



ELEKTROPORACIJA

Močno orodje, uporabno v biologiji, biotehnologiji in medicini

► Igor Marjanovič in Damijan Miklavčič

🔗 Slika prikazuje elektroporacijo celic CHO, pritrjenih na krovno stekelce, ki smo jih izpostavili električnemu pulzu dolžine 100 μ s in jakosti električnega polja 800 V/cm. Celice, ki niso bile elektroporirane, so obarvane temno modro, elektroporirane celice pa svetleje. Barva odraža koncentracijo znotrajceličnega kalcija, ki smo ga skozi elektroporirano membrano vnesli v celico. Celice smo pred poskusom pobarvali s fluorescentnim barvilom Fura 2-AM, ki je občutljiv na kalcij. (Vir: Gorazd Pucihar, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani)

Elektroporacija je ena izmed najbolj uspešnih nevirusnih metod, ki omogoča prečkanje številnim molekulam skozi celično membrano, ki jih celica v normalnih okoliščinah ne prepušča. Ta metoda je vsestranska in se s pridom uporablja povsod, kjer želimo povečati prepustnost celične membrane; med drugim tudi na področjih, kot so zdravljenje tumorjev, genska terapija ter tudi v biotehnologiji za pasterizacijo hrane in čiščenje vode.

NASTANEK CELIČNE MEMBRANE JE PRAV GOTOVO EDEN IZMED PRELOMNIH DOGODKOV v evoluciji življenja. Celična membrana je sestavljena iz tanke, dvojne plasti posebnih maščob. V njej so številne beljakovine, ki opravljajo različne naloge. Med drugim skrbijo tudi za selektivno prepustnost snovi prek celične membrane, ki celici omogoča, da nadzira izmenjavo snovi med svojo notranostjo in okolico. Tako lahko celica v svoji notranosti vzdržuje stabilne razmere, čeprav se te v okolici spreminjajo.

► TEORIJA ELEKTROPORACIJE

Elektroporacija (včasih imenovana tudi elektropermeabilizacija)

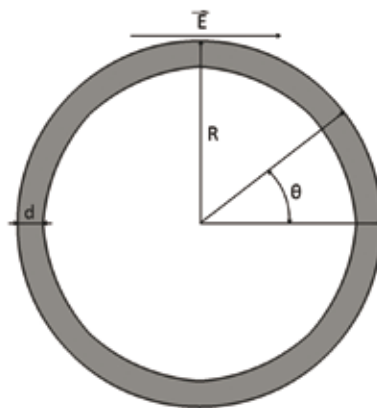
je metoda, ki omogoča vnos tujega materiala v celice z uporabo napetostnih električnih pulzov (električni pulzi). Metoda, ki je bila 'odkrita' pred štirimi desetletji, namreč temelji na izpostavitvi celice električnemu polju s pomočjo električnih pulzov. Električni pulz opišemo z amplitudo jakosti električnega polja ter s časom trajanja. Posledica izpostavitve celice električnim pulzom je povečanje prepustnosti celične membrane, ki omogoči vnos snovi v celico, kot je npr. DNK, za katero je celična membrana v normalnih okoliščinah sicer neprepustna. Ko je celica izpostavljena električnim pulzom oz. ko nanjo deluje električno polje, se celična membrana vede kot izolator, na njej pa se vzpostavi vsiljena transmembranska nape-

lost. To napetost za okrogle celice opisuje izraz (1):

$$ITV(t) = \frac{3}{2} ER \cos\theta \left[1 - e^{-\left(\frac{t}{\tau}\right)} \right],$$

kjer je E absolutna vrednost vektorja jakosti električnega polja \vec{E} , kateremu smo celico izpostavili, R polmer celice, θ kot med smerjo vektorja jakosti električnega polja ter vektorjem normale, ki povezuje središče celice in obravnavano točko na membrani, t čas od vklopa električnega polja, τ pa časovna konstanta membrane.

Slednja je odvisna od prevodnosti in kapacitivnosti membrane ter snovi, ki jo obdaja, znaša pa od nekaj sto nanosekund do nekaj mikrosekund. Izraz (1) pove, da je velikost vsiljene transmembranske napetosti sorazmerna absolutni vrednosti vektorja jakosti električnega polja ter velikosti celice in se spreminja z lego opazovane točke na membrani.

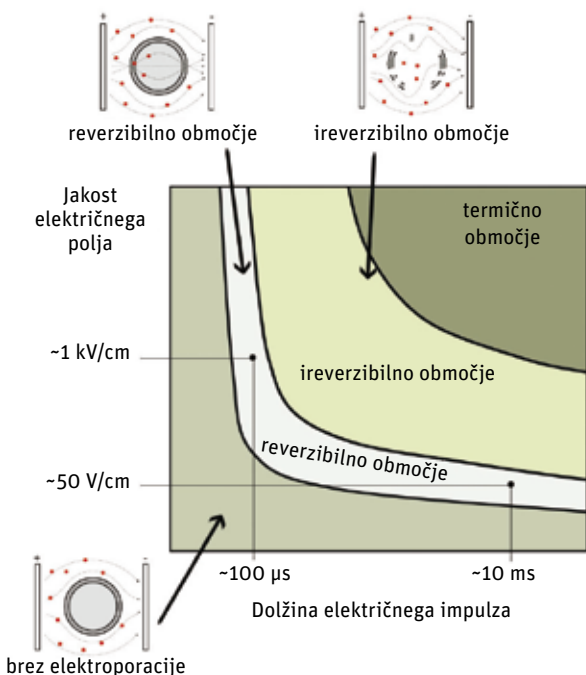


Okrogla celica v električnem polju: d – debelina celične membrane, E – vektor jakosti električnega polja, R – polmer celice, θ – kot med smerjo vektorja jakosti električnega polja ter vektorjem normale, ki povezuje središče celice in obravnavano točko na membrani. (Vir: Igor Marjanovič, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani)

Zaradi časovne konstante τ vsiljena transmembranska napetost, ki jo ustvari stopničast električni pulz, ne nastane v trenutku, temveč svojo končno vrednost doseže v nekaj mikrosekundah.

Kratkotrajna vsiljena transmembranska napetost do nekaj več kot 100 mV na celični membrani ne pusti posledic, kadar pa preseže kritično vrednost od 200 mV do 1 V, se njena prevodnost in prepustnost močno povečata. Če amplituda in trajanje električnih pulzov nista prevelika, po končanem električnem pulzu pride do spontane zacelitve celične membrane in vnovične vzpostavitve njene selektivne prepustnosti. V tem primeru govorimo o reverzibilni elektroporaciji, saj celica preživi. Če pa so električni pulzi predolgi in/ali je napetost električnih pulzov prevelika, celica odmre. Takrat govorimo o ireverzibilni elektroporaciji.

Simbolični prikaz območij elektroporacije; ta so odvisna od dolžine električnih pulzov in jakosti električnega polja. Daljši kot so pulzi, manjša jakost električnega polja je potrebna, da pridemo v območje reverzibilne ali ireverzibilne elektroporacije. (Vir: Igor Marjanovič, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani)



Celice izpostavimo električnemu polju s pomočjo generatorjev električnih pulzov in pripadajočih, pogosto za specifične namene prirejenih elektrod. Če govorimo o poskusih *in vitro*, celice, ki se nahajajo v posebni raztopini, vstavimo med elektrodi, na kateri dovedemo električno napetost. Če sta elektrodi ploščati in glede na njuno medsebojno razdaljo dovolj veliki, je električno polje, v katerem se nahajajo celice, skoraj homogeno. Njegova jakost je približno enaka razmerju med napetostjo na elektrodah in razdaljo med elektrodama. Kadar poznamo še velikost in obliko celic (če prosto plavajo v tekočini, so po navadi okrogle), lahko z uporabo izraza (1) ocenimo tudi vsiljeno transmembransko napetost, ki jo ustvarimo s takšnim poljem. Če dovajamo električne pulze celicam v tkivu, pa moramo upoštevati nehomogenost jakosti električnega polja v tkivu. Jakost električnega polja, ki so mu izpostavljene celice, največkrat izračunamo numerično.

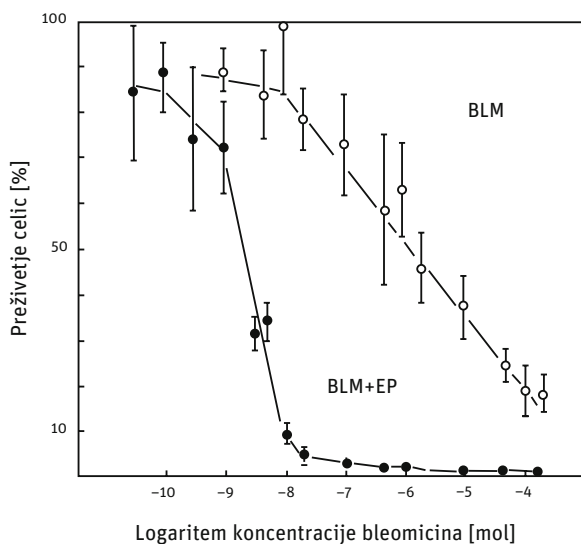
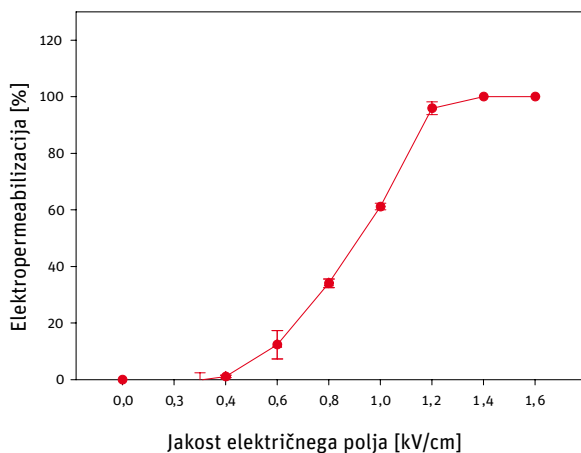
► ELEKTROKEMOTERAPIJA

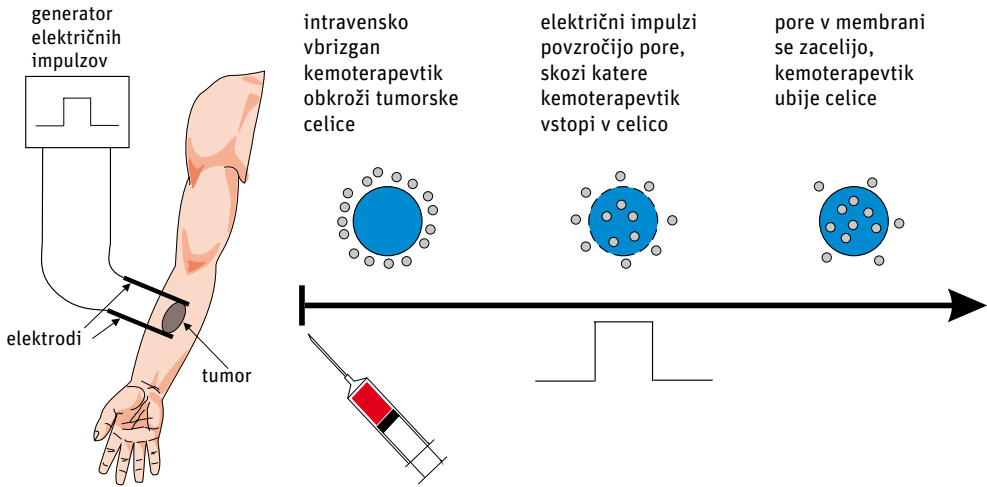
Poleg obsevanja in kirurgije, ki se pri zdravljenju raka najpogosteje uporabljata, je pomembna še kemoterapija. Med kemoterapevtiki najdemo tudi takšne, ki ubijejo celice med njihovo delitvijo. To so

⇒ **Primerjava učinkovitosti strupenosti citostatika bleomicin na celice DC3F v suspenziji, ko uporabimo samo bleomicin (BLM) in ko bleomicin kombiniramo z elektroporacijo (BLM+EP).** Vidimo, da pri drugi kombinaciji dobimo strupeni učinek že pri veliko manjših koncentracijah bleomicina. Strupenost se poveča za faktor več 1000. (Vir: Orłowski et al., 1988; z dovoljenjem)

citostatiki. Nekateri med njimi so v notranjosti celice sicer zelo učinkoviti, vendar je celična membrana zanje neprepustna ali pa premalo prepustna. Učinkovitost takšnih kemoterapevtikov lahko zelo povečamo, če njihov vnos kombiniramo z elektroporacijo. Ta metoda se imenuje elektrokemoterapija. Prve predklinične raziskave so bile opravljene leta 1987, štiri leta pozneje pa so Francozi zabeležili prvi klinični poskus. Elektrokemoterapija se danes pri nas izvaja na Onkološkem

⇒ **Elektropermeabilizacija celic; z večanjem jakosti električnega polja se večja tudi prepustnost celične membrane, ki smo jo določili s pomočjo merjenja absorpcije majhnih molekul propidijevga jodida (P1).** (Vir: Igor Marjanovič, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani)





⚡ **Elektrokemoterapija**
Z generatorjem električnih pulzov tkivo prek elektrod izpostavimo želeni jakosti električnega polja, kjer smo pred tem vnesli citostatik. Elektroporacija povzroči, da celične membrane spustijo citostatik v notranjost celic. (Vir: Laboratorij za biokibernetiko, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani)

inštitutu v Ljubljani, drugod po Evropi pa že na približno sto kliničnih centrih.

Elektroporacija močno poveča učinkovitost izbranega kemoterapevtika, zato se uspešno zdravljenje doseže s precej nižjimi količinami kemoterapevtika, hkrati pa se zaradi lokalne narave te terapije zmanjšajo tudi neželeni stranski učinki zdravljenja.

Za učinkovito elektrokemoterapijo moramo zagotoviti zadostno količino kemoterapevtika v tumorju in izpostaviti tumorske celice dovolj veliki jakosti električnega polja. Tkivo torej izpostavimo kemoterapevtiku, nato pa ga reverzibilno elektroporiramo. Elektrode za poracijo se prilagodijo obliki in lokaciji tu-

morja. Lahko so iz nerjavnih ploščic, žic ali pa v obliki igel.

Če je tumor prisoten na koži ali neposredno pod površino kože, elektrodi pritisnemo ob kožo nad tkivom. Za tumorje, ki so globlje, pa je treba uporabiti elektrode v obliki igel, ki jih vbodemo skozi kožo. Ne glede na uporabljeni pristop porazdelitev jakosti električnega polja v tkivu in njegovi okolici ni homogena, temveč jo določajo oblika elektrod, njihova medsebojna razdalja in električne lastnosti tkiva. Različna tkiva imajo namreč različno električno prevodnost. Zato je pred kliničnim posegom treba opraviti natančne izračune, s katerimi določimo, kam in kako je treba vstaviti elektrode in kakšno napetost je

Uporaba:

- V ČASU VAŠIH DOPUSTOV
- ZA BALKONSKO RASTLINE
- NA VIKENDU

Delovanje:

- VEČ REŽIMOV ZALIVANJA:
- DNEVNI 2x NA DAN,
- TEDENSKI (1x, 2x ali 3x NA TEDEN)
- SAMOSTOJNA ENOTA, KI NE POTREBUJE VODOVODNEGA ALI ELEKTRIČNEGA PRIKLJUČKA
- SESTAVI IN DELUJE KOMPLET: VSEBUJE 3M CEVI, VSE PRIKLJUČKE ZA CEV, NAPAJALNIK IN VODNARJA.
- KO GA SESTAVITE, POTREBUJETE ŠE REZERVOAR Z VODO IN VODNAR DELUJE.

NOVOST

3M CEVI DODAMO IN VSI PRIKLJUČKI

Informacije: 01 549 14 00 www.svet-el.si/vodnar



⊕ Elektrokemoterapija pri malignem melanomu pred terapijo (levo), 1 mesec po terapiji (sredina) in 6 mesecev po terapiji (desno); (Vir: M. Marty et al., 2006; z dovoljenjem)

treba usmeriti nanje, da bo želena jakost električnega polja prekrila celotni tumor ter obenem imela čim manjši vpliv na okolico tumorja.

Optimalna jakost električnega polja, pri katerem je elektrokemoterapija najbolj učinkovita, je bila določeno eksperimentalno in je manjša od 400 V/cm, odvisna pa je od dolžine električnih pulzov in njihovega števila. Dolžina električnih pulzov, ki je učinkovita, je v območju od 100 μ s do 1 ms, število pulzov pa je med 1 in 8.

Od leta 2006, ko je prišla na trg prva komercialna klinična naprava za dovajanje visokonapetostnih električnih pulzov v tkivo, je bilo z elektrokemoterapijo po svetu zdravljenih že več kot 2000 bolnikov. Elektrokemoterapija je bila uporabljena za zdravljenje oseb z različnimi vrstami tumorjev, med drugim s kožnim melanomom, Kaposijevim sarkomom in tudi z rakom na dojkah. Klinični raziskovalci so pokazali, da je lokalna učinkovitost zdravljenja z elektrokemoterapijo kožnih in podkožnih tumorjev s pomočjo citostatikov (cisplatin in bleomicin) več kot 80-%.

Elektrokemoterapija je torej učinkovita metoda za lokalno zdravljenje različnih vrst raka. Ena od njenih lastnosti je tudi njena lokalna narava, saj v primerjavi z drugimi metodami omogoča zdravljenje le točno določenega dela telesa, kjer je tumor. Idealni primer za zdravljenja z elektrokemoterapijo je prav gotovo neme-

tastatski kožni rak, saj v nasprotju z alternativno kirurško odstranitvijo po končanem zdravljenju na koži bolnika ne pusti vidnih znamenj.

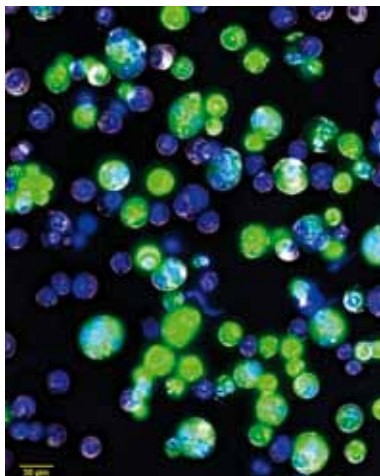
Po svetu prav zdaj poteka več kliničnih raziskav, kjer se elektrokemoterapija uporablja za zdravljenje raka na jetrih, kosteh, dojkah, požiralniku, črevesju, trebušni slinavki in drugod. Elektrokemoterapija se uporablja tudi v veterinarski onkologiji za zdravljenje tumorjev pri psih, mačkah in konjih.

► ELEKTROZLIVANJE

Elektroporacijo uporabljamo tudi za zlivanje celic – elektrozlivanje (tudi elektrofuzija). Zlivanje celic je pojav, ki ga živi organizmi uporabljajo med razvojem in za regeneracijo tkiv. V živih organizmih poteka namensko, njegova vloga je vnaprej določena, vodijo pa ga različni proteini in proteinski kompleksi. Sposobnost celic, da se zlivajo nenamensko zaradi zunanega povzročitelja, kot je npr. električno polje, pa je pomembna za biotehnologijo, medicino in raziskave v biologiji. Elektrozlivanje je učinkovita nevirusna in nekemična metoda zlivanja celic, pri kateri membrane celic, ki jih želimo zlivati, destabiliziramo s kratkimi visokonapetostnimi električnimi pulzi.

Elektrozlivanje ima več prednosti pred drugimi metodami zlivanja celic: metoda je razmeroma preprosta in potencialno visoko učinkovita,

⇒ Slika prikazuje elektroživljenje celic. Celice mišjega melanoma smo izpostavili osmim električnim pulzom dolžine 100 μ s in jakosti električnega polja 600 V/cm. Uspešno zlite celice so tiste celice, ki so obarvane z zelenim citoplazemskim in modrim jedrnim fluorescenčnim barvilom. (Vir: Marko Ušaj, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani)



ponuja možnost nadzora (in s tem optimizacije) parametrov ter omogoča hkratno zlivanje velike količine celic. Elektroživljenje je zelo zanimivo tudi za klinične aplikacije, saj gre za varno metodo, ki ne vključuje nobenih dodatnih, za telo tujih snovi, kar je velika prednost pred biološko-kemijskimi metodami. Zato se elektroživljenje uporablja tudi za zlivanje celic pri pripravi hibridnih celičnih cepiv za imunoterapijo rakavih obolenj.

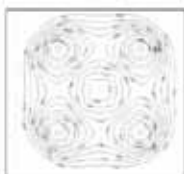
Danes se pospešeno razvijajo mikrofuidne naprave (čipi, komore), s katerimi lahko zagotovimo nadzorovano zlivanje različnih celic. Poleg večje učinkovitosti ponujajo možnost dodatne avtomatizirane obdelave zlitih celic (zaznavanje, ločevanje, zbiranje ...).

▶ IREVERZIBILNA ELEKTROPORACIJA

Doslej smo govorili zgolj o reverzibilni elektroporaciji, ki ohranja celice in tkivo živo. Čeprav se na prvi pogled morda zdi, da je to edino uporabno področje elektroporacije, to ne drži. Nadvse uporabna in v določenih pogledih presenetljiva je namreč tudi ireverzibilna elektroporacija. Kot vemo, z večanjem dolžine in amplitude električnih pulzov nad mejo reverzibilne elektroporacije pridemo v območje ireverzibilne elektroporacije, ki zaradi porušene homeostaze (vzdrževanje stabilnih razmer v celici) privede do odmrtja celic. A tudi pri ireverzibilni elektroporaciji pulzov ne moremo večati v nedogled. Če jih je preveč oz. so predolgi in/ali premočni, se lahko zgodi, da poškodujemo tkivo zaradi prevelikega povečanja temperature zaradi Joulskih izgub. Te so posledica električnega toka, ki začne teči skozi tkivo, ko je celica izpostavljena električnemu polju. Ireverzibilna elektroporacija je torej območje med reverzibilno elektroporacijo in čezmernim toplotnim segrevanjem, ki uniči tkivo ali celice zaradi čezmerne povečane temperature.

Ameriško podjetje AngioDynamics je razvilo kirurško orodje NanoKnife™, namenjeno predvsem ablaciji tumorjev, ki deluje na principu ire-

⇒ Postopek zdravljenja z IRE na kliniki (Vir: AngioDynamics; z dovoljenjem)



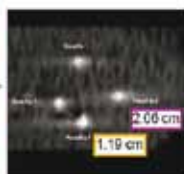
matematični model ablitiranega območja



računalniška simulacija pred operaciji



vstavitve elektrod na podlagi računalniške simulacije



CT-slika, s katero se preveri, ali položaj vstavljenih elektrod ustreza računalniški simulaciji

verzibilne elektroporacije. Sestavlja jo ga zelo majhne igelne elektrode (dve ali več), ki jih podobno kot pri elektrokemoterapiji zapičimo npr. okoli tumorja tako, da ga lahko pokrije želeno električno polje. Namen dovedenih pulzov pa v tem primeru ni povečanje prepustnosti celične membrane, ampak zgolj uničenje določenega območja. Izkaže se, da s pomočjo ireverzibilne elektroporacije lahko uničimo celice v poriranem območju, medtem ko zunajcelični matriks in okolica poriranega območja ostaneta nepoškodovana, zato celice mnogo lažje znova naselijo porirano območje in mu tako povrnejo njegovo funkcionalnost. Če pa bi to območje poskušali uničiti s premočnimi in predolgimi pulzi, ko se nahajamo že v območju toplotnega segrevanja, bi močno poškodovali tako zunajcelični matriks kot tudi okolico poriranega območja. Kirurški posegi z orodjem NanoKnife™ že žanjejo uspehe v 25 različnih ustanovah po svetu. Metoda ireverzibilne elektroporacije pomeni učinkovito alternativo drugim minimalno invazivnim kirurškim tehnikam, kot so radiofrekvenčna ablacija, mikrovalovna ablacija in krioblacija, kajti vse te metode lahko trajno poškodujejo zdravo tkivo v okolici tumorja, medtem ko ireverzibilna elektroporacija pusti žile, živce in krvne celice praktično nedotaknjene. Posebna uporabnost ireverzibilne elektroporacije se pokaže tudi pri srčni ablaciji (uničenje tistih celic na srcu, ki povzročajo aritmijo). Pretok krvi v žilah namreč skrbi tudi za enakomerno porazdelitev temperature po telesu, zato so metode zamrzovanja (krioblacija) ali segrevanja (radiofrekvenčna ablacija) tumorja v okolici velikih žil pogosto

neučinkovite. Pri ireverzibilni elektroporaciji zmanjšanja učinkovitosti metode zaradi teh učinkov ni.

► ELEKTROPORACIJA PRI PASTERIZACIJI HRANE

Samo v ZDA so s hrano povezani znani patogeni letno odgovorni za več kot 76 milijonov boleznih, 325.000 hospitalizacij in 5000 smrti. Mikroorganizmi salmonelle, listerie in toksoplazme skupno povzročijo več kot 1500 smrtnih primerov na leto. Te številke so seveda le približne. Velikokrat zastrupitve s hrano tudi 'preležimo' doma in tako o tem zdravniki niso obveščeni. Vsekakor pa te številke zgovorno podpirajo dejstvo, da je eno od osrednjih vprašanj, s katerim se človeštvo srečuje že od samega začetka, zagotovo skladiščenje in transport hrane – da bi bila ta čim dlje uporabna. Še zlasti danes, ko nas je večina odvisna od hrane, ki jo kupimo v trgovinah, želimo biti prepričani, da je hrana, ki jo kupujemo, neoporečna.

Pri pasterizaciji hrane je treba ujeti najprimernejše razmerje med tem, da je hrana prosta patogenov, hkrati pa naj izgubi čim manj svoje hranilne vrednosti (vitamini, minerali ...). Klasične metode, kot so encimska, kemična in termična metoda, za pasterizacijo hrane dandanes zaradi vedno večjih zahtev potrošnikov niso več v celoti ustrezne. S temi metodami namreč lahko poškodujemo občutljive sestavine v hrani, kar lahko v njej privede do nezaželenih sprememb, kot so izguba vitaminov, hranilnih snovi in nenazadnje tudi izgube okusa. Potrošniki pa danes težimo k sicer varni, a čim bolj naravni hrani. Na splošno velja, da je problem narediti hrano varno za za-

užitje in pri tem upoštevati še druge zahteve kupcev, kot so ohranitev dobrega okusa, svežine, naravnosti in ustrezne hranilne vrednosti. K vsemu temu moramo seveda prišteti še čim nižjo ali vsaj kolikor toliko sprejemljivo ceno.

Prav naštete zahteve po čim manjših spremembah naravne hrane nas privedejo do minimalno invazivnih metod za pasterizacijo hrane, med katere je spretno našla pot tudi elektroporacija. Metoda elektroporacije sloni na visokih jakostih električnega polja ($E = 10\text{--}35 \text{ kV/cm}$) in je v območju ireverzibilne elektroporacije. S to metodo uspešno uničujemo mikroorganizme (bakterije, plesen ...) brez škodljivega povečanja temperature ($\Delta T < 30 \text{ }^\circ\text{C}$). Seveda pa tako visoka jakost električnega polja uniči tudi celice 'hrane', zato se ta metoda za zdaj uporablja predvsem za pasterizacijo sokov, mleka, jogurtov in vode.

► ELEKTROPORACIJA PRI VNOSU IN EKSTRAKCIJI SNOVI IZ RASTLINSKIH CELIC

Poleg pasterizacije se elektroporacija s pridom uporablja še za ekstrakcijo snovi iz rastlinskih celic. Prav to področje postaja vedno bolj zanimivo za živilsko industrijo, saj so številni poskusi (npr. pridobivanje saharoze iz sladkorne pese, pridobivanje jabolčnega in grozdnega soka ...) dokazali, da če v proces ekstrakcije snovi iz rastlin vključimo še elektroporacijo, dosežemo opazno povečanje izkoristka ekstrakcijske snovi, hkrati pa je pridobljena snov še veliko bolj čista in brez neželenih primesi. Poleg tega imamo pri tej metodi še dodatne prednosti, kot so ohranitev okusa, hranilnih snovi in strukture ekstrahirane snovi.

Lep primer je poskus pridelave vina, ki so ga predlani opravili na Veterinarski fakulteti Univerze v Zaragozi v Španiji. Ko so v proces pridobivanja soka iz grozolja vpeljali še elektroporacijo, je s to metodo dobljeno vino v primerjavi s tistim, ki je bilo narejeno po običajnem postopku, imelo kar za 38 % večjo barvitost, za 22 % večji skupni indeks polifenolov in za 11 % večjo vsebnost antocianov (naravna barvila).

Prav tako zanimiv poskus so izvedli na oddelku za tehnologijo hrane na Univerzi v Lundu na Švedskem, kjer se ukvarjajo s podaljševanjem roka svežosti hrane. List špinacije so tretirali s krioprezervansom trehaloza, ga vakuumsko impregnirali in elektroporirali v območju reverzibilne elektroporacije, nato pa so list špinacije zamrznili. Ko so ga odtajali, so bile celice lista še vedno žive!

Zdaj so v enak postopek vključili jagode. Torej morda le ni več tako daleč čas, ko bomo nekega zimskega dne vzeli jagode iz zamrzovalnika, jih odtajali in bodo prav takšne, kot da bi jih pravkar nabrali na vrtu.

► ZAKLJUČEK

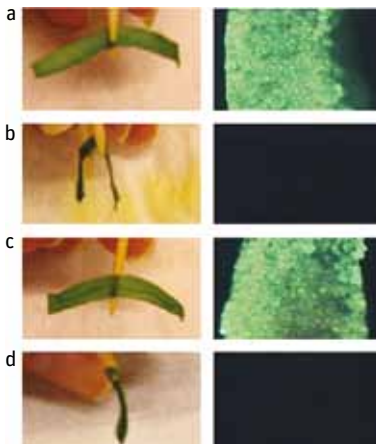
Ta prispevek predstavlja zgolj nekaj zanimivih tem s področja elektroporacije, s katerimi se ukvarjamo v Laboratoriju za Biokibernetiko na Fakulteti za elektrotehniko Univerze v Ljubljani in kjer si s tujimi ustanovami po svetu delimo raziskovalne dosežke na področju elektroporacije. Poleg že omenjenih področji se elektroporacija danes vedno bolj uporablja kot metoda vnosa molekul DNK ali RNK v celice pri genski terapiji (ŽIT 2003/5, str. 17). Prav tako poteka vedno več raziskav na področju nanoporacije. Če namreč vzame-

mo klasično metodo elektroporacije in povečamo jakost električnega polja na 10–100 kV/cm, hkrati pa skrajšamo dolžino električnih pulzov za tri velikostne razrede (iz μ s v ns), pridemo v območje t. i. nanoporacije. Tu se pojavi vsiljena napetost tudi na notranjih membranah celic, kar vodi v pojav por v membranah organelov. Nanoporacija torej lahko vpliva na notranje organele celic, kar nam omogoča znotrajcelično manipulacijo.

Elektroporacija brez dvoma že danes ponuja veliko možnosti, v prihodnosti pa lahko pričakujemo razvoj še novih zanimivih aplikacij na področju biologije, biotehnologije in medicine.

VIRI IN LITERATURA

- ▶ D. J. Wells: Gene Therapy Progress and Prospects: Electroporation and other physical methods; *Gene Therapy*, 2004, 11: 1363–1369.
- ▶ S. Orlowski, J. Belehradek Jr., C. Paoletti, L. M. Mir: Transient electroporabilization of cells in culture: Increase of the cytotoxicity of anticancer drugs. *Biochemical Pharmacology* 1988, 37: 4727–4733.
- ▶ P. Y. Phoon, F. G. Galindo, A. Vicente, P. Dejmeek: Pulsed electric field in combination with vacuum impregnation with trehalose improves the freezing tolerance of spinach leaves. *Journal of Food Engineering* 2008, 88: 144–148.
- ▶ E. Puértolas, P. Hernández-Orte, G. Sladaña, I. Álvarez, J. Raso: Improvement of winemaking process using pulsed electric fields at pilot-plant scale. Evolution of chromatic parameters and phenolic content of Cabernet Sauvignon red wines. *Food Research International* 2010, 43: 761–766.
- ▶ E. Vorobiev, N. Lebovka: Enhanced Extraction from Solid Foods and Biosuspensions by Pulsed Electrical Energy. *Food Eng. Rev.* 2010, 2: 95–108.



Ⓞ **Odpornost lista špinacije na zamrznitev**
 a – svež list špinacije; b – list zamrznjen v tekočem dušiku za 7 s, nato pa takoj pomočen v vodo pri sobni temperaturi; c – list špinacije, obdelan s kriopreservansom, vakuumsko impregnacijo in elektroporacijo, zamrznjen in nato odtajan kot pri b; d – list obdelan enako kot v primeru c, vendar brez elektroporacije. Desni stolpec kaže del lista pod fluorescentnim mikroskopom. Fluorescentno zelena barva predstavlja žive celice. (Vir: P. Y. Phoon et al., 2008; z dovoljenjem)

- ▶ M. Marty et al.: Electrochemotherapy – An easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: Results of ESOPE study. *European Journal of Cancer Supplements* 2006, 4: 3–13.
- ▶ B. Al-Sakere et al.: Tumor Ablation with Irreversible Electroporation. *PLoS ONE* 2007, 2: e1135.
- ▶ Nejc Jelen: Genska terapija, *Revija Življenje in tehnika*, maj 2003.

SPLETNI NASLOVI

- ▶ www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/oecd_fbd.pdf podatki o boleznih, povezanih z mikroorganizmi v hrani, Svetovna zdravstvena organizacija
- ▶ www.nanoknife.com AngioDynamics, podjetje, ki proizvaja napravo za ablacijo tkiv
- ▶ lbk.fe.uni-lj.si/bibliog.html Laboratorij za biokibernetiko, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani
- ▶ www.cliniporator.com klinična naprava za dovajanje visokonapetostnih pulzov v tkivo
- ▶ www.jove.com/index/details.stp?ID=1991 kratka predstavitev elektrozlivanja
- ▶ ohioline.osu.edu/fse-fact/0002.html elektroporacija pri pasterizaciji hrane
- ▶ www.jove.com/details.php?id=1038 kratek prikaz klinične elektrokemoterapije