ya da fungisidal benzeri antimikrobiyal amaçlarla elektrik alan kullanımı ilk akla gelen olsa da biyokütlelerin çeşitli fitoiçerikler, fenolik bileşikler benzeri çeşitli muhteviyatın ekstraksiyonu ile algler gibi tek hücrelilerden besinsel içerikler ve hatta biyoyakıt çıkarma gibi işlemlerde kullanılmaktadır (Vorobiev ve Lebovka, 2020).

2.2.2 Çevre Teknolojileri

Yukarıdaki başlık altında sözü geçen biyoyakıt üretimi, ya da orman ürünlerinde yüksek değerli içeriklerin ekstraksiyonu yanında, özellikle atık su işleme tesislerinde antibakteriyel etki amacıyla kullanılabilmektedir (Vorobiev ve Lebovka, 2020), (Jarm ve Kramar 2016).

2.2.3 Biyoteknoloji

Aşı üretiminden, doku teknolojilerine ya da genetik çalışmalarına çeşitli biyoteknoloji uygulamalarında farklı ticari ve/veya deneysel uygulamalarla karşımıza çıkmaktadır (Jarm ve Kramar 2016), (Lynch ve Davey 2012).

2.2.4 Klinik uygulamalar

Veteriner sağlık ya da tıp uygulamalarında geri dönüşümsüz elektroporasyon (IRE) uygulamaları söz konusu olduğunda ilk akla gelen tümör ablasyonu ya da elektrokemoterapi gibi kanser tedavileri olsa da (Meijerink ve diğ. 2018), yara

iyileşmesi, farklı doku uyartımları, embriyoloji ve çeşitli laboratuvar uygulamalarında sıklıkla karşımıza çıkmaktadır (Pakhomov ve diğ. 2010), (Markov ve diğ. 2020).

Kullanım alanları elbette bunlarla sınırlı değildir, bunların yanında giriş bölümünde ancak küçük bir kısmından söz edilebilen deneysel çalışmalar da bulunmaktadır. Bu farklı modaliteler ve protokollerin hepsi için çok geniş aralıklarda tanımlanmış farklı puls parametreleri gerekebilmektedir. Özellikle deneysel çalışmalar söz konusu olduğunda bir ya da birkaç modalite ya da belirli protokoller için tasarlanmış ticari puls jeneratörlerinin sundukları seçenekleri kısıtlı kalabilmektedir. Bu nedenle bu alanda sıklıkla yeni tip puls jeneratörü tasarımları, bilindik topolojilerin farklı kullanımları gibi tasarımlar görülebilmektedir.

Giriş bölümünde de ayrıntılı şekilde anlatıldığı üzere puls jeneratörlerinde görülen, Marx tipi gibi klasik yaklaşımların ve Tablo 1.2’de gösterilen sınıflandırmada sözü edilenlerin dışında da çok çeşitli yaklaşımlar ve topolojilerle farklı klasifikasyonların yapılabilmesine olanak tanıyan çeşitlilik, biraz da çalışmaların ve gerekliliklerin çok yönlülüğünden kaynaklanmaktadır. Özellikle deneysel çalışmalar için değişken puls parametreleri uygulayabilmek önemlidir. Bir sonraki bölümde değerlendirilecek olan çok seviyeli modüler konvertörler (MMC) bu alanda sahip oldukları esneklik ve düşük gerilim seviyelerinden yüksek gerilim seviyeleri elde edebilme benzeri avantajları ile yeni çalışmalara yapmaya uygun görünmektedir.

3. ÇOK SEVİYELİ MODÜLER KONVERTÖRLERE (MMC) VE TÜRLERİ

3.1 MMC Tipi Konvertörlere Genel Bakış

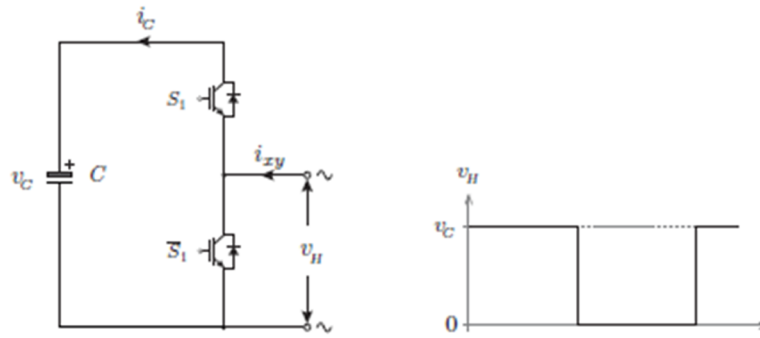
MMC'ler 2000'lerin başında Alman patentiyle öne sürüldükten hemen sonra yoğun ilgi görerek üzerinde birçok çalışma yapılmış bunun sonucu olarak günümüzde Çin, Avrupa ve ABD gibi birçok yerde HVDC (Doğru akım yüksek gerilim) iletim hatlarının uygulanmasında kullanılmıştır (Perezve diğ. 2021). Yüksek gerilim iletim hatları dışında orta gerilim doğru akım iletiminde, motor sürücülerde, DC-DC konvertörlerinde, enerji depolama ya da (statik senkronize kompansatörler) gibi güç kalitesi geliştirme uygulamalarında ve elbette yüksek gerilim darbe üreteçlerinde farklı özellikli topolojilerle kullanılmakta ve yeni topolojiler üzerinde halen çalışılmaktadır (Du ve diğ.2018), (Perez ve diğ. 2021). Modüler olması, çok seviyeli çıkışa olanak sağlaması, düşük gerilim kapasiteli komponentlerden oluşan alt modülleriyle yüksek gerilimler elde etmeye olanak tanınması (Perez ve diğ. 2021) gibi avantajlarının yanı sıra, izole DC kaynak ve trafo gibi ihtiyaçları da elimine etmesi (Du ve diğ. 2018) nedeniyle MMC'ler tıp, veteriner hekimlik, biyoteknoloji gibi canlı bilimleri uygulamaları için iyi bir topolojik seçenek sunmaktadırlar. Genellikle bir DC kapasitör ve anahtarlardan oluşan çok çeşitli alt modül konfigürasyonları bulunabilmektedir (Du ve diğ. 2018).

3.2 MMC Altmodül Türleri

İki anahtar ve bir kapasitörden oluşan yarım köprü ve dört anahtar ve bir kapasitörden oluşan tam köprü en temel alt modülleri oluştururken bunların dışında yine dört anahtarlı ancak iki kapasitör sayısı ile tek modülde çoklu seviye(multilevel) operasyon olanağı sunan değişen (flying) kapasitörlü ve sıralı / kaskat (cascaded) yarım köprülü alt modüller veya iki tane birbirinin aynı yarım köprü alt modülün iki blokaj diyotuyla birbirine bağlandığı çifte engelli (clamp (klampaj)) altmodül gibi çeşitli alternatif konfigürasyonlar sayılabilir (Du ve diğ. 2018). Ayrıca çifte sıfır (double zero) gibi farklı alt modül konfigürasyonları (Marquardt 2018) olduğu gibi

yıldız kanallı, üçgen kanallı, değişken kollu, tek kollu, trafolu gibi farklı topolojileri de bulunmaktadır (Marquardt 2018). Bu bölümde tam köprü ve yarım köprü altmodül çeşitlerine değinilecek ve daha sonra dört yarım köprü kullanılarak oluşturulan topoloji genel olarak değerlendirilecektir.

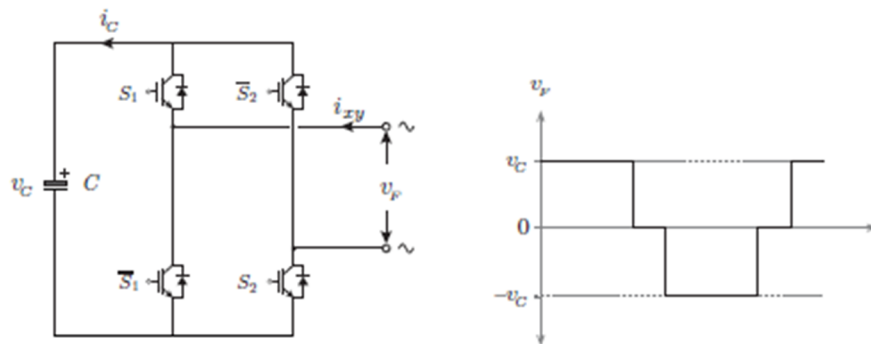
3.2.1 Yarım köprü



Şekil 3.1: Yarım köprü ve çıkış gerilimi (Du ve diğ. 2018)

Kıyıcı (chopper) hücre (cell) olarak da bilinen yarım köprü birbirine komplementer olarak çalışan iki anahtar ve bir DC kapasitörden oluşur

3.2.2 Tam Köprü

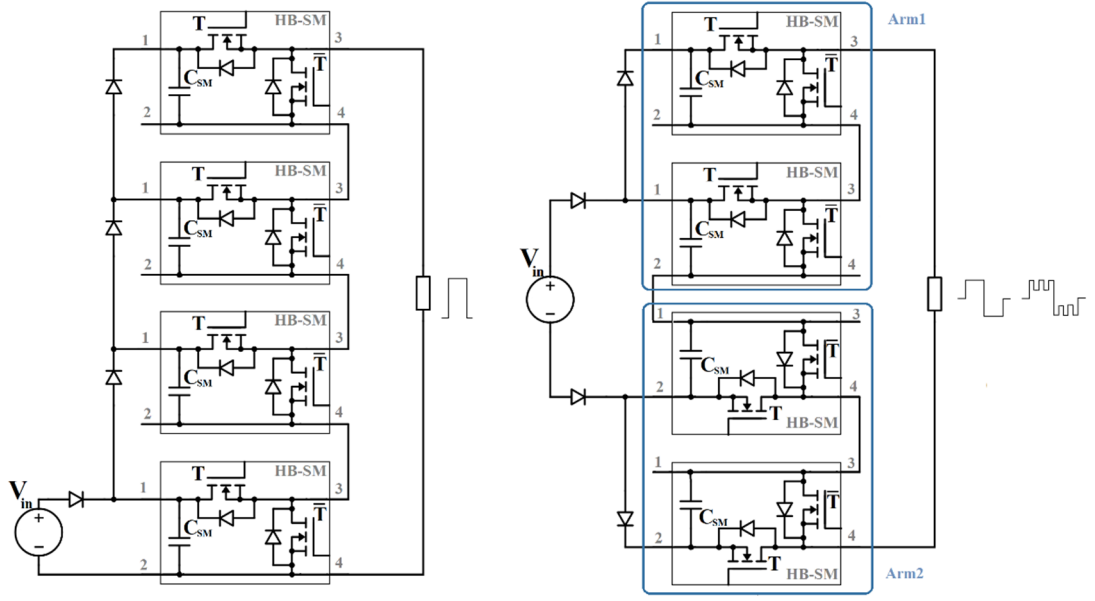


Şekil 3.2: Tam köprü ve çıkış gerilimi (Du ve diğ. 2018)

H köprü olarak da bilinen tam köprüde ise yine birbirine komplementer olarak çalışan iki anahtarın oluşturduğu iki yarım köprü kol ve bir DC kapasitör bulunur.

3.3 Dört Yarım Köprü Kullanılarak Oluşturulmuş Modüler Çok Seviyeli Topolojiye Genel Bakış

Bu çalışmada kullanılan topoloji (Elgenedy ve diğ. 2019)'nin ilgili çalışmasından uyarlanmıştır. Dört yarım köprü ile oluşturulan bu iki farklı şemada alt modüllerin devreye girip çıkmasıyla oluşturulabilecek bazı temel şekiller aşağıdaki şekilde görülebilmektedir.



Şekil 3.3: Bu çalışmada değerlendirilen alt modüllerle oluşturulan iki farklı üreteç (Eski ve Çetin 2022)

Tek taraflı olarak dört modülün arka arkaya sıralanarak yükü beslediği soldaki yerleşimde alt modül kapasitörlerinin senkronize bir şekilde yükü beslemek üzere devreye alınması ve devreden çıkarılması ile her bir alt modül kapasitörünün eşit olarak eklenerek dalga genliğini oluşturduğu, $4*V_{CSM}$, genlikli tek kutuplu kare dalganın (unipolar rectangular) yanında sıralı devreye girme şekilleri ile tek kutuplu (unipolar) testere dişi (sawtooth) gibi farklı dalga şekillerini elde etmek mümkünken, solda yüke ve besleme gerilimine göre simetri yerleşmiş iki kola ayrılmış yapı ile her bir koldaki alt modül kapasitörlerinin katılımı ile elde edilen soldakine göre yarı genlikli, $4* V_{CSM}$, ancak çift kutuplu dalgalar elde etmek mümkündür.

Bu noktada daha ayrıntılı bir inceleme yapmadan önce temel çalışma prensiplerini değerlendirmek yerinde olacaktır. Komplementer olarak çalışan iki anahtar (T ve $\bar{T}$) ile bir alt modül kapasitöründen (C_{SM}) oluşan her bir alt modül şarj/besleme akımını ilgili alt modüle yönlendiren ve geri beslemenin yol açabileceği sorunları engelleyen diyotlar (D/B (directing/blocking)) aracılığıyla birbirlerine ve besleme gerilimine bağlıdırlar. Aynı anda kesinlikle devreye girmemesi gereken alt modül anahtarlarının devreye girip çıkmalarıyla alt modül kapasitörünün üzerinde birikmiş olan enerji yüke aktarılır ya da devre dışı kalır. T anahtarı ON ve $\bar{T}$ OFF konumundayken ilgili modül devreye girerken tersi durumda bypass edilerek devre dışı kalmaktadır. Bu çalışma kapsamında kapasitörlerin önceden tam yüklenmiş olarak devreye alındığının altını çizmek yerinde olacaktır. Besleme kaynağına uzak olan kapasitörler her zaman iç taraftakilerden önce devre dışı kalmaktadırlar. Bu çalışma kapsamında sınırlı sayıda alt modül kullanıldığı için keskin geçişli dalga şekilleri tercih edilmekte olduğundan bu şart ciddi bir kısıtlamaya neden olmamaktadır.

Tablo 3.1: Dört alt modüllü şema için bipolar multipuls üretimi ve anahtarlama (Eski ve Çetin 2022)

BİPOLAR MULTİPULS DALGA ÜRETİMİ				
	Kollar			
	Kol 1		Kol 2	
	Altmodüller			
	SM1	SM2	SM3	SM4
Pozitif Pulslar	Devrede	Devrede	Devre dışı	Devre dışı
				Devrede
				Devre dışı
				Devrede
				Devre dışı
				Devrede
Negatif Pulslar	Devre dışı	Devre dışı	Devrede	Devrede
	Devrede			
	Devre dışı			
	Devrede			
	Devre dışı			
	Devrede			

Tablo 3.2: Dört alt modüllü şema için bipolar dikdörtgen puls üretimi ve anahtarlama (Eski ve Çetin 2022)

BİPOLAR KARE (DİKDÖRTGEN) DALGA ÜRETİMİ		
	<i>Anahtarlama</i>	
	<i>Kol 1</i>	<i>Kol 2</i>
Pozitif Puls (Darbe)	$T 1$ ON ve $\bar{T}1$ OFF Altmodül1 devrede	$T 3$ OFF ve $\bar{T}3$ ON Altmodül3 devre dışı
	$T 2$ ON ve $\bar{T}2$ OFF Altmodül2 devrede	$T 4$ OFF ve $\bar{T}4$ ON Altmodül4 devre dışı
Negatif Puls (Darbe)	$T 1$ OFF ve $\bar{T}1$ ON Altmodül 1 devre dışı	$T 3$ ON ve $\bar{T}4$ OFF Altmodül3 devrede
	$T 2$ OFF ve $\bar{T}2$ ON Altmodül 2 devre dışı	$T 4$ ON ve $\bar{T}4$ OFF Altmodül4 devrede

3.3.1 Yarım köprü alt modüller ile oluşturulan altmodüllerin çalışması ve analizi

Bu bölümde alt modüllerin devreye girmesi ile yüke enerji aktarımı ve çalışma süresince gerçekleşen paralel şarj devrelerindeki temel sürecin analizi yapılacaktır.

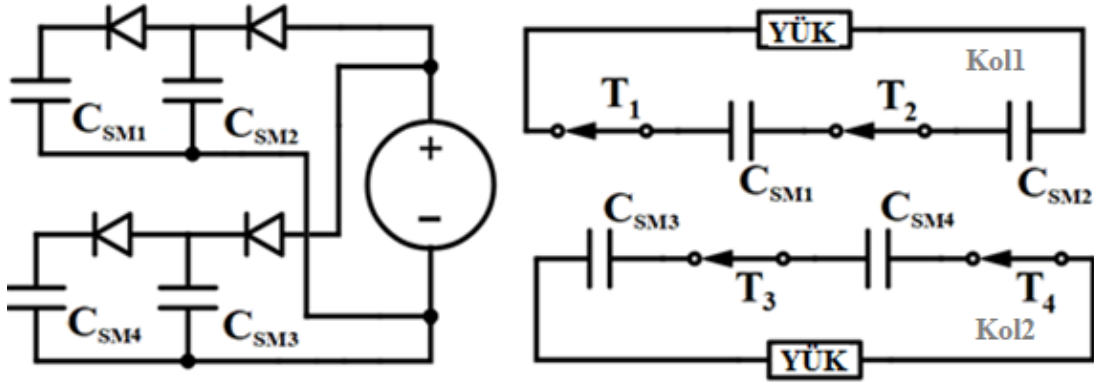
Her ne kadar topoloji çalışması alt modül kapasitörleri tam dolu olarak başlayacak şekilde tasarlanmış olsa da yüke aktarılan enerji sonrası gerekli şarj süreci aşağıdaki şeklin sağ tarafında görüldüğü üzere diyotların yönlendirmesinde gerçekleşen paralel kapasitör devrelerinin şarjı şeklinde gerçekleşmektedir.

$$C_{eq} = NC_{SM} \quad (3.1)$$

Şarj devresinde ise oluşturulabilecek her farklı puls şekli için değerlendirilmesi gereken farklı alt modül katılımları yerine alt ve üst kolların tam besleme hali olan en

yüksek genlik hali değerlendirilecektir. Şeklin sağ tarafında ilgili şekiller görülebilmektedir.

$$C_{eq} = C_{SM} / N \quad (3.2)$$



Şekil 3.4: Şarj ve deşarj devreleri (Eski ve Çetin 2022)

Deşarj, yani yükün üzerine enerji aktarımı ile puls oluşturulması durumunda, yükün salt direnç olduğu durumlar dikkate alınacak olursa bir RC devresi oluşacaktır. Eşlenik kapasitenin, C_{eq} , ve R yük için geçerli eşitlik:

$$v(t) = V_0 e^{-t/RC_{eq}} \quad (3.3)$$

Bu eşitlikte yükün değerini oluşturan direncin ideal olduğu ve frekansla ya da benzeri devre koşulları ile değişmediği ve ideal bir DC besleme varsayıldığında devrenin zaman dışında puls oluşumuna katılan, C_{eq} , parametresindeki değişikliklerin dikkate alınabileceği unutulmamalıdır.

Burada C_{eq} için en küçük değeri oluşturan alt ya da üst modülün tam katılımı için oluşan şeklin sağ tarafında görülebilecek devre değerlendirildiğinde, $C_{SM}/2$ değeri için zaman sabiti, τ , şu formülle hesaplanacaktır:

$$\tau = RC_{eq} = RC_{SM}/2 \quad (3.4)$$

Bu noktada kapasitif reaktansın frekansla ters orantılı olarak değiştiğinin altının çizilmesi yerinde olacaktır.

$$v(t) = X_C = 1/2\pi fC \quad (3.5)$$

3.3.2 Tasarım kriterleri ve ilgili değerlendirmeler

Oluşturulan topolojinin farklı şartlardaki biyolojik yükler için geniş bir frekans aralığında ama özellikle yüksek frekanslarda yapılacak deneyleri destekleyebilmesi hedeflenmektedir. Yapılan ön çalışmalar sırasında incelenen protokoller her ne kadar farklı karakteristikte dalga uygulamaları içerse genel bir çerçeve oluşturmak için alt modüldeki FET (Field Effect Transistors)'ler ve diyotlardan oluşan anahtarlama elemanları gibi yüksek frekanslı çalışmaya uygun, alt modül kapasitörleri seçilmiştir.

Temel kriter puls genişliğine denk gelen zaman aralığında yüke aktarılacak enerjinin altmodül kapasitelerinden karşılanabilmesidir. Bir alt modül kapasitörünün enerjisi, U_{SM} , eşitlik 1.18 kullanılarak uyarlanılabilir:

$$U_{SM} = 1/2C_{SM}V_{SM}^2 \quad (3.6)$$

Altmodüllerin her birinin üzerindeki bu enerji, puls süresince yükü besleyebilmelidir. Bu değer belirlenirken altmodül kapasitörlerinin resistif yük ile beraber oluşturduğu RC devre ve kapasitör ve resistif yükün oluşturduğu devrenin zaman sabitini, τ , veren formül 3.4 de dikkate alınır. Farklı frekanslar ve puls genişliklerinin zaman sabiti ile ilişkili etkileşimi de kontrol edilmelidir.

Resistif yük seçimi için kullanılacak biyolojik yük, uygulama şekli ve ortamı gibi değişkenler belli olmadığı için laboratuvar ortamında kullanılan sinyal jeneratörlerinde ve RF devrelerinde terminasyon (sonlandırma) direnci olarak kullanılan 50 Ω değeri model yük (dummy load) olarak seçilmiştir. Yine uygulama ortamı ve numunenin karakteristiği hatta elektrot seçimine bağlı değişkenler öngörülemediği için simülasyonlarda daha önce yapılmış çalışmalardan uyarlanmış biyolojik yük modellemesi kullanılmıştır (Schoenbach ve diğ. 2002), (Wu ve diğ.

2004), (Ellappan ve diğ. 2005), (Krishnaveni ve diğ.2017). Simölasyonlarda kullanılan $1\mu F$ değerli kapasitörler hem $50\ \Omega$ 'luk resistif yük ile hem de biyolojik yük modelleriyle benzetim çalışmaları sırasında uyumlu çalışmakta olsa da frekansın ve yüklerin etkisi pratik uygulamalarda farklılık gösterebilir.

Bölüm 2'de daha ayrıntılı açıklandığı üzere burada kullanılan statik biyolojik yük modelleri elektik alan etkisi ile membranda oluşacak etkileri ve geçişleri göstermek anlamından modellemekten çok puls jeneratörünün karşılaşabileceği olası yük modeli olarak kullanılmıştır ve benzeri çalışmalarda sıklıkla kullanılan basitleştirilmiş Schwann denklemi ile açıklanabilen değişiklikler dikkate alınarak oluşturulmuştur.

4. SİMULASYON SONUÇLARI

Benzetim çalışmaları PSIM ortamında gerçekleştirilmiştir. Tablo 3.3'te de gösterildiği üzere çalışmalar iki farklı yük modeli kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 50Ω'luk resistif model yük, elektrot ve uygulama yöntemi nedeniyle yükün resistif karakteristiğinin daha baskın olduğu bir model sunmanın yanında frekansla değişmeyen bir modelin nasıl işleyeceği bilgisini de sunmaktadır. Biyolojik yük modeli için ise bölüm 4.2'de daha ayrıntılı olarak açıklanan bir tek hücre modellemesi kullanılmıştır. Giriş bölümünde belirtildiği üzere mikrosaniye altı (submicrosecond) nanosaniyeler genişliğindeki pulsların hücre içinde müdahale olanağı sunabilmesi nedeniyle simülasyonlarda megahertzler seviyesinde çalışılmıştır.

Tablo 3.3: Benzetim çalışmalarında kullanılan parametreler

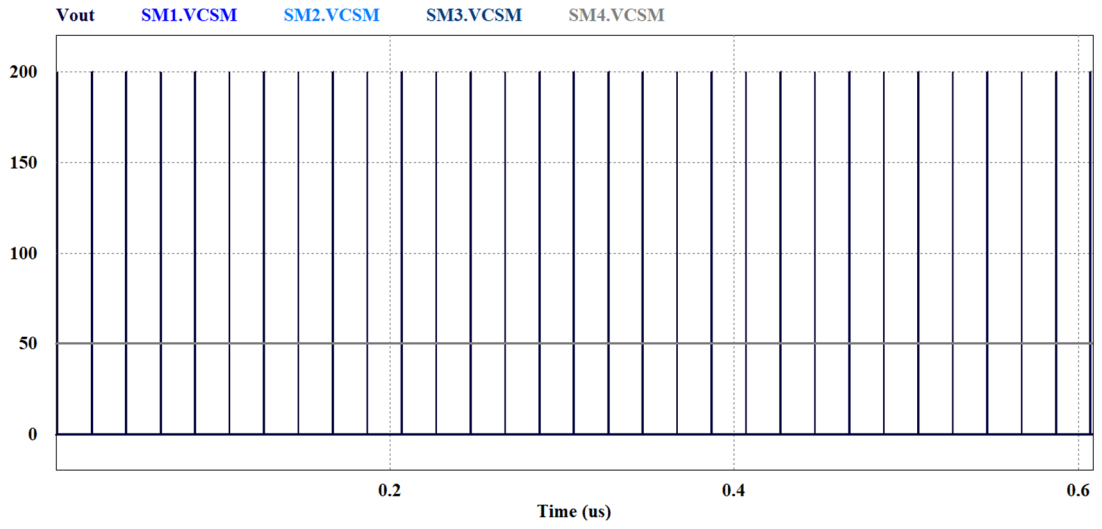
	Resistif yük	Biyolojik yük
Giriş Gerilimi, Vin	50 V	50 V
Altmodül Kapasitörü	1μF	1μF
Anahtarlama Frekansı	50MHz	1MHz
Yük	50Ω	Bkz. Şekil 4.5

4.1 Salt direnç yükü kullanılarak elde edilen sonuçlar

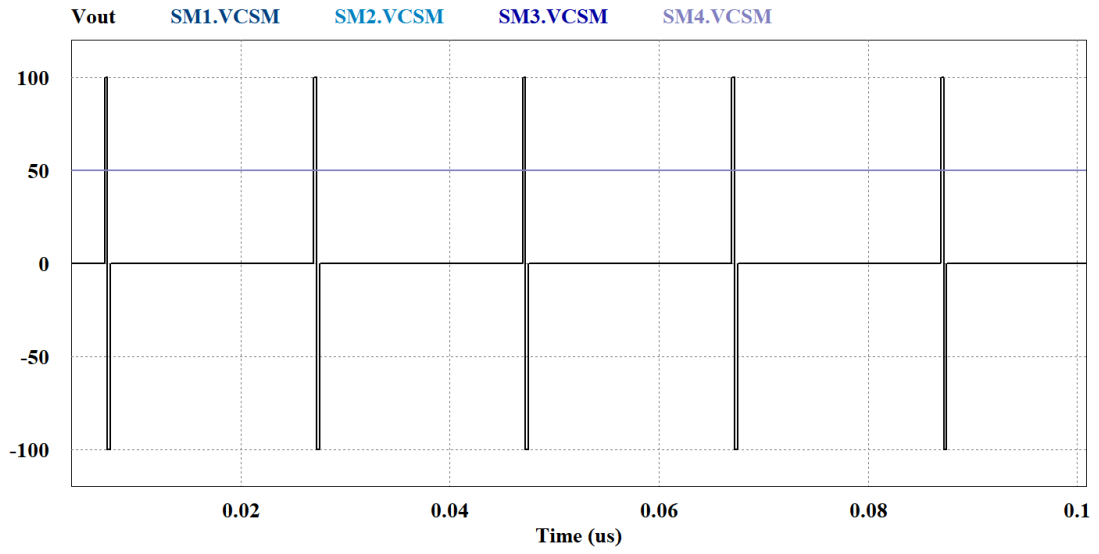
Test yükü olarak 50 Ω değeri kullanılarak yapılan benzetim çalışmalarında elde edilen sonuçlar bu alt bölümde aktarılmaktadır.

Öncelikle tek kolda toplanmış dört alt modülden oluşan unipolar konfigürasyon 50 voltluk DC besleme ve 50Ω yük için 50 MHz anahtarlama frekansında gerçekleştirilen benzetimde elde edilen kare dalgalar değerlendirilmiştir. Devrenin 0.4 mikrosaniyelik bir süre içinde 20 pikosaniyeler seviyesinde puls genişliği olan düzgün dikdörtgen darbeler oluşturabildiği görüldü. Beklenildiği üzere dört ayrı alt modül

kapasitansı ayırık DC kaynaklar gibi davranarak yükün üzerinde toplamda $4*V_{CSM}$ gerilimine denk gelen 200 V genlikli bu dalgalar elde edilmiştir.

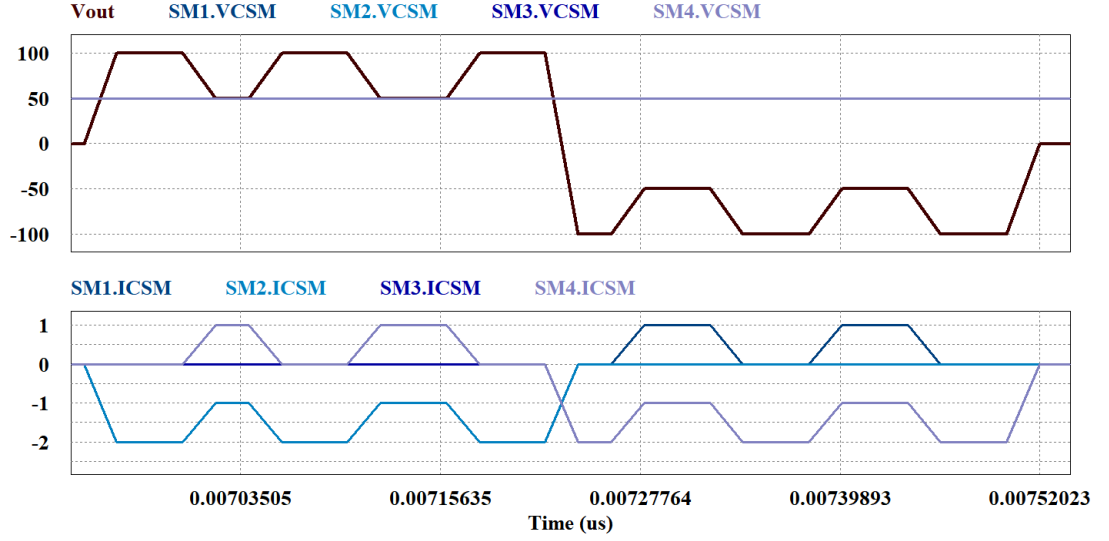


Şekil 4.1: Unipolar konfigürasyon için benzetim, çıkış gerilimi ve alt modül gerilimleri, 50MHz (Eski ve Çetin 2022)



Şekil 4.2: Bipolar konfigürasyon için benzetim, çıkış gerilimi ve alt modül gerilimleri, 50MHz, (Eski ve Çetin 2022)

Bipolar konfigürasyonla yine 50 MHz için elde edilen benzetim sonuçları üstteki şekilde görülebilir. 0.1 mikrosaniyelik bir süre içinde 5 bipolar puls uygulanabildiğini gösteren bu simülasyonda yine hücre içi manipülasyona olanak tanıyabilecek mikro saniyenin çok altında puls genişliklerinin ideal modeller kullanıldığında bipolar olarak da elde edilebildiği gözlenmiştir.

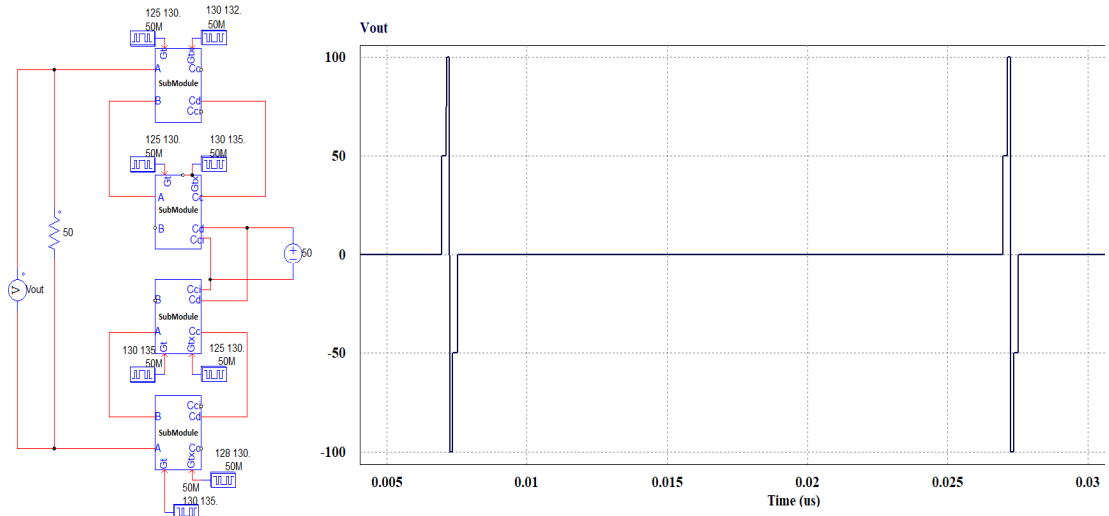


Şekil 4.3: Bipolar çoklu puls için benzetim, çıkış gerilimi ve alt modül gerilimleri ve akımları 50MHz, (Eski ve Çetin 2022)

Bazı çalışmalarda oluşan yüksek gerilim farkları nedeniyle uygulama yapılan ortamda ani yüksek gerilim farklarından oluşabilecek arkları engelleyebilmesi nedeniyle kullanımı önerilen, Wu ve diğ. (2004), nanosaniye altı puls trenlerinin oluşturulabildiğini göstermesi ve yükselme alçalma eğilimlerini belirginleştirmesi anlamında kayda değer sonuçlar sağlamıştır. Bu şekilde ayrıca alt modül kapasitörlerinin akım değişimleri de görülebilmektedir.

Elbette modül sayısı arttıkça, alt modüllerin devreye girmesi ve çıkmasının kontrolü sayesinde oluşturulabilecek dalga şekilleri konusunda daha fazla seçenek oluşacaktır ancak dört modülle de farklı formlar denenebilmektedir. Şekil 4.4'te görülen üçgen benzeri formu oluşturan alt ve üst kollarda yalnızca iki alt modül bulunduğu için oluşan form düşük pikseli bir görüntü de olduğu gibi belirginliği net olmayan üçgenden daha çok üçgenimsi bir yapıdadır, ancak tasarlanacak deneylerin

ihtiyaçları ve parametrelerine bağlı olarak çıkış geriliminin kontrolü konusundaki esnekliği göstermek adına eklenmiştir.

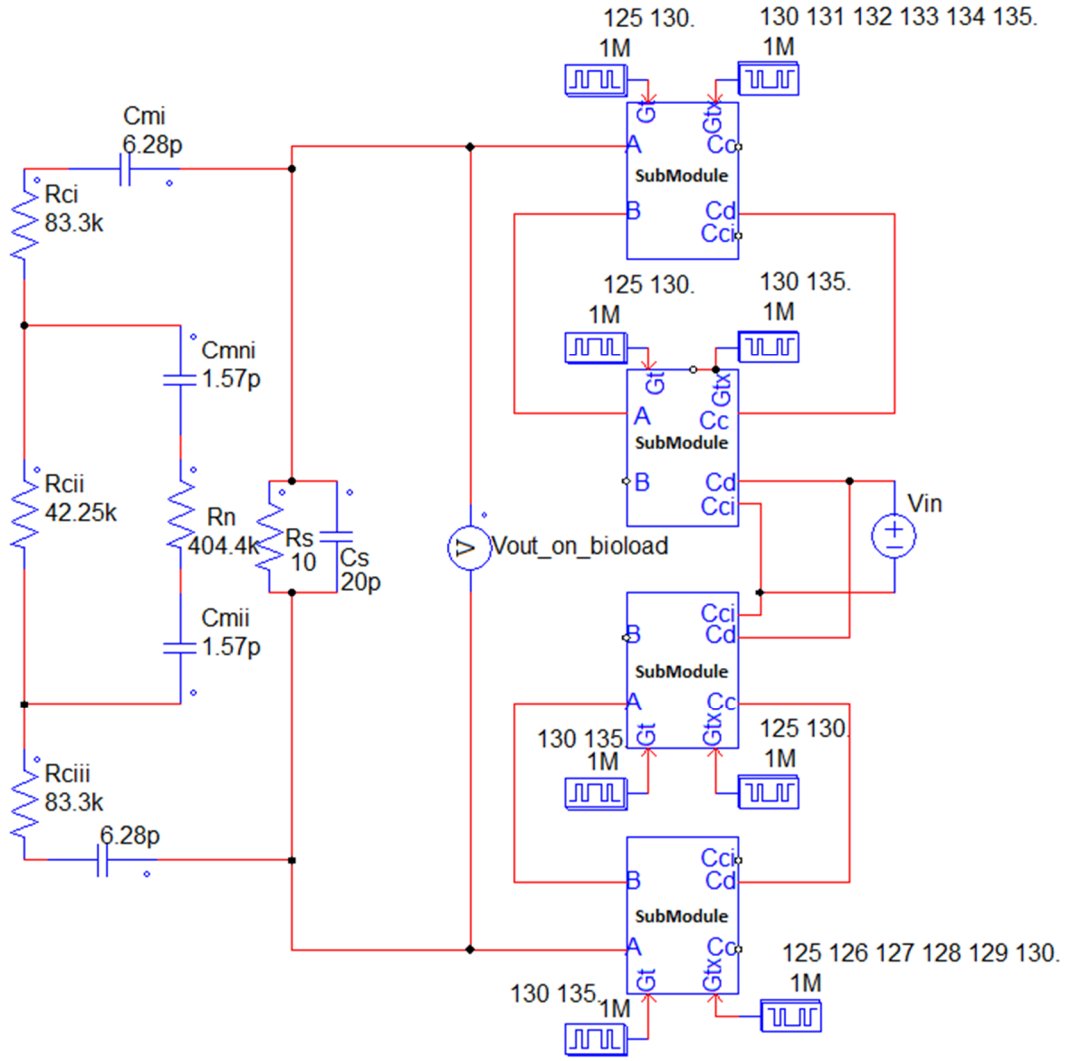


şekil 4.4: Bipolar gen benzeri puls için benzetim topoloji ve anahtarlama (solda), çıkış gerilimi(sağda), 50MHz

4.2 Biyolojik yük modeli kullanılarak elde edilen sonuçlar

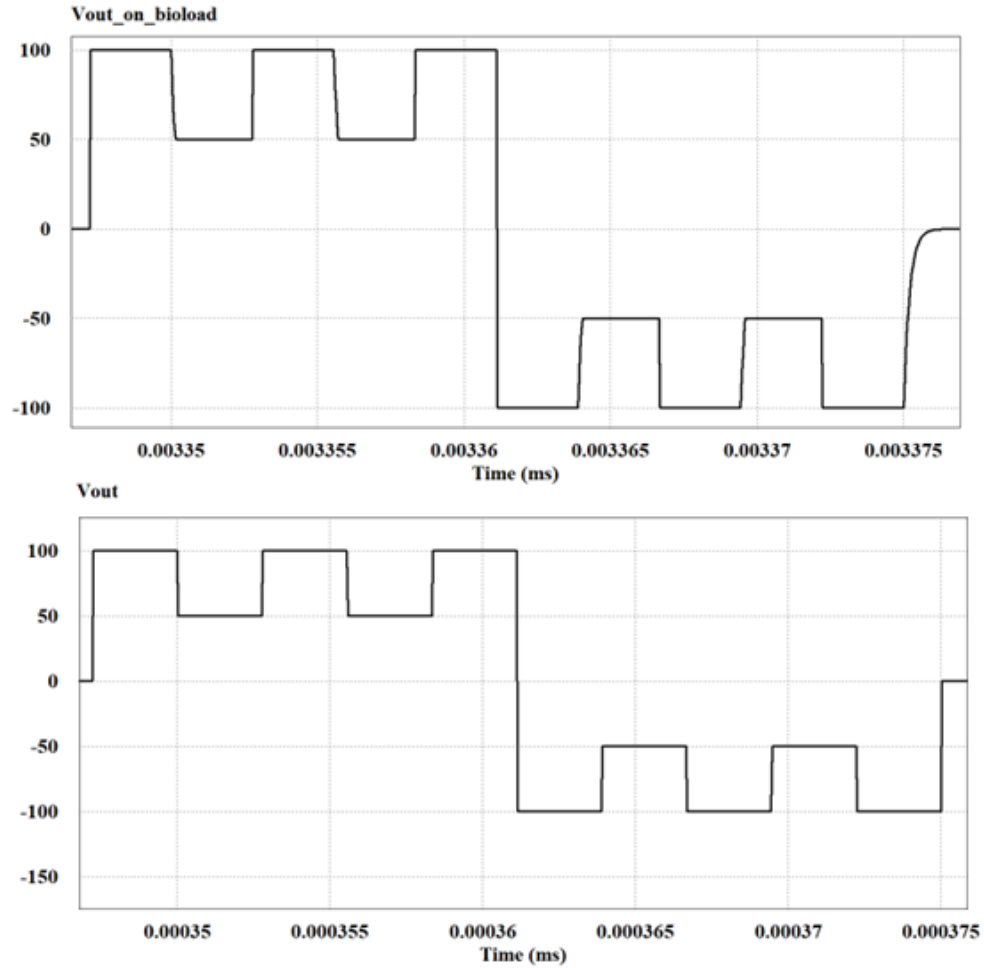
Biyolojik yük modeli ile yapılan benzetim çalışmaları için Schoenbach ve diğ. (2002), Krishnaveni ve diğ. (2017) ve Ellappan ve Sundararajan (2005)'de belirtilen statik tekil hücre ve süspansiyon modelleri kullanılmıştır. Bu modellerde membran yapıları kapasitif komponentlerle modellenirken sitoplazma gibi hücre içi sıvı ortamları için resistif elemanlar kullanılmıştır. Hücrenin içinde bulunduğu ortam ve elektrodların etkisi ise birbirine ve hücre modeline paralel bir direnç ve kapasitörden oluşacak şekilde gösterilmiştir.

Benzetim çalışmalarında kullanılan yük modeli pasif komponentler kullanılarak ve incelenen yarım köprü altmodller ile oluşturulmuş MMC tipi darbe jeneratörü topolojisinin olası tek hücre yükü karşısında davranışını değerlendirmek üzere oluşturulmuştur (Eski ve etin 2022). Tasarım bölümünde de aktarıldığı üzere membranın zaman sabitini ve etkilenme davranışının geçişlerinin dinamik yapısını gösteremeyeceği için 1 MHz 'den yüksek frekanslar için değerlendirme yapılmamıştır.



Şekil 4.5: Schoenbach ve diğ. (2002), Krishnaveni ve diğ. (2017) ve Ellappan ve Sundararajan (2005)'den Uyarlanmış biyolojik model ve devre konfigürasyonu

Şekil 4.5'te görülebileceği üzere bipolar devre konfigürasyonu kullanılarak yapılan simülasyonda kullanılan modelde hücrenin içinde bulunduğu ortam (süspansiyon) temsil edilirken resistif ve kapasitif bileşenler paralel olacak şekilde modellenmektedir. Sırasıyla, C_{mi} ve C_{mni} ile hücre ve çekirdek zarları temsil edilmiştir. İç ve dış ortamlar, süspansiyon ve sitoplazma, resistif olarak gösterilmiştir. Ancak bu değerlerin özellikle hücre ile ilgili olanların farklı numune, ortam ve uygulama yöntemi seçimlerini temsil etmediğinin altı çizilmelidir.



Şekil 4.6: Biyolojik model ve resistif yük ile 1MHz'te çıkış gerilimi formları (Eski ve Çetin 2022)

Şekil 4.6'dan da anlaşılabileceği üzere modeldeki kapasitif etkiler puls kenarlarında özellikle yüksek frekanslarda belirginleşen bir değişikliğe neden olmaktadır. Modeldeki kapasitörlerin puls kenarlarındaki bozu etkisinin daha net görülebilmesi için aşağıdaki şekilde aynı anahtarlama frekansında salt direnç yükü üzerindeki benzetim de görsele eklenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Canlı bilimlerinde elektrik alan kullanımının uzun geçmişi ve yaygınlığı bu çalışmanın girişinde aktarılmıştı. Çalışmaların yoğunluğu, kullanımın çeşitliliği ve genişliğine rağmen bu alan henüz keşfedilmeyi bekleyen bilinmezler ve anlaşılması gereken çelişkileri barındırmaya devam etmektedir. Ne ilgili fenomenlerin modellemesini oluşturan “gizli dil” ne de canlı bilimlerinin doğasının da etkisiyle standardize olmuş uygulama kalıpları henüz tam anlamıyla kesinleşmemiştir.

Benzetimleri çalışılan topoloji, hücresel çalışmalarda daha etkin olduğu düşünülen unipolar formları da beşeri / veteriner hekimlik uygulamalarında istemsiz kasılmaları engellediği için tercih edilen bipolar formları da üretebilen modüler yapısı ile, hücre içi manipülasyonlara izin verebilen yüksek frekanslı (50 MHz’e kadar) kısa darbe genişlikli (pikosaniyeler mertebesinde) uygulamalara teorik uygunluğunu göstermiştir. Membran zaman sabitinin altında gerçekleşen hücre içi değişikliklerin dinamik modellenmesi bu çalışmanın kapsamı dışında kaldığı için 1 MHz ‘den yüksek frekanslar için değerlendirme yapılmamış olsa da ileride gerçekleştirilecek çalışmalarda gerçekleştirilmesi, hücre dediğimiz karmaşık evreni daha iyi anlamamızı sağlayacaktır. Yarım köprü altmodülleri kullanılan bu topoloji hem alt modüllerin bağlantı konfigürasyonları değiştirilerek hem de anahtarlama şemalarında yapılan değişikliklerle farklı çıkış seçenekleri sağlaması nedeniyle özellikle deneysel çalışmalar için en büyük handikaplardan birini oluşturan farklı formlarda güçlü darbeler üretmek sorununa oldukça umut vaat eden bir seçenek sunmaktadır. Modüler yapı ihtiyaç duyulan elektrik alan şiddetini düşük gerilim seviyeleri kullanılarak elde etme avantajı da sunmaktadır. Yarı iletken anahtarların üretimi ve tasarımında gerçekleşen yenilikler ile hız ve kısa puls genişliği avantajının da devreye girebileceğini, yapılmış olan simülasyon çalışmalarınca desteklenmiştir.

Geniş bant aralıklı yarı iletken teknolojileri gibi yüksek hızlı uygulamalar için özellikle parazitik etkileri en aza indirmek amacıyla gittikçe küçülen ve geliştirilen kılıfların baskı devre montajları geleneksel tekniklerle oldukça gelişmiş el becerileri ve daha ötesini talep etmektedir, zira genellikle sıcak hava üflemeli fırınlarla gerçekleştirilen bu montajların gerçek anlamda kalite kontrolü ise bazı kılıfların yapısı nedeniyle Röntgen ve benzeri görüntüleme teknikleriyle mümkün olabilmektedir.

Ancak, standart MosFET teknolojileri ile de bir dereceye kadar hızlı anahtarlanabilen modüller oluşturmak mümkün görünmektedir. Yine de deneylerin uygulanacağı ortam ve numunelerin çeşitliliği de değerlendirildiğinde bu topolojinin tam verimli kullanılabilmesi için iyi bir kontrol devresiyle desteklenmesi gerektiği aşîkardır.

Elbette mikroakışkanlar ve benzeri mikro ve nanouygulamalar dışında tek tek hücre üzerine doğrudan uygulama yapılan pratik modalitelerin sayısı henüz sınırlı olsa da nanoteknoloji ve eklemeli üretim benzeri teknik gelişmeler uygulanması gereken darbe genliğini azaltılabilme olanağı ile bu konudaki uygulamaların ve araştırmaları da etkilemektedir. Daha kapsamlı çalışmalar ile benzetim aşamasında kullanılan tip statik modellerin de ötesinde dinamik ve kompleks modeller kullanılması ve bunların test edilebilmesi için deneysel desteklerin önemi açıktır. Yarı iletken teknolojisindeki gelişmeler daha kısa darbe genişlikleri ile daha yoğun enerji aktarımını uygun kılarken, kontrol şemaları karmaşıklılaşabilmekte, canlı biliminin temel birimi hücre ve içinin bilinmezleri devreye girebilmektedir. Bu nedenlerle kontrol edilebilir dalgalar üretmek, dalga parametrelerinin stabillliğini sağlamak gibi birçok meydan okuma bu alanda yapılacak yeni çalışmaların temel kriterlerinden olmaya devam edecek gibi görünmektedir.

Mary Shelley Frankenstein- Ya da Modern Prometheus'unu yazarken neler düşünüyordu belki hiç bilemeyiz ancak Frankenstein'ın dizginlenilemez öğrenme ve değıştirme hırsı bir canavar yaratmış olsa da günümüz dünyasında elektrik üzerine çalışmalar birçok sektörde yaşama olumlu anlamda dokunuyor, diğeri bir deyişle Prometheus'un ateşî, yangın ve felaket değîl, kolaylık ve iyilik getiriyor. Elbette bir gücü doğru kullanmanın en iyi yolu onu iyi anlamaktan geçmektedir bu nedenle henüz tam oturtamadığımız elektropermeabilizasyon / elektroporasyon modellerini geliştirmek, yeni uygulama yöntemleri veya yeni kullanım alanlarını keşfetmek, eski teorileri yeni yöntemlerle test etmek gibi yapılabilecek çok fazla katkı bulunmaktadır.

Bu yıl dördüncüsü düzenlenen elektroporasyon üzerine dünya kongresi "WC2022" içeriğı ile daha katedilmesi gereken yollar yanıtlanması gereken sorular olduğunu göstermektedir. Elektrik alan ile hücre / doku etkileşimi yaşamımıza çoktan yerleşmiş olsa da atılan her adım ve yanıtlanan her soru daha iyi kavradığımız ve böylece daha doğru kullandığımız bir teknik haline gelmesi demek olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abadi, M.Q.R., Marzebali, M.H., Abolghasemi, V. and Anisi, M.H., “High-voltage pulse generators for electroporation applications: A systematic review.” *IEEE Access*, doi: 10.1109/ACCESS.2022.3184015, (2022.)
- Abdul-Kadir, L., Stacey, M. and Barrett-Jolley, R., “Emerging roles of the membrane potential: action beyond the action potential”. *Frontiers in physiology*, 1661, doi: 10.3389/fphys.2018.01661, (2018)
- Agarwal, T. and Maiti, T.K., “Dielectrophoresis-based devices for cell patterning”. *Bioelectronics and Medical Devices*, 493-511, doi: 10.1016/B978-0-08-102420-1.00026-1, (2019)
- Aguilar, A.A., Ho, M.C., Chang, E., Carlson, K.W., Natarajan, A., Marciano, T., Bomzon, Z.E. and Patel, C.B., “Permeabilizing cell membranes with electric fields”, *Cancers*, 13(9), 2283, doi: 10.3390/cancers13092283, (2021).
- Ağar, E., *Türk Fizyolojik Bilimler Derneği İnsan Fizyolojisi*. 1 baskı, İstanbul: İstanbul Tıp Kitapevleri, (2021)
- Aycock, K.N. and Davalos, R.V., “Irreversible electroporation: background, theory, and review of recent developments in clinical oncology”. *Bioelectricity*, 1(4), 214-234, doi:10.1089/bioe.2019.0029, (2019)
- Berghöfer, T., Eing, C., Flickinger, B., Hohenberger, P., Wegner, L.H., Frey, W. and Nick, P., “Nanosecond electric pulses trigger actin responses in plant cells.” *Biochemical and biophysical research communications*, 387(3), 590-595, doi: 10.1016/j.bbrc.2009.07.072, (2009)
- Bernal, C., Lucía, Ó., Sarnago, H., Burdío, J.M., Ivorra, A. and Castellví, Q., “A review of pulse generation topologies for clinical electroporation” IECON 2015-41st Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society 000625-000630. IEEE, doi:10.1109/IECON.2015.7392169, (2015)
- Blum, H., *Power Systems*. Berlin: Springer, (2006)
- Byagathvalli, G., Sinha, S., Zhang, Y., Styczynski, M.P., Standeven, J. and Bhamla, M.S., “ElectroPen: An ultra-low-cost, electricity-free, portable electroporator”, *PLoS biology*, 18(1), doi: 10.1371/journal.pbio.3000589, (2020).
- Cambridge, N.A., “Electrical apparatus used in medicine before 1900”, *Proc. roy. Soc. Med.*, 635-641, PMID: 335397 PMCID: PMC1543370, (1977)

Carpi, F., Maddio, S. and Pelosi, B., “An Unexpected Mossotti: His Formula at the Basis of Dielectrophoresis in Modern Molecular Biology”, *URSI Radio Science Bulletin*, 2020(373), 83-85, doi: 10.23919/URSIRSB.2020.931844, (2020)

Chafai, D.E., Sulimenko, V., Havelka, D., Kubínová, L., Dráber, P. and Cifra, M., "Reversible and Irreversible Modulation of Tubulin Self-Assembly by Intense Nanosecond Pulsed Electric Fields", *Advanced Materials*, 31(39), 1903636, doi: 10.1002/adma.201903636, (2019)

Chafai, D.E., Vostárek, F., Dráberová, E., Havelka, D., Arnaud-Cormos, D., Leveque, P., Janáček, J., Kubínová, L., Cifra, M. and Dráber, P., "Microtubule cytoskeleton remodeling by nanosecond pulsed electric fields", *Advanced Biosystems*, 4(7), 2000070, PMID: 32459064 doi: 10.1002/adbi.202000070, (2020)

Cheng, K.D., Ch.6. Time Varying Fields and Maxwell's Equations. *Fundamentals of Engineering Electromagnetics*. Addison Wesley, 228-266, (1993)

Coleman, R.R., Zuzuarregui, J.R. and Ostrem, J.L. “When to Consider Deep Brain Stimulation for Patients with Parkinson’s Disease, Essential Tremor, or Dystonia?” (eds: Marks WJ, Ostrem JL.), *Deep brain stimulation management*, Cambridge University Press,, (2022).

Coşan, T.E., Algın, A., *Kuantum Evreni Işığında Bilinç ve Gerçeklik*. 1. baskı. Ankara: Nobel, (2021)

Cvetkoska, A., Pirc, E., Reberšek, M., Magjarević, R. and Miklavčič, D., “Towards standardization of electroporation devices and protocols”, *IEEE Instrumentation & Measurement Magazine*, 23(2), pp.74-81, doi: 10.1109/MIM.2020.9062692, (2020)

Deleuze, G., (çev. H.Yücefer), *Kıvrım: Leibniz ve Barok* (Le Pli: Leibniz et le Baroque), İstanbul: Bağlam Yayınları, 1-10, (2006).

Deleuze, G., (çev. U.Baker), *Leibniz Üzerine Beş Ders* İstanbul: Kabalcı, (2021).

Deng, Y., Xu, Y., Liu, H., Peng, H., Tao, Q., Liu, H., Liu, H., Wu, J., Chen, X. and Fan, J., “Electrical stimulation promotes regeneration and re-myelination of axons of injured facial nerve in rats”, *Neurological research*, 40(3), 231-238, PMID: 29513163 doi: 10.1080/01616412.2018.1428390, (2018)

Denstaedt, S.J., Singer, B.H. and Standiford, T.J., “Sepsis and nosocomial infection: patient characteristics, mechanisms, and modulation”, *Frontiers in Immunology*, 9, 2446, PMID: 30459764 PMCID: PMC6232897 doi: 10.3389/fimmu.2018.02446, (2018)

Dhar, Y. and Han, Y., “Current developments in biofilm treatments: wound and implant infections”, *Engineered Regeneration*, 1, 64-75, doi: 10.1016/j.engreg.2020.07.003, (2020)

Du, S., Dekka, A., Wu, B. and Zargari, N., *Modular multilevel converters: analysis, control, and applications*. John Wiley & Sons, (2018)

Dürrenberger, G., Meya, K., Schmid, M. and Fröhlich, J., “EMF Applications in Cosmetics and Wellness”, 2018 EMF-Med *1st World Conference on Biomedical Applications of Electromagnetic Fields* (EMF-Med), 1-2, IEEE, doi: 10.23919/EMF-MED.2018.8526012, (2018)

Elgenedy, M.A., Massoud, A.M., Ahmed, S., Williams, B.W. and McDonald, J.R., “A modular multilevel voltage-boosting Marx pulse-waveform generator for electroporation applications”, *IEEE Transactions on Power Electronics*, 34(11), 10575-10589, doi: 10.1109/TPEL.2019.2899974, (2019)

Ellappan, P. and Sundararajan, R., “A simulation study of the electrical model of a biological cell”, *Journal of Electrostatics*, 63(3-4), 297-307, doi: 10.1016/j.elstat.2004.11.007, (2005)

Eski, O., Cetin S., "Modular Pulsed Electric Field Generator Based on Modular Multilevel Converter Topology with Four Half Bridge Submodules to Experience Biological Loads", *IEEE International Conference on Power Electronics and Motion Control*, 25-28 September 2022, 1–6, Brasov/Romania, (2022).

Eure, J, "Into the Depths of the Electromagnetic Spectrum"[online] (10 Eylül 2022) <https://www.bnl.gov/newsroom/news.php?a=25669>, (2015)

Ferson, N.D., Uhl, A.M. and Andrew, J.S., “Piezoelectric and magnetoelectric scaffolds for tissue regeneration and biomedicine: a review”, *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 68(2), 229-241, doi: 10.1109/TUFFC.2020.3020283, (2020)

Frandsen, S.K. and Gehl, J., “A 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 & treatment*, 17, PMID: 30012047 PMCID: PMC6050800 doi: 10.1177/1533033818788077, (2018)

Frandsen, S.K., Vissing, M. and Gehl, J., “A comprehensive review of calcium electroporation—A novel cancer treatment modality”, *Cancers*, 12(2), 290, PMID: 31991784 PMCID: PMC7073222 doi: 10.3390/cancers12020290, (2020)

Garner, A.L., “Pulsed electric field inactivation of microorganisms: from fundamental biophysics to synergistic treatments”, *Applied microbiology and biotechnology*, 103(19), 7917-7929, PMID: 31392376 doi: 10.1007/s00253-019-10067-y, (2019)

Gachovska, T.K. and Hudgins, J.L., “SiC and GaN power semiconductor devices”. In *Power Electronics Handbook* (pp. 95-155). Butterworth-Heinemann, (2018).

Geboers, B., Scheffer, H.J., Graybill, P.M., Ruarus, A.H., Nieuwenhuizen, S., Puijk, R.S., van den Tol, P.M., Davalos, R.V., Rubinsky, B., de Gruijl, T.D. and Miklavčič, D., “High-voltage electrical pulses in oncology: irreversible electroporation, electrochemotherapy, gene electrotransfer, electrofusion, and electroimmunotherapy”, *Radiology*, 295(2), 254-272, doi: 10.1148/radiol.2020192190, (2020)

Giordano, N., Papakostas, P., Battisti, E., Albanese, A., Rigato, M., Montella, A. and Nuti, R., “Magnetotherapy—a brief excursion through the centuries.” *The Environmentalist*, 29(2), 157-160, Corpus ID: 83744153 doi:10.1007/S10669-009-9228-2, (2009)

Goettel, M., Eing, C., Gusbeth, C., Straessner, R. and Frey, W., “Pulsed electric field assisted extraction of intracellular valuables from microalgae”, *Algal Research*, 2(4), 401-408, doi: 10.1016/j.algal.2013.07.004, (2013)

Goganau, I., Sandner, B., Weidner, N., Fouad, K. and Blesch, A., “Depolarization and electrical stimulation enhance in vitro and in vivo sensory axon growth after spinal cord injury”, *Experimental Neurology*, 300, 247-258, PMID: 29183676 PMCID: PMC5752127 doi: 10.1016/j.expneurol.2017.11.011, (2018.)

Goldberg, E., Suárez, C., Alfonso, M., Marchese, J., Soba, A. and Marshall, G., “Cell membrane electroporation modeling: A multiphysics approach”, *Bioelectrochemistry*, 124, pp.28-39, doi: 10.1016/j.bioelechem.2018.06.010, (2018)

Gordon, T., “Electrical stimulation to enhance axon regeneration after peripheral nerve injuries in animal models and humans”. *Neurotherapeutics*, 13(2), 295-310, doi: 10.1016/j.bioelechem.2018.06.010, (2016)

Goswami, I., Perry J.B., Allen, M.E., Brown, D.A. von Spakovsky, M.R., Verbridge, S.S., “Influence of pulsed electric fields and mitochondria-cytoskeleton interactions on cell respiration”, *Biophysical journal*, Jun 19;114(12):2951-64, PMID: 29925031 PMCID: PMC6026445 doi: 10.1016/j.bpj.2018.04.047, (2018)

Graybill P.M., Davalos R.V., “Cytoskeletal disruption after electroporation and its significance to pulsed electric field therapies”, *Cancers*. May;12(5):1132, PMID: 32366043 PMCID: PMC7281591 doi: 10.3390/cancers12051132, (2020)

Gulrajani, R. M., *Bioelectricity and biomagnetism*. New York: John Wiley and Sons. Inc. (1998)

Hameroff, S. and Penrose, R., “Consciousness in the universe: A review of the ‘Orch OR’ theory”, *Physics of life reviews*, 11(1), 39-78, doi: 10.1016/j.plrev.2013.08.002, (2014)

Hameroff, S., ‘Orch OR’ is the most complete, and most easily falsifiable theory of consciousness”, *Cognitive Neuroscience*, 12(2), 74-6, PMID: 33232193 doi: 10.1080/17588928.2020.1839037, (2021)

Hamid, S. and Hayek, R., “Role of electrical stimulation for rehabilitation and regeneration after spinal cord injury: an overview”, *European Spine Journal*, 17(9), 1256-1269, PMID: 18677518 PMCID: PMC2527422 doi: 10.1007/s00586-008-0729-3, (2008)

Heida, T., *Electric field-induced effects on neuronal cell biology accompanying dielectrophoretic trapping*, (2012).

Hur, J. and Chung, A.J., “Microfluidic and nanofluidic intracellular delivery”, *Advanced Science*, 8(15), 2004595, doi: 10.1002/advs.202004595, (2021)

Jahns, M.E., Lou, E., Durdle, N.G., Bagnall, K., Raso, V.J., Cinats, D., Barley, R.D.C., Cinats, J. and Jomha, N.M., “The effect of pulsed electromagnetic fields on chondrocyte morphology”, *Medical & Biological Engineering & Computing*, 45(10), 917-925, PMID: 17701237 doi: 10.1007/s11517-007-0216-8, (2007)

Jarm, T. and Kramar, P. eds., *1st World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Fields in Biology, Medicine and Food & Environmental Technologies: Portorož, Slovenia, September 6–10, 2015* (Vol. 53). Springer, 2015.

Jourabchi, N., Beroukhim, K., Tafti, B.A., Kee, S.T. and Lee, E.W., “Irreversible electroporation (NanoKnife) in cancer treatment.”, *Gastrointestinal Intervention*, 3(1), 8-18, doi: 10.1016/j.gii.2014.02.002, (2014)

Justesen, T.F., Orhan, A., Raskov, H., Nolsoe, C. and Gögenur, I., “Electroporation and Immunotherapy—Unleashing the Abscopal Effect.” *Cancers*, 14(12), 2876, PMID: 35740542 PMCID: PMC9221311 doi: 10.3390/cancers14122876, (2022)

Kahraman, T., Büyükcinal, S.K., Akkaya, E., Muratoğlu, K., Eker, F.Y., Bingöl, E.B., Bayrakal, G.M., 1. Et Bilimi ve Teknolojisi-1, *Temel Gıda Teknolojisi*, İstanbul: İstanbul Üniversitesi AUZEF, (2022).

Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum S, Hudspeth AJ, Mack S, editors. *Principles of neural science*, New York: McGraw-hill, (2000)

Kellaway, P., “The part played by electric fish in the early history of bioelectricity and electrotherapy”, *Bulletin of the History of Medicine*, 20(2), 112-137, PMID: 20277440, (1946)

Khalifeh, J.M., Zohny, Z., MacEwan, M., Stephen, M., Johnston, W., Gamble, P., Zeng, Y., Yan, Y. and Ray, W.Z.,” Electrical stimulation and bone healing: a review of current technology and clinical applications.”, *IEEE reviews in biomedical engineering*, 11, 217-232, doi: 10.1109/RBME.2018.2799189, (2018)

Kolb, J.F., Kono, S. and Schoenbach, K.H., “Nanosecond pulsed electric field generators for the study of subcellular effects”, *Bioelectromagnetics*, 27(3), 172-187, doi: 10.1002/bem.20185, (2006)

Kotnik, T., Rems, L., Tarek, M. and Miklavčič, D., “Membrane electroporation and electroporomeabilization: mechanisms and models”, *Annual review of biophysics*, 48, 63-91, PMID: 30786231 doi: 10.1146/annurev-biophys-052118-115451, (2019)

Krassowska, W. and Filev, P.D.,” Modeling electroporation in a single cell”, *Biophysical journal*, 92(2), 404-417, doi: 10.1529/biophysj.106.094235, (2007)

Krishnaveni, S., Subhashini, R. and Rajini, V., “Inactivation of bacteria suspended in water by using high frequency unipolar pulse voltage”, *Journal of Food Process Engineering*, 40(6), doi: 10.1111/jfpe.12574, (2017)

Levin, M., “Molecular bioelectricity: how endogenous voltage potentials control cell behavior and instruct pattern regulation in vivo.”, *Molecular biology of the cell*, 25(24), 3835-3850, doi: 10.1091/mbc.E13-12-0708 (2014)

Levin, M., “Bioelectric mechanisms in regeneration: unique aspects and future perspectives”, *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 20, No. 5), Academic Press, 543-556, doi: 10.1016/j.semcdb.2009.04.013, (2009)

Lewin, W. and Goldstein, W., *Fizik Aşkına Gökkuşağının Ucundan Zamanın Eşiğine Bir Yolculuk*, (çev. N.Çatlı) 1/e İstanbul: Metis Yayınları, (2018)

Li S.C. and Teissie, J. eds., *Electroporation Protocols: Microorganism, Mammalian System, and Nanodevice*, Springer US., (2020).

Li, X., Yang, F. and Rubinsky, B., “A theoretical study on the biophysical mechanisms by which tumor treating fields affect tumor cells during mitosis”, *IEEE Transactions*

on *Biomedical Engineering*, 67(9), 2594-2602, doi: 10.1109/TBME.2020.2965883, (2020)

Lin, J. C., e., *Electromagnetic Fields in Biological Systems*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC, (2012)

Liu, N., Lin, Y., Peng, Y., Xin, L., Yue, T., Liu, Y., Ru, C., Xie, S., Dong, L., Pu, H. and Chen, H., "Automated parallel electrical characterization of cells using optically-induced dielectrophoresis", *IEEE Transactions on Automation Science and Engineering*, 17(2), 1084-1092, doi: 10.1109/TASE.2019.2963044, (2020).

Liu, Q. and Song, B., "Electric field regulated signaling pathways", *The international journal of biochemistry & cell biology*, 55, 264-268, doi: 10.1016/j.biocel.2014.09.014, (2014)

Lopez-Canovas, L., Benitez, M.B.M., Isidron, J.A.H. and Soto, E.F., "Pulsed field gel electrophoresis: past, present, and future", *Analytical biochemistry*, 573, 17-29, doi: 10.1016/j.ab.2019.02.020, (2019)

Ludwig, R., Bogdanov, G., *RF Circuit Design: Theory & Applications*, 2/e, India, Pearson Education, (2000)

Luo, R., Dai, J., Zhang, J. and Li, Z., "Accelerated skin wound healing by electrical stimulation", *Advanced Healthcare Materials*, 10(16), 2100557, doi: 10.1002/adhm.202100557, (2021)

Lynch, P.T. and Davey, M.R., *Electrical manipulation of cells*, Springer Science & Business Media, (2012).

March, H.R., Chapter 6: One Last Part for the Machine. *Physics for Poets*, 5th ed. New York: McGraw-Hill, 59-71, (2003)

Markov, M., Ryaby, J. and Waldorff, E.I. eds., *Pulsed electromagnetic fields for clinical applications*, CRC Press, (2020)

Marquardt, R., "Modular multilevel converters: State of the art and future progress", *IEEE Power Electronics Magazine*, 5(4), 24-31, doi: 10.1109/MPLE.2018.2873496, (2018)

Marracino, P., Havelka, D., Průša, J., Liberti, M., Tuszynski, J., Ayoub, A.T., Apollonio, F. and Cifra, M., "Tubulin response to intense nanosecond-scale electric field in molecular dynamics simulation", *Scientific reports*, 9(1), 1-14, doi: 10.1038/s41598-019-46636-4, (2019)

Martínez, J.M., Delso, C., Álvarez, I. and Raso, J., “Pulsed electric field-assisted extraction of valuable compounds from microorganisms” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2), pp.530-552, (2020)

Massari, L., Benazzo, F., Falez, F., Perugia, D., Pietrogrande, L., Setti, S., Osti, R., Vaienti, E., Ruosi, C. and Cadossi, R., “Biophysical stimulation of bone and cartilage: state of the art and future perspectives”, *International orthopaedics*, 43(3), 539-551, PMID: 30645684 PMCID: PMC6399199 doi: 10.1007/s00264-018-4274-3, (2019)

Mattison, L.M., Howard, B.T. and Iaizzo, P.A., “Electroporation Ablative Therapy as a Clinical Tool: An Old Technology Revisited”, *Engineering in Medicine Academic Press.*, 179-200, (2019)

McCaig, C.D., Rajnicek, A.M., Song, B. and Zhao, M.,” Controlling cell behavior electrically: current views and future potential”, *Physiological reviews*, 943-978, PMID: 15987799 doi: 10.1152/physrev.00020.2004, (2005)

McCaig, C.D., Song, B. and Rajnicek, A.M., “Electrical dimensions in cell science”, *Journal of cell science*, 122(23), 4267-4276, doi: 10.1242/jcs.023564, (2009)

McLaughlin, K.A. and Levin, M., “Bioelectric signaling in regeneration: mechanisms of ionic controls of growth and form”, *Developmental biology*, 433(2), 177-189, PMID: 29291972 PMCID: PMC5753428 doi: 10.1016/j.ydbio.2017.08.032, (2018)

Medvedeva, V.P. and Pierani, A.,” How do electric fields coordinate neuronal migration and maturation in the developing cortex?” *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 580657, doi: 10.3389/fcell.2020.580657, (2020)

Meijerink, M.R., Scheffer, H.J. and Narayanan, G. eds., *Irreversible electroporation in clinical practice*, New york: Springer International Publishing, (2018)

Mercadal, B., Vernier, P.T. and Ivorra, A., “Dependence of electroporation detection threshold on cell radius: an explanation to observations non compatible with Schwan’s equation model”, *The Journal of membrane biology*, 249(5), pp. 663-676, PMID: 27170140 doi: 10.1007/s00232-016-9907-0, (2016)

Murphy, K.R., Aycock, K.N., Hay, A.N., Rossmeisl, J.H., Davalos, R.V. and Dervisis, N.G., “High-frequency irreversible electroporation brain tumor ablation: exploring the dynamics of cell death and recovery”, *Bioelectrochemistry*, 144, 108001, doi: 10.1016/j.bioelechem.2021.108001, (2022)

Napotnik, T.B. and Miklavčič, D., “In vitro electroporation detection methods—An overview”, *Bioelectrochemistry*, 120, 166-182, PMID: 29289825 doi: 10.1016/j.bioelechem.2017.12.005, (2018)

Napotnik, T.B., Polajžer, T. and Miklavčič, D., “Cell death due to electroporation—a review”, *Bioelectrochemistry*, 141, PMID: 34147013 doi: 10.1016/j.bioelechem.2021.107871, (2021).

Napotnik T.B., Reberšek M., Vernier P.T., Mali B., Miklavčič D., “Effects of high voltage nanosecond electric pulses on eukaryotic cells (in vitro): A systematic review”, *Bioelectrochemistry*, Aug 1; 110:1-2, PMID: 26946156 doi: 10.1016/j.bioelechem.2016.02.011, (2016)

Neuman, E. and Kakorin, S., “Physical chemical theory of membrane electroporation and electrotransfer of biogenic agents” (eds:AC.Pakhomov, D.Miklavcic, M.S.Markov), *Advanced Electroporation Techniques in Biology and Medicine*, CRC, Boca Raton, FL,.3-18, (2010)

Neumann, E. and Rosenheck, K., “Permeability changes induced by electric impulses in vesicular membranes”, *The Journal of membrane biology*, 10(1), 279-290, doi: 10.1007/BF01867861, (1972)

Nourinovin, S., Navarro-Cía, M., Rahman, M.M., Philpott, M.P., Abbasi, Q.H. and Alomainy, A., “Terahertz Metastructures for Noninvasive Biomedical Sensing and Characterization in Future Health Care [Bioelectromagnetics].”, *IEEE Antennas and Propagation Magazine*, 64(2), 60-70, doi: 10.1109/MAP.2022.3145712, (2022)

Novickij, V., Balevičiūtė, A., Malyško, V., Želvys, A., Radzevičiūtė, E., Kos, B., Zinkevičienė, A., Miklavčič, D., Novickij, J. and Girkontaitė, I., “Effects of Time Delay Between Unipolar Pulses in High Frequency Nano-Electrochemotherapy”, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 69(5), 1726-1732, PMID: 34797759 doi: 10.1109/TBME.2021.3129176, (2021)

Ntourtoglou, G., Drosou, F., Chatzimitakos, T., Athanasiadis, V., Bozinou, E., Dourtoglou, V.G., Elhakem, A., Sami, R., Ashour, A.A., Shafie, A. and Lalas, S.I., “Combination of Pulsed Electric Field and Ultrasound in the Extraction of Polyphenols and Volatile Compounds from Grape Stems”, *Applied Sciences*, 12(12), 6219, doi: 10.3390/app12126219, (2022)

Öztürk, G., 2021. Hücre Zarı ve Zardan Madde Taşınması, (eds: Ağar,E, bşk) *Türk Fizyolojik Bilimler Derneği İnsan Fizyolojisi*. İstanbul: İstanbul Tıp Kitapevleri, 27-51, (2021)

Pakhomov, A.G. and Pakhomova, O.N, “The interplay of excitation and electroporation in nanosecond pulse stimulation”, *Bioelectrochemistry*, 136, p. 107598, doi: 10.1016/j.bioelechem.2020.107598, (2020).

Pakhomov, A.G., Miklavcic, D. and Markov, M.S., *Advanced electroporation techniques in biology and medicine*. CRC Press, (2010)

Pakhomov, A.G., Semenov, I., Casciola, M. and Xiao, S., “Neuronal excitation and permeabilization by 200-ns pulsed electric field: An optical membrane potential study with FluoVolt dye”, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1859(7), 1273-1281, PMID: 28432032 PMCID: PMC5484080 doi: 10.1016/j.bbamem.2017.04.016, (2017).

Pallarés, N., Tolosa, J., Gavahian, M., Barba, F.J., Mousavi-Khaneghah, A. and Ferrer, E., “The potential of pulsed electric fields to reduce pesticides and toxins” *Pulsed electric fields to obtain healthier and sustainable food for tomorrow* Academic Press, 141-152, (2020)

Perez, M.A., Ceballos, S., Konstantinou, G., Pou, J. and Aguilera, R.P., “Modular multilevel converters: Recent achievements and challenges”, *IEEE Open Journal of the Industrial Electronics Society*, 2, 224-239, doi: 10.1109/OJIES.2021.3060791, (2021)

Pethig, R., “How does dielectrophoresis differ from electrophoresis” *Dielectrophoresis Theory, Methodology and Biological Applications*, John Wiley & Sons, 31-46, (2017)

Plonsey, R., Barr, R.C., *Bioelectricity, A., Quantitative Approach*. New York, NY: Springer, (2007)

Rajendran, S.B., Challen, K., Wright, K.L. and Hardy, J.G.,” Electrical stimulation to enhance wound healing”, *Journal of Functional Biomaterials*, 12(2), 40, doi: 10.3390/jfb12020040, (2021)

Reberšek, M. and Miklavčič, D., “Advantages and disadvantages of different concepts of electroporation pulse generation”, *Automatika*, 52(1), 12-19., doi: 10.1080/00051144.2011.11828399, (2011)

Reberšek, M. and Miklavčič, D., “Beyond electroporation pulse parameters: from application to evaluation”, *Handbook of electroporation*, 1-21, (2017)

Reinhold L. G., *RF Circuit Design: Theory & Applications*. 2/e:Pearson Education India, (2000)

Ren, X., Sugai, T., Tokuchi, A. and Jiang, W., “Solid-state Marx generator circuit based on inductive energy storage”, *IEEE Transactions on Plasma Science*, 49(11), 3377-3382, doi: 10.1109/TPS.2021.3076082, (2021)

Retelj L, Pucihar G, Miklavčič D. “Electroporation of intracellular liposomes using nanosecond electric pulses—A theoretical study”, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, May 7;60(9):2624-35, doi: 10.1109/TBME.2013.2262177, (2013)

Rolong, A., Davalos, R.V. and Rubinsky, B., “History of electroporation” (eds:M.R. Meijerink, H.J.Scheffer, G.Narayanan) *Irreversible electroporation in clinical practice*, Cham., Springer, 13-37, (2018)

Rols, M.P., “Electropermeabilization, a physical method for the delivery of therapeutic molecules into cells”, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1758(3), 423-428, PMID: 16483538 doi: 10.1016/j.bbamem.2006.01.005, (2006)

Rominiyi, O., Vanderlinden, A., Clenton, S.J., Bridgewater, C., Al-Tamimi, Y. and Collis, S.J., “Tumour treating fields therapy for glioblastoma: Current advances and future directions”, *British journal of cancer*, 124(4), 697-709, doi: 10.1038/s41416-020-01136-5, (2021)

Rossmesl, J.H., Garcia, P.A., Pancotto, T.E., Robertson, J.L., Henao-Guerrero, N., Neal, R.E., Ellis, T.L. and Davalos, R.V., “Safety and feasibility of the NanoKnife system for irreversible electroporation ablative treatment of canine spontaneous intracranial gliomas”, *Journal of Neurosurgery*, 123(4), 1008-1025, doi: 10.3171/2014.12.JNS141768, (2015)

Royer, Robert, Walter Harders, Lee R. Moore, Caroline Androjna, Meredith Midura, Boris Kligman, Ronald J. Midura et al. "Cortical Bone Vibrations Induced by Electromagnetic Field Pulse.", *IEEE Transactions on Magnetics* 58, no. 7: 1-9, doi: 10.1109/TMAG.2022.3169083, (2022)

Saito, T., *Electroporation methods in neuroscience*:Humana Press, (2015)

Sarnago, H., Burdio, J.M., Garcia-Sanchez, T., Mir, L.M., Alvarez-Gariburo, I. and Lucia, O., “GaN-Based versatile waveform generator for biomedical applications of electroporation”, *IEEE Access*, 8, doi: 10.1109/ACCESS.2020.2996426, (2020).

Schoenbach, K.H., “From the basic science of biological effects of ultrashort electrical pulses to medical therapies”, *Bioelectromagnetics*, 39(4), 257-276, PMID: 29528124 doi: 10.1002/bem.22117, (2018)

Schoenbach, K.H., Hargrave, S.J., Joshi, R.P., Kolb, J.F., Nuccitelli, R., Osgood, C., Pakhomov, A., Stacey, M., Swanson, R.J., White, J.A. and Xiao, S., “Bioelectric effects of intense nanosecond pulses”, *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 14 51088-1109, PMID: 21133836 doi: 10.1615/critrevbiomedeng.v38.i3.20, (2007)

Schoenbach, K.H., Katsuki, S., Stark, R.H., Buescher, E.S. and Beebe, S.J., “Bioelectrics-new applications for pulsed power technology”, *IEEE Transactions on Plasma science*, 30(1), 293-300, doi: 10.1109/TPS.2002.1003873, (2002)

Schoenbach, K.H. vd. Ch 1 Introduction (eds: Akiyama, H. and Heller, R.) *Bioelectrics* Tokyo: Springer., 41-107, (2017)

Sen, C.K., Mathew-Steiner, S.S., Das, A., Sundaresan, V.B. and Roy, S., “Electroceutical management of bacterial biofilms and surgical infection”, *Antioxidants & Redox Signaling*, 33(10), 713-724, PMID: 32466673 PMCID: PMC7475090 doi: 10.1089/ars.2020.8086, (2020)

Singh, J, Singh, M., Bansal, V., Sangwan, R.S., Nayak, M.K, 2016. Ch7. Potential of Pulsed Electric Field Treatment for the Food Industry. (eds: S. Lynch), *Pulsed Electric Field (PEF) Technology, Role in Food Science and Emerging Applications*, NY: Nova, 159-187, (2016)

Sitnikov, D.S., Ilina, I.V., Revkova, V.A., Gurova, S.A., Konoplyannikov, M.A., Kalsin, V.A. and Baklaushev, V.P., “Effect of high-power pulses of terahertz radiation on normal and tumor cell lines of the human brain”, *2022 International Conference Laser Optics (ICLO)* 1-1. IEEE, doi: 10.1109/ICLO54117.2022.9840248, (2022)

Stracke, R., Böhm, K.J., Wollweber, L., Tuszynski, J.A. and Unger, E., “Analysis of the migration behaviour of single microtubules in electric fields”, *Biochemical and biophysical research communications*, 293(1), 602-609, PMID: 12054645 DOI: 10.1016/S0006-291X(02)00251-6, (2002).

Tasu, J.P., Tougeron, D. and Rols, M.P., “Irreversible electroporation and electrochemotherapy in oncology: State of the art”, *Diagnostic and Interventional Imaging*, PMID: 36266192 doi: 10.1016/j.diii.2022.09.009 (2022)

Thorp, K.E., “Morphogenic fields: A coming of age”, *Explore*, 18(2), 187-194, PMID: 33903061 doi: 10.1016/j.explore.2021.04.002, (2022)

Toraño, J.S., Ramautar, R. and de Jong, G., “Advances in capillary electrophoresis for the life sciences”, *Journal of Chromatography B*, 1118, 116-136, PMID: 31035134 DOI: 10.1016/j.jchromb.2019.04.020, (2019)

Ueno, S. and Okano, H., “Static, low-frequency, and pulsed magnetic fields in biological systems”, *Electromagnetic Fields in Biological Systems* CRC Press, 115-196, (2016)

Ueno, Y., Yamazaki, S., Hoshina, H. and Harata, M., August. “THz irradiation reduces the DNA damage marker γ H2AX in human cells: THz wave enhances DNA damage

repair?” *47th International Conference on Infrared, Millimeter and Terahertz Waves (IRMMW-THz) IEEE*. 1-2, doi: 10.1109/IRMMW-THz50927.2022.9895933, (2022)

van Boekholdt, L., Kerstens, S., Khatoun, A., Asamoah, B. and Mc Laughlin, M., “tDCS peripheral nerve stimulation: a neglected mode of action?”, *Molecular Psychiatry*, 26(2), 456-461, doi: 10.1038/s41380-020-00962-6, (2021)

Vanegas-Acosta, J.C., Garzón-Alvarado, D.A. and Lancellotti, V., "Numerical simulation of electrically stimulated osteogenesis in dental implants", *Bioelectrochemistry*, 96, 21-36, doi: 10.1016/j.bioelechem.2013.12.001, (2014).

Vorobiev, E. and Lebovka, N., *Processing of foods and biomass feedstocks by pulsed electric energy* (27-49). Cham, Switzerland: Springer International Publishing, (2020).

Voyer, D., Silve, A., Mir, L.M., Scorretti, R. and Pognard, C., “Dynamical modeling of tissue electroporation”, *Bioelectrochemistry*, 119, 98-110, PMID: 28934689 doi: 10.1016/j.bioelechem.2017.08.007, (2018)

Wagstaff, P.G., Buijs, M., van den Bos, W., de Bruin, D.M., Zondervan, P.J., de la Rosette, J.J. and Pes, M.P.L., “Irreversible electroporation: state of the art”, *OncoTargets and therapy*, 9, 2437, PMID: 27217767 PMCID: PMC4853139 doi: 10.2147/OTT.S88086, (2016)

Weaver, J.C. and Chizmadzhev, Y.A., “Theory of electroporation: a review”, *Bioelectrochemistry and bioenergetics*, 41(2), 135-160, doi: 10.1016/S0302-4598(96)05062-3, (1996)

Weaver JC, Smith KC, Esser AT, Son RS, Gowrishankar TR. “A brief overview of electroporation pulse strength–duration space: A region where additional intracellular effects are expected”, *Bioelectrochemistry*, Oct 1;87:236-43, PMID: 22475953 PMCID: PMC3423488 doi: 10.1016/j.bioelechem.2012.02.007, (2012)

Wikipedia, 2022, Cell membrane detailed diagram, [online] (11 Eylül 2022)
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cell_membrane_detailed_diagram_en.svg

Wikipedia, 2022, History of calculus on Wikipedia, [online] (11 Eylül 2022)
https://en.wikipedia.org/wiki/History_of_calculus

Wikipedia, 2022, Membrane circuit, [online] (11 Eylül 2022)
<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:MembraneCircuit.jpg>

Wikipedia, 2022, Membrane potential, [online] (11 Eylül 2022)
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Membrane_Potential.svg

Wikipedia, 2022, Wikimedia Commons. [online] (11 Eylül 2022)

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bergonic_chair.jpg

Wilmink, G.J. and Grundt, J.E., “Terahertz Radiation: Sources, Applications, and Biological Effects”. *Handbook of Electromagnetic Fields in Biological Systems*. CRC Press Taylor & Francis Group, 369-423, (2012)

Wu, T.F., Tseng, S.Y. and Hung, J.C., “Generation of pulsed electric fields for processing microbes”, *IEEE transactions on plasma science*, 32(4), 1551-1562, doi: 10.1109/TPS.2004.831732, (2004)

Yano, K.I., Rems, L., Kotnik, T., Miklavčič, D., Weaver, J.C., Smith, K.C., Son, R.S., Gowrishankar, T.R., Vernier, P.T., Levine, Z.A. and Rols, M.P., 4 “Biological Responses” (eds: Akiyama, H., Heller, R.) *Bioelectrics*. Tokyo, Springer, 155-274, (2017)

Yarmush, M.L., Golberg, A., Serša, G., Kotnik, T. and Miklavčič, D., “Electroporation-based technologies for medicine: principles, applications, and challenges”, *Annu Rev Biomed Eng*, 16(1), 295-320, PMID: 24905876 doi: 10.1146/annurev-bioeng-071813-104622, (2014)

Zamponi, M., Petrella, R. and Mollica, P.A., “Picosecond Pulsed Electric Fields and Promise in Neurodegeneration Research”. *Bioelectricity*, 3(3), 176-185, doi: 10.1089/bioe.2021.0005, (2021)

Zhong, Z., Rao, J., Liu, H. and Redondo, L.M., “Review on Solid-State-Based Marx Generators” *IEEE Transactions on Plasma Science*, 49(11), 3625-3643,, doi: 10.1109/TPS.2021.3121683, (2021)

Zhu, S., Li, Y., Wang, L., Huang, J., Song, K., Gan, X., Xiang, X., He, C. and Yang, L., “Pulsed electromagnetic fields may be effective for the management of primary osteoporosis: a systematic review and meta-analysis.”, *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, 30, 321-328, PMID: 35130160 doi: 10.1109/TNSRE.2022.3149483, (2022)