

**T.C.
ISPARTA UYGULAMALI BİLİMLER ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ATMOSFERİK BASINÇ PLAZMA İLE İLAÇ TEDAVİSİNİN
MEME KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Fazilet CANATAN

**Danışman
Doç. Dr. Ali GÜLEÇ**

ISPARTA - 2019

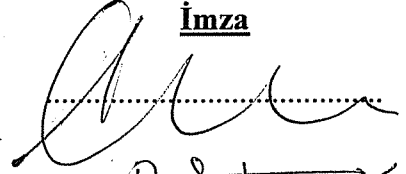


© 2019 [Fazilet CANATAN]

TEZ ONAYI

**ATMOSFERİK BASINÇ PLAZMA İLE İLAÇ TEDAVİSİNİN
MEME KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Fazilet CANATAN tarafından hazırlanan bu tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** olarak kabul edilmiştir.

		<u>İmza</u>
Başkan	Doç. Dr. Ali GÜLEÇ Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi	
Üye	Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR Süleyman Demirel Üniversitesi	
Üye	Doç. Dr. İsmail ŞEN Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi	

Yukarıdaki Jüri kararı Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun / / tarih ve / sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yusuf UÇAR
Enstitü Müdürü

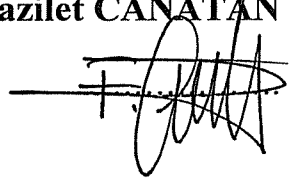
ETİK BEYANI

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak ve bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın hazırladığım bu tez çalışmasında;

Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

05/07/2019

Fazilet CANATAN



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1. Plazmanın Tanımı ve Plazmaya Tarihsel Bakış.....	4
2.2. Plazmanın Sınıflandırılması	5
2.2.1. Toplam termodinamik dengede olan plazmalar (TTD plazmaları).....	6
2.2.2. Lokal termodinamik dengede olan plazmalar (LTD plazmaları).....	6
2.2.3. Lokal termodinamik dengede olmayan plazmalar (Non-LTD plazmalar)	7
2.3. Atmosferik Basınçta Plazma Sisteminin Oluşturulması	7
2.3.1. Atmosferik basınç plazma üretiminde etkili olan parametreler	10
2.3.2. Atmosferik basınç plazma bileşenleri oluşum ve etki etme mekanizması	11
2.3.3. Plazmada reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin etkinliğinin önemi.....	13
2.4. Atmosferik Basınç Plazmanın Biyomedikal Alanda Uygulama Metotları..	14
2.4.1. Plazmanın sterilizasyon alanında kullanımları.....	16
2.4.2. Plazmanın yara tedavisi için kullanımları	17
2.4.3. Kanser alanında tedavi yöntemi olarak plazma kullanımı	18
2.5. MCF-7 Meme Kanseri Hücre Hattı	20
2.5. 1. MCF-7 meme kanserinde apoptoz mekanizması	21
2.5. 2. MCF-7 meme kanseri tedavisinde doksorubisin etki mekanizması.....	24
2.5. 3. MCF-7 meme kanserinde ilaçla tedavi etkisi ile atmosferik basınç plazma etkisinin karşılaştırılması	25
3. MATERYAL VE YÖNTEM	27
3.1. Materyal	27
3.1.1. MCF-7 meme kanseri hücre kültürü için kullanılan gereçler	36
3.2. Yöntem.....	37
3.2.1. Meme kanseri hücre hattı temini, açılması, kültür ortamının hazırlığı ve çalışma grupları.....	43
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	48
4.1. 2 mm İç Yarıçapa Sahip Al Banth Cam Boru, kHz Voltaj, Ar Gazı APP Bulguları	48
4.2. 2 mm İç Yarıçapa Sahip Al Bant Olmayan Cam Boru, kHz Voltaj, Ar Gazı APP Bulguları.....	52
4.3. 2 mm İç Yarıçapa Sahip Al Banth Cam Boru, kHz Voltaj, He Gazı APP Bulguları	56
4.4. 2 mm İç Yarıçapa Sahip Al Bant Olmayan Cam Boru, kHz Voltaj, He Gazı APP Bulguları.....	59
4.5. 3 mm İç Yarıçapa Sahip Al Banth Cam Boru, kHz Voltaj, Ar Gazı APP Bulguları	63
4.6. 3 mm İç Yarıçapa Sahip Al Banth Cam Boru, kHz Voltaj, He Gazı APP Bulguları	67
4.7. Reaksiyon Tahmini, Uyarma Sıcaklığı ve Elektron Yoğunluğu Bulguları..	71

4.8. Plazma Uygulama Sonrası Ortamdaki pH, Oksidasyon Redüksiyon Potansiyeli (ORP), Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂), Nitrit (NO ₂), Nitrat (NO ₃) Miktarları ve Reaksiyon Tahminleri Bulguları.....	77
4.9. Plazma Uygulama Öncesinde MCF-7 Meme Kanseri Hücre Kültürü Hazırlama Sonrası Gözlemlenen Bulgular.....	94
4.10. MCF-7 Hücre Kültürü Deney Gruplarına Doxorubisin İlacı Uygulaması ve He/Ar Plazma Uygulamalarının Gerçekleştirilmesi.....	97
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	106
KAYNAKÇA.....	112
ÖZGEÇMİŞ.....	123



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ATMOSFERİK BASINÇ PLAZMA İLE İLAÇ TEDAVİSİNİN MEME KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Fazilet CANATAN

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ali GÜLEÇ

Bu tez çalışmasında MCF-7 meme kanseri hücrelerine uygulamak üzere atmosferik basınç soğuk plazma kalem sistemi tasarlanmıştır. Argon ve Helyum gazları kullanılarak elde edilen plazma deşarjları optik emisyon spektroskopisi (OES) yöntemiyle analiz edilmiştir. Atmosferik basınç plazma kalem sisteminde, argon ve helyum deşarjları 1 L/dk'dan 5 L/dk'ya akış hızlarında, kHz (7 kV - 50 kHz ve 6 kV - 4 kHz) güç kaynakları kullanılarak elde edilmiştir. 5 cm uzunluğuna kadar ulaşabilen helyum ve 2 cm uzunluğuna kadar ulaşabilen argon plazmalar üretilmiştir. MCF-7 hücre kültürü çalışmasında önemli olan (309 nm) OH, (282,9 nm) NO ve (337 nm) NII gibi reaktif oksijen ve nitrojen türleri OES'lerden tespit edilmiştir.

Hücre çalışma aşamasına geçmeden önce plazmanın sıvı ortam üzerindeki etkinliği incelenmiştir. Atmosferik basınç plazma distile su, izotonik serum gibi sıvılara 5 dk ve 10 dk süre boyunca muamele edilmiştir. Uygulama sonrası sıvı ortamda plazmanın meydana getirdiği fizikokimyasal değişimler incelenmiştir.

Plazmanın MCF-7 insan meme kanseri hücreleri üzerindeki etkisi, yaygın kemoterapi ilacı olan doksorubisin ile karşılaştırılmış ayrıca ortak etkileri değerlendirilmiştir. Yalnızca plazma, yalnızca Doksorubisin, Doksorubisin + plazma grupları uygulamalarının ardından 24 saat, 48 saat ve 72 saat sonunda deney grupları üzerindeki sonuçları karşılaştırılmıştır. Plazma uygulamalarında meme kanseri hücreleri üzerinde He plazmanın Ar plazmaya göre daha etkili olduğu, İlaç+plazma uygulamalarında plazmanın meme kanseri tedavisinde kullanılan Doksorubisin ilacı etkinliğinin uzun süreli olmasına yardımcı olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Argon, Atmosferik basınç soğuk plazma, Helyum, MCF-7 kanser hücre kültürü, Optik emisyon spektroskopisi.

2019, 123 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

COMPARISON OF THE EFFECTS OF ATMOSPHERIC PRESSURE PLASMA AND DRUG THERAPY ON BREAST CANCER CELLS

Fazilet CANATAN

**Isparta University of Applied Sciences
The Institute of Graduate Education
Department of Biomedical Engineering**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ali GÜLEÇ

In this thesis, atmospheric pressure cold plasma pen system was designed to apply to MCF-7 breast cancer cells. Plasma discharges obtained by using argon and helium gases were analyzed by optical emission spectroscopy (OES) method. In the atmospheric pressure plasma pen system, argon and helium discharges were obtained at flow rates from 1 L / min to 5 L / min using kHz (7 kV - 50 kHz and 6 kV - 4 kHz) power supplies. Helium plasma up to 5 cm in length and argon plasma up to 2 cm in length were produced. Reactive oxygen and nitrogen species such as OH, NO and NII, which are important in MCF-7 cell culture study, were determined from OES.

The efficacy of plasma on the liquid medium was examined before moving to the cell working phase. Atmospheric pressure plasma was treated with liquids such as distilled water, isotonic serum for 5 min and 10 min. Physicochemical changes caused by plasma in the liquid medium after the application were examined.

The effect of plasma on MCF-7 human breast cancer cells was compared with doxorubicin, a common chemotherapy drug, and its common effects were evaluated. Plasma alone, Doxorubicin only, Doxorubicin + plasma groups were compared and their results on the experimental groups after 24 hours, 48 hours and 72 hours were compared. It has been observed that plasma is more effective on breast cancer cells in plasma applications than Ar plasma, and in drug + plasma applications, plasma has been observed to help long-term efficacy of Doxorubicin drug used in breast cancer treatment.

Key Words: Argon, Atmospheric pressure cold plasma, Helium, MCF-7 cancer cell culture, Optical emission spectroscopy.

2019, 123 pages

TEŞEKKÜR

Tezi yazma süreci boyunca bana yardım etmede oldukça cömert ve sabırlı davranan, tüm metni okuyup yorumlarını ve önerilerini paylaşma inceliği gösteren ve karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile bu süreci aşmamda yardımcı olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Ali GÜLEÇ'e teşekkür ediyorum ve saygılarımı sunuyorum.

Araştırmalarımızın başlangıcından itibaren sahip olduğu imkânları sunmakta anlayışlı olduğu kadar cömert olması ve plazma fiziği alanındaki bilgisi ile çok az dengi bulunan PLAZMATEK şirketi kurucusu olan hocam Prof. Dr. Lütü ÖKSÜZ'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Araştırmalarımızda MCF-7 hücre kültürü için çalışma aşamasında, laboratuvar ortamında disiplinli bir şekilde çalışma koşullarını tüm ayrıntıları ile anlatarak tezi tamamlama sürecimde bilgi ve tecrübelerini paylaşan, kıymetli vaktini ayıran değerli hocam Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR'a teşekkür ediyorum.

Araştırmalarımızın hücre kültürü aşamalarında ve laboratuvar aşamalarında çalıştığım hocam Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR vasıtasıyla tanıştığım bilgi ve tecrübeleriyle kendilerinden feyz aldığım değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Dilek BAYRAM'a, Arş. Gör. Meltem ÖZGÖÇMEN'e ve Arş. Gör. Dilek AŞCI ÇELİK'e teşekkürlerimi sunuyorum.

MCF-7 insan meme kanseri hücre hattını temin etmemizi sağlayan hocamız, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Esin SAKALLI ÇETİN'e çok teşekkür ediyorum.

Araştırmanın başlangıç aşamalarında bir arada çalıştığım ve tezimde elde ettiğimiz verilerde yardımcı olan sevgili arkadaşım Sevde Nur KUTLU'ya teşekkür ediyorum.

Araştırmayı tamamlarken her aşamada yanımda olan ve kendi alanının verdiği bilgisi ile her an yardımcı olan sevgili arkadaşım Zeynep AKPINAR'a teşekkür ediyorum.

PLAZMATEK ekibinden, Orkun, Emre, Ferhat ve Emir'e yardımları için teşekkür ediyorum.

5057-YL2-17 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesinde 117S474 numaralı proje ile maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyu yanımda olmaları, yıllarca sevgilerini her an hissettirmeleri, bir an olsun esirgmeden verdikleri manevi destekleri ve en önemlisi eğitim hayatım boyunca araştırma yapmam için belki çok sıradan şartları dahi oluşturmadaki katkıları için değerli aileme sonsuz sevgi, saygı ve şükranlarımı sunuyor ve bir gün haklarını ödeyebilmeyi ümit ediyorum.

Bu eğitim aşamasına gelişim boyunca hayatımdaki ilkokul öğretmenimden başlayarak disiplinli çalışmanın öylesine önem arz ettiğini her daim bana işleyen, böylelikle eğitimim için yol gösteren, sabırla, özveriyle çalışmış ve çalışmaya devam eden bütün eğitimci hocalarıma teşekkürlerimi bir borç biliyorum.

Son olarak yüksek lisans eğitim hayatım boyunca bana bu süreçte destek olan burada tek tek sayabileceğimden daha fazla insana teşekkür borçluyum. Ayrıca, literatür araştırma bölümümde kaçınılmaz olarak pek çok araştırmacının yapmış olduğu çalışma ve uygulamalara başvurdum. Yine de yetersiz olsa bile, “kaynaklar” kısmında bu borcu yerine getirmiş olmayı umuyorum.

Fazilet CANATAN
ISPARTA, 2019



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Maddenin dört hali	4
Şekil 2.2. Plazmaların sınıflandırılması	6
Şekil 2.3. (a) DBD tipi, (b) APPJ tipi, (c) Plazma kaynağı etki mekanizması şematik gösterimi.....	8
Şekil 2.4. DBD deney plazma sistemi şematik gösterim	8
Şekil 2.5. APPJ deney plazma sistemi şematik gösterim.....	9
Şekil 2.6. Microwave APPJ	9
Şekil 2.7. Atmosferik basınç plazma kaynaklarının elektron sıcaklığı ve gaz sıcaklığına göre şematik dağılım grafiği	10
Şekil 2.8. Plazma bileşenlerinin etki mekanizması	12
Şekil 3.1. Plazma çalışmalarının yürütüldüğü laboratuvar girişi	27
Şekil 3.2. DC (7 kV, 50 kHz) güç kaynağı ve trek marka yüksek voltaj yükseltici fonksiyon jeneratör güç kaynağı ile bağlantılı en üstteki aatech marka sinyal jeneratörü	28
Şekil 3.3. Argon (sol) ve Helyum (sağ) soygazları	29
Şekil 3.4. LR1-B optik emisyon spektrum cihazı	29
Şekil 3.5. Bilgisayar kontrollü x-y-z eksenlerinde hareket edebilen düzlem.....	30
Şekil 3.6. % 0.9 sodyum klorürlü izotonik serum (solda), distile su (sağda)	31
Şekil 3.7. Adwa marka AD14 model pH metre: pH, ORP, sıcaklık ölçüm cihazı	31
Şekil 3.8. H ₂ O ₂ ölçümleri için chembio marka test şeritleri (solda), NO ₂ ve NO ₃ ölçümleri için colorkim marka test şeritleri (sağda).....	32
Şekil 3.9. İverted mikroskop yandan görünüm (solda), inverted mikroskop önden görünüm (sağda).....	33
Şekil 3.10. Işık mikroskop yandan görünüm	33
Şekil 3.11. Plazma uygulamasının steril olarak MCF-7 hücrelerine uygulanma işlemi için satın alınan biyogüvenlik test kabini	34
Şekil 3.12. MCF-7 meme kanseri hücrelerinin çoğaltılması için satın alınan CO ₂ inkübatörü.....	34
Şekil 3.13. MCF-7 meme kanseri hücrelerinin santrifüj edilmesi için satın alınan santrifüj cihazı	35
Şekil 3.14. MCF-7 meme kanseri hücre kültürü hazırlamak için kullanılan besiyeri ortamlarını uygun koşullarda (-20 °C ve +4 °C) saklamak için satın alınan buzdolabı.....	35
Şekil 3.15. Tasarlanan plazma kalem sisteminin 2D şematik gösterimi.....	37
Şekil 3.16. kHz güç kaynağı ve Ar gazı varlığında 2 mm iç çapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bantlı elektrot düzenlemesi.....	37
Şekil 3.17. kHz güç kaynağı ve Ar gazı varlığında 2 mm iç yarıçapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bant bulunmayan elektrot düzenlemesi.....	38
Şekil 3.18. kHz güç kaynağı ve He gazı varlığında 2 mm iç yarıçapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bantlı elektrot düzenlemesi.....	38

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.19. kHz güç kaynağı ve He gazı varlığında 2 mm iç yarıçapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bant bulunmayan elektrot düzenlemesi.....	39
Şekil 3.20. 7 kV, 50 kHz DC güç kaynağı kullanılarak 5 mm çapta cam boruda Al bantlı oluşturulan Ar plazma (solda), 5 mm çapta cam boruda Al bant olmadan oluşturulan Ar plazma (sağda)	40
Şekil 3.21. 7 kV, 50 kHz DC güç kaynağı kullanılarak 5 mm çapta cam boruda Al bantlı oluşturulan He plazma (solda), 5 mm çapta cam boruda Al bant olmadan oluşturulan He plazma (sağda)	40
Şekil 3.22. Farklı kV, kHz güç kaynağının ayrı ayrı Ar ve He gaz varlığında 3 mm iç yarıçapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bantlı elektrot düzenlemesi	41
Şekil 3.23. Farklı kV, kHz güç kaynağının Ar gaz varlığında 3 mm iç yarıçapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bantlı elektrot düzenlemesi	41
Şekil 3.24. Farklı kV, kHz güç kaynağının He gaz varlığında 3 mm iç yarıçapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bantlı elektrot düzenlemesi	42
Şekil 3.25. Plazma akışı sırasında plazma jet ile spektrometrenin optik ucu arasındaki mesafe ve cam boru uç ile numune arasındaki mesafe...	43
Şekil 3.26. Biyomedikal plazma laboratuvarında hücre kültürü için steril çalışma ortamı 2D boyutlu planı	44
Şekil 3.27. Biyomedikal plazma laboratuvarında hücre kültürü için besiyer hazırlama işlemleri	46
Şekil 4.1. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında Ar gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (180-500 nm aralığı)	48
Şekil 4.2. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında Ar gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (600-1000 nm aralığı)	49
Şekil 4.3. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen Ar plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (190-390 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri.....	50
Şekil 4.4. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen Ar plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (650-1000 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri.....	50
Şekil 4.5. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bant olmayan cam boruda farklı akış hızlarında Ar gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (190-400 nm aralığı)	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 4.6. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bant olmayan cam boruda farklı akış hızlarında Ar gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (650-1000 nm aralığı)	53
Şekil 4.7. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı olmayan cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen Ar plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (190-400 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri.....	54
Şekil 4.8. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı olmayan cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen Ar plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (650-1000 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri.....	54
Şekil 4.9. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (180-500 nm aralığı)	56
Şekil 4.10. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (550-1000 nm aralığı)	57
Şekil 4.11. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen He plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (190-500 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri.....	58
Şekil 4.12. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen He plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (500-1000 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri.....	58
Şekil 4.13. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bant olmayan cam boruda farklı akış hızlarında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (190-500 nm aralığı)	60
Şekil 4.14. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bant olmayan cam boruda farklı akış hızlarında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (550-1000 nm aralığı)	60
Şekil 4.15. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bant olmayan cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen He plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (190-500 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri.....	61
Şekil 4.16. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bant olmayan cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen He plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (600-1000 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri.....	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 4.17. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında Ar gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (190-360 nm aralığı)	63
Şekil 4.18. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında Ar gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (680-1000 nm aralığı)	64
Şekil 4.19. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen Ar plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (190-400 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri.....	65
Şekil 4.20. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen Ar plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (650-950 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri.....	65
Şekil 4.21. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (190-500 nm aralığı)	67
Şekil 4.22. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (500-1000 nm aralığı)	68
Şekil 4.23. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk akış hızında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (190-500 nm aralığı)	69
Şekil 4.24. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk akış hızında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (600-1000 nm aralığı)	69
Şekil 4.25. Önemli reaktif türlerin değişen akış hızı ve plazma türüne göre ölçülen şiddet değerleri (O II:195,501 nm, NO:282,87 nm, OH:309 nm, N II:337 nm).....	71
Şekil 4.26. a) 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın T_{exc} hesabı, b) 6 kV-4 kHz güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın T_{exc} hesabı	74
Şekil 4.27. a) 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He plazmanın T_{exc} hesabı, b) 6 kV-4 kHz güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçapta oluşan He plazmanın T_{exc} hesabı.....	75
Şekil 4.28. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He plazmanın distile suya ilk 5 dk uygulama sonrası zamanla değişen pH ve ORP grafiği	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 4.29. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He plazmanın izotonik seruma ilk 5 dk uygulama sonrası zamanla değişen pH ve ORP grafiği	78
Şekil 4.30. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın distile suya ilk 5 dk uygulama sonrası zamanla değişen pH ve ORP grafiği	79
Şekil 4.31. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın izotonik seruma ilk 5 dk uygulama sonrası zamanla değişen pH ve ORP grafiği	80
Şekil 4.32. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He ve Ar plazmanın distile su ve izotonik serum için ilk 5 dk uygulamaları sonrası zamanla değişen pH ve ORP grafiği.....	81
Şekil 4.33. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He plazmanın distile suya ilk 5 dk uygulama dönemi ve sonraki 5 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği	83
Şekil 4.34. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He plazmanın izotonik seruma ilk 5 dk uygulama dönemi ve sonraki 5 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği	84
Şekil 4.35. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın distile suya ilk 5 dk uygulama dönemi ve sonraki 5 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği	85
Şekil 4.36. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın izotonik seruma ilk 5 dk uygulama dönemi ve sonraki 5 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği	86
Şekil 4.37. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He ve Ar plazmanın distile su ve izotonik serum için ilk 5 dk uygulama dönemi ve sonraki 5 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği.....	87
Şekil 4.38. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He ve Ar plazmanın 5 dk uygulama süresi boyunca 1'er dk aralıklarla distile su ve izotonik serumda oluşturduğu H ₂ O ₂ miktarlarının µM cinsinden ölçüm değeri.....	88
Şekil 4.39. 6 kV-4 kHz güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın izotonik serum için ilk 10 dk uygulama dönemi ve sonraki 10 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği	89
Şekil 4.40. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın izotonik serum için ilk 10 dk uygulama dönemi ve sonraki 10 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği	90

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 4.41. 6 kV-4 kHz ile 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın izotonik serum için ilk 10 dk uygulama dönemi ve sonraki 10 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği.....	91
Şekil 4.42. 6 kV-4 kHz ile 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın izotonik serum için ilk 10 dk uygulama dönemi ve sonraki 10 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen H ₂ O ₂ , NO ₂ ve NO ₃ grafiği.....	92
Şekil 4.43. İverted mikroskopta 1.gün sonunda çoğalmakta olduğu gözlemlenen MCF-7 meme kanseri hücre kültürü.....	95
Şekil 4.44. İverted mikroskopta 3.gün sonunda çoğalmakta olduğu gözlemlenen MCF-7 meme kanseri hücre kültürü.....	96
Şekil 4.45. İverted mikroskopta 5.gün sonunda çoğalmakta olduğu gözlemlenen MCF-7 meme kanseri hücre kültürü.....	96
Şekil 4.46. İverted mikroskopta 7.gün sonunda çoğalmakta olduğu gözlemlenen MCF-7 meme kanseri hücre kültürü.....	97
Şekil 4.47. 5.kez pasajlama sonucu 24 kuyucuklu plate içerisine yapılan hücre ekimi.....	98
Şekil 4.48. Hücre kültürü deney gruplarına 7 kV-50 kHz parametrelerinde 5 L/dk akış hızında oluşturulan He plazma uygulaması (solda), Hücre kültürü deney gruplarına 7 kV-50 kHz parametrelerinde 5 L/dk akış hızında oluşturulan Ar plazma uygulaması (sağda).....	99
Şekil 4.49. Shapiro-Wilk (normallik) analizi.....	101
Şekil 4.50. Levere (homojenlik) analizi.....	101
Şekil 4.51. Kruskal-Wallis analizi.....	101
Şekil 4.52. Fridman (Bonferonni düzeltmeli) analizi.....	102
Şekil 4.53. 24 saat için anlamlılık grafiği.....	103
Şekil 4.54. 48 saat için anlamlılık grafiği.....	103
Şekil 4.55. 72 saat için anlamlılık grafiği.....	104

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Plazma deşarj türü, deşarj voltajı ve plazma yoğunluğu	7
Çizelge 2.2. APP üretiminde etkili olan parametreler.....	10
Çizelge 2.3. Önemli reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin listesi	14
Çizelge 2.4. Plazma tıbbında atmosferik plazmanın genel uygulama yöntemlerinin karakteristikleri	16
Çizelge 2.5. CAP'ın çeşitli kanser hatları üzerinde yapılmış uygulamaların listesi	19
Çizelge 4.1. 2 mm iç çapa sahip Al bantlı cam boruda 5L/dk akış hızında, Ar gazı kullanılarak elde edilen plazmada sırasıyla tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türler	51
Çizelge 4.2. 2 mm iç çapa sahip Al bant olmayan cam boruda 5L/dk akış hızında, Ar gazı kullanılarak elde edilen plazmada sırasıyla tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türler.....	55
Çizelge 4.3. 2 mm iç çapa sahip Al bantlı cam boruda 5L/dk akış hızında, He gazı kullanılarak elde edilen plazmada sırasıyla tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türler	59
Çizelge 4.4. 2 mm iç çapa sahip Al bant olmayan cam boruda 5 L/dk akış hızında, He gazı kullanılarak elde edilen plazmada sırasıyla tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türler.....	62
Çizelge 4.5. 3 mm iç çapa sahip Al bantlı cam boruda 5L/dk akış hızında, Ar gazı kullanılarak elde edilen plazmada sırasıyla tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türler	66
Çizelge 4.6. 3 mm iç çapa sahip Al bantlı cam boruda 5L/dk akış hızında, He gazı kullanılarak elde edilen plazmada sırasıyla tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türler	70
Çizelge 4.7. 2 mm cam boruda oluşan Ar (7 kV, 50 kHz) plazmanın T_{exc} değerinin hesaplanması için kullanılan veriler.....	72
Çizelge 4.8. 3 mm cam boruda oluşan Ar (6 kV, 4 kHz) plazmanın T_{exc} değerinin hesaplanması için kullanılan veriler.....	72
Çizelge 4.9. 2 mm cam boruda oluşan He (7 kV, 50 kHz) plazmanın T_{exc} değerinin hesaplanması için kullanılan veriler.....	73
Çizelge 4.10. 3 mm cam boruda oluşan He (6 kV, 4 kHz) plazmanın T_{exc} değerinin hesaplanması için kullanılan veriler.....	73
Çizelge 4.11. Ar ve He plazma için hesaplanan T_{exc} ve n_e değerleri	76
Çizelge 4.12. He ve Ar plazmanın distile su ve izotonik serumda oluşturdukları H_2O_2 miktarlarının mg/L cinsi ile μM cinsinden ölçüm değerleri.....	82
Çizelge 4.13. He ve Ar plazmanın distile su ve izotonik serumda oluşturdukları H_2O_2 miktarlarının μM cinsinden ölçüm değerleri.....	88
Çizelge 4.14. Ar plazmanın izotonik serumda oluşturdukları H_2O_2 , NO_2 ve NO_3 miktarlarının μM cinsinden değerlerin zamana bağlı değişen ölçüm değerleri	93
Çizelge 4.15. Reaktif türlere ait reaksiyon tahminleri	94

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	Amper
AC	Alternatif akım
AGP	Atmosferik gaz plazma
Al	Alüminyum
Alfa-SMA	Alfa-düz kas aktin
AP	Atmosferik plazma
Apaf-1	Apoptotik proteazı aktif eden faktör-1
APPJ	Atmosferik basınç plazma jet
Ar	Argon
APP	Atmosferik basınç plazma
Bax	Ölüm aktivatörü
Bcl-2	Ölüm reseptör sinyali
BH3-only	BCL-2 ailesinin proteinleri
BID	BCL-2 etkileşim domeni
BrCa	İnsan metastatik meme kanseri hücreleri
C	Celcius
CAP	Soğuk atmosferik plazma
C-myc	Proto-onkogen protein
Cu	Bakır
CP	Soğuk plazma
DBD	Dielektrik Bariyer Deşarjı
DC	Doğru akım
DNA	Deoksiribonükleik asit
DOX	Doxorubisin
ERK	Hücre dışı sinyalle düzenlenmiş kinaz
Fas/Apo-1/cd95	Ekstrasellüler domainli tip I transmembran proteini
Fas (CD95 tip I)	Hücre ölüm reseptörü
FasL (Fas ligant)	Hücre ölümünü aktive eden fizyolojik mediatör
He	Helyum
HNE	Hidroksinonenol
Hz	Hertz
IL-3, IL-6, IL-8	İnterlökin-3, İnterlökin 6, İnterlökin 8 genleri
J	Joule
JNK	c-Jun N-terminal kinaz
K	Kelvin
Kaspaz-3	Apoptatik sonlandırıcı kaspaz
Kaspaz-8, -9	Apoptatik başlatıcı kaspaz
LTDP	Lokal termodinamik dengede olan plazma
LTP	Düşük sıcaklıklı plazma
MAPK	Mitojenle uyarılmış olan protein kinaz
MCF-7	Meme kanseri hücre hattı
MCP-1	Monosit kemoatraktan protein-1
MDA	Malondialdehit
MSC	Mezenkimal kök hücreleri
MW	Mikrodalga
N	Azot
NO	Nitrik oksit
n _e	Elektron yoğunluğu

O	Oksijen
OES	Optik emisyon spektrum
OH	Hidroksil
ORP	Oksidasyon redüksiyon potansiyeli
PAW	Plazma ile aktif edilmiş deiyonize su
PKA, B, C	Protein kinaz A, B, C
Prokaspaz-3, -9	Kaspaz-3 inaktif hali, Kaspaz-9 inaktif hali
p38 MAPK	Mitojenle uyarılmış olan protein kinaz yolağı
p42/44 ERK	Mitojenle uyarılmış olan protein kinaz enzimleri
RF	Radyo frekansı
RONS	Reaktif oksijen ve nitrojen türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
RNA	Reoksiribonükleik asit
RNS	Reaktif nitrojen türleri
Sitokrom-c	Ölüm uyarısı ile mitokondriden salınan faktör
SMD	Yüzey mikro deşarj
TGF β 1, TGF β 2	Dönüştürücü büyüme faktörü- β 1, - β 2
TNF/TNF- α	Tümör nekroz faktör
TNFR I, TNFR II	Tümör nekroz faktör reseptörü I, II
TTDP	Toplam termodinamik dengede olan plazma
UV	Ultra-viyole
V	Volt

1. GİRİŞ

Geçmişten günümüze kadar, tüm dünyada giderek artmaya devam eden en önemli sağlık sorunlarından biri kanserdir (Yastıbaş ve Dirik, 2018). Beslenme alışkanlıklarındaki değişiklikler, aşırı kilo artışıyla oluşan obezite, yaşlı nüfus miktarındaki artış, aşırı sigara kullanımı, belirli enfeksiyon hastalıkları ve hareketsiz yaşama şekli kanserin olası nedenlerindedir (Sert, 2015). Globocan 2012 verilerine bakıldığında 2012 yılında dünya genelinde toplam 14,1 milyon kişide yeni kanser teşhis edilirken, 8,2 milyon kişinin ise kanser sebebiyle öldüğü belirtilmiştir. Tüm dünyada en yaygın görülen kanser türleri; akciğer kanseri (%13), meme kanseri (%11,9) ve kolon kanseri (%9,7) olup en fazla ölüm oranı ise sırasıyla akciğer kanseri (%19,4), karaciğer (%9,1) ve mide kanseri'nde (%8,8) görülmektedir. Kanser artış hızının devam etmesiyle 2025 yılında, yeni kanser vakalarının 19,3 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (Saatçi, 2014). Uluslararası Kanser Ajansı tarafından yayınlanan Globocan 2012 verilerinde Türkiye'de erkeklerde görülen ilk beş kanser türü dağılımı; akciğer, prostat, mesane, kolorektal ve mide olarak sıralanırken kadınlarda; meme, tiroid, kolorektal, uterus korpusu ve akciğer olarak sıralanmıştır (Gültekin ve Boztaş, 2014). Kanser istatistiklerine göre çeşitlerinin yaş, cinsiyet gibi parametrelere göre değişkenlik gösterdiği erkeklerde akciğer, kadınlarda ise meme kanseri indidansının yüksek olduğu görülmüştür.

Meme kanserine ait ilk kaydın milattan önce 3500-2500 yılları arasında tıbbi bir papirusta geçtiği bildirilmiştir (Erkin ve Ardahan, 2014). Meme kanserinin, kötü huylu (malignant) tümörler olduğu yani iyi huylu (benign) tümörlerden farklı şekilde başka dokulara sızma ve yayılma özelliği gösterdiği belirtilir (Danacı ve Akkaya, 2010). Bu nedenle meme kanserinin sağlıklı yaşamda bir risk faktörü olması nedeni ile erken tanı ve tedavi oldukça önemlidir. (Akyolcu ve Uğraş, 2011).

Kanser tedavisinde; cerrahi yöntemler, radyoterapi, kemoterapi, immünoterapi, hormon tedavileri, gen terapileri gibi biyolojik tedavilerinin tek tek veya kombine kullanılabilirdiği bildirilmiştir (Baykara, 2016). Ancak kanser hastalarının tanı, tedavi ve sonuç aşamalarında kendilerini çaresiz hissetmekte, vücutlarına gelecek bir zarar ve ölüm korkusu gibi psikolojik durumlar ile karşı karşıya da kalmaktadır (Özkan ve Alçalar, 2009). Tedavide kullanılan mevcut olan yöntemlerdeki yetersizlikler ve

ilaçların önemli yan etkilerinin olması gibi sebeplerden dolayı kanser tedavisinde etkili yeni mekanizmalarının saptanması yeni tedavi yöntemlerinin bulunması umut vericidir (Ölgen vd., 2002). Tedavide yeni bir alan olarak adlandırılan “Plazma Tıbbı” ‘nın kanser tedavisinde yeni bir yaklaşım olabileceği umudunu gün geçtikçe arttırmaktadır (Schlegel vd., 2013).

Maddenin dört temel halinden birisi olan plazma, içerisinde pozitif yüklü iyonlar, elektronlar ve nötr parçacıklardan oluşan iyonlaşmış gaz olarak ifade edilir (Yan vd., 2017). Plazma, laboratuvar şartlarında iki elektrotun arasından geçirilen gaza, uygulanan elektrik voltajının etkisi ile elde edilmiş olur (Akan, 2005). Plazmanın uygulama alanları arasında elektronik teknolojileri, iletişim teknolojileri, tekstil endüstrisi, kimya endüstrisi, gıda endüstrisi, çevre endüstrileri, uzay sanayisi, sterilizasyon, medikal ve tıp alanları yer almaktadır (Yaşa vd., 2016). Plazmalardaki iç parçacıklarının sıcaklığına göre yapılan sınıflandırma, sırasıyla, toplam termodinamik dengede olan plazma (TTDP), lokal termodinamik dengede olan plazma (LTDP), lokal termodinamik dengede olmayan plazma (non-LTDP) olarak belirtilmiştir (Grill, 1993; Akan, 2005). Bu plazma türlerinin kullanım alanlarına ve kullanım amaçlarına göre literatürde farklı adlandırmalar ile karşılaşılmaktadır. Termal dengede olmayan plazma yani “non-equilibrium plasma” ismiyle de karşımıza çıkan bu plazmanın literatürde diğer kısaltmalar ile ifadeleri şunlardır: Atmosferik Basınç Plazma (ABP veya APP), Atmosferik Plazma (AP), Soğuk Plazma (CP), Soğuk Atmosferik Plazma (CAP), Düşük Sıcaklıklı Plazma (LTP) gibi örnekler verilmektedir.

Son yıllar içerisinde yeni plazma kaynaklarının geliştirilmesi ve bu kaynakların daha iyi anlaşılması ile “Plazma Tıbbı” potansiyel olarak yüksek yenilikler gözlemlenen bir araştırma alanı haline gelmiştir. Özellikle tıbbi alanlardaki cihazlar ve yapılan işlemler için termal olmayan plazmalar üzerinde yoğunlaşma olduğu gözlenmektedir. Yara iyileşmesi, doku yenilenmesi, cilt enfeksiyonlarının tedavisi, kronik yaraların tedavisi ve daha birçok hastalık üzerinde plazmanın etkinliği belirtilmiştir. Böylelikle termal olmayan atmosferik basınçtaki plazmaların geliştirilmesiyle biyomedikal ve klinik tıp gibi alanlarda kullanımının mümkün olacağı belirtilmiştir (Heinlin vd., 2010).

Plazmanın içeriğinde, elektronlar, pozitif iyonlar ve negatif iyonlar, radikaller, nötr ve yüklü moleküller ve fotonların yer aldığı belirtilmiştir (Adachi, 2017). İçeriğindeki bu reaktif olan moleküllerin biyomedikal amaçlı üretimleri sırasında oluşan türlerin reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) olduğu ve bu türlerin canlı sistemleri üzerinde aktif olarak rol aldığı ayrıca da anahtar sinyal molekülleri oldukları belirtilmiştir. Plazmaların medikal tedavilerde içeriğinde fazla miktarda reaktif oksijen ve nitrojen türü (ROS/RNS veya RONS) ürettiği bildirilmiştir (Graves, 2012).

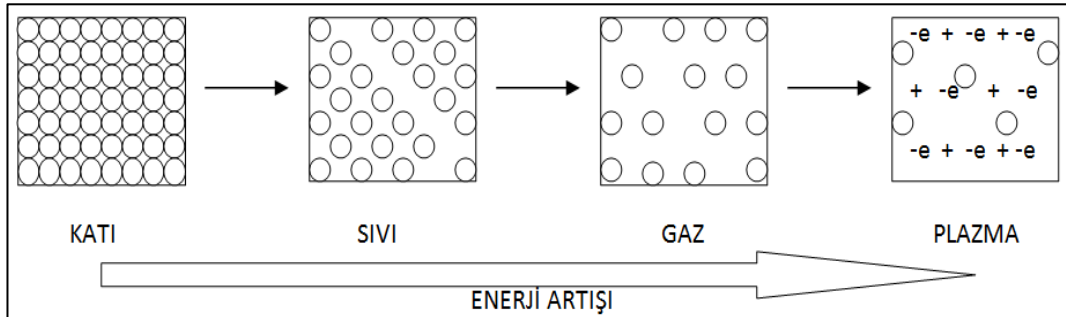
Soğuk atmosferik plazma üretimi için ön çalışmalar yapılması gerekmektedir. Bunun için uygun laboratuvar ortam koşullarında plazma oluşturulmasında kullanılacak gaz veya gaz karışımları (Helyum (He), Argon (Ar), Oksijen (O), Azot (N) gibi) uygulanacak olan gerilim türü (doğru akım (DC), darbeli DC, radyo frekansı (RF), mikrodalga (MW) gibi), kullanılacak elektrot tipi (iletken bant, tel, disk ve halka gibi), elektrot cinsi (alüminyum (Al), bakır (Cu) gibi) ve gazın plazmaya dönüşümü esnasında içinden geçtiği iletken olmayan iki ucu açık boru tipi (kuvars cam, borosilikat cam, seramik, teflon gibi) plazma oluşumu için değerlendirilecek parametreler olarak sayılabilir.

Bu tez çalışmasında MCF-7 meme kanseri hücrelerine uygulamanın gerçekleşmesi için kullanılacak gaz türü (He, Ar gazı), doğru akım güç kaynağı, 2mm ve 3mm iç yarıçaplarında kullanılan cam boru gibi ayarlamaların ardından uygulanacak atmosferik basınç plazma sisteminin oluşturulması ve sistemde farklı gerilim türü ve frekanslarda oluşturulan plazmaların meme kanseri hücrelerine uygulanarak gözlenen sonuçlar ile meme kanseri tedavisinde kullanılan kanser ilacı etken maddesi doksorubisin'in (DOX) meme kanseri hücrelerine uygulanması ile gözlenen sonuçların karşılaştırılması yapılacak böylelikle meme kanseri hücreleri üzerinde hangi tedavi türünün etkili ve zararsız sonuçlar oluşturduğu sonucuna ulaşılabilecektir. Buradan elde edilen sonuçlar, soğuk plazmanın biyomedikal ve tıp alanında yeni bir tedavi yöntemi olarak değerlendirilmesinde bir basamak oluşturacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Plazma Tanımı ve Plazmaya Tarihsel Bakış

Plazma doğada maddenin 4.hali olarak, evrende %99'dan fazla olarak bulunan, az veya çok olarak iyonlaşmış olan iyonize gaz olarak tanımlanır. İçeriğinde temel ve uyarılmış halde bulunan elektronlar, iyonlar, nötr parçacıklardan oluşmuştur. Makroskopik açıdan bakıldığında zaman plazmanın sanki elektriksel olarak nötr olduğu belirtilir. Ayrıca içeriğinde serbest yük taşıyıcıları olduğundan dolayı elektriksel olarak iletken olduğu da belirtilir. Plazmalar elektrik enerjisi ile üretilmektedir. Oluşturulan elektrik alanının içerisinden geçirilen gaz elektronlarına enerji aktarımı gerçekleştirilir. Enerji aktarımı, nötr türlere çarpışmaların gerçekleşmesi ile iletilmiş olur (Tendero vd., 2006). Atomlara uygulanan enerji miktarının artması ile katı haldeki atomların termal hareketi artmaya başlar sonrasında atomlar arasındaki iyonik bağ gibi kısıtlayıcı etkinin üstesinden gelerek sıvı hale geçiş başlar. Sıvı içerisindeki moleküller arasında kısıtlayıcı etkisi olan Van der Waals etkisinin de üstesinden gelerek sıvı halden gaz haline geçiş başlar. Böylelikle enerji yeterince büyük miktarda olmaya devam ettikçe ortamda pozitif ve negatif iyonlar, uyarılmış atomlar oluşması ile gerçekleşir (Yan vd., 2017). Katıdan plazma haline geçişin gerçekleştiği işlem iyonlaşma olarak tanımlanır. (Bkz. Şekil 2.1)



Şekil 2.1. Maddenin dört hali

Plazmanın içeriğindeki iyonlar, moleküller, atomlar, uyarılmış türler ve nötr parçacıklar gibi plazma bileşenlerinin her birinin farklı fiziksel ve kimyasal reaksiyonları başlatmak için uyarıcı türler olduğu bildirilmiştir. Böylelikle plazma son yıllarda mikro-elektronik alanda, atıkların bertaraf edilmesi, aydınlatma ve tekstil alanlarında oldukça ilgi görmeye başlamıştır (Gay-Mimbrera vd., 2016).

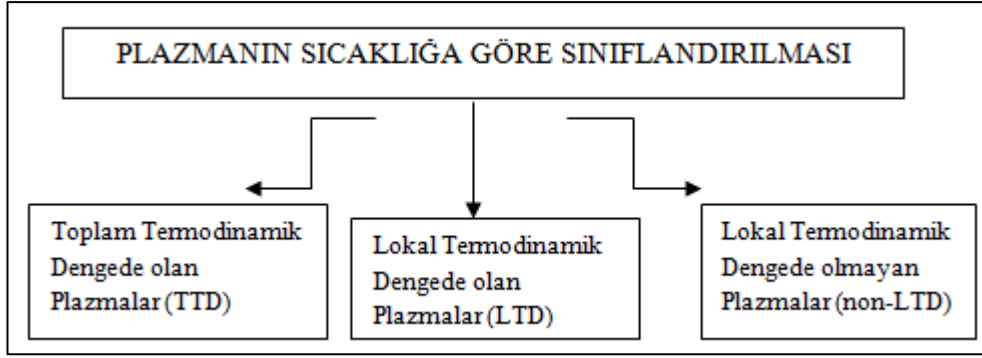
Plazma kelimesinin aslında Yunanca kelime olan “plassein” kelimesinden geldiği bilinmektedir (Heinlin vd., 2011). Plazma ilk kez 1879’da İngiliz bir kimyager ve fizikçi olan Sir William Crookes tarafından “parlak bir madde” olarak tanımlanmıştır (Crookes, 1883; Heinlin vd., 2011). Plazma için bir diğer benzetme, 1928’de Irving Langmuir tarafından iyonize olmuş gaz bileşiminin “kan plazması” bileşimi gibi olduğunu bildirmiştir.

Plazma uygulama işlemi endüstriyel uygulama alanlarında da yaygınlaşmaya başlamaktadır ve geleneksel uygulama işlemleri ile karşılaştırıldığında maliyet açısından ticari faydalarının olduğu açıktır. Plazma uygulaması, işlemlerinin hem tehlikeyi hem de geleneksel yöntemlerde oluşan yan ürün ve toksik etkiyi de en aza indirebileceği düşünülmektedir. Plazma yöntemlerinin enerji verimliliği, çevre kirliliğini önlemede ve küresel ısınma konularındaki katkıları, plazma ile yapılan işlemlerin benimsenmesi açısından bilinçlenme sağlamaktadır (Roth, 2001).

Birçok alanda olduğu gibi medikal alanda da soğuk atmosferik plazma içeriğindeki reaktif olan uyarılmış türlerin etkilerinin geniş antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu, hücreler, dokular, patojenler üzerine uygulanacak plazma parametreleri (plazma kaynağı, plazma ayarları ve ortam şartları gibi) üzerinde değişiklikler yapılarak etki alanlarında büyük ölçüde fayda sağlanabileceği belirtilir. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda plazmaların, hücre hatları üzerine antikanser özellikler gösterdiğini ve hücre fonksiyonları üzerinde oldukça güçlü etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Isbary, 2013).

2.2. Plazmanın Sınıflandırılması

Plazma, maddenin katı halden plazma haline dönüşümü esnasında sıcaklık etkisi ile oluşmaktadır. Ama sadece ısı enerjisi ile değil aynı zamanda farklı yöntemler ile de plazma üretimi gerçekleştirilmektedir. Plazmaların üretim yöntemlerine göre sınıflandırma için plazmanın parçacıklarının sıcaklıklarına göre sınıflandırılmasının yaygın olarak kullanıldığı belirtilmektedir (Akan, 2005; Grill, 1993). Bu sınıflandırma Şekil 2.2’de plazmaların sıcaklığa göre sınıflandırılması olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Plazmaların sınıflandırılması

2.2.1. Toplam termodinamik dengede olan plazmalar (TTD plazmaları)

Toplam termodinamik dengede olan plazmanın isminden de anlaşılacağı gibi içeriğinde bulunan her bir türün sıcaklığı birbirine eşit halde bulunmaktadır (Akan, 2005; Karahan, 2007).

$$T_g = T_u = T_i = T_a = T_f = T_e = T_p \quad (2.1)$$

Eşitlik 2.1’de verilmiş sıcaklık adlandırmaları sırasıyla, T_g , nötral atomların yani plazması oluşturulan gazın sıcaklığını; T_u , uyarılmış atomların sıcaklığını; T_i , iyonların sıcaklığını; T_e , elektronların sıcaklığını; T_a , ayrılmış atom sıcaklığını; T_f , fotonların enerjisini karakterize eden foton sıcaklığını ve T_p , plazmanın sıcaklığını ifade etmektedir.

2.2.2. Lokal termodinamik dengede olan plazmalar (LTD plazmaları)

Plazma içeriğindeki sıcaklık türlerinden foton sıcaklığı dışındaki her bir türün sıcaklıkları birbirine eşit halde bulunmaktadır (Akan, 2005; Karahan, 2007). Lokal termodinamik dengede olan plazmalar içerisindeki türlerin sıcaklığı Eşitlik 2.2’de verilmiştir.

$$T_g = T_u = T_i = T_a = T_e \neq T_f \quad (2.2)$$

2.2.3. Lokal termodinamik dengede olmayan plazmalar (Non-LTD plazmalar)

Bu tip plazmalarda elde edilmiş olan gazın basınç değerinin düşük olması sebebi ile elektronlar diğer türler ile daha az çarpışma yapmakta sonuçta elektron üzerindeki enerjisi diğer türlere geçirememekte ve elektronun sıcaklık değeri diğer türlerin sıcaklığına göre oldukça fazla kalmaktadır. “Düşük Basınç Plazmaları” olarak da belirtilen non-LTD plazmalar, aynı zamanda oda sıcaklığında yani çok düşük sıcaklıklarda olmasından dolayı “Soğuk Plazmalar” olarak da belirtilmiştir (Akan, 2005; Karahan, 2007). Bu durumun yani türlerin sıcaklık değerlerinin büyüklükleri Eşitlik 2.3’te verilmiştir.

$$(T_e \gg T_g, T_i \sim T_g \sim T_p) \quad (2.3)$$

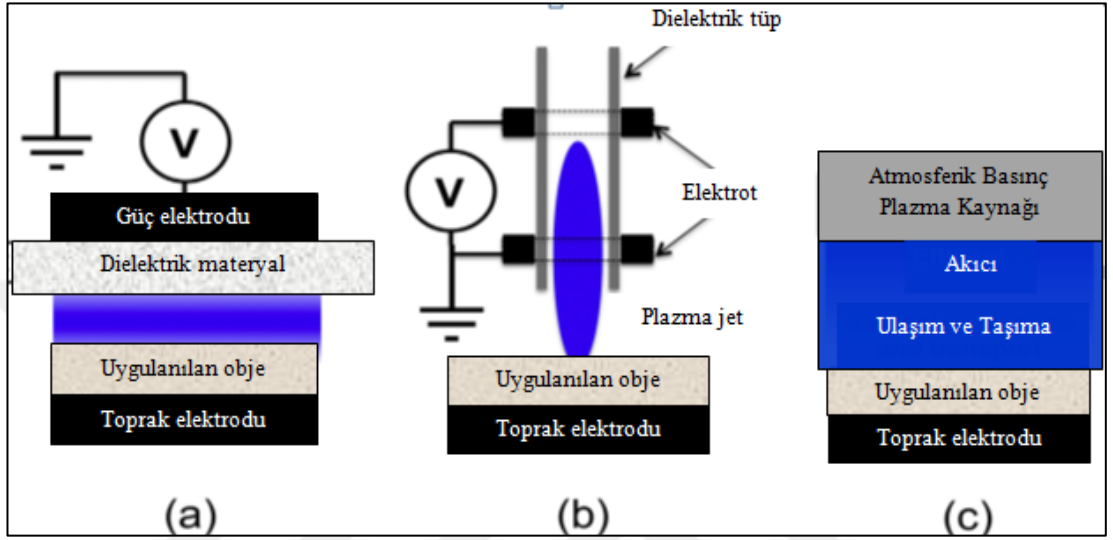
2.3. Atmosferik Basınçta Plazma Sisteminin Oluşturulması

Plazma üretimi ve bu üretimin sürdürülmesi için teknik anlamda en yaygın olarak kullanılan yöntem, nötr olan bir gaza elektrik alan uygulaması olarak belirtilmiştir. Elektrik alanının içerisinde hızlandırılmış olan serbest yük taşıyıcıları, kendilerinde oluşan enerjisi çarpışmalar yolu ile diğer parçacıklara aktarmakta böylelikle enerjinin plazmaya geçişi sağlanmaktadır. Meydana gelen enerji aktarımlarına boşalma veya deşarj ismiyle belirtme yapılırken plazmadaki deşarj türleri sırasıyla DC deşarjlar, Puls DC deşarjlar, RF (radio-frekans) ve MW (microwave) deşarjlar, DBD (dielectric barrier discharge) deşarj olarak belirtilmiştir (Conrads ve Schmidt, 2000). Çizelge 2.1’de Plazma deşarj türü, deşarj voltaj aralığı ve plazma yoğunlukları verilmiştir.

Çizelge 2.1. Plazma deşarj türü, deşarj voltajı ve plazma yoğunluğu (Schutze, 1998)

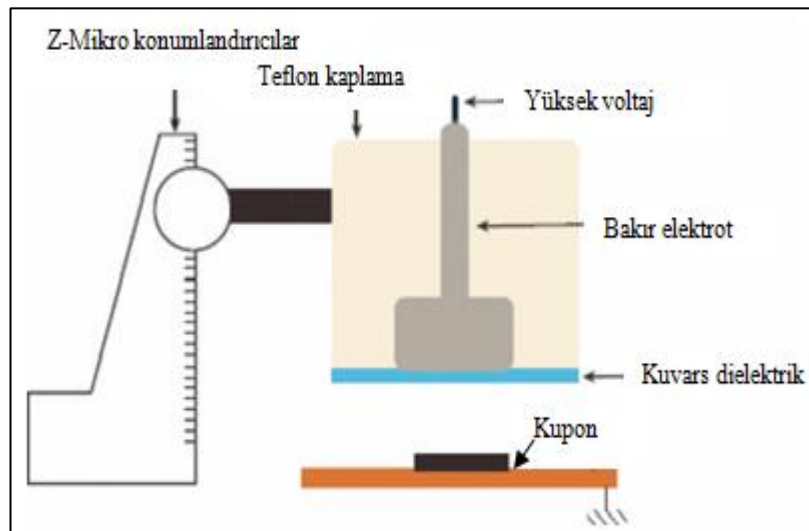
Plazma Deşarj Türü	Plazma Deşarj Voltajı (kV)	Plazma Yoğunluğu (cm ⁻³)
Düşük Basınçlı Deşarj	0.2-0.8	10 ⁸ -10 ¹³
Ark ve plazma torcu	10-50	10 ¹⁶ -10 ¹⁹
Korona deşarj	10-50	10 ⁹ -10 ¹³
DBD	5-25	10 ¹² -10 ¹⁵
Plazma jet	0.05-0.2	10 ¹¹ -10 ¹²

Soğuk atmosferik plazma sistemindeki deşarj türleri ise korona deşarj, DBD deşarj, MW deşarj, APPJ (atmospheric pressure plasma jets) olarak belirtilmiştir (Bárdos ve Baránková, 2010). Plazma tıp alanında atmosferik basınç plazmanın biyomedikal uygulamaları için plazmanın DBD tipi, APPJ tipi ve Atmosferik basınç plazma kaynaklarının etki mekanizması şematik olarak Şekil 2.3'te gösterilmiştir.



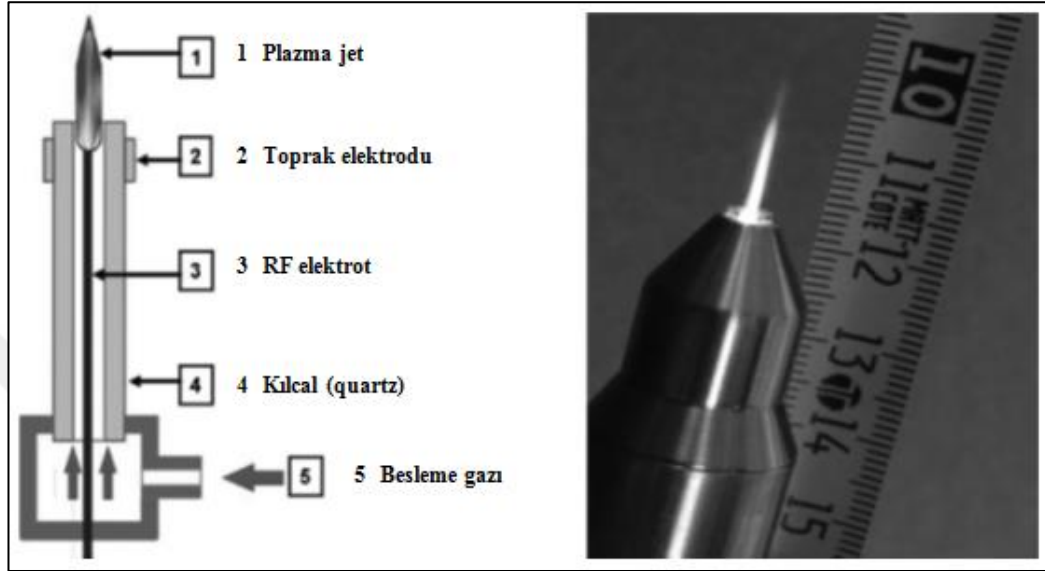
Şekil 2.3. (a) DBD tipi, (b) APPJ tipi, (c) Plazma kaynağı etki mekanizması şematik gösterim (Setsuhara, 2016)

Sterilizasyon etkisini incelemek için çalışmada kullanılan *Bacillus stratosphericus*'un biyolojik tepkilerini görmek için amacıyla tasarlanmış olan DBD plazma tipi, şematik olarak Şekil 2.4'te gösterilmiştir.



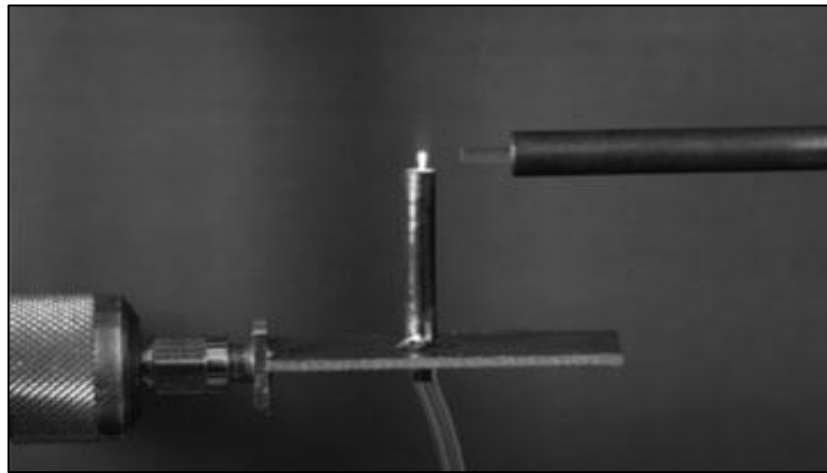
Şekil 2.4. DBD deney plazma sistemi şematik gösterim (Cooper, 2010)

Akut ve kronik yaralarda en çok karşılaşılan patojen türlerine karşı yara yüzeyi üzerinde plazmanın antiseptik etkisinin gözlemlenmesi için in vitro olarak uygulanan atmosferik basınç plazma jet (APPJ) çalışmasının şematik hali Şekil 2.5'te gösterilmiştir.



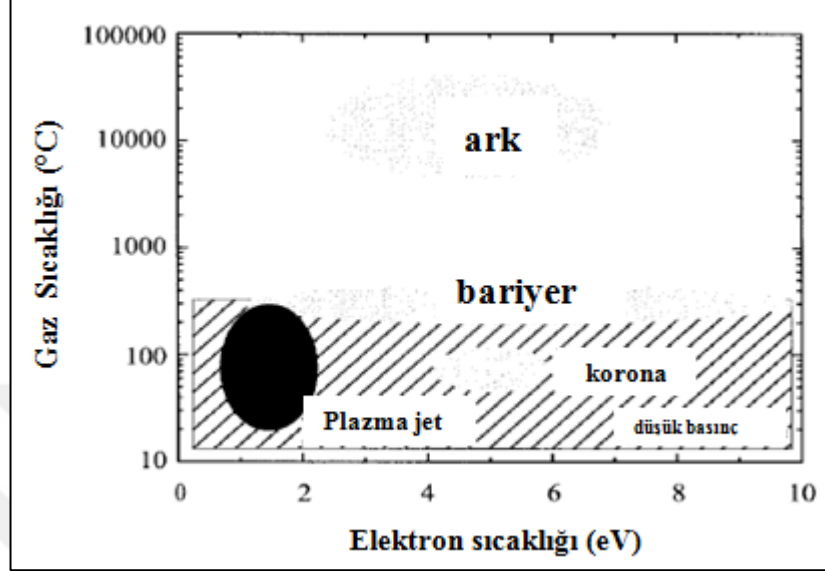
Şekil 2.5. APPJ deney plazma sistemi şematik gösterim (Daeschlein, 2010)

MW deşarj çalışması ise Stonies ve arkadaşları tarafından çalışmalarında, 2.45 GHz'de olan bir mikrodalga gücünde, mikrodalga torcunun küçük bir versiyonunu temsil eden atmosferik basınçlı plazma kaynağı üretimini yapmışlardır. Bu çalışma Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Microwave APPJ (Stonies vd., 2004; Laroussi ve Akan, 2007)

Yukarıda bahsedilen farklı plazma deşarj türlerinin farklı voltaj ve yoğunluklardaki değerlerinden yola çıkılarak elde edilmiş olan elektron sıcaklığı ve gaz sıcaklığından oluşan deşarj türlerinin şematik dağılım grafiği Şekil 2.7’de gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Atmosferik basınç plazma kaynaklarının elektron sıcaklığı ve gaz sıcaklığına göre şematik dağılım grafiği (Schutze vd., 1998)

2.3.1. Atmosferik basınç plazma üretiminde etkili olan parametreler

Atmosferik Basınç Plazma (APP) üretiminde etkili olan parametrelerin her birisi üzerindeki herhangi bir değişiklik plazma içerisindeki reaktif, uyarılmış olan iyon, molekül, atom ve parçacıklar üzerinde etkili olmaktadır. Burada bahsedilen parametreler; APP uygulamasında kullanılan cihaz parametreleri ve bu uygulama esnasında gerçekleşen işlem parametreleri olarak sınıflandırılmış ve Çizelge 2.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. APP üretiminde etkili olan parametreler (Karahan, 2007)

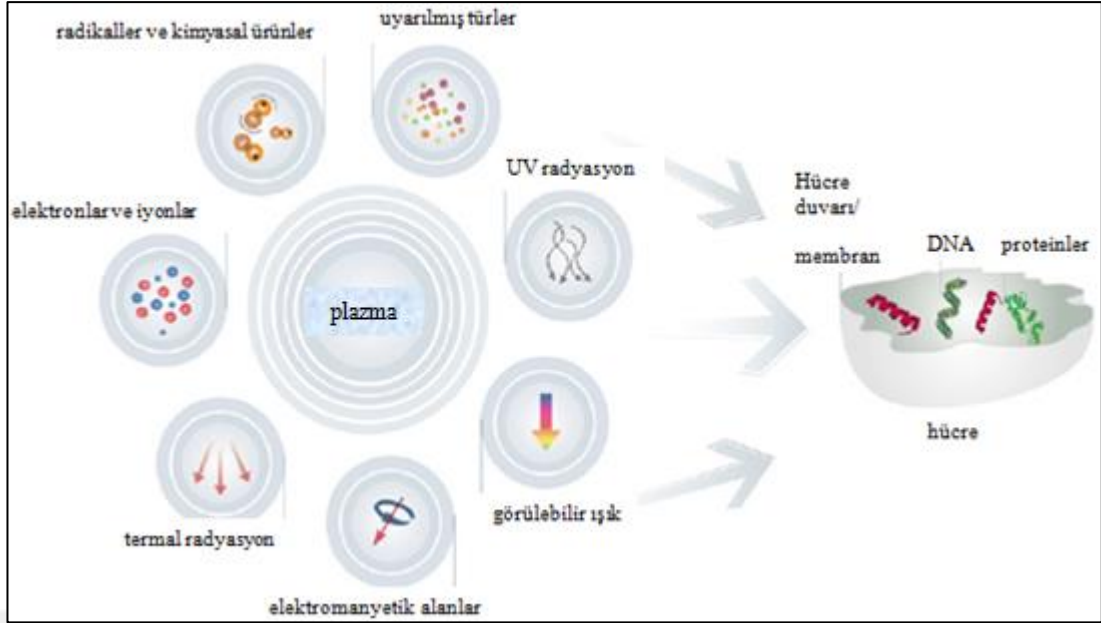
APP (Atmosferik Basınç Plazma) Üretimini Etkileyen Parametreler	Değişkenler
Cihaz Parametreleri	Elektriksel Alan Cinsi, Elektrotlar, Pompa sistemi
İşlem Parametreleri	Gaz, Basınç, Materyal, Güç, Süre, Geçiş Hızı

APP üretimi sırasında cihaz parametrelerinin etkilerini incelersek; DC (Direct Current), AC (Alternative Current), RF (Radyo Frekans), MW (Microwave) gibi farklı kaynakların kullanılması ile plazma üretimi için gazın iyonlaşma enerjisinin

gerçekleştiği elektrik alanı üzerinde etkili olmasıdır. Sadece farklı kaynakların etkilerinin yanında elektrot şekilleri, yerleşimleri, bağlanma şekilleri (iç bağlantı/dış bağlantı), elektrot cinsi, kalınlığı, elektriksel özellikleri gibi parametreler plazma üretimi sırasında dikkat edilen parametrelerdir. Plazmanın homojen olması açısından buradaki parametreler önemlidir. Plazma üretimi için cihaz içerisine gaz gönderilmesini sağlayacak olan pompa sistemi işlem süresi için önemli iken pompanın basıncı ve kapasitesi de gaz transferi için önemlidir. İşlem parametrelerinin etkilerine bakıldığında, plazma sisteminde kullanılacak gaz cinsinin uygulamada etkisi önem arz etmektedir. Poletti ve arkadaşları, argon gazının basınç tipi olarak atmosferik basınç tipini tercih etmesi, açık havada çalışmaya uygun olması, vakum plazmalarında olduğu gibi mali açıdan yük olmaması gibi avantajlarından dolayı helyum gazı ve havaya göre daha etkili olduğunu belirtmişlerdir (Poletti vd., 2003). Plazmada uygulanan güç artışı ile plazmanın yoğunluğu doğru orantılı olarak artış göstermiştir böylece yapılacak çalışmalarda uygulanacak materyal cinsine göre güç ve işlem süresi ayarlamalarının yapılması gerekmektedir (Karahan, 2007).

2.3.2. Atmosferik basınç plazma bileşenleri oluşum ve etki etki mekanizması

Termal olmayan soğuk atmosferik basınç plazma mekanizmasının içerik kaynaklarının, ana reaktif bileşenler, reaktif nötr türlerden (reaktif oksijen ve azot türleri), UV (Ultraviyole) radyasyonundan ve elektrik akımından oluştuğu bildirilmiştir. Ayrıca ortamda yeterli miktarda yüklü türün var olmasının da, ortamda elektromanyetik alan oluşumunda etkili olabileceği de belirtilmiştir. (Woedtke vd., 2013). APP'nin etki mekanizmasının ifadesi Şekil 2.8'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Plazma bileşenlerinin etki mekanizması (Woedtke vd., 2013)

Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin mekanizmasının yükseltgenme-indirgenme diğer bir deyişle “redoks” tepkimeleri olarak bilinmesiyle tepkimelerin gerçekleşmesinde önemli rol oynayan türler olduğu belirtilmiştir. Bu türlerin atmosferik basınç plazmanın uygulamalarında hem hayvan hem de bitki bağışıklık sistemleri üzerinde aktif olarak yer almasının yanında ayrıca anahtar sinyal molekülü olarak adlandırılan çok önemli rollerinin olduğu bildirilmiştir. Uygulama alanlarında bu kadar etkili olmasıyla birlikte genelde biyomedikal alanda uygulama amaçlı üretildikleri gözlenmiştir. ROS ve RNS'nin kalp, akciğer, kanser ve merkezi bağışıklık sistemi gibi birbiri ile bağlantılı olan rahatsızlıklarda önemli ajanlar olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle özellikle son yıllarda yapılmış olan araştırmalarda, ROS ve RNS'lerin anti-mikrobiyal ve anti-parazit ilaç içeriklerinde, kanser tedavilerinde, yara tedavilerinde merkezi rol oynadığı gösterilmiştir (Graves, 2012).

Plazma kaynaklarının düşük yoğunluklarda dahi olsa UV-radyasyonu yaydığı bilgisi verilmiştir. Bu bilgidен yola çıkılarak plazmanın herhangi zararlı bir etkisinin olup olmadığını anlamak için Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Korunma Komisyonu tarafından belirlenen azami sınırlar (8 saat sürede 180-400 nm spektral alanda 30 J m^2 ve 315-400 nm alanda 10^4 J m^2) (Matthes, 1996) içerisinde bulunmasına dikkat edildiği belirtilmiştir. UV etkisinin sadece D vitamini üretiminde

tetikleyici etkisi ile kalmayıp ayrıca sedef hastalığı veya vitiligo gibi rahatsızlıklarda tedavi edici etkiye olduğu belirtilmiştir (Woedtke vd., 2013).

Plazma kaynak türlerinin çoğunda bulunan elektrik akımının, sadece DBD tipi deşarjlarda değil, bazı plazma jetlerinde de var olduğu belirtilmiştir. İnsan vücudundan akan akımın azami sınırlarının, 100 kHz ve 1 MHz'de 25 mA olduğu (Ahlbom vd., 1998) İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Korunma Uluslararası Komisyonu tarafından belirlenmiştir. Tıpta elektriğin yara iyileşmesi gibi daha birçok alanında tedavi edici etkilerinin olduğu belirtilmiş ve uygulanmıştır (Woedtke vd., 2013).

2.3.3. Plazmada reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin etkinliğinin önemi

Atmosferik basınç plazma uygulamalarının biyomedikal alanda kullanılmak amacıyla uygulanması sırasında ROS ve RNS türlerinin üretimlerinin gerçekleştiği gözlenmiştir. (Kong vd., 2009; Graves, 2012).

ROS ve RNS'nin devamlı olarak hücre çoğalmasında, apoptoz ve nekrotik hücre ölümlerinde, nükleer ve mitokondriyal deoksiribonükleik asit (DNA) mutasyonları ve diğer durumların meydana gelmesinde ortamın uyarılmasında etken olduğu belirtilmiştir. ROS ve RNS tarafından yapılan uyarılma ile üç farklı sinyal yolu kullanılarak DNA, protein ve lipitlere zarar verme gerçekleşmektedir. Lipid peroksidasyonu, hücre proliferasyonunu uyarıcı eikosanoidlerin üretimi ile arasıdonik asit kaskadını uyarmakta ve serbest radikaller ile malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenol (4-HNE) gibi arasıdonik asidin yan ürünlerinin, DNA hasarına neden olduğu bilinmektedir (Roberts vd., 2010).

Hücre içi ROS ve RNS (RONS) seviyelerinin belirlenmesi, küçük antioksidan moleküller ve temizleyici enzimler tarafından sürekli olarak düzenlenmektedir. Bununla birlikte bu seviyelerde meydana gelen herhangi bir değişiklik durumunda yani oksidatif stres olarak adlandırılmış olan redoks sisteminin değişmesi ile sitotoksik etkilere ve hücre ölümüne sebep olmaktadır. Oksidatif stres sedef hastalığı, kronik ülser ve kanser gibi hastalıklarda önemli rol oynamaktadır. Kanser hücrelerinin normal olan hücrelere nispeten daha zayıf antioksidan seviyeler

göstermesi ile bu durum plazmanın hücre dışı Çizelge 2.3’de verilmiş olan RONS türleri tarafından kanser hücrelerinin seçici etkilerde bulunması ile bu hücreler üzerinde ciddi oksidatif hasar ve hücre ölümü gibi sonuçların meydana geldiğini göstermiştir (Gay-Mimbrera vd., 2016).

Çizelge 2.3. Önemli reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin listesi (Graves, 2012)

Reaktif tür grupları	Radikal türler	Radikal olmayan türler (non-radikal)
ROS (Reaktif Oksijen Türleri)	Süperoksit (O_2^-), Hidroksil (OH), Hidroperoksil (HO_2), Tekli (1O_2), Karbon Dioksit Radikal (CO_2^-), Karbonat (CO_3^-), Peroksil (RO_2), Alkoksil (RO)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2), Ozon (O_3), Tekli Oksijen (O_2 1 Dg), Hipobromöz asit (HOBr), Hipokloröz asit (HOCl), Hipoiodous asit (HOI), Organik peroksit (ROOH), Peroksinitrit ($ONOO^-$), Peroksinitrat (O_2NOO^-), Peroksinit asit (ONOOH), Peroksomonokarbonat ($HOOCO_2^-$), Karbon monoksit (CO)
RNS (Reaktif Nitrojen Türleri)	Nitrik Oksit (NO), Nitrojen Dioksit (NO_2), Nitrat Radikal (NO_3)	Nitroz Asit (HNO_2), Nitrosil kation (NO^+), Nitrosil anyon (NO^-), Dinitrojen trioksit (N_2O_3), Dinitrojen tetoksit (N_2O_4), Dinitrojen pentoksit (N_2O_5), Alkil peroksinitritler (ROONO), Alkil peroksinitratlar (RO_2ONO), Nitril klorür (NO_2Cl), Peroksiasetil nitrat ($CH_3C(O)OONO_2$)

Atmosferik basınç plazmanın yukarıda bahsedildiği gibi tümörlü olan hücreler üzerinde seçici olarak apoptozu çalışmalar ile gösterilmiştir (Keidar, 2015). Plazmanın bu özelliğinden yola çıkılarak kemoterapi ve radyoterapi gibi geleneksel tedavilerin aksine sağlıklı hücrelere zarar vermeden tümörlü hücreler üzerinde seçici olması ve de geleneksel tedavilerdeki yüksek maliyetler gibi dezavantajların giderilmesi açısından yeni bir tedavi yöntemi olması sebebi ile geleneksel tedavileri tamamlayacak bir araç olarak desteklenen alan haline gelmiştir (Gay-Mimbrera vd., 2016).

2.4. Atmosferik Basınç Plazmanın Biyomedikal Alanda Uygulama Metotları

Plazma tıbbi alanında gerçekleştirilen uygulamalar üç yöntem ile sınıflandırılmıştır:

- **Doğrudan (direkt)** plazma uygulama yöntemi, deri veya dokunun kendisi uygulamanın içerisinde elektrotlardan birisi olarak görev almıştır. Böylelikle bu şekilde vücuttan akışının sağlanmakta olduğu bildirilmiştir (Fridman vd., 2008; Heinlin vd., 2011). Bunun en yaygın kullanılan şekli elektrotların yalıtkan bir katmanla ayrılarak uygulanan deşarj yani DBD (Dielektrik

Barrier Deşarj) örneği olduğu verilmiştir (Fridman vd., 2007; Heinlin vd., 2011). Bu plazma uygulamasının içeriğinde yüksek yoğunluklu türler bulunmasından dolayı oldukça homojen plazmalar meydana getirdikleri gözlenmiştir (Isbary vd., 2013).

- **Dolaylı (indirekt)** plazma uygulama yöntemi, iki elektrot arasında üretilen plazmanın daha sonra uygulanacak hedef bölgeye taşınması ile gerçekleştirildiği belirtilmiştir. Bu tip yöntemde ince (milimetre) çapta plazma jetlerin üretildiği gözlenmiştir ve daha büyük hedef bölgelere uygulama yapılırken birçok plazma jet ile birleştirilerek uygulanmasının sağlanabildiği belirtilmiştir. (Heinlin vd., 2011)
- **Hibrit** plazma uygulama yöntemi, diğer adıyla “Bariyer koronel deşarjlar” olarak da bilinen uygulama yöntemi olup yukarıda bahsedilen iki yöntemin birleşimi olarak kullanılmaktadır. Direkt plazmanın üretimine benzeyip farklı olarak topraklanmış bir elektrot varlığı sebebiyle vücuttan akışının gerçekleşmediği gözlenmiştir (Morfill vd., 2009; Heinlin vd., 2011).

Yukarıda bahsedilen plazma yöntemleriyle ilgili daha önce yapılmış çalışmalarda Fridman ve arkadaşları, DBD plazma uygulama yönteminin insan üzerinde yapılan in vivo çalışmalarda kullanılmasının uygun olduğunu önermiştir (Fridman vd., 2008; Isbary vd., 2013). İndirekt plazma uygulama yönteminde yaygın olarak kullanılan Atmosferik basınç plazma jet (APPJ) çalışmasında, elektroda verilen 27.12 MHz radyo frekans (RF) voltajından *Bacillus atrophaeus* sporları ve *Escherichia Coli* (*E. Coli*) bulunan numuneye doğru plazma boşalmasının gerçekleşmesiyle plazma dozuna bağlı olarak spor ve bakterinin inaktivasyon süresi gözlemlenmiştir (Weltmann vd., 2008; Isbary vd., 2013). Hibrit plazma yöntemi olarak nitelendirilen yüzey mikro deşarj (SMD) en yeni plazma yöntemi olarak belirtilmiş olmasıyla birlikte ortam havasında herhangi özel durum gerektirmeden kolayca üretilerek geniş alanlara homojen olarak dağılması gibi avantajlara da sahiptir (Isbary vd., 2013). Yukarıda üçe ayrılarak sınıflandırılan atmosferik plazmada, plazma uygulama yöntemlerinin hangi parametrelerde meydana geldiğinin genel karakteristikleri Çizelge 2.4’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.4. Plazma tıbbında atmosferik plazmanın genel uygulama yöntemlerinin karakteristikleri (Heinlin, 2011)

Parametreler / plazma türü	Direkt (Doğrudan) Plazmalar	İndirekt (Dolaylı) Plazmalar	Hibrit Plazmalar
Örnekler	Dielektrik bariyer deşarj cihazı	Plazma jet, plazma torcu	Bariyer koronal deşarjları
Üretim şekli ve özellikleri	Deri/doku elektrot gibi görevi görür, vücuttan elektrik akışı gerçekleşir.	Plazmanın iki elektrot arasında üretimi yapılır ardından akışı ile hedef bölgeye taşınması gerçekleşir.	Direkt plazmanın üretimi gibi olup indirekt plazmanın özelliklerine sahiptir. Topraklanmış elektrot elektrodun olmasıyla deri/doku üzerinden elektrik akış gerçekleşmez.
Gaz çeşidi	Hava	Soygaz veya hava	Hava
Cihaz ile muamele edilen nesne arasındaki mesafe	~ mm	~ mm–cm	~ mm
Reaktif türler	Plazmada üretilir	Plazma ve havayı karıştırarak üretilirler	Öncelikle plazmada üretilir
UV(Ultraviyole) radyasyonu	Diğerlerine göre zayıf	Diğerlerine göre güçlü	Diğerlerine göre zayıf
Gaz sıcaklığı	Oda sıcaklığı	Üretim alanında sıcak	Oda sıcaklığı
Uygulaması yapılan nesnede plazma yoğunluğu	Yüksek	Düşük	Diğerlerine göre yüksek

Doğrudan, dolaylı ve hibrit plazma uygulamalarının pek çok farklı bilim dallarında çalışma alanları bulunmaktadır. Özellikle tıp alanında, onkoloji, dermatoloji, nöroloji, farmakoloji branşlarında ve diş hekimliğinde geniş uygulama alanına sahiptir. Ayrıca plazma sterilizasyon alanında da kullanılmaktadır.

2.4.1. Plazmanın sterilizasyon alanında kullanımları

Sterilizasyon, malzeme veya ortamda yer alan mikroorganizmaların ortadan kaldırılması için gerçekleştirilen bir prosedür olarak tanımlanmaktadır. Sterilizasyon işlemi suda, gıdalarda, vücut içi/dışı tıbbi araçlarda, hastalık yayılımının meydana geldiği ortamlarda uygulanması için gereklilik olduğu bildirilmiştir. Isı, kimyasal ve ışın üzerine olan geleneksel sterilizasyon yöntemlerinin maliyet açısından kayıplar oluşturması, fazla zaman alması ve pratik olmaması sebebiyle plazma sterilizasyonu umut verici alan haline gelmiştir. Plazma sterilizasyonu, geleneksel yöntemlere kıyasla işlem süresinin kısa olması, kirlilik oluşturmaması ve ekonomik anlamda etkili olması nedeni ile öne çıkmaktadır.

Klämpfl ve arkadaşları, hastaneden kaynaklanan enfeksiyonlara karşı hassas olacak soğuk atmosferik yüzey mikro deşarjlı plazma (SMD) cihaz çalışması yapmışlardır. Çalışmalarında plazmayı *Escherichia coli* (*E.coli*), *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas Aeruginosa* gibi gram negatif bakteri türleri üzerinde, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Metisiline Dirençli Staphylococcus aureus* (*MRSA*), *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Vankomisine Dirençli Enterokok* (*VRE*), *Enterococcus mundtii*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus* (*B. pumilus*), *Clostridium difficile* (*C. difficile*), *Group A Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium jeikeium* gibi gram pozitif bakteri türleri ve mantar türü olan *Candida albicans* üzerinde test etmişlerdir. SMD plazmasının çeşitli vejetatif mikroorganizmalar ve bakteriyel endosporlar üzerindeki antibakteriyal etkileri vurgulanmıştır (Klämpfl vd., 2012).

Diğer bir çalışmada, Dielektrik bariyer deşarjı (DBD) etkisinde hava ile karıştırılmış argon gazıyla oluşturulan plazmanın aktif ettiği suyun (PAW) bakteriyofajları etkili bir şekilde yok ettiğini ayrıca da plazma ile aktive ettiği suyun saklandıktan çok sonra dahi test edildiğinde antiviral aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Plazmanın etki etme mekanizmasında oluşturulan reaktif türlerin, nükleik asit ve proteinlere zarar vererek farklı türlerde bulunan bakteriyofajları güçlü bir şekilde etkisiz hale getirdiği belirtilmiştir (Guo vd., 2018).

2.4.2. Plazmanın yara tedavisi için kullanımları

Yara, genel olarak vücudun yapısal bütünlüğünün bozulması sonucu ortaya çıkan doku kaybı biçiminde tanımlanmıştır. Yara iyileşmesi, eksudatif, proliferatif ve rejeneratif olarak üç fazdan meydana gelmektedir. Yara iyileşme süreci; hücresel, fizyolojik, psikolojik olayların bir araya gelmesi ile oluşmakta ve özellikle kronik yaraların bu tedavi süreci içerisinde oldukça ciddi sorunlar oluşturduğu bilinmektedir. Günümüzde yara tedavisi alanında sorunlar devam etmekte ve bu duruma etkili olacak çözüm bulunabilmesi açısından bu alandaki çalışmalar önem arz etmektedir (Ekmekçi ve Bostancı, 2002).

Isbary ve arkadaşları, mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı dirençlerinin oluşmasıyla birlikte tedavilerde sorunlar oluşturduğunu belirtmişlerdir. Bu sebeple

çalışmalarında, bu sorunlara çözüm olabilmesi açısından kronik enfekte yaraları olan hastalara, soğuk atmosferik argon plazma, MicroPlaSter alfa cihazı ve MicroPlaSter beta cihazı her gün 2 dk'lık sürelerde muamele edilmiştir. Kronik yaralardaki bakterilerin direnç seviyelerinin ne seviyelerde olduğundan bağımsız, kontrollü şekilde yapılan argon plazma çalışmalarında, bakteri varlığıyla oluşan sorunların çözümünde oldukça etkili, güvenli ve ağrı olmayan bir teknik olduğunu bildirmişlerdir (Isbary vd., 2012).

Arndt ve arkadaşları, klinik uygulamalarda, soğuk atmosferik plazmanın yara iyileşmesini nasıl etkilediğini ve hangi moleküller üzerinde etkili olduğunu araştırmak için, çalışmalarında insan fibroblastlarında in-vitro hücrelerin incelenmesi ve fare derisinde in-vivo yara iyileşme modelinin incelenmesini gerçekleştirmiştir. MicroPlaSter beta cihazı kullanılarak 2 dk boyunca uygulanan argon soğuk atmosferik plazma tedavisinin sonuçlarında interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8), monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1), dönüştürücü büyüme faktörü- β 1 (TGF β 1), dönüştürücü büyüme faktörü- β 2 (TGF β 2) gibi yara iyileşmesinde etkili olan anahtar genleri etkilediğini, ayrıca kollejen tip 1 ve alfa-düz kas aktin (alfa-SMA) üretimini arttırdığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca soğuk atmosferik plazma tedavisinin herhangi bir yan etkisinin olmadığı, yara iyileşmesinde etkili olacak moleküller üzerinde etkin bir tedavi olduğu belirtilmiştir (Arndt vd., 2013).

Fare karaciğeri üzerindeki in-vivo olarak oluşturulan kesimlerdeki kan pıhtılaşma süresini belirlemek ayrıca farklı sürelerde uygulanan termal olmayan atmosferik basınçlı He plazma jeti tedavisinin yara iyileşmesi üzerindeki etkinliğini incelemek elde edilen verilerde in vivo olarak yapılan kesimlerdeki pıhtılaşma için tedavi süresinin 8,6 saniye olduğu belirtilmiştir. Yara iyileşme sürecinde ise 5 gün boyunca 30 ila 40 saniyelerde plazmaya maruz bırakıldığı sonrasında morfolojik ve histolojik analizlerin hem en hızlı hem de en iyi tedavi yöntemi olarak sonuçlandığı belirtilmiştir (Rad vd., 2018).

2.4.3. Kanser alanında tedavi yöntemi olarak plazma kullanımı

Kanser genel olarak birçok türde yaşayan formu ile canlıların yaşamını tehdit eden ve tam anlamda tedavi edilemeyen bir hastalıktır. Geleneksel kanser tedavileri tümör

hücreleri yanında normal sağlıklı hücrelerin ölümüne de neden olmaktadır. Bu istenmeyen durumun üstesinden gelecek yeni tedavi yöntemleri yalnızca tümör hücrelerini hedef alarak yok edebilme kabiliyetine sahip olmalıdır. Bu bağlamda, atmosferik gaz plazma (AGP) uygulamaları geleneksel tedavi yöntemlerinin aksine umut verici bir yöntem olarak değerlendirilebilir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde, AGP tarafından üretilmiş olan reaktif oksijen türlerinin kanser hücrelerinin ölümünde etkili olduğu, hücre içi redoks dengesini değiştirerek kanser hücresi metabolizması üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir (Ishaq vd., 2014).

Kanser tedavisinde arzu edilen etkinin sadece kanser hücreleri üzerinde seçici özellik göstermesi ve sağlıklı hücrelerin ise uygulamadan zarar görmemesidir. Bu amaçla Çizelge 2.5’de, kanser hücreleri üzerinde CAP’ın seçici sitotoksik etkiyi oluşturan uygulama alanı, kullanılan gaz tipi, tedavi süresi, biyolojik ya da klinik etkiler ve CAP tipi için açıklayıcı bilgilendirme verileri çizelgede listelenmiştir.

Çizelge 2.5. CAP’ın çeşitli kanser hatları üzerinde yapılmış uygulamaların listesi (Gay-Mimbrera vd., 2016)

Deri-dışı tümörler	Plazma	Maruziyet süresi	Modeli	Keşfedilen özellikler	Ref
Lenfoma	DBD plazma	30 - 480 sn	İnsan monositik lenfoma hücre dizisi (U937)	Metabolik aktivite, hücre canlılığı ve apoptoz	Kaushik vd, 2014
Meme kanseri	Özel tasarım	30, 60 ve 120 sn	İnsan metastatik hücre hattı (MDA-MB-231)	Hücre proliferasyonu ve göç	Wang vd, 2013
Yumurtalık kanseri	NEAPP	2 - 600 sn	Yumurtalık kanseri hücre hatları (SKOV3 ve HRA)	Hücre proliferasyonu ve apoptoz	Iseki vd, 2012
Kolorektal kanser	Spreyli torç	1 sn	Kolorektal kanser hücre hatları	Göç ve istila	Kim vd, 2010
Akciğer kanseri	Plazma tüy	10 sn	İnsan akciğer adenokarsinom hücre hattı (A549)	DNA hasarı ve hücre canlılığı	Joh vd, 2014
Karaciğer kanseri	Mikrojet tip plazma	2 dk	İnsan karaciğer kanseri hücre dizisi (SKHEP-1)	Hücre adezyonu	Gweon vd, 2011
Pankreas kanseri	Plazma jeti KINPen 09	5, 10 ve 20 sn	İnsan pankreas kanseri hücre çizgisi (Colo-357 ve PaTu8988T) / murin hücre çizgisi (6606PDA)	Hücre yaşayabilirliği ve apoptoz	Partecke vd, 2012
Prostat kanseri	KIN-Pen Med	10 sn	İnsan epitel PC hücre hatları (LNCaP ve PC-3)	Hücre proliferasyonu ve apoptoz	Weiss vd, 2015
Nöroblastom	Helyum bazlı plazma	0, 30, 60 ve 120 s	Neuro2a hücreleri murin nöroblastomu	Metabolik aktivite ve apoptoz	Walk vd, 2013

Sonuçlar genel olarak incelendiğinde, APP’nin özellikle meme, prostat, pankreas, karaciğer, kolorektal ve yumurtalık kanseri olmak üzere diğer tümör türleri için de en

etkili olduğu bilgisine ulaşılmıştır. Tümör hücrelerinin istenmeyen özellikleri primer oluştukları bölgelerden yakın veya uzak dokulara göç etmesidir. Metastaz olarak bilinen bu süreçte, kanser hücresinin göç etmekte, ilgili dokuya yapışmakta, proliferen olmaktadır. Bu süreç içerisinde kullanılan plazmanın şiddetinin, gücünün değiştirilmesiyle ortaya çıkan kompozisyonun sağlıklı olan hücreleri etkilemeden kanser hücrelerine spesifik olarak tümörlü dokuların uzaklaştırılmasına imkan sağlayan bir tedavi yaklaşımı olabileceği bildirilmektedir. Wang ve arkadaşları, bu amaçla yaptıkları çalışmada insan metastatik meme kanseri (BrCa (Breast Cancer)) hücreleri ve kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerine (MSC (Mesenchymal Stem Cells)) plazma uygulama tedavisi sonrası hücrelerin yanıtları gözlendiğinde, plazmanın MSC'lere zarar vermeden in vitro olarak, BrCa hücrelerini de seçici bir şekilde yok ettiğini göstermiştir (Wang vd., 2013). Buradan plazma uygulamaların başta meme kanseri türünde etkin olarak tedavide yüksek potansiyele sahip olduğu anlaşılmaktadır.

2.5. MCF-7 Meme Kanseri Hücre Hattı

Kanser, vücutta yer alan bazı hücrelerin kontrol dışı halde büyüyerek çoğalmasıyla meydana gelmektedir. Çeşitli birçok farklı kanser türlerinin hepsinin ortak noktası da bu kontrol dışı çoğalmadır. Anormal halde kontrolsüz bir şekilde büyüyen bu hücreler, normal hücrelerin gerçekleştiremediği şekilde de dokuları istila etmektedir. Sağlıklı bir hücrede DNA hasarının gerçekleşmesiyle DNA tamir sistemleri uyarılmakta ve hatalar onarılmaktadır. Hata tamir edilemeyecek kadar büyük ise apoptotik süreçler devreye girerek anormal hücrenin ortadan kaldırılması sağlanmaktadır. Tamir sistem genlerinin ve apoptotik genlerin mutasyona uğraması sonucu ile DNA tamiri ya yetersiz kalmakta ya da yapılamamaktadır. Sonuç olarak tamir edilemeyen DNA'da biriken hatalar ve yetersiz apoptosiz sonucunda tümörogenez başlamaktadır. Kanser hücreleri ayrıca vücudun bir yerinden başka bir yerine göç etme yani "metastaz" yapma yeteneğine de sahiptirler. Farklı birçok kanser türü mevcuttur ve bu türlerin davranış biçimleri de farklılık gösterebilmektedir. Meme kanseri de kötü huylu bir tümördür. Meme kanseri kökeninden geldiği bilinen MCF-7 hücreleri, ilk olarak 1970 yılında, 69 yaşında beyaz ırktan bir kadın hastanın plevral efüzyonundan izole edilmiştir (Soule vd.,

1973; Saraçlıgil, 2015). MCF-7, Michigan Kanser Vakfı – 7 ifadesinin kısaltmasıdır. (Saraçlıgil, 2015).

2.5.1. MCF-7 meme kanserinde apoptoz mekanizması

Apoptozis, Yunanca'dan gelmekte olup apo = ayrı ve ptosis = düşen ifadelerinin bir araya getirilmesi sonucunda ortaya çıkmış ve sonbaharda yaprak dökümü anlamına gelmektedir (Özvaran, 2004; Akşit ve Bildik, 2008). İlk defa Kerr ve arkadaşları tarafından 1972 yılında "apoptozis" terimini kullanmaya başlamışlardır. Yapılan incelemelerde fizyolojik bakımdan ölen hücre çekirdeklerinin yoğunlaşmış halde olan kromatin parçacıklara ayrıldığı ama organellerin korunmaya devam ettiği fark edilerek bu olayın bir hücre ölüm şekli olan nekrozdan farklı olduğu tespit edilmiştir (Yılmaz, 2005; Akşit ve Bildik, 2008). Apoptozis görülen hücrede, çevre hücreler ile iletişimi kaybolmakta ve iyon taşıma sisteminin durmasıyla hücre içi ve hücre dışı arasında sıvı geçişlerinin olmaması ile hücrede büzüşme ve küçülme meydana gelmektedir. Apoptozis sinyalini alan hücrelerde mevcut hacim yarıya kadar düşmekte ve çevredeki hücreler ile iletişim tamamiyle kesilmekte ve mikrovillus oluşumları kaybedilmektedir (Tomatır, 2003; Akşit ve Bildik, 2008).

Programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanan apoptozisin moleküler mekanizması net bir şekilde belli olmamakla beraber hücrelerin genetik belleklerindeki intihar programının oksidatif stres, patofizyolojik koşullar gibi çeşitli sinyallerin etkisiyle aktive olabileceği düşünülmektedir (Hampton ve Orrenius, 1998; Tomatır, 2003). Apoptozisi uyaran faktörler; büyüme faktörleri, onkojenler ve tümör süpresör genler olarak üç ana grupta toplanabilir (Hızel, 1997; Tomatır, 2003). Apoptozise neden uyarılardan bazıları; sitokinler, hücre içi kalsiyum oranındaki artış, büyüme faktörün geri çekilmesi, tümör nekroz faktör (TNF), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF-B), Fas/FasL sisteminin aktif hale gelmesi, bakteriyel enfeksiyonlar ve glukokortikoidler olarak verilmiştir (Hızel, 1997; King ve Cidlowski, 1998; Israels ve Israels, 2000; Büyükgebiz ve Caferler, 2001; Tomatır, 2003). Bu uyarılardan özellikle proto-onkojenlerin (örneğin c-myc gibi) çoğunun apoptoz regülasyon mekanizmasında yer aldığı çalışmalarda gösterilmiştir (Thompson, 1998; Tomatır, 2003). Apoptoz işlemi; DNA da oluşan gen hasarına hücrenin yanıtının, ölüm sinyalinin hücre membranı (Fas ligandı) tarafından alınması, hücreye proteolitik

enzim (granzim) girişinin doğrudan gerçekleşmesi şeklinde olmak üzere toplamda üç farklı yolla gerçekleşebileceği belirtilmiştir (Israels ve Israels, 2000; Tomatır, 2003). Bu süreçte rol oynayan bileşenler sırasıyla bcl-2 ailesi proteinleri, kaspazlar ve apaf-1 (apoptotik proteazı aktif eden faktör-1) proteinleri olarak sıralanabilir. Bu proteinlerdeki biyokimyasal aktivasyonun, apoptoz işleminde gözlemlenmiş olan mitokondriyal hasar, çekirdek zarındaki kırılma, DNA fragmentasyonu, kromatin kondensasyonu ve apoptotik cisimlerin etkilenmesi gibi morfolojik değişikliklerden sorumlu olduğu belirtilmiştir (Budihardjo ve Oliver, 1999; Tomatır, 2003). Oluşan apoptotik cisimciklerin, sitokin salgılanma ve inflamasyon oluşumuna neden olmaksızın çevredeki komşu hücreler ya da makrofajlar tarafından fagositoz edilme işlemine maruz kaldıkları belirtilmiştir (Tomatır, 2003).

Programlanmış hücre ölümünün bir diğer alternatifi olan nekrozis, hücrelerin pasif halde ölüm modülü olarak tanımlanmıştır. Ancak nekrozis, “onkozis” olarak belirtilmiş olan karyoliz ve hücre şişmesi ile hücre ölümüne sebep olurken, apoptozisin ise hücre büzülme haliyle piknoz ve karyoreksis sonucunda hücre ölümüne sebep olduğu bildirilmiştir. Nekroziste görülen temel morfolojik değişiklikler; hücrenin şişme hali, sitoplazmik vakuollerin oluşması, endoplazmik retikulumun şişme durumu, sitoplazmik kabarcık meydana gelmesi, şişme ya da gerilme ile yırtılma (rüptüre) olmuş mitokondri, ribozom ayrılması ve dağılması, organel membranlarında tamamiyle bozulma oluşumu, gerilmeye bağlı yırtılmış lizozom, hücre membranının bütünüyle parçalanması olarak sıralanabilir (Kerr vd., 1972; Majno ve Joris, 1995; Trump vd., 1997; Eröz vd., 2012). Membran bütünlüğünün bozulmasıyla sitoplazmik içeriğin çevre dokulara sızması sonucunda hücrelerde inflamasyon oluşmakta ve bu durum beraberinde kemotaktik sinyallerin ortaya çıkışına sebep olmaktadır. Apoptozisin görüldüğü hücrelerde ise hücre membran bütünlüğü bozulmadığından hücre içerikleri çevredeki doku ve hücrelere geçmemekte böylelikle de inflamasyon oluşumu gerçekleşmeden hücre makrofajlar ya da çevredeki normal hücreler tarafından seri bir şekilde fagosite edilmektedir (Savill ve Fadok, 2000; Kurosaka vd., 2003; Eröz vd., 2012).

Apoptozis programlı hücre ölümü; **başlama faz, sinyal faz, idam faz** ve **gömme faz** olmak üzere toplamda 4 basamaktan oluşmuştur. (Utz ve Anderson, 1998; Eröz vd., 2012). İlk basamak olan başlangıç aşamasında, çeşitli rollerde yer alan moleküller

sırasıyla; Fas ligant (FasL) ve tümör nekroz faktör α (TNF- α) olup bu işlemde prototipik indükleyici oldukları ifade edilmiştir. Bu ligantların, başlangıç sinyal iletim moleküllerinin aktive olmasında belli reseptör kümelerini (Fas, TNFR I, TNFR II) tetikledikleri belirtilmiştir. En iyi çalışan reseptör aracılı apoptotik yol olan bu sistemin Fas/FasL olduğu verilmiştir. Sisteince zengin olan ekstrasellüler domainli tip I transmembran proteini olarak belirtilen Fas/Apo-1/cd95'de tümör nekrozis faktör reseptör (TNFR) süper ailesinin bir üyesidir (Itoh ve Nagata, 1993; Eröz vd., 2012). Sinyal fazı olan ikinci basamağın, sinyal iletim mekanizması açısından çok önemli olduğu belirtilmiş ve çeşitli kinazların rol oynadığı protein kinaz kaskatından oluştuğu belirtilmiştir. Protein kinazların apoptozis işleminde anahtar rol oynadığı ve çoğunun da seri/threonin tipinde olduğu ifade edilmiştir. Mitojenle uyarılmış olan protein kinaz MAPK ailesinden olup p42/44 ERK, p38 MAPK ile c-Jun N-terminal kinaz (JNK), siklik AMP-bağımlı protein kinaz A (PKA), protein kinaz B (PKB), akt ve protein kinaz C (PKC)'de sinyal faz aşamasında rol alan kinazlardan olduğu belirtilmiştir (Cross vd., 2000; McCubrey vd., 2000; Eröz vd., 2012). Ölüm kararının verildiği infaz faz basamağı farklı türleri olan apoptotik programların integral komponentlerinin kaspazlar olarak bilinen ölüm proteazları olduğu ifade edilmiştir (Kumar, 1995; Salveson ve Dixit, 1997; Eröz vd., 2012). Apoptotik süreçte kaspaz-8 aktive edildiği anda doğrudan ya da dolaylı yoldan kaspaz-3, -6, -7'nin (CD95 tip I hücreler) bir grubunun aktivasyonunu tetikleyebildiği belirtilmiştir (Muzio vd., 1997; Eröz vd., 2012). Ayrıca apoptozis işlemi süresince kaspaz aktivasyonunun diğer yolunun, memeli hücrelerinde mitokondri organelinden sitozole sık sık sitokrom c'nin salınması olduğu belirtilmiştir (Scaffidi vd., 1999; Eröz vd., 2012). Ölüm reseptör sinyali BCL-2'nin inhibe edici olan yola bağlandığı ifade edilmiştir. "BH3 only" sınıf ve BCL-2 ailesinden olan BID'in (BCL-2 etkileşim domeni), aktif olan kaspaz-8 tarafından parçalanmasının ardından Bax hedef mitokondri organel membranına oligomerizasyonu ile sitokrom-c salınımına yol açtığı ifade edilmiştir. Serbest kalan sitokrom-c'nin de, sistolik protein olan Apaf-1'e bağlanarak Apaf-1 oligomerizasyonunu, "apoptozom" alımını ve prokaspaz-9 aktivasyonunu indüklediği belirtilmiştir. Aktif hale geçen kaspaz-9 da hücrelerde apoptotik ölümü düzenleyerek anahtar-substrat rolünde yer alan infaz prokaspaz-3'ü aktive etmektedir (Cain vd., 2000; Eröz vd., 2012). Son aşama olan gömme diğer adıyla da defin fazında oluşan apoptotik cisimciklerin, parankimal hücreler ya da fagositler

tarafından fagositozla ortadan kaldırdıkları belirtilmiştir (Mountz ve Zhou, 2001; Eröz vd., 2012).

Apoptozis mekanizması detaylı olarak incelendiğinde apoptotik yolların ekstrensek ve intrensek olduğu ya da mitokondriyel yol olmak üzere iki ana yoldan oluştuğu ve bu yollarda yer alan moleküllerin bir diğer yoldaki molekülleri etkilediği gösterilmiştir (Igney ve Krammer, 2002; Eröz vd., 2012). Ayrıca bu iki ana yola ek olarak T-hücre aracılı olan sitotoksitesiteyi ve perforin-granzim bağımlı hücre ölümü gerçekleştiren bir yol daha olduğu bildirilmiştir (Martinvalet vd., 2005; Eröz vd., 2012). Apoptozis mekanizmasının birçok ajan tarafından indüklenebildiği ancak mekanizmanın halen açık olmadığı ifade edilmiştir. Hücrede meydana gelen yaralanmalar, TNF reseptörü, Fas reseptörü, IL-3 ve eritropoetin gibi sinyalleri devam ettirmeyi sağlayan sitokinlerin yokluğuyla birlikte radyasyon, anti-kanser ilaçlar gibi DNA hasarlarına yol açan ajanlar tarafından apoptozis işleminin indüklendiği belirtilmiştir. DNA hasarı ile oluşan apoptoziste en önemli rol oynayan genin tümör süpresör p53 olduğu ifade edilmiştir (Lowe vd., 1993; Eröz vd., 2012).

2.5.2. MCF-7 meme kanseri tedavisinde doksorubisin etki mekanizması

Doksorubisin (DOX) piyasadaki adıyla da bilinen Adriamisin, çeşitli kanser türlerini tedavi etmek için kemoterapi işlemi sırasında kullanılan antrasiklin-tipi bir ilaçtır. Doksorubisin'in; lösemi, mesane, meme, mide, akciğer, yumurtalık ve tiroid gibi kanser türlerinde etki gösterdiği bildirilmiştir. DOX'un ilk kez 1969 yılında *Streptomyces peucetius* alt türü olan caesius ATCC29050'den türetilen mutant bir soy olduğu belirtilen ATCC27952'den izole edildiği bilgisi verilmiştir (Arcamone vd., 1969; Öncül, 2013). DOX'un etki mekanizmasında DNA hasarına yol açan hücre ölümüyle sonuçlandığı belirlenmiştir (Mompalmer vd., 1976; Fornari vd., 1994; Öncül, 2013).

DOX'un, DNA ile bağlantılı enzimlere bağlantı kurabildiği ve çift heliks yapıdaki DNA'da yer alan baz çiftlerinin arasına girebildiği bilgisi verilmiştir (Hilmer vd., 2004; Öncül, 2013). Çoklu moleküler yapıda olan Topoizomeraz I ve II enzimlerine bağlanıp DNA hasarıyla sonuçlanarak sitotoksik etkilere sebep olduğu gösterilmiştir (Buchholz vd., 2002; Öncül, 2013). DOX, DNA ve RNA polimeraz inhibisyonu ile

DNA replikasyonu ve RNA transkripsiyonu işlemlerini durdurmaktadır (Hilmer vd., 2004; Öncül, 2013).

DOX ayrıca; DNA hasarında etken olan serbest radikalleri oluşturmakta, makromolekül inhibisyonuna sebep olmakta ve DNA'da çözülmelere neden olmaktadır (Gewirtz, 1999; Minotti vd., 2004; Öncül, 2013). Ayrıca hücre çekirdek DNA'sının yapısına katılmasının yanında mitokondriyal DNA'nın da yapısına katılabildiği belirtilmiştir (Ashley ve Poulton, 2009; Öncül, 2013). İlaç kullanılmaya başlanmasından itibaren beraberinde ortaya çıkan serbest radikaller ve toksisite, tehlike arz eden yan etkiler olsa dahi çeşitli kanser formlarında etkinliği oldukça güçlü bir anti-kanser ilaç olarak kullanılmaktadır (Gewirtz, 1999; Ashley ve Poulton, 2009; Öncül, 2013).

2.5.3. MCF-7 meme kanserinde ilaçla tedavi etkisi ile atmosferik basınç plazma etkisinin karşılaştırılması

DOX güçlü bir kemoterapötik ajan olarak tedavide etkili olmasının yanında hematopoietik baskılama, mide bulantısına bağlı kusma, saç dökülmesi gibi negatif etkilere neden olmaktadır. Bu negatif etkilerinden en istenmeyen ve korku veren etkisinin kardiyomiyopati olması ilacın başarılı kullanım mekanizmasını gölgelediği ifade edilmiştir. Kardiyomiyopatinin tehlike arz eden etkisi, kemoterapi sürecinin bitmesinden 10-15 yıl kadar sonrasında bile ortaya çıkma potansiyeline sahip olmasıdır. Kardiyomiyopatinin ihtimali her ne kadar doza bağımlı olarak değişiklik gösterse de düşük dozlarda dahi kullanıcı bireyin duyarlılığına bağlı olarak ortaya çıkabileceği ifade edilmiştir (Allen, 1992; Jain, 2000; Öncül, 2013). DOX'un kemoterapi tedavisinin kesilmesinden yıllar sonra bile kalp üzerinde zararlı etkiler meydana getirdiği kanserden kurtulmuş olan pediatri hastalarında tespit edilmiştir (Saltiel ve McGuire, 1983; Singal ve Iliskovic, 1998; Öncül, 2013).

Plazma jet, 30 ° C – 40 ° C'ye ulaşan iyonize gaz sıcaklığı ile ısıya oldukça duyarlı bir işlem olup soğuk atmosferik plazma üretiminde yaygın olarak kullanılan bir yöntem olarak ifade edilmiştir. Belirli uzunluklara kadar ulaşarak “plum” adıyla da ifade edilen plazma jetin içeriğinde reaktif oksijen türleri, reaktif nitrojen türleri, nitrik oksit, kısa ve uzun ömürlü türlerin bir arada olduğu kimyasal ajan gruplarını

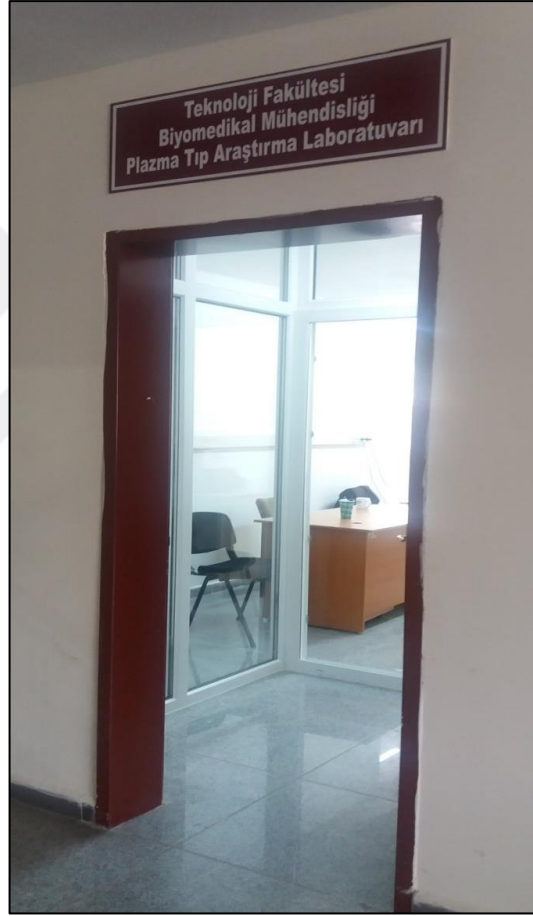
meydana getirdiği belirtilmiştir. Burada ifade edilen türler, kimyasal reaksiyon, iyon bombardımanı ve biyolojik örneklerin tedavisinde ve UV radyasyon işlemlerinde oldukça önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Stoffels vd., 2008; Dobrynin vd., 2009; Liang vd., 2012; Mirpour vd., 2014).

Mirpour ve diğerleri, yapmış oldukları çalışmada; tedavi edilmeyen meme kanseri hücre kültürü ve normal hücre kültürü, doksorubisin ilacıyla tedavi edilen hücre kültürü ve He / He + O₂ atmosferik basınç plazma jet ile muamele edilen hücre kültürü gruplarında elde ettikleri sonuçları karşılaştırmıştır. Plazma ile muamele edilen meme kanseri hücrelerinde 60 sn sonrasında önemli bir fark oluşturduğu görülmeye başlamıştır. Ayrıca plazma güç kaynağı voltajı arttırılarak muamele alanı genişlediğinden dolayı hücre canlılığının dikkate değer lde azaldığı grlmştir. Plazma uygulama süresi arttıka, kanser hücresi üzerindeki apoptotik etkiyi arttırdığı gözlemlenmiştir. Apoptozun maksimum seviyeye ulaşması sonrası plazma uygulama sürecine devam edildiğinde hücre ölümlerinin nekroz olarak oluştuğu gözlemlenmiştir. 300 sn'lik plazma uygulamasının normal hücrelerde ve ilaçla muamele edilmiş normal hücrelerde karşılaştırılmaları sonucunda normal hücrelerin ilaçla muamele edilen hücrelere göre daha az zarar verdiği grlmştir. Termal olmayan atmosferik basınç plazmanın kanser hücreleri üzerinde seçici etkisi apoptoz tahlili ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca He gazına O₂ gazının eklenmesiyle ortaya çıkan He + O₂ plazma uygulamasında He plazmasına göre apoptoz ölümlerin daha kısa sürede gerçekleştiği grlmştir. Plazma uygulamasıyla gözlemlenen apoptotik etkinin; RNS, ROS, OH ve NO gibi reaktif türlerin etkinliğinden kaynaklı olabileceğini dşndrmştir (Mirpour vd., 2014).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

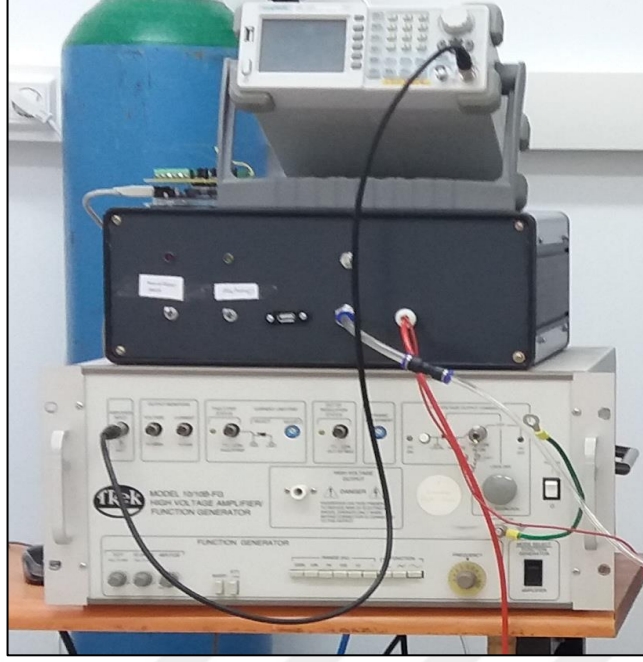
3.1. Materyal

Plazma kalem sistemi için çalışmalarımız Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi (ISUBÜ) Teknoloji Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği Plazma Tıp Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.1'de çalışmaların yürütüldüğü laboratuvar girişi gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Plazma çalışmalarının yürütüldüğü laboratuvar girişi

Plazma kalem sisteminde plazma oluşturmada kullanılan güç kaynağı için, Plazmatek şirketinden temin edilen DC güç kaynağı (7 kV, 50 kHz), Trek marka 10/100-FQ model yüksek voltaj yükseltici fonksiyon jeneratörü satın alınmıştır. Trek marka jeneratöre bağlantılı olarak çalışan aatech marka sinyal jeneratörü kullanılmıştır. Şekil 3.2'de güç kaynağı ile sinyal jeneratör bağlantısı gösterilmiştir.



Şekil 3.2. DC (7 kV, 50 kHz) güç kaynağı ve trek marka yüksek voltaj yükseltici fonksiyon jeneratör güç kaynağı ile bağlantılı en üstteki aatech marka sinyal jeneratörü

Plazma kalem sisteminde cam boru; iç yarıçapı 2 mm ve iç yarıçapı 3 mm uzunluğa sahip cam borular kullanılmıştır.

Cam boru üzerinde; topraklama ve yüksek voltaj için alüminyum tel ve alüminyum bant elektrotlar kullanılmıştır. APPJ sisteminde ise 10 cm uzunluğunda 0,6 mm ve 0,8 mm çapında bakır ve paslanmaz çelik çubuk elektrotlar kullanılmıştır.

Plazma kalem; Argon (Ar) ve Helyum (He) soygazları yüksek saflıkta satın alınarak çalışmada kullanılmıştır. Şekil 3.3'de satın alınan soygaz tüplerinin resmi gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Argon (sol) ve Helyum (sağ) sovgazları

Plazmanın spektrum analizinde kullanılan spektrometrik analiz ölçümü için; kalem sisteminde oluşturulan Ar ve He plazmalar, Aseq marka LR1-B optik emisyon spektrum (OES) cihazı ile analiz edilmiştir. Şekil 3.4'te optik emisyon spektrum cihaz resmi yer almaktadır.

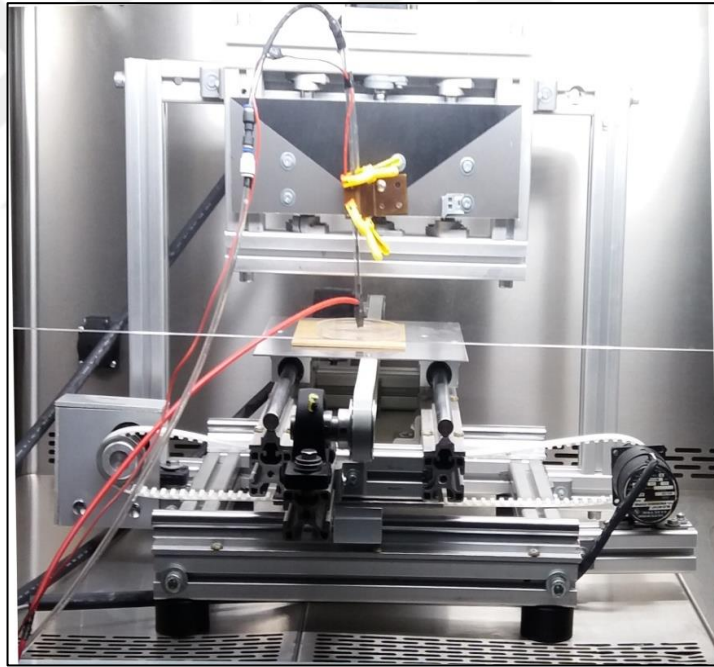


Şekil 3.4. LR1-B optik emisyon spektrum cihazı

Plazma spektrum analizi için kullandığımız Aseq marka LR1-B optik emisyon spektrum cihazının, spektral ölçüm aralığı 200 - 1200 nm aralığında olup LR1-B spektrometresi ayrıca dahili belleğe sahiptir. Cihaz çalışma mekanizması sırası ile veri toplama, pozlama, okuma, onboard hafızaya aktarma işlem aşamalarından oluşmaktadır ve veri okuma işlemi 10 ms sürmektedir.

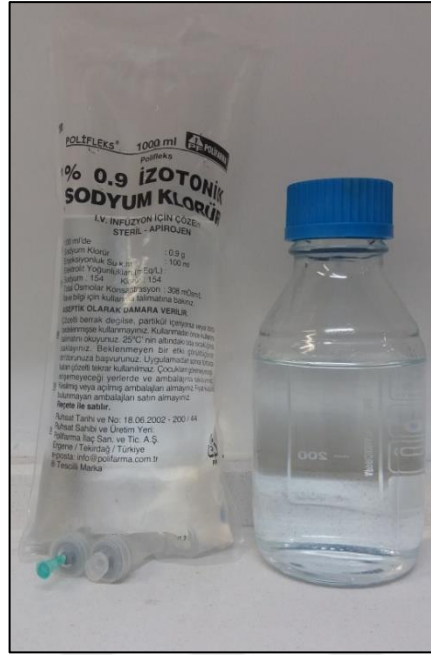
Plazma kalem sisteminde güç kaynaklarından DC (7 kV, 50 kHz) güç kaynağı, gaz akış hızlarının, spektrometrenin bilgisayar kontrollü ayarları ile birlikte kullanılma amacıyla plazmatek şirketi arge ekibi tarafından yapılması sonrası satın alınmıştır. Diğer güç kaynağı trek marka yüksek voltaj yükseltici fonksiyon jeneratör de satın alınmıştır.

APP'nin uygulama yaptığı alanın her tarafına eşit bir şekilde dağılarak ulaşması için, sistem içerisine, bilgisayar kontrollü x-y-z eksenlerinde hareket edebilen düzlem eklenmiştir. Düzlem üzerinde hareket etmek için hem manuel olarak kullanıcının klavye aracılığı ile eksenlerde plazma kalem sistemini hareket ettirebilmesi hem de kullanıcın başlangıçta plazma kalemin hareketi için bilgisayar kontrolüne vereceği eksen bilgileri ile otomatik olarak gerçekleştirilebilmesi sağlanmıştır. Şekil 3.5'te bilgisayar kontrollü x-y-z eksen hareketli düzlemin resmi gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Bilgisayar kontrollü x-y-z eksenlerinde hareket edebilen düzlem

Plazma kalem sisteminde üretilen plazmanın belirli süre boyunca ortamın plazma ile muamele edilmesi sonrası uygulama ortamında yol açacağı kimyasal tepkimelerin incelenebilmesi açısından sıvı ortam için satın alınan distile su ve serum gibi sıvı türleri şekil 3.6'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. %0.9 sodyum klorürlü izotonik serum (solda), distile su (sağda)

Plazma kalem sisteminin distile su, izotonik serum gibi özel sıvılara uygulaması sonrası plazmanın sıvıda meydana getirdiği değişikliklerin incelenmesi açısından Adwa marka AD14 model pH metre cihazı ile ortam pH'ını, oksidasyon indirgeme potansiyelini (ORP (Oxidation Reduction Potential)), sıcaklık ölçüm değerlerini öğrenmek için satın alınmıştır. Şekil 3.7'de cihazın resmi gösterilmiştir.



Şekil 3.7. Adwa marka AD14 model pH metre: pH, ORP, sıcaklık ölçüm cihazı

Adwa marka AD14 model pH metre'nin pH ölçüm aralığı 2 ile 16, sıcaklık ölçüm aralığı 5°C ile 60°C, ORP ölçüm aralığı ise ± 1000 mV olarak gösterilmiştir.

Plazma kalem sisteminin distile su, izotonik serum gibi özel sıvılara muamele edilmesi sonrası plazmadan sıvı ortama geçen reaktif türlerin tepkimeler sonucu ortamda meydana getirmiş olduğu kimyasal türlerin miktar tayinleri için test şeritleri satın alınmıştır. H_2O_2 (Hidrojen Peroksit) mg/L cinsinden miktar tayininde colorkim marka test şeritleri, NO_2 (Nitrit) ve NO_3 (Nitrat) ppm cinsinden miktar tayininde chembio marka test şeritleri kullanılmıştır. Şekil 3.8’de satın alınan test şeritleri gösterilmiştir.



Şekil 3.8. H_2O_2 ölçümleri için chembio marka test şeritleri (solda), NO_2 ve NO_3 ölçümleri için colorkim marka test şeritleri (sağda)

Plazma kalem sisteminin tasarımında, plazmanın oluştuğu plazma kalemi biyogüvenlik test kabininin içerisinde x-y-z eksenlerinde hareket edebilen düzlem üzerine yerleştirilerek plazma çalışmalarımız steril kabinde gerçekleştirilmektedir. Tasarlanan sistemde kullandığımız materyallerin bir arada kullanımlarının anlaşılması için şematik olarak gösterimi bölüm 3.2 başlığının hemen girişinde Şekil 3.15’te verilmiştir.

MCF-7 hücre kültürüne plazma uygulaması sonrasında hücrelerdeki davranışların son durumlarının gözlemlenmesi için zeiss firmasından satın alınan ters (inverted) mikroskop şekil 3.9’da gösterilmiştir.



Şekil 3.9. İverted mikroskop yandan görünüm (solda), İverted mikroskop önden görünüm (sağda)

MCF-7 hücre kültürüne plazma uygulaması öncesi ve sonrasında thoma lamında boyanan hücrelerin gözlemlenerek sayılması için zeiss firmasından satın alınan ışık mikroskobu şekil 3.10’da gösterilmiştir.



Şekil 3.10. Işık mikroskop yandan görünüm

Plazma kalem sisteminin MCF-7 hücre kültürü örneklerine uygulanması esnasında, hücre kültürünün bulunduğu hava ortamından etkilenmeden havanın filtre edilerek laboratuvar çalışma ortamının steril olma ihtiyacını gidermek için şekil 3.11’de gösterilen içerisinde hepa filtre bulunan biyogüvenlik test kabini mikrotest firmasından satın alınmıştır.



Şekil 3.11. Plazma uygulamasının steril olarak MCF-7 hücrelerine uygulanma işlemi için satın alınan biyogüvenlik test kabini

MCF-7 meme kanseri hücrelerini muhafaza etmek için, şekil 3.12’de gösterilen nüve marka EC 160 model CO₂ inkübatörü satın alınmıştır.



Şekil 3.12. MCF-7 meme kanseri hücrelerinin çoğaltılması için satın alınan CO₂ inkübatörü

MCF-7 hücre kültürü çalışmalarında, hücreleri belirli hızda santrifüj etmek için, şekil 3.13’te gösterilen nüve marka NF 200 model santrifüj cihazı satın alınmıştır.



Şekil 3.13. MCF-7 meme kanseri hücrelerinin santrifüj edilmesi için satın alınan santrifüj cihazı

MCF-7 hücre kültüründe kullanılan besiyeri ortamlarını uygun koşullarda (+4 °C, -20 °C) saklanarak muhafaza etmek için şekil 3.14'te gösterilen vestel marka buzdolabı satın alınmıştır.



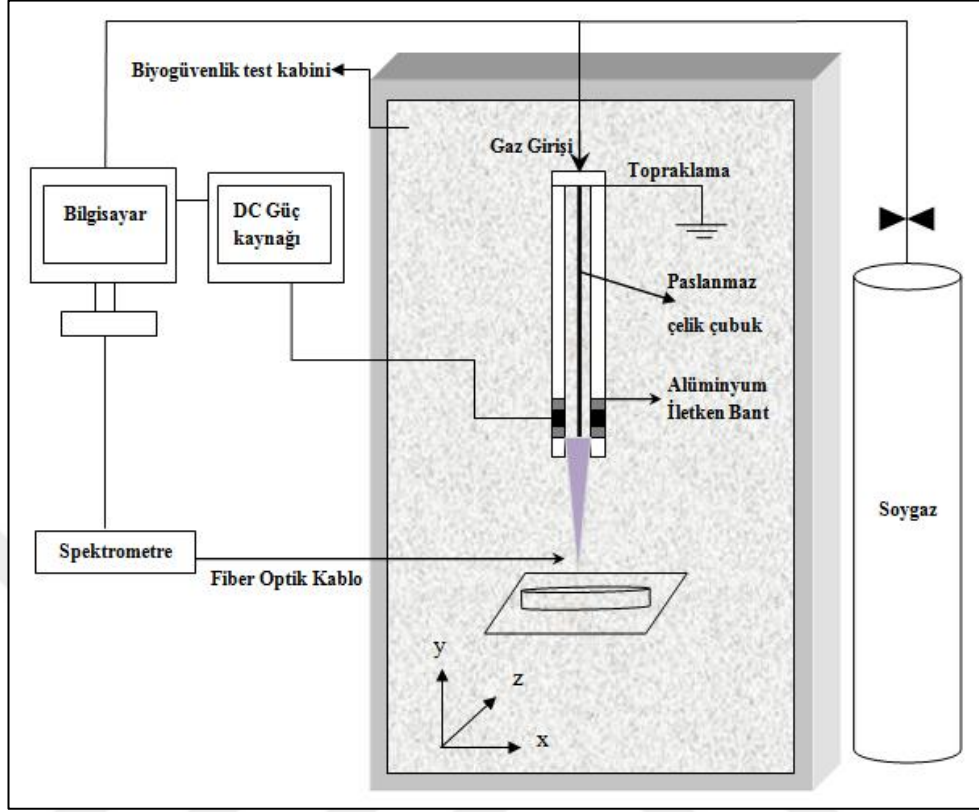
Şekil 3.14. MCF-7 meme kanseri hücre kültürü hazırlamak için kullanılan besiyeri ortamlarını uygun koşullarda (-20 °C ve +4 °C) saklamak için satın alınan buzdolabı

3.1.1. Meme kanseri hücre kültürü için kullanılan gereçler

Hücre kültüründe kullandığımız tüm sarf malzeme ve kimyasal maddeler satın alınmış olup muhafaza edilmesi gerekli olan koşullarda saklanmış ve çalışmamız aşamalarında steril olarak kullanılmıştır (Aşçı Çelik, 2017).

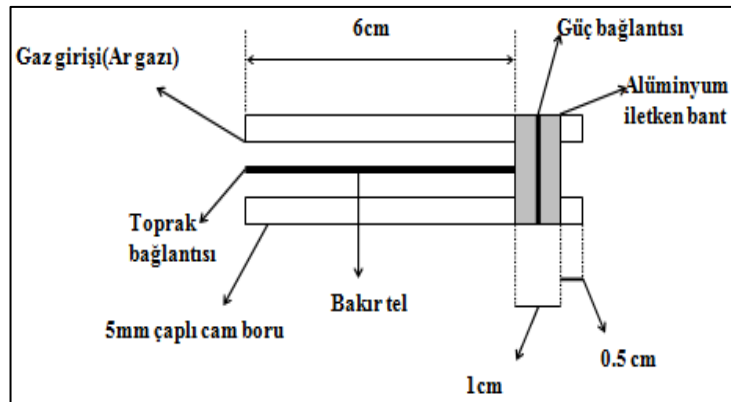
- **Hücre Hattı:** Atmosferik basınç plazma tedavisini uygulamak için çalışmamızda kullandığımız MCF-7 insan meme kanseri hücre hattı, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı'ndan temin edilmiştir.
- **Serum ve Solüsyonlar:** Hücre kültürü için çalışmamızda kullandığımız serum ve solüsyonlar sırasıyla FBS (Fetal Bovine Serum); MEM-E (Minimum Essential Medium-Eagle), Earle's Salts Base, w/o L-Glutamin; DPBS (Dulbeccos's Phosphate Buffered Saline); Trypan Blue olarak verilmiştir.
- **Enzim:** Hücrelerin pasaj ve diğer işlemleri için hücre kültür yüzeyinden kaldırılması amacıyla kullanılan enzim olarak %0,25 oranında EDTA (Etilen diamin tetraasetik asit) içeriğinde tripsin solüsyon kullanılmıştır.
- **İlaçlar:** Antibiyotik solüsyonu için penisilin-streptomisin kullanılmıştır. Meme kanseri tedavisinde kullanılan doksorubisin (en yaygın olarak bilinen piyasa adıyla Adriamycin) atmosferik basınç plazma uygulamasının meme kanseri hücreleri üzerindeki etkisi ile karşılaştırmak için deney grubunda kullanılmıştır.
- **Kimyasallar:** DMSO (Dimetil sülfoksit) ve hücre kültürü için laboratuvar ortamının steril olması için alkol kullanılmıştır.
- **Sarf Malzemeler:** Hücre kültürü hazırlamak için satın aldığımız laboratuvar içerisinde her aşamada steril olarak kullanılan gereçler sırasıyla verilmiştir: Şırınga uyumlu enjektör filtresi; Filtre kapaklı hücre kültürü flaskları, 75 cm²-25 cm²; 96 kuyucuklu hücre kültürü tabağı; 48, 24 ve 12 kuyucuklu plate; 35 mm × 10 mm boyutlarında kültür tabağı; mikro hacimli pipet uçları; tek kanallı hacim pipetleyicileri; sayım lamı; 5 ml, 10ml ve 25 ml serolojik pipetler

3.2. Yöntem



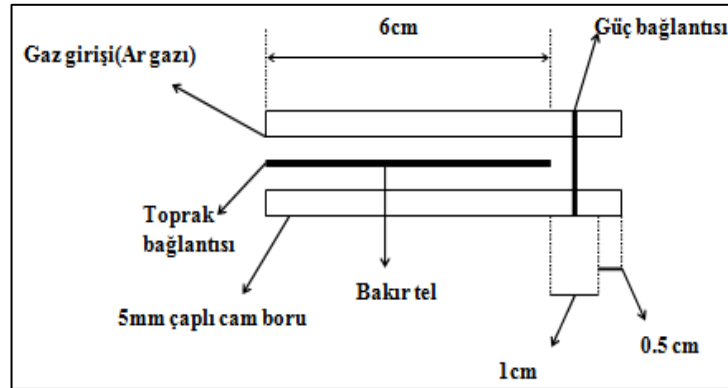
Şekil 3.15. Tasarlanan plazma kalem sisteminin 2D şematik gösterimi

Tasarlanan plazma kalem sisteminde plazma üretimi için, öncelikle kHz seviyelerinde yüksek voltaj kullanılarak He ve Ar plazmalar üretilmiştir. Ar plazması için alüminyum bantlı plazma kalemin elektrot düzenlemesi şekil 3.16'da gösterilmiştir.



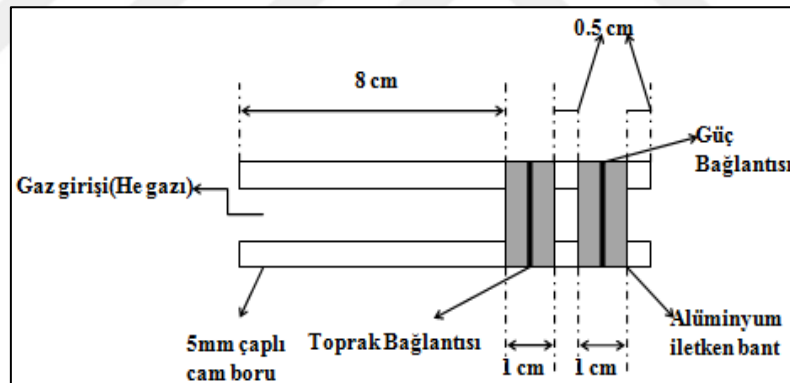
Şekil 3.16. kHz güç kaynağı ve Ar gazı varlığında 2 mm iç çapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bantlı elektrot düzenlemesi

Ar plazması için alüminyum bant olmayan plazma kalemin elektrot düzenlemesi şekil 3.17’de gösterilmiştir.



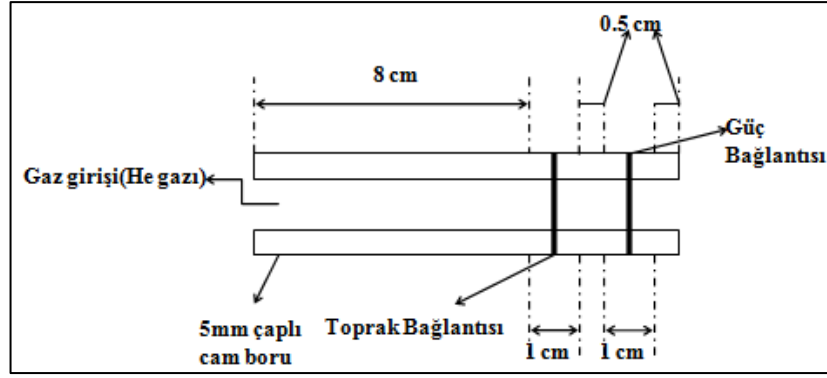
Şekil 3.17. kHz güç kaynağı ve Ar gazı varlığında 2 mm iç çapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bant bulunmayan elektrot düzenlemesi

He plazması için alüminyum bantlı plazma kalemin elektrot düzenlemesi şekil 3.18’de gösterilmiştir.



Şekil 3.18. kHz güç kaynağı ve He gazı varlığında 2 mm iç çapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bantlı elektrot düzenlemesi

He plazması için alüminyum bant olmayan plazma kalemin elektrot düzenlemesi şekil 3.19’da gösterilmiştir.



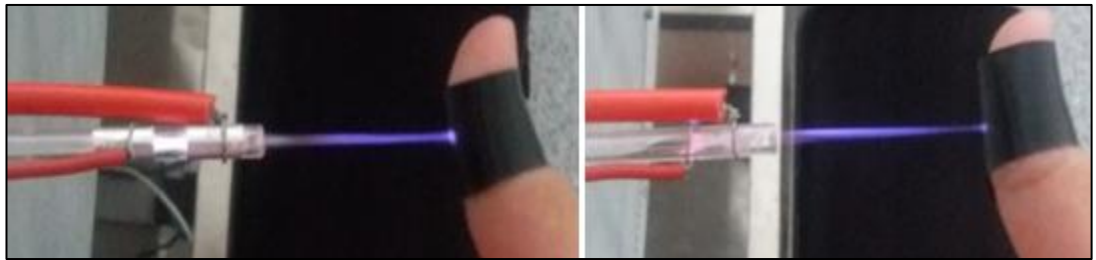
Şekil 3.19. kHz güç kaynağı ve He gazı varlığında 2 mm iç çapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bant bulunmayan elektrot düzenlemesi

Plazma kalem sisteminde ilk olarak 2 mm iç yarıçapa sahip toplamda 5 mm çapta olan cam boru içerisine topraklama bağlantısı için 0,8 mm çapta, 6 cm uzunluğuna sahip bakır tel çubuk yerleştirilmiştir. Cam boru üzerinde hem alüminyum bant sarılı hem de alüminyum bant sarılı olmadan elektrot düzenlemeleri yapılmıştır. Cam borunun ucundan 0,5 cm uzaklıktan başlayarak 1 cm uzunluğundaki aralığa alüminyum tel elektrotu cam boru çevresine sarılmıştır. Ar plazmasının oluşmasında etkili olması sebebi ile böyle bir elektrot düzenlenmesi yukarıda anlatıldığı şekilde tasarlanmıştır. Sabit olarak 7 kV, 50 kHz parametrelerinde ayarlı güç kaynağı bağlantısının yapıldığı cam boru uç kısmında hem alüminyum bantlı hem de alüminyum bant olmadan plazma üretiminin gerçekleştirilmesi sağlanmıştır. Alüminyum bandın varlığı cam boru ucundan çıkan plazmada, spektrometre ile aldığımız ölçümlerin analizlerinde, ölçülen spektrum şiddetleri üzerinde etkili olup olmayacağını araştırmaktır. Şekil 3.20’de Ar plazma kalem sisteminin alüminyum bantlı ve alüminyum bant olmayan resmi gösterilmiştir. Al bantlı plazma kalemden çıkan Ar plazma yaklaşık 2 cm uzunluğunda, al bant olmayan plazma kalemden çıkan Ar plazma yaklaşık 1 cm uzunluğunda elde edilmiş ve spektrumları alınmıştır. Tasarlanan plazma kalem tiplerinde cam borunun diğer uç kısmından gaz geçişi için gaz bağlantısı verilmiştir.



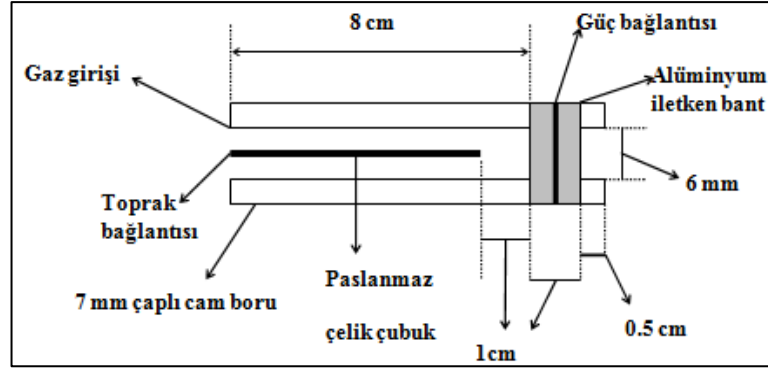
Şekil 3.20. 7 kV, 50 kHz DC güç kaynağı kullanılarak 5 mm çapta cam boruda Al bantlı oluşturulan Ar plazma (solda), 5 mm çapta cam boruda Al bant olmadan oluşturulan Ar plazma (sağda)

He gazı için tasarlanan plazma kalem sisteminde ise, 2 mm iç yarıçaplı toplamda 5 mm çapında olan cam boru içerisine topraklama bağlantısı yerleştirmek yerine, topraklama bağlantısı cam boru üzerinde uçtan 0,5 cm uzaklıkta olan güç kaynağı bağlantısı, 0,5 cm aralık olacak şekilde ayarlanmıştır. Sabit olarak 7 kV, 50 kHz parametrelerinde ayarlı güç kaynağı bağlantısının yapıldığı cam boru uç kısmında hem alüminyum bantlı hem de alüminyum bant olmadan plazma üretimi sağlanmıştır. Çalışmamızda alüminyum bantlı cam boru ucundan çıkan plazmada, ölçülen spektrum şiddetleri üzerinde bir etkisinin olup olmadığı araştırılacaktır. He plazma Al bant varlığında yaklaşık 5 cm uzunluğunda, Al bant olmadan yaklaşık 4 cm uzunluğunda elde edilmiş ve spektrumları alınmıştır. Tasarlanan plazma kalem tiplerinde cam borunun diğer uç kısmından gaz geçişi için gaz bağlantısı verilmiştir. Şekil 3.21’de He plazma kalem sisteminin alüminyum bantlı ve alüminyum bant olmayan resmi gösterilmiştir.



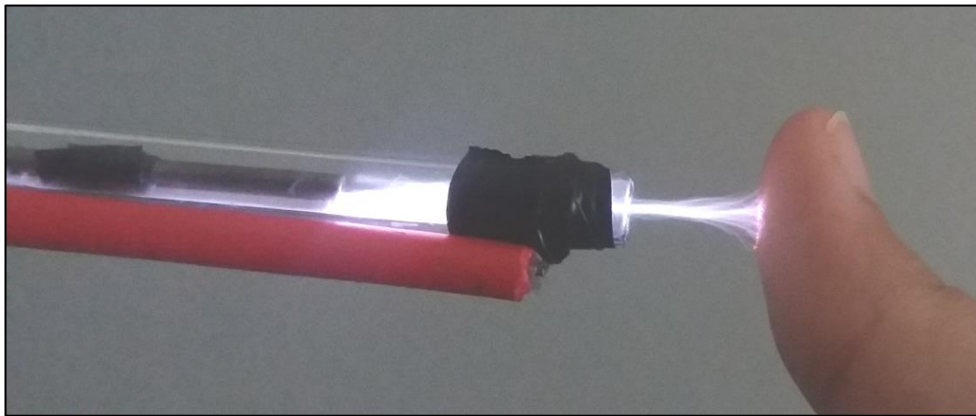
Şekil 3.21. 7 kV, 50 kHz DC güç kaynağı kullanılarak 5 mm çapta cam boruda Al bantlı oluşturulan He plazma (solda), 5 mm çapta cam boruda Al bant olmadan oluşturulan He plazma (sağda)

6 kV, 4 kHz parametrelerinde ayarlanmış olan farklı voltaj ve frekanstaki DC güç kaynağı kullanılarak ayrı ayrı Ar gazı ve He gazından oluşturulan plazmalar için alüminyum bantlı plazma kalemin elektrot düzenlemesi şekil 3.22’de gösterilmiştir.



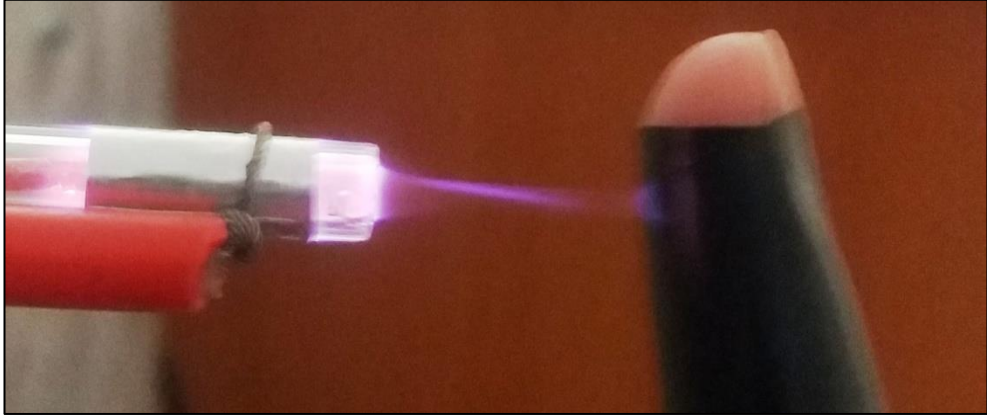
Şekil 3.22. Farklı kV, kHz güç kaynağının ayrı ayrı Ar ve He gaz varlığında 3 mm iç yarıçapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bantlı elektrot düzenlemesi

Plazma kalem sisteminde öncelikle 3 mm iç yarıçapa sahip toplamda 7 mm çapta olan cam boru içerisine 0,8 mm çapta, 8 cm uzunluğuna sahip paslanmaz çelik çubuk topraklama bağlantısı olarak yerleştirilmiştir. Cam boru ucundan 0,5 cm uzaklıkta olacak şekilde alüminyum tel elektrotu cam boru çevresine sarmak için cam boru üzerinde 1 cm uzunluğunda alüminyum bant sarılı halde elektrot düzenlemeleri yapılmıştır. Bu şekilde elektrot düzenlenmesi ayrı ayrı kullanılmak üzere Ar gazı ve He gazı için tasarlanmıştır. Alüminyum bandın varlığında cam boru ucundan çıkan plazmada, spektrometre ile spektrum analizleri alınmıştır. Tasarlanan plazma kalem tiplerinde cam borunun diğer uç kısmından gaz geçişi için gaz bağlantısı verilmiştir. Al bantlı plazma kalemden çıkan Ar plazma yaklaşık 2 cm uzunluğunda olup şekil 3.23'te resmi gösterilmiştir.



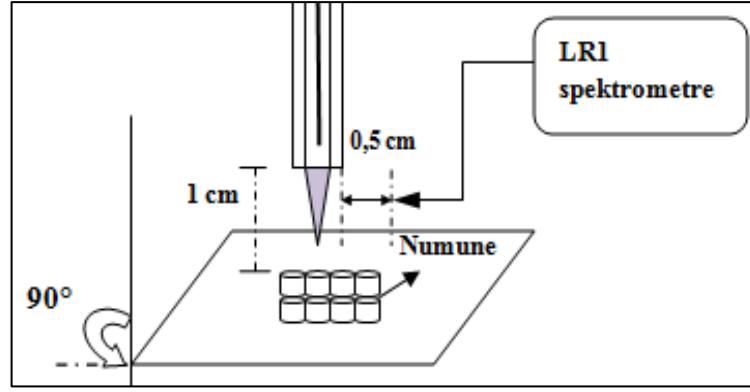
Şekil 3.23. Farklı kV, kHz güç kaynağının Ar gaz varlığında 3 mm iç yarıçapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bantlı elektrot düzenlemesi

He bantlı plazma kalemden çıkan He plazma yaklaşık 3 cm uzunluğunda olup şekil 3.24'te resmi gösterilmiştir.



Şekil 3.24. Farklı kV, kHz güç kaynağının He gaz varlığında 3 mm iç yarıçapa sahip cam boruda oluşturulan plazmaların alüminyum bantlı elektrot düzenlemesi

Genel olarak iç yarıçapı 2 mm ve 3 mm olan bütün elektrot sistemlerinde, oluşturulan plazma jetin 1 cm kadar uzağına engel yerleştirilerek, plazma kalem sisteminden çıkan plazma jetine 90° olacak şekilde 0,5 cm uzaklıktan spektrometrenin optik ucunda spektrum ölçümleri alınmıştır. Optik uç 1 s boyunca açık kalacak şekilde, çıkan plazma jetine belirlenen mesafede yaklaştırılmıştır. 1 s boyunca plazma ölçümü için beklenmiş ardından spektrum görüntüsü kaydedilmiştir. Optik ucun ölçüm süresi bittikten sonra spektrum analiz verileri bilgisayar içerisine kaydedilmiştir. Plazma kalemden 1 L/dk'dan 5 L/dk'ya kadar akış hızlarında Ar ve He gazlarından elde edilen plazmaların optik emisyon spektrum analizleri yapılmıştır. Spektrum analizinde tespit edilen dalga boylarının hangi reaktif türlere ait olduğunu daha önce yapılmış olan literatürdeki verilerden ve National Institute of Standards and Technology (NIST ASD, 2019) veri tabanındaki verilerden sağlanmıştır. Plazma akışı sırasında spektrum alınırken plazma jet ile spektrometrenin optik ucu arasındaki mesafe ve cam boru ucunun numuneye mesafesi şekil 3.25'te gösterilmiştir.

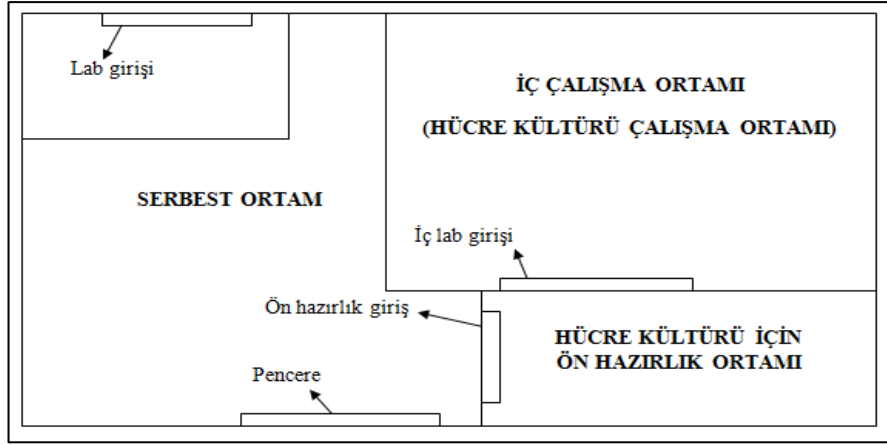


Şekil 3.25. Plazma akışı sırasında plazma jet ile spektrometrenin optik ucu arasındaki mesafe ve cam boru uç ile numune arasındaki mesafe

Buradan tespit edilen veriler ile plazma kalemden çıkan plazma sıcaklığı ve yoğunluğu hesaplamaları yapılmıştır. Farklı voltaj ve farklı frekanslarda güç kaynakları ile birlikte Ar, He gazları için tasarlanan plazma kalemlerinden üretilen plazmalar belirli sürelerde izotonik serum, distile su gibi sıvılara muamele edilmiştir. Plazmanın aktif ettiği sıvı kimyasında meydana getirdiği değişikliklerin incelenmesi açısından plazma uygulama sonrası sıvılarda pH, ORP, H₂O₂ (Hidrojen peroksit), NO₂ (Nitrit), NO₃ (Nitrat) gibi parametrelerin analizlerinden elde edilen veriler araştırma bulguları ve tartışma bölümünde verilmiştir.

3.2.1. Meme kanseri hücre hattı temini, açılması, kültür ortamının hazırlığı ve çalışma grupları

Hücre kültürü için kullanılan MCF-7 hücre hattı Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Esin SAKALLI ÇETİN hocamız tarafından uygun koşullar altında laboratuvarımıza ulaştırıldı. Hücre kültürü laboratuvarı ve içerisinde yer alan tüm cihaz, kimyasal ve sarf malzemeler çalışma için öncesinde prosedürlere uygun olarak temizlenerek steril hale getirildi (Ortatatlı vd., 2006). Uygun çalışma ortamının planlanmış resmi 2D boyutlu olarak şekil 3.26'da verilmiştir.



Şekil 3.26. Biyomedikal plazma laboratuvarında hücre kültürü için steril çalışma ortamı 2D boyutlu planı

Laboratuvar hazırlığı için ilk olarak ortam ve laboratuvara koyulacak tüm malzemeler deterjan, çamaşır suyu, sirkeden oluşan bir karışımla temizlendikten sonra alkolle silinerek, laboratuvar içine uygun yerlere yerleştirildi. Bu aşamalardan sonra içeri alınan her malzeme sterilliğinin bozulmaması açısından zaruri olan durumlar dışında dışarıya kesinlikle çıkarılmaması sağlandı. Çalışma iç ortamında kişiye özel terlik ve laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık galoş, tek kullanımlık pudrasız eldiven, tek kullanımlık maske, tek kullanımlık saç bonesi bulunduruldu. Serbest olarak çalışılan alanda ise iç çalışma ortamının etkilenmemesi açısından galoş ve terlik kullanılarak genel temizlik kurallarına uyulması sağlandı. Serbest çalışma ortamından steril iç laboratuvara geçerken, eller lavaboda yıkayıp ardından % 70 lik alkol püskürtüldü. Ön hazırlık ortamında olduğu gibi iç çalışma ortamında da %70 lik alkol bulunduruldu. Dış ortamdan iç ortama taşınan her materyalin hem ön hazırlık ortamında hem de iç ortamda püskürtme şişeleriyle alkollenerek steril duruma getirilmesine dikkat edildi. İç çalışma ortamına geçildiğinde hiç birşeye dokunmadan eller yeniden alkollenerek ardından tek kullanımlık eldiven giyilip tekrar alkollendi, alkollenen saç bonesi ve maske takılarak önlük giyildi. Biyogüvenlik kabini her çalışma öncesinde ve sonrasında alkolle temizlendi. Çalışma anında kullanılan her malzeme, hücre kültürü biyogüvenlik kabini içine dışarıdan alkol püskürtülerek steril halde koyuldu ve 15 dk süre boyunca UV'ye maruz bırakıldı. UV çalışırken iç ortamda çalışan kişilerin sağlık açısından ortamda bulunulmamasına özen gösterildi. Çalışmada kullanılacak bütün malzemelerin steril olduğuna emin olunduktan sonra ancak hücre kültürünün biyogüvenlik kabin içerisine getirilmesine özen gösterildi.

Hücre kültürüne besiyer hazırlama işlemleri için; Zenginleştirilmiş besiyerini hazırlamaya başlamadan önce stok malzemelerimizi kontaminasyon riskini azaltmak amacı ile steril koşullar altında biyogüvenlik kabin içinde belli hacimlere ayırdık ve uygun şartlarda sakladık. Bu amaçla FBS, 50 ml'lik steril falkon tüplere, penisilin-streptomisin de 10 ml'lik steril falkon tüplere enjektör filtresinden geçirilerek aktarıldı. Falkon tüplerin kapakları sıkı bir şekilde kapatıldıktan sonra alkollenmiş parafilm ile sıkıca sarılarak rak içerisinde FBS -20°C'de, penisilin-streptomisin ise +4 °C'de muhafaza edildi. Ayrıca canlı ve ölü hücreleri sayarak hem birbirinden ayırmak hem de canlı hücre konsantrasyonunu belirlemek için kullanılan Tripan EDTA solüsyonu da 10 ml'lik steril falkonlara enjektör ile çekilip ardından enjektör filtresinden geçirilerek boşaltıldı. Her bir falkonun ağzı sıkıca kapatılıp alkollenmiş parafilm ile sıkıca sarıldı. Falkonlar alkollenerek buzdolabında +4 °C'de rakların içerisinde muhafaza edildi. Hücre kültürü kabin içerisinde iken bu aşamadan sonra dışarıdan hiçbir materyal hücre kültüründe kontaminasyon riskini önlemek için kesinlikle kabin içine alınmadı. Hücre kültüründe kullanılacak solüsyonlar ile ilaçlar; Fetal Bovin Serum (FBS), (Minimum Essential Medium-Eagle) MEM-E, Tripan EDTA ve ilaç olarak Penisilin olarak belirtilmiştir. FBS solüsyonu, Tripan EDTA ve Penisilin -20°C'de, MEM-E solüsyonu ve diğer solüsyonlar +4°C'de muhafaza edilmektedir. Besiyeri %10 FBS ve %1 antibiyotik içerecek şekilde steril şartlarda hazırlanıp, uygun koşullarda muhafaza edildi. Hücre besiyeri hazırlanırken gerekli olan tüm solüsyonlar çalışmakta olan biyogüvenlik kabin içerisine alkollenerek koyuldu. 500 ml MEM-E besiyeri içerisinden 50 ml çekilerek 50 ml'lik falkon tüp içerisine 0.22 mikron çaplı enjektör filtresinden geçirilerek aktarıldı. Falkon dolduktan sonra ağzı sıkıca kapatılmıştır ve ağzı alkollenmiş parafilm ile sıkıca sarılarak rak içerisinde +4°C'de muhafaza edildi. Geriye 450 ml MEM-E solüsyonu içine 50 ml FBS 0,22 mikron çaplı enjektör filtresinden geçirilerek ilave edildi. MEM-E, FBS, Penisilin ve Tripan EDTA bölme işlemi tamamlandıktan sonra besiyerini oluşturmak için biyogüvenlik test kabini içerisinde ayırdığımız 50 ml lik falkon FBS solüsyonu ve 5 ml'lik penisilin-streptomisin 450 ml lik MEM-E solüsyonu içerisine aktarılarak 450 ml MEM-E+50 ml FBS+5 ml penisilin-streptomisin olmak üzere toplamda 505 ml besiyeri hazırlığı işlemi tamamlandı. Şekil 3.27'de hücre kültürü için besiyer hazırlanma işlemlerimizin çalışması gösterilmiştir.



Şekil 3.27. Biyomedikal plazma laboratuvarında hücre kültürü için besiyer hazırlanma işlemleri

Hücrelerin inkübasyon, çoğaltılma ve pasaj işlemleri için; MCF-7 meme kanseri hücreleri, %5 CO₂ ve 37°C şartlarında CO₂ inkübatörü içerisinde 75 cm²'lik flaskların içerisinde steril hale getirilmiş şartlarda inkübe edilerek hücrelerin çoğalmaları sağlandı. Hücreler maksimum haldeki yoğunluklarına ulaştıklarında flaskın yüzeyini tamamen kaplama durumu gözlemlendikten sonra haftada ortalama olarak iki kez pasajlama işlemlerinin ardından tekrar inkübasyonu sağlandı. Çoğalma durumu devam eden hücreler için yaklaşık %80 doygunluk oranına ulaştıklarında pasaj işlemi tekrar edildi. Bu uygulama sırasında öncelikli olarak flaskların içerisinde yer alan besiyeri ve ölü olan hücreler pipet pompası yardımı ile alındı ve 4 ml kadar PBS yıkama işlemi ile ortamdan uzaklaştırması yapıldı. Daha sonra hücrelerin flasktaki tutunmuş oldukları yüzeyden kaldırılma işlemi gerçekleştirilmek için 3 ml tripsin-EDTA solüsyonu ortama ilave edilerek inkübatörde bekletilmeye alındı. Flask yüzeyinden hücrelerin ayrılıp ayrılmadığını anlamak için inverted mikroskopta yapılan incelemede hücrelerin tamamının yüzeyden kalktıklarının anlaşılması sonrası tripsin aktifliğini sonlandırmak amacıyla flask içerisine 2 ml miktarında medium eklenmesi yapılarak santrifüj işlemi gerçekleştirilmek üzere 15 ml'lik tüplere aktarımı sağlandı. Tüpe alınan süspansiyon 4000×g'da 4 dakika boyunca santrifüj edildi, süpernatant uzaklaştırıldı ve böylelikle hücreler taze hazırlanmış olarak ve oda sıcaklığındaki medyum ile süspanse edilerek 75 cm²'lik flasklara bölünmesi ile yeniden pasajlandı.

Hücre sayım işlemi için; MCF-7 meme kanseri hücreleri pasajlanma sonrası canlılık ve sayıları için Tripan blue ve hemostirometrik yöntem hesabı ile tayin edildi. Bu yöntemde ölü olan hücrelerde membran hasarı oluşması nedeni ile boyama sonrası boyayı içlerine aldıklarından hasarlı olan hücre boyanırken, membran bütünlüğünü koruyan canlı olan hücrelerin boyayı kendi içeriğine almaması prensibi ile gerçekleştirilmektedir. Pasajlama işlemi sırasında hücrelerin flask yüzeyinden tripsin-EDTA ile kaldırılma ve santrifüj işlemi sonrası 1 ml medium ile süspansiyon edildi ve süspansiyona 90 µl Tripan mavisi eklenmesi ile bir ependorfta karıştırma işlemi yapıldı. Sayım işlemi yapmak için Thoma Lamı üzerine karışım içeriğinden bir damla ilave edildi. Thoma lamı üzerindeki 16 kareden 1'sayılacak şekilde canlı hücre sayısı ortalama olarak belirlendi. Toplam hücre sayısı/ml değeri; hemasiyometre sayım sonucu $\times 16 \times 10^4 \times$ medium miktarı değerlerinin çarpılması ile bulunmuştur. (Yavuz Türel, 2017)

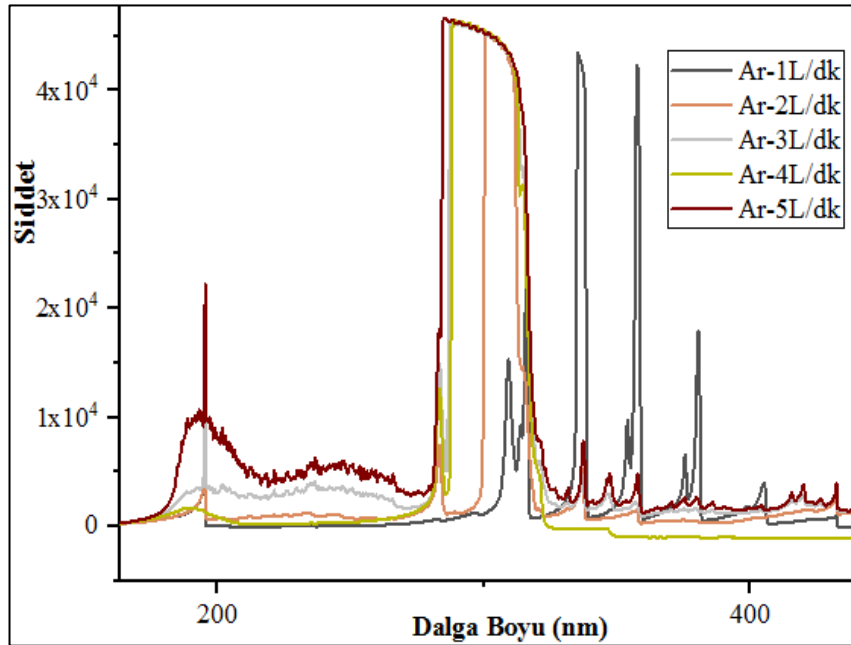
Çalışma grupları için; DOX ile Plazma muamelesinin etkinliğinin karşılaştırılması için 9 adet çalışma grubu hazırlanmıştır. Her bir grup 3'er kez tekrar edilmiş ve Her gruptaki uygulamaların ardından 24 saat, 48 saat ve 72 saat sonunda gruplar incelenerek değerlendirilmiş ve sonuçları karşılaştırılmıştır.

- Grup 1 (Kontrol grubu): Hücelere herhangi bir uygulama yapılmadı. Hücre kültürü ortamı 24 saat boyunca koşulları içeren flaskta tutulmuştur.
- Grup 2 (0,5 µM DOX grubu)
- Grup 3 (1 µM DOX grubu)
- Grup 4 (He plazma (100 sn ve 300 sn) muamele edilen grup)
- Grup 5 (Ar (100 sn ve 300 sn) plazma muamele edilen grup)
- Grup 6 (0,5 µM DOX + He plazma (100 sn ve 300 sn) muamele edilen grup)
- Grup 7 (0,5 µM DOX + Ar plazma (100 sn ve 300 sn) muamele edilen grup)
- Grup 8 (1 µM DOX + He plazma (100 sn ve 300 sn) muamele edilen grup)
- Grup 9 (1 µM DOX + Ar plazma (100 sn ve 300 sn) muamele edilen grup)

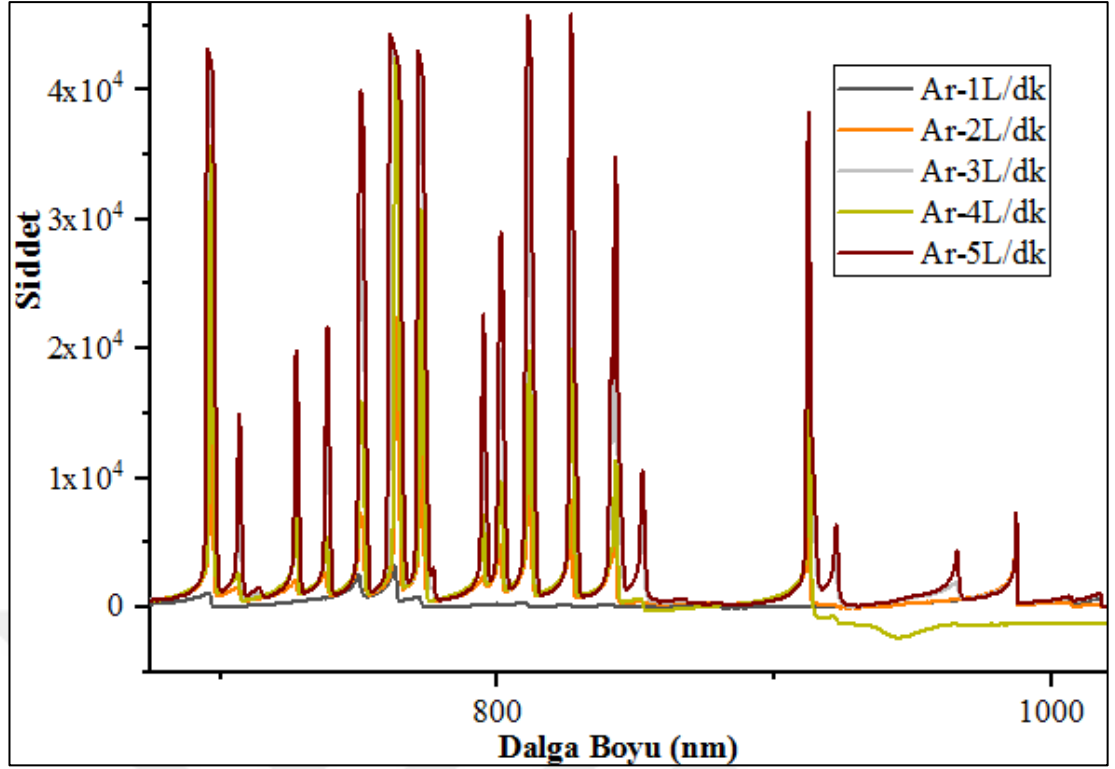
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. 2 mm İç Yarıçapa Sahip Al Bantlı Cam Boru, kHz Voltaj, Ar Gazı APP Bulguları

Şekil 3.19’da yer alan sol taraftaki Al bantlı plazma kalem sisteminde 2 mm iç yarıçapa sahip toplamda 5 mm çapta olan cam boruda 7 kV ayarında voltaj, 50 kHz ayarında frekans parametrelerinden oluşturulan Ar plazma için 1 L/dk dan 5 L/dk ya kadar farklı akış hızlarında ayrı ayrı şekilde ölçülen OES (Optik Emisyon Spektrum)’leri, OriginPro 9.0 programı kullanılarak alınan verilerin çıktıları grafiğe dönüştürülmüştür. Al bantlı cam boruda ve Al bant olmayan cam boruda belirtilen akış hızlarında oluşan plazmaların içerisinde oluşan türler üzerinde meydana getirdiği etkilerin incelenmesi için 1 L/dk dan 5 L/dk ya kadar alınan ölçümlerden ortaya çıkan grafikler üst üste çizilerek dalga boyları ve şiddetlerinde belirgin olarak farklılıklar gözlenmiştir. Ar plazmanın, farklı akış hızlarındaki OES ölçüm grafiklerinin 180-500 nm aralığındaki dalga boyu-şiddet değişim grafiği şekil 4.1’de, 600-1000 nm aralığındaki dalga boyu-şiddet değişim grafiği ise şekil 4.2’de gösterilmiştir.

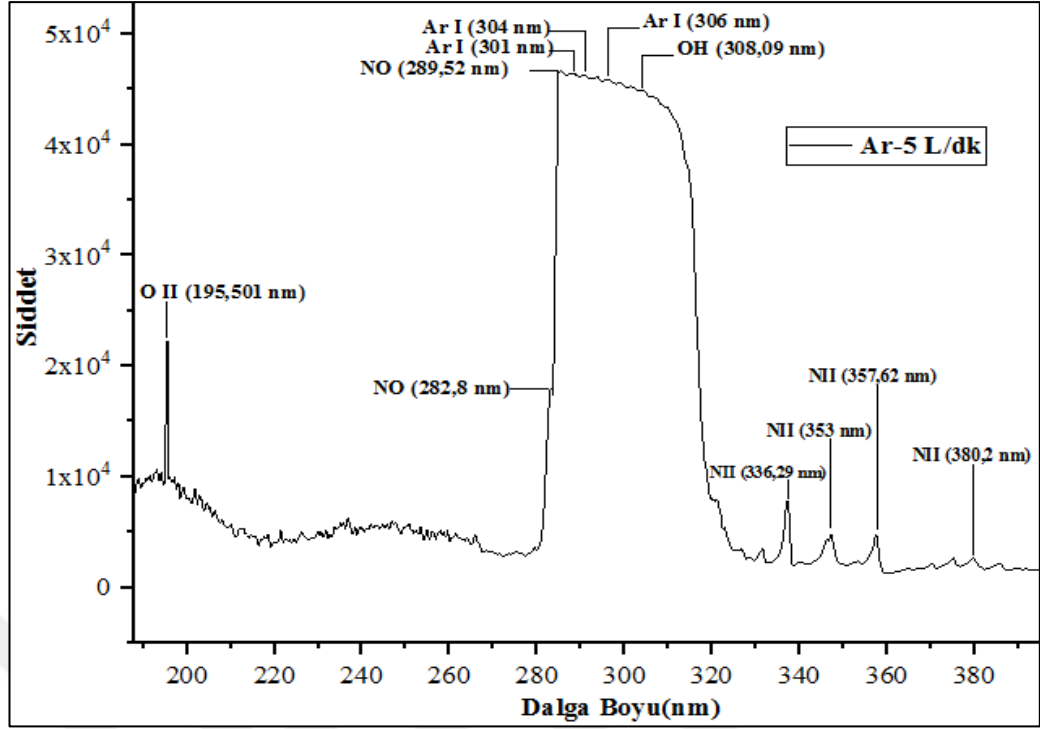


Şekil 4.1. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında Ar gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (180-500 nm aralığı)

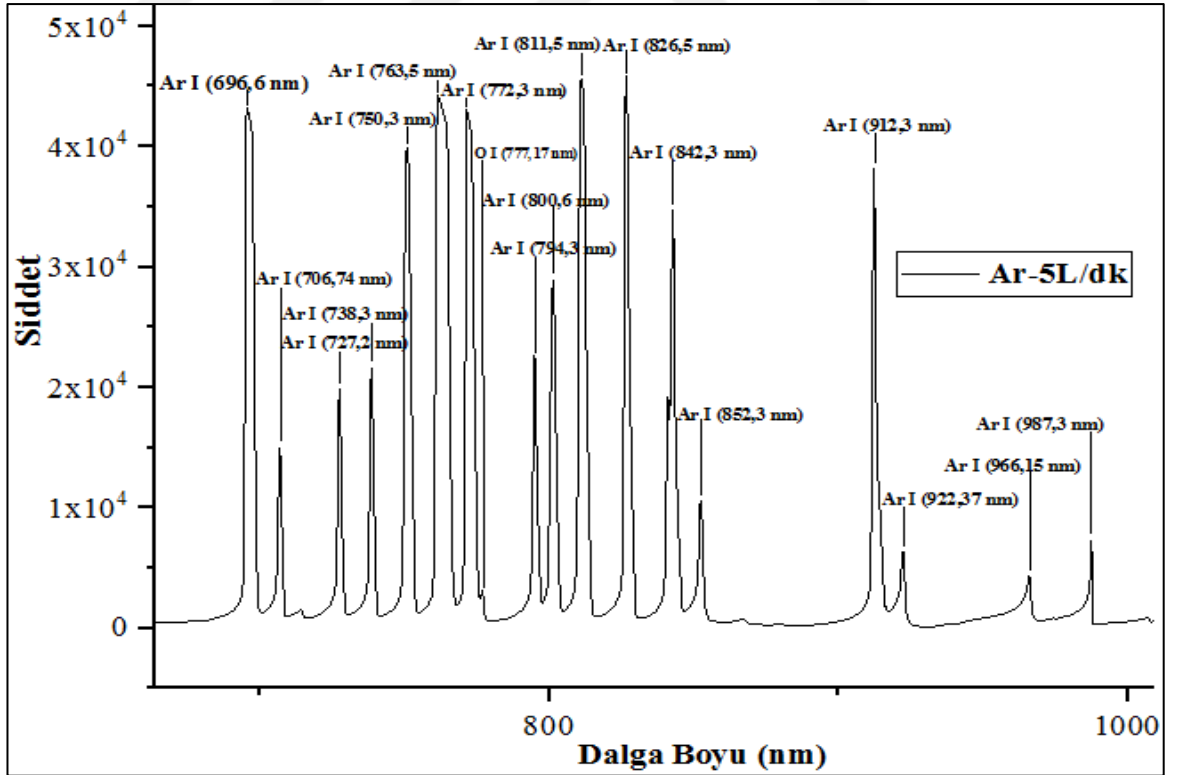


Şekil 4.2. 2 mm iç yarıçapa sahip Al banlı cam boruda farklı akış hızlarında Ar gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (600-1000 nm aralığı)

Genel olarak, farklı akış hızlarında oluşan aynı dalga boyu değerleri incelendiğinde, Ar gazı akış hızı 1 L/dk dan 5 L/dk ya arttıkça aynı dalga boylarında oluşan dalga boyu şiddetlerinin arttığı gözlenmiştir. Özellikle 5 L/dk akış hızındaki dalga boylarındaki şiddetler en yüksek değerlere ulaşmıştır. Hatta 5 L/dk akış hızındaki ölçülen OES grafiğinde en fazla sayıda pik oluşumu gözlenmiştir. Bütün akış hızlarında aynı değerdeki dalga boylarında pik oluşmamış, bazı akış hızlarındaki spektrumda yer alırken, diğer akış hızlarındaki spektrumda aynı dalga boylarındaki pik yok olmuştur. Bazen de sadece belli bir akış hızında oluşan pikler sadece o akış hızında oluşmaya özgü olmuş, diğer akış hızlarında hiç var olmadıkları da gözlenmiştir. Plazma uygulamaları sırasında 5 L/dk gaz akış hızı ayarında elde ettiğimiz Ar plazmanın 190-390 nm aralığındaki ölçümü alınan OES dalga boyu-şiddet değişim grafiği, şekil 4.3'te, 650-1000 nm aralığındaki ölçümü alınan OES dalga boyu-şiddet değişim grafiği ise şekil 4.4'de gösterilmiş ve belirli dalga boylarındaki reaktif türlerin pikleri tespit edilmiştir.



Şekil 4.3. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen Ar plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (190-390 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri



Şekil 4.4. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen Ar plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (650-1000 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri

7 kV voltaj, 50 kHz frekans parametrelerinde ayarlı güç kaynağı kullanılarak oluşturulan Ar plazma jetin 5 L/dk akış hızındaki dalga boylarında tespit edilen reaktif türler çizelge 4.1’de verilmiştir. Dalga boylarına karşılık gelen reaktif türlerin verileri, (NIST ASD, 2019) veri tabanından alınmıştır.

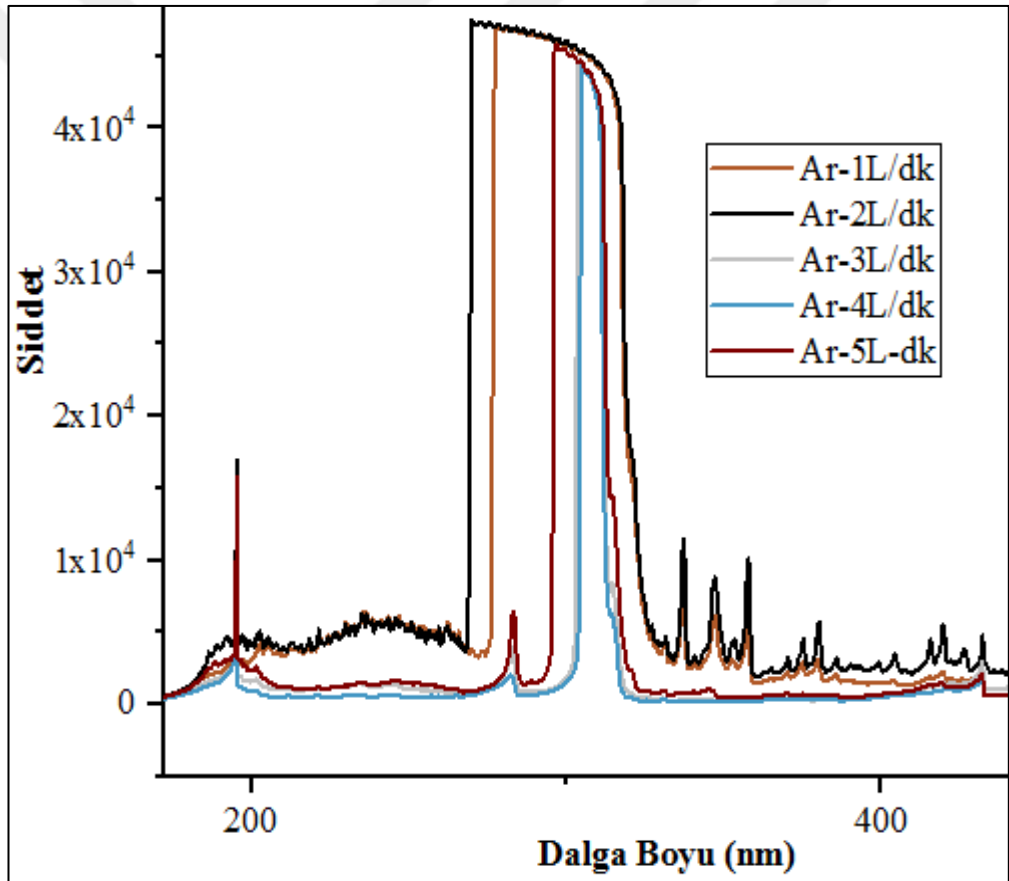
Çizelge 4.1. 2 mm iç çapa sahip Al bantlı cam boruda 5L/dk akış hızında, Ar gazı kullanılarak elde edilen plazmada sırasıyla tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türler

Akış Hızı	Spektrumda oluşan reaktif türler ve dalga boyları (nm)
5 L/dk	195,501 (O II), 282,8 (NO), 289,521 (NO), 301 (Ar II), 304 (Ar II), 306,2 (Ar II), 308,919 (OH), 336,292 (N II), 353 (N II), 357,62 (N II), 380,2 (N II), 696,6 (Ar I), 706,74 (Ar I), 727,2 (Ar I), 738,3 (Ar I), 750,3 (Ar I), 763,5 (Ar I), 772,3 (Ar I), 777,179 (O I), 794,3 (Ar I), 800,6 (Ar I), 811,5 (Ar I), 826,5 (Ar I), 842,3 (Ar I), 852,3 (Ar I), 912,3 (Ar I), 922,37 (Ar I), 966,15 (Ar I), 987,3 (Ar I)

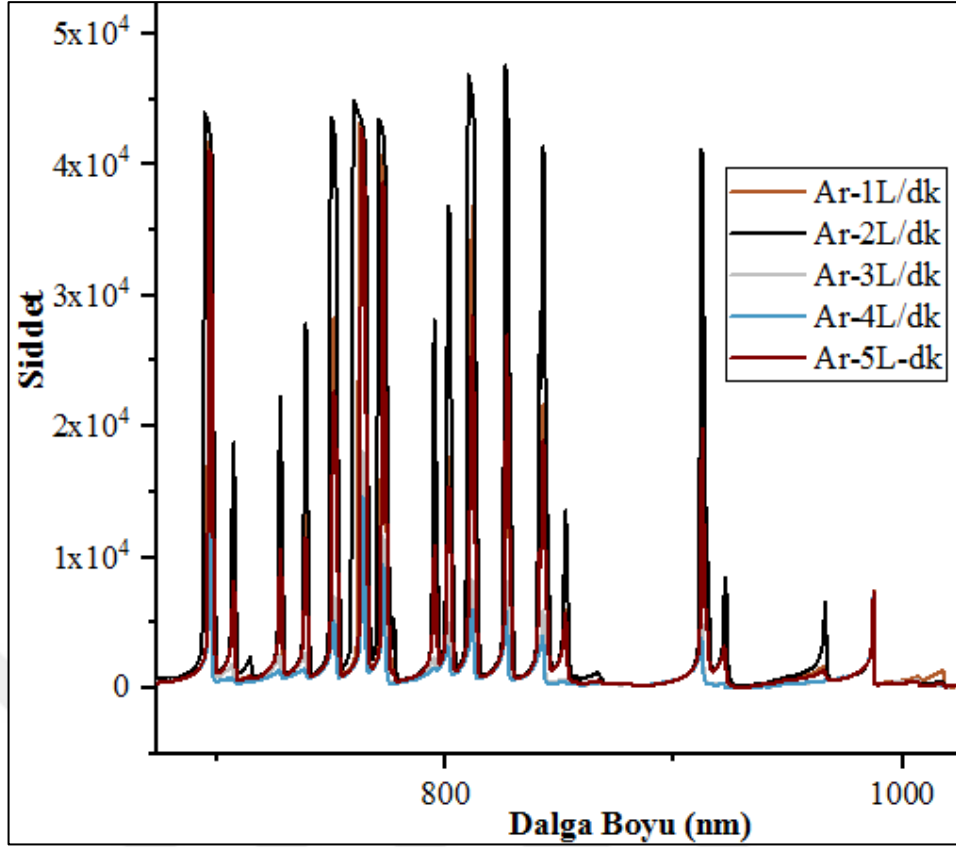
Çizelge 4.1’de (NIST ASD, 2019) veri tabanından alınan verilere göre dalga boylarındaki O II, NO, OH, O I gibi reaktif türlerin 5 L/dk akış hızında en yüksek pik şiddetlerine ulaştıkları gözlenmiştir. 301 nm, 304 nm, 306,2 nm, 738 nm ve 750 nm dalga boylarındaki Ar I piklerinin şiddetleri gaz akışı 1 L/dk dan 5 L/dk ya arttıkça doğrusal olarak artış göstermemiştir. 696,6 nm, 727,2 nm, 763,5 nm, 772,3 nm, 842,3 nm ve 912 nm dalga boylarındaki diğer Ar I piklerinin şiddetleri gaz akışı 1 L/dk dan 5 L/dk ya arttıkça doğrusal olarak artış göstermiştir. Buradan genelleme yapacak olursak 5 L/dk akış hızında en yüksek pik şiddetlerine ulaşıldığı anlaşılmıştır. 195,5 nm (OII), 282,8 nm (NO), 289,5 nm (NO), 308,9 nm (OH) dalga boylarında tespit edilen reaktif türlerin dalga boyu şiddetleri 5L/dk akış hızında elde edilen Ar plazmada en üst şiddetine ulaşmıştır. 336,29 nm, 353 nm, 357 nm, 380 nm dalga boylarındaki NII piki 1 L/dk akış hızında elde edilen plazma OES’inde gözlenmiştir.

4.2. 2 mm İç Yarıçapa Sahip Al Bant Olmayan Cam Boru, kHz Voltaj, Ar Gazı APP Bulguları

Şekil 3.19’da yer alan sağ tarafta gösterilmiş Al bant olmayan plazma kalem sisteminde, belirtilen akış hızlarının değişimiyle her bir plazma içeriğindeki reaktif türler üzerinde meydana getirdiği etkilerin incelenmesi için 1 L/dk’dan 5L/dk’ya kadar OES ölçümleri alınmıştır. Elde edilen veri grafikleri üst üste çizilerek dalga boyları ve dalga boyu şiddetlerinde belirgin farklılıklar gözlenmiştir. Ar plazmanın, farklı akış hızlarındaki OES ölçüm grafiklerinin 190-400 nm aralığındaki dalga boyu-şiddet değişim grafiği şekil 4.5’te, 650-1000 nm aralığındaki dalga boyu-şiddet değişim grafiği ise şekil 4.6’da gösterilmiştir.

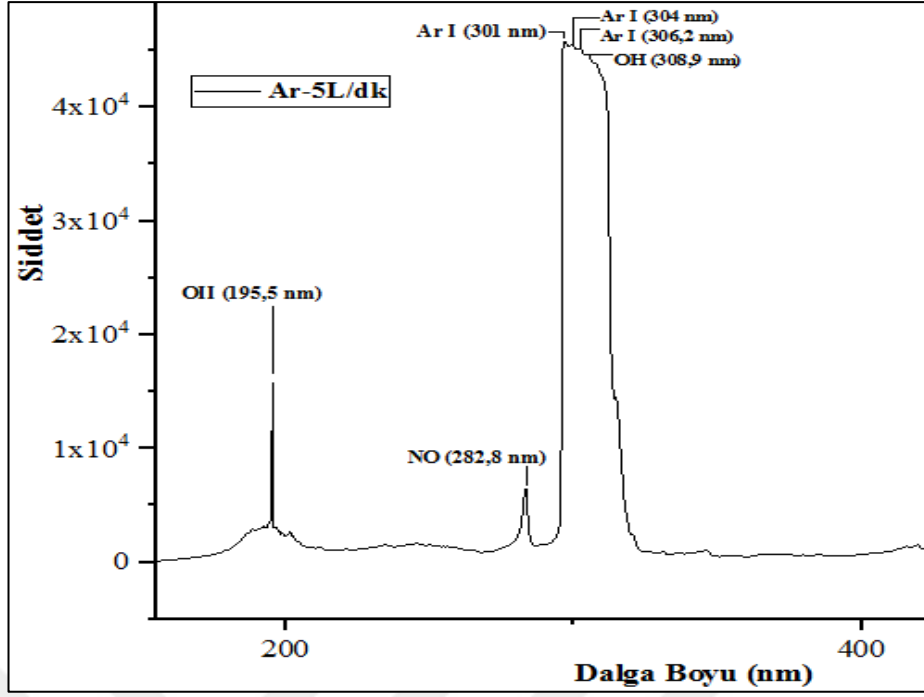


Şekil 4.5. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bant olmayan cam boruda farklı akış hızlarında Ar gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (190-400 nm aralığı)

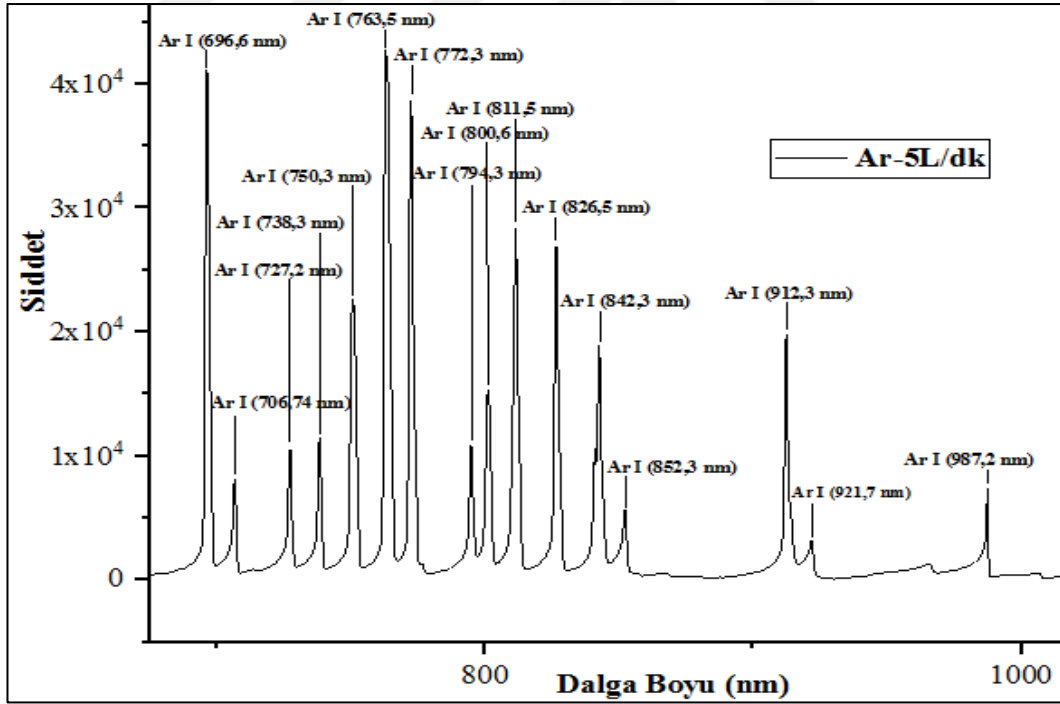


Şekil 4.6. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bant olmayan cam boruda farklı akış hızlarında Ar gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (650-1000 nm aralığı)

Genel olarak bakıldığında, farklı akış hızlarında oluşan aynı dalga boyu değerleri incelendiğinde, Ar gazı akış hızı 1 L/dk dan 5 L/dk ya arttıkça aynı dalga boylarında oluşan dalga boyu şiddetlerinin doğrusal olarak artmadığı gözlenmiştir. Hatta 5 L/dk akış hızındaki ölçülen OES grafiğinde pik oluşumunun azalmaya başladığı gözlenmiştir. Bütün akış hızlarında aynı dalga boyundaki pikler oluşmamış ve piklerin bazı akış hızlarında spektrumda yer alırken, diğer akış hızlarında ise aynı piklerin yok olduğu gözlenmiştir. Bazen de sadece belli bir akış hızında oluşan pikler sadece o akış hızında oluşmaya özgü olmuş, diğer akış hızlarında hiç var olmadıkları da gözlenmiştir. Plazma kalem sisteminde Al bant olmadan 5 L/dk gaz akış hızı ayarında elde ettiğimiz Ar plazmanın 190-400 nm aralığındaki ölçümü alınan OES dalga boyu-şiddet değişim grafiği, şekil 4.7’de, 650-1000 nm aralığındaki ölçümü alınan OES dalga boyu-şiddet değişim grafiği ise şekil 4.8’de gösterilmiş ve belirli dalga boylarındaki reaktif türlerin pikleri tespit edilmiştir.



Şekil 4.7. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı olmayan cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen Ar plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (190-400 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri



Şekil 4.8. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı olmayan cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen Ar plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (650-1000 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri

7 kV voltaj, 50 kHz frekans parametrelerinde ayarlı güç kaynağı ve Al bant olmayan plazma kalem kullanılarak oluşturulan Ar plazma jetin 5 L/dk akış hızındaki dalga

boylarında tespit edilen reaktif türler çizelge 4.2’de verilmiştir. Dalga boylarına karşılık gelen reaktif türlerin verileri, (NIST ASD, 2019) veri tabanından alınmıştır.

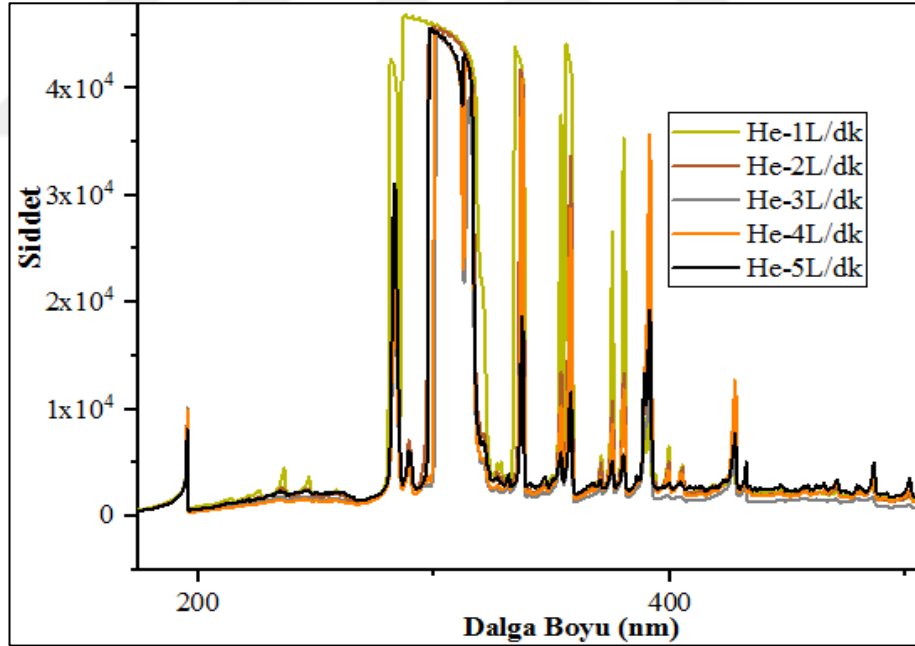
Çizelge 4.2. 2 mm iç çapa sahip Al bant olmayan cam boruda 5L/dk akış hızında, Ar gazı kullanılarak elde edilen plazmada sırasıyla tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türler

Akış Hızı	Spektrumda oluşan reaktif türler ve dalga boyları (nm)
5 L/dk	195,501 (O II), 301 (Ar II), 304 (Ar II), 306,2 (Ar II), 308,919 (OH), 696,6 (Ar I), 706,74 (Ar I), 727,2 (Ar I), 738,3 (Ar I), 750,3 (Ar I), 763,5 (Ar I), 772,3 (Ar I), 794,3 (Ar I), 800,6 (Ar I), 811,5 (Ar I), 826,5 (Ar I), 842,3 (Ar I), 852,3 (Ar I), 912,3 (Ar I), 921,7 (Ar I), 987,3 (Ar I)

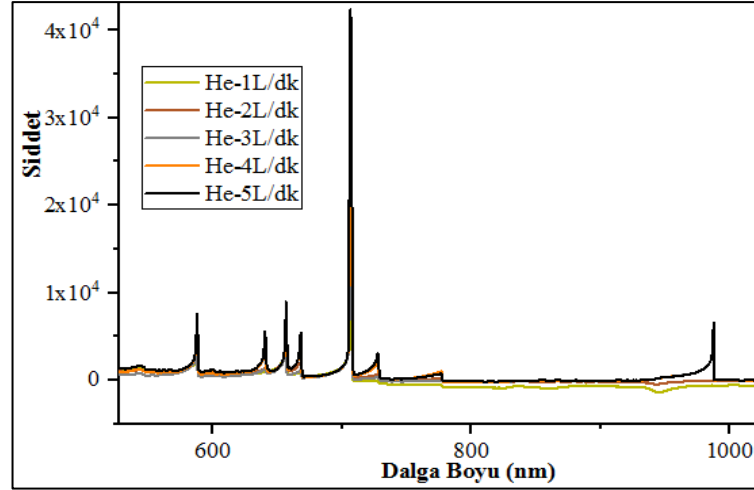
Çizelge 4.2’de (NIST ASD, 2019) veri tabanından alınan verilere göre dalga boylarında tespit edilen reaktif türler akış hızları arttıkça dalga boyu şiddetlerinde meydana getirdiği değişiklikler görülmektedir. Verilerden belirlenen dalga boylarındaki O II, OH gibi reaktif türlerin 2 L/dk akış hızında en yüksek pik şiddetlerine ulaştıkları gözlenmiştir. Diğer dalga boylarında oluşan Ar I piklerinin şiddetleri akış hızına bağlı olarak doğrusal bir artış göstermemiştir. Genel olarak bakıldığında 2 L/dk akış hızındaki plazmanın dalga boyu şiddetlerinin yüksek olduğu görülmüştür. Ancak plazma içeriğinin uygulama ortamına aktarılmasında çıkış uzunluğunun yeterli uzunlukta olması önem arz ettiği için 5L/dk akış hızında elde edilen Ar plazma tercih edilmiştir. Hem Al bantlı cam borudan alınan farklı akış hızları hem de Al bant olmayan cam borudan alınan farklı akış hızlarındaki OES görüntüleri karşılaştırılmıştır. Al bantlı plazma kalem sistemindeki pik şiddetlerinin, Al bant olmayan plazma kalem sistemindeki pik şiddetlerine göre oldukça yüksek olduğu yani Al bant varlığın plazma oluşumunda anlamlı olduğu anlaşılmaktadır. Plazma içeriğinde oluşan reaktif türlerin Al bant varlığında şiddetlerinin yüksek olması sebebiyle plazmanın aktarıldığı ortam üzerinde çok daha etkili olacağını düşündürmektedir. Buradan yola çıkarak sistem üzerinde Al bant varlığın oluşması hem sistemin daha stabil çalışmasını hem de ark geçişlerinin önlenmesi açısından ideal bir sistem olmasını sağlamaktadır. Özellikle plazmadaki reaktif türlerin aktarıldığı sıvı ortam türü olarak kullandığımız distile su, izotonik serum üzerindeki etkilerinin incelenmesi açısından önemli hale gelecektir.

4.3. 2 mm İç Yarıçapa Sahip Al Bantlı Cam Boru, kHz Voltaj, He Gazı APP Bulguları

Şekil 3.20’de sol taraftaki Al bantlı plazma kalem sisteminde 2 mm iç yarıçapa toplamda 5 mm çapta olan cam boruda 7 kV ayarında voltaj, 50 kHz ayarında frekans parametrelerinden oluşturulan He plazma için 1 L/dk dan 5 L/dk ya kadar akış hızlarında ayrı ayrı şekilde OES ile ölçülen spektrumlar, OriginPro 9.0 programı kullanılması sonucunda alınan verilerin çıktılar grafiğe dönüştürülmüştür. Al bantlı cam boruda ve Al bant olmayan cam boruda belirtilen akış hızlarında oluşan plazmaların içerisinde oluşan türler üzerinde meydana getirdiğini etkilerin incelenmesi için 1 L/dk dan 5 L/dk ya kadar alınan ölçümlerden ortaya çıkan grafikler üst üste çizilerek dalga boyları ve şiddetlerinde belirgin olarak farklılıklar gözlenmiştir. He plazmanın, farklı akış hızlarındaki OES ölçüm grafiklerinin 180-500 nm aralığındaki dalga boyu-şiddet değişim grafiği şekil 4.9’da, 600-1000 nm aralığındaki dalga boyu-şiddet değişim grafiği ise şekil 4.10’da gösterilmiştir.

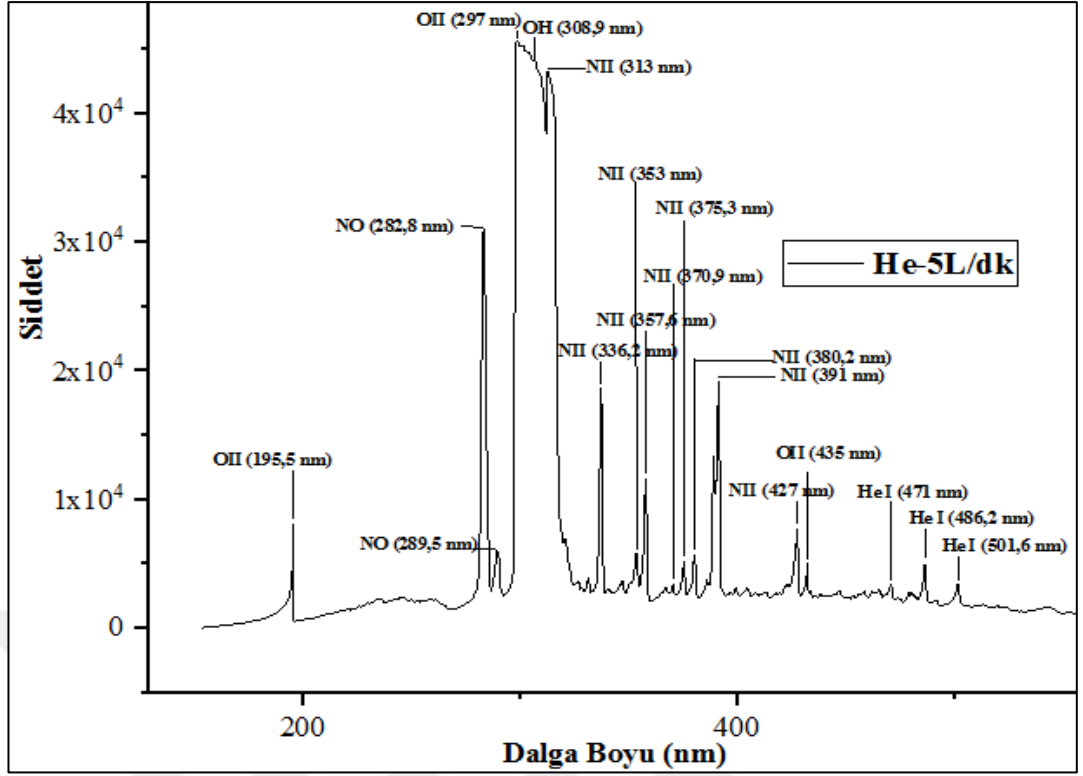


Şekil 4.9. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (180-500 nm aralığı)

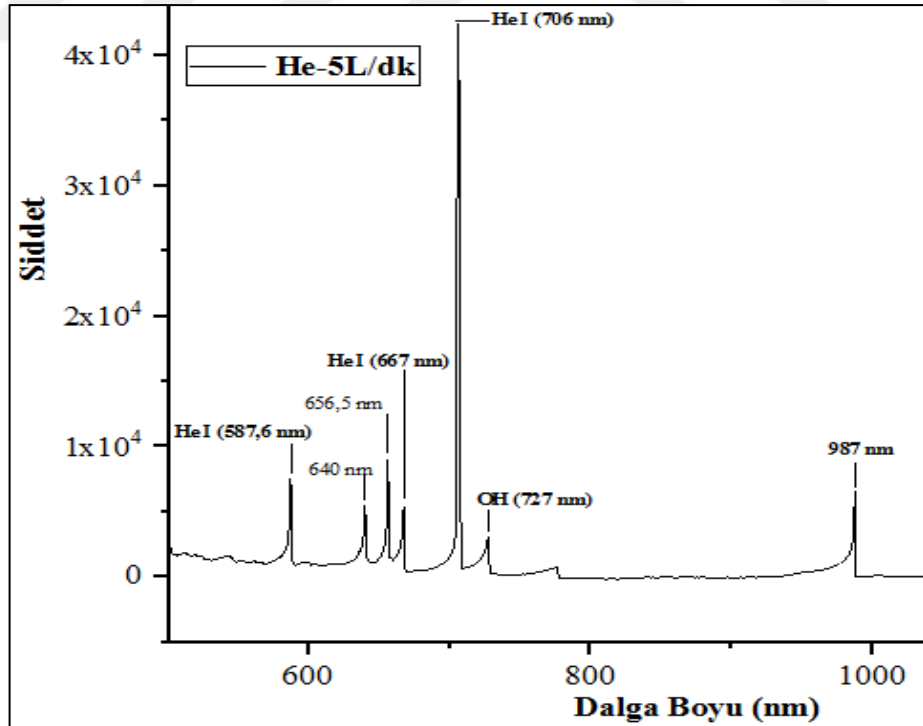


Şekil 4.10. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (550-1000 nm aralığı)

Genel olarak bakıldığında, farklı akış hızlarında oluşan aynı dalga boyu değerleri incelendiğinde, He gazı akış hızı 1 L/dk dan 5 L/dk ya arttıkça aynı dalga boylarında oluşan dalga boyu şiddetlerinin arttığı gözlenmiştir. Bu artışlar her dalga boyu için doğrusal anlamda artmakla birlikte bazı dalga boylarında şiddetlerin ortaya çıkmadığı da gözlemlenmiştir. Bütün akış hızlarında aynı dalga boyundaki pikler oluşmamış bazı akış hızlarında spektrumda yer alırken bazı akış hızlarında aynı pikler yok olmuşlardır. Bazen de sadece belli bir akış hızında oluşan pikler sadece o akış hızında oluşmaya özgü olmuş, diğer akış hızlarında hiç var olmadıkları da gözlenmiştir. Plazma akış hızı arttıkça dikkat edilmesi gereken husus sadece plazma dalga boylarında oluşan yüksek şiddetler değil aynı zamanda plazma jetin ortama ulaşarak ortam içerisine etki edecek uzunluğa ulaşması açısından önem arz ettiği ancak böylelikle plazma içeriğinin etkinliğini göstereceği anlamına gelmektedir. 190 nm-500 nm aralığında tespit edilen türlerin şiddetleri özellikle 1 L/dk akış hızında en yüksek olarak ölçülmesine rağmen akış hızları içerisinde yeterli çıkış uzunluğuna ulaşan plazma 5 L/dk akış hızında tercih edilmiştir. He plazmanın 190-500 nm aralığındaki ölçümü alınan OES dalga boyu-şiddet değişim grafiği, şekil 4.11’de, 550-1000 nm aralığındaki ölçümü alınan OES dalga boyu-şiddet değişim grafiği ise şekil 4.12’de gösterilmiş ve belirli dalga boylarındaki reaktif türlerin pikleri tespit edilmiştir.



Şekil 4.11. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen He plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (190-500 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri



Şekil 4.12. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen He plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (500-1000 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri

7 kV voltaj, 50 kHz frekans parametrelerinde ayarlı güç kaynağı ve Al bantlı plazma kalem kullanılarak oluşturulan He plazma jetin 5 L/dk akış hızındaki dalga boylarında tespit edilen reaktif türler çizelge 4.3’de verilmiştir. Dalga boylarına karşılık gelen reaktif türlerin verileri, (NIST ASD, 2019) veri tabanından alınmıştır.

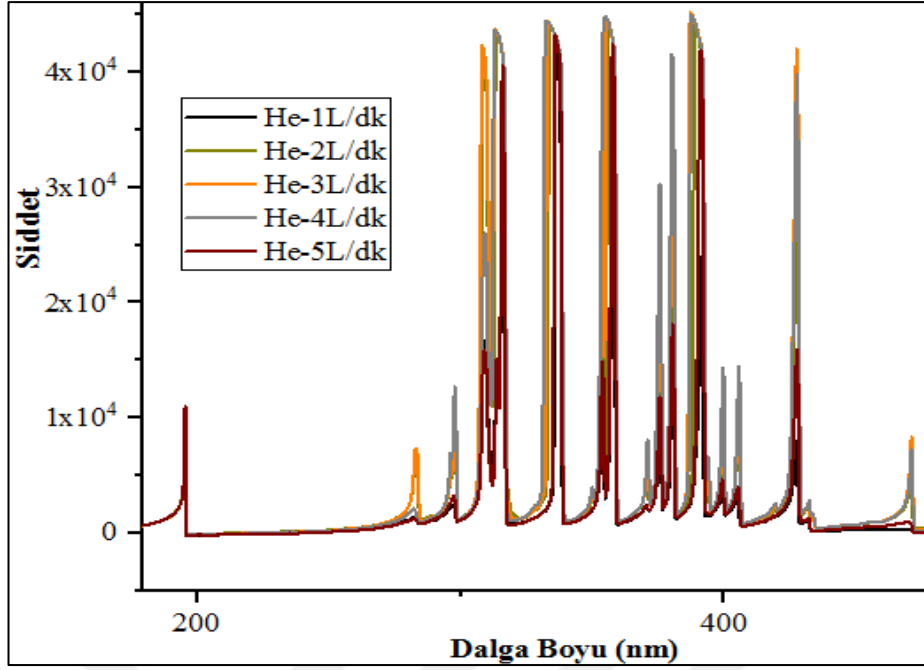
Çizelge 4.3. 2 mm iç çapa sahip Al bantlı cam boruda 5L/dk akış hızında, He gazı kullanılarak elde edilen plazmada sırasıyla tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türler

Akış Hızı	Spektrumda oluşan reaktif türler ve dalga boyları (nm)
5 L/dk	195,5 (O II), 282,8 (NO), 297 (O II), 308,9 (OH), 313 (N II), 336,2 (N II), 353 (N II), 357,6 (N II), 370,9 (N II), 375,3 (N II), 380,2 (N II), 391 (N II), 427 (N II), 435 (O II), 471 (He I), 486,2 (He I), 501,6 (He I), 587,6 (He I), 667 (He I), 706 (He I), 727 (OH)

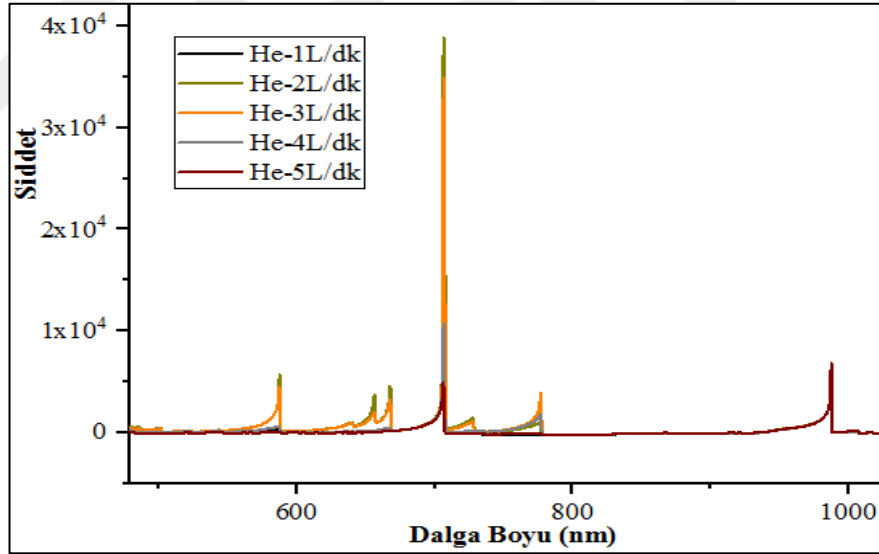
Çizelge 4.3’te (NIST ASD, 2019) veri tabanından alınan verilere göre dalga boylarındaki O II, NO, NII, OH gibi reaktif türlerin 1 L/dk akış hızında en yüksek pik şiddetlerine ulaştıkları gözlenmiştir. He I piklerinin en yüksek pik şiddetlerine ulaştığı akış hızı 5 L/dk olarak gözlemlenmiştir. Farklı akış hızlarında çalıştırılan plazma kalem sisteminde içeriğin aktarılmasında ayrıca da çıkan plazma jetin daha parlak ve kalın çapta çıkışının olması plazmanın uygulama alanını genişletmektedir. Anlamli olan plazma jetin 5 L/dk akış hızındaki He plazma olduğu belirtilmiştir.

4.4. 2 mm İç Yarıçapa Sahip Al Bant Olmayan Cam Boru, kHz Voltaj, He Gazı APP Bulguları

Al bant olmayan plazma kalem sistemi, şekil 3.20’nin sağ tarafında gösterilmiştir. Al bant olmayan plazma kalem sisteminde akış hızlarının değişimiyle her bir plazma içeriğindeki reaktif türler üzerinde meydana getirdiği etkilerin incelenmesi için 1 L/dk’dan 5 L/dk’ya kadar OES ölçümleri alınmıştır. Elde edilen veri grafikleri üst üste çizilerek dalga boyları ve dalga boyu şiddetlerinde belirgin farklılıklar gözlenmiştir. He plazmanın, farklı akış hızlarındaki OES ölçüm grafiklerinin 190-500 nm aralığındaki dalga boyu-şiddet değişim grafiği şekil 4.13’te, 550-1000 nm aralığındaki dalga boyu-şiddet değişim grafiği ise şekil 4.14’de gösterilmiştir.



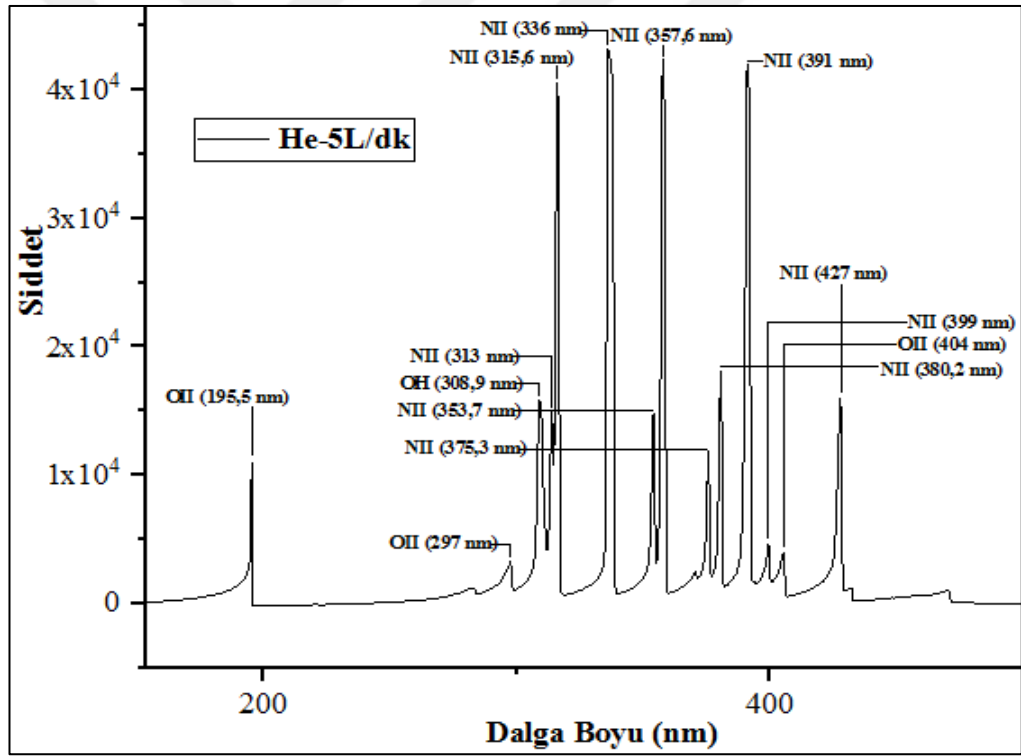
Şekil 4.13. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bant olmayan cam boruda farklı akış hızlarında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (190-500 nm aralığı)



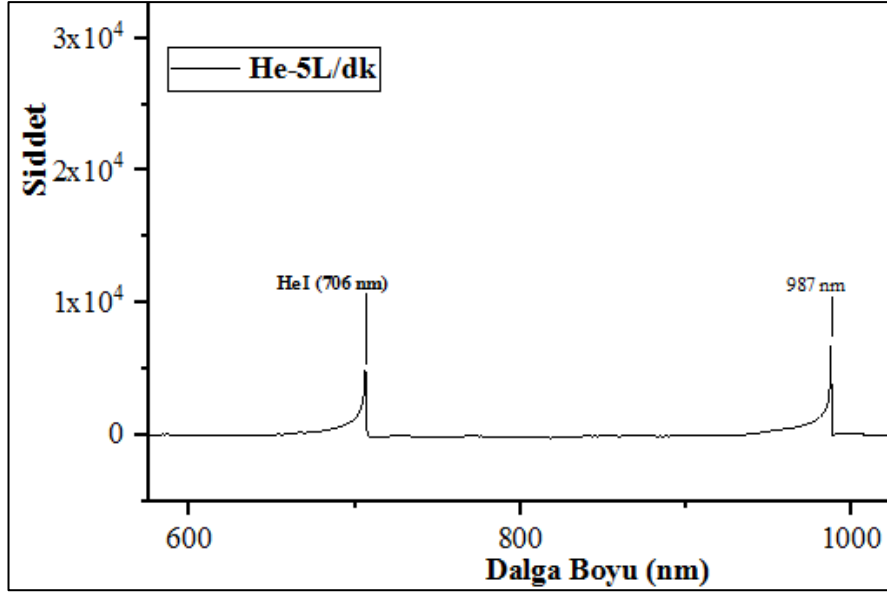
Şekil 4.14. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bant olmayan cam boruda farklı akış hızlarında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (550-1000 nm aralığı)

Farklı akış hızlarındaki dalga boyu şiddetlerinde değişiklikler meydana geldiği ve bazı dalga boylarında ortaya çıkan piklerin bazı akış hızlarında kayboldukları gözlemlenmiştir. Ancak Al bantsız olarak oluşan He plazma kalem sistemindeki oluşan dalga boyları sayısı azalış göstermektedir. Elde edilen veriler, Al bantlı cam

borudaki plazma spektrumunun daha fazla dalga boyunda pik oluşumu ve borudaki al bant varlığının plazma içeriğinde oluşan reaktif türün dalga boyunda ulaştığı şiddet miktarını güçlendirdiğini düşündürmektedir. Genelleme yapacak olursak plazma kalem sisteminde elektrot bağlantılarının yapıldığı kısımlarda Al bant bağlantısının yapılması hem alınan ölçümlerde daha anlamlı şiddetlere ulaşan dalga boylarının oluşumunda etkili olduğunu hem de sistem üzerinde elektrot bağlantıları arasında birbirlerini etkileyen ve ölçüm hatalarına neden olan ark geçişlerinin kontrollü olarak önlenmesinde etkili olduğu gözlenmiştir. 5L/dk akış hızındaki He plazmanın 190-500 nm aralığındaki ölçümü alınan OES dalga boyu-şiddet değişim grafiği, şekil 4.15'te, 600-1000 nm aralığındaki ölçümü alınan OES dalga boyu-şiddet değişim grafiği ise şekil 4.16'da gösterilmiş ve belirli dalga boylarındaki reaktif türlerin pikleri tespit edilmiştir.



Şekil 4.15. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bant olmayan cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen He plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (190-500 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri



Şekil 4.16. 2 mm iç yarıçapa sahip Al bant olmayan cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen He plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (600-1000 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri

Çizelge 4.4'te 7 kV voltaj, 50 kHz frekans parametrelerinde ayarlı güç kaynağı ve Al bant olmayan plazma kalem kullanılarak oluşturulan He plazma jetin 5 L/dk akış hızında tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türlerin şiddetleri gösterilmiştir. Dalga boylarına karşılık gelen reaktif türlerin verileri, (NIST ASD, 2019) veri tabanından alınmıştır.

Çizelge 4.4. 2 mm iç çapa sahip Al bant olmayan cam boruda 5 L/dk akış hızında, He gazı kullanılarak elde edilen plazmada sırasıyla tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türler

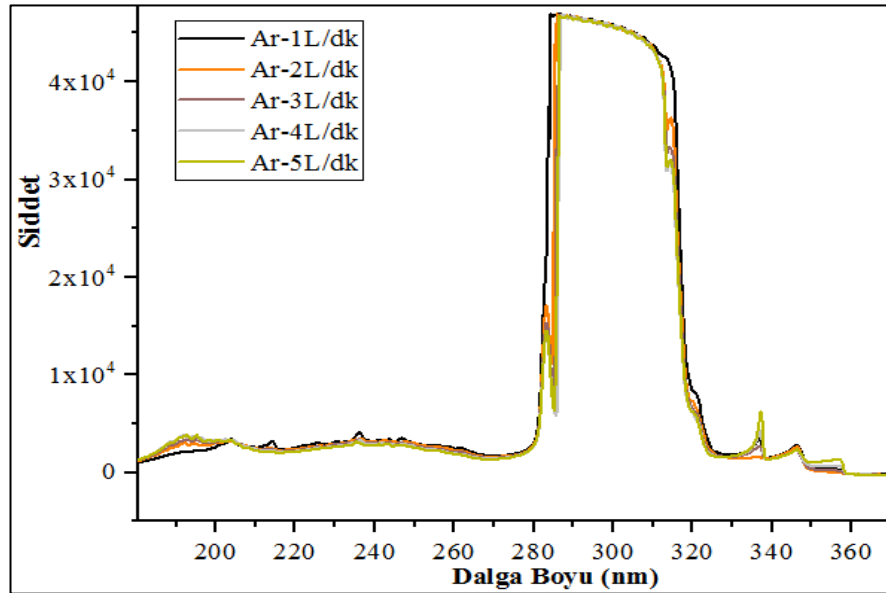
Akış Hızı	Spektrumda oluşan reaktif türler ve dalga boyları (nm)
5 L/dk	195,501 (O II), 297 (O II), 308,9 (OH), 313 (N II), 315,6 (N II), 353,7 (N II), 357,6 (N II), 375,3 (N II), 380,2 (N II), 399 (N II), 404 (O II), 706 (He I)

Çizelge 4.4'te (NIST ASD, 2019) veri tabanından alınan verilere göre dalga boylarındaki O II, NO, NII, OH gibi reaktif türlerin tespit edildiği 190-500 nm arasında genel olarak bakıldığında 5 L/dk akış hızında en yüksek pik şiddetlerine ulaştıkları gözlenmiştir. 706 nm'de tespit edilen He I piki 2 L/dk akış hızında iken yüksek pik şiddetlerine ulaşmasına rağmen içeriğin aktarılması ve uygulama alanının

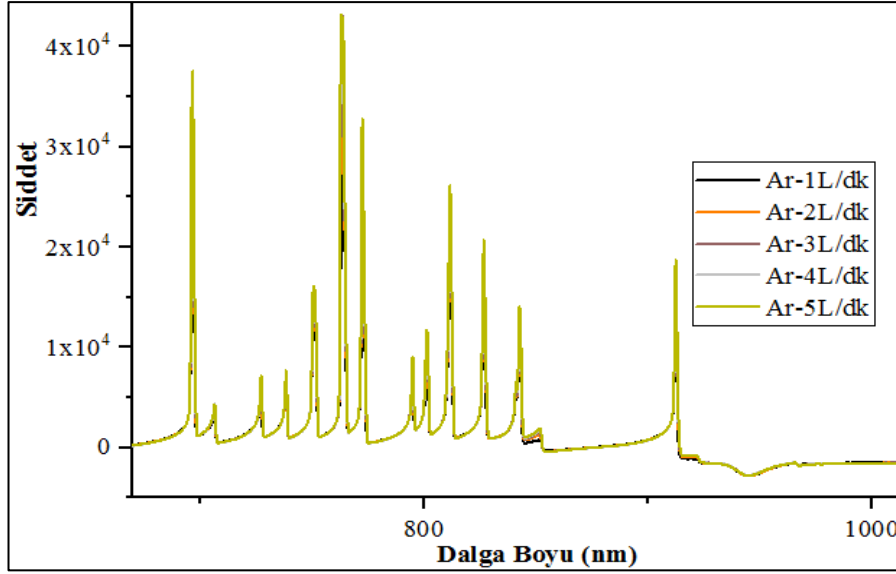
genişlemesine bağlı olarak akış hızı 5 L/dk olarak tercih edilmiştir. Anlamli olan plazma jetin 5 L/dk akış hızındaki He plazma olduğu düşünölmüştür.

4.5. 3 mm İç Yarıçapa Sahip Al Bantlı Cam Boru, kHz Voltaj, Ar Gazı APP Bulguları

Şekil 3.22’de gösterilen Al bantlı plazma kalem sisteminde 3 mm iç yarıçapa toplamda 7 mm çapta olan cam boruda 6 kV ayarında voltaj, 4 kHz ayarında frekans parametrelerinden oluşturulan Ar plazma için 1 L/dk dan 5 L/dk ya kadar akış hızlarında ayrı ayrı şekilde OES ile ölçölen spektrumlar, OriginPro 9.0 programı kullanılması sonucunda alınan verilerin ıktıları grafiğe dönüştürölmüştür. Al bantlı cam boruda belirtilen akış hızlarında oluşun plazmaların içerisinde oluşun türler üzerinde meydana getirdiğini etkilerin incelenmesi için 1 L/dk dan 5 L/dk ya kadar alınan ölçömlerden ortaya çıkan grafikler üst üste çizilerek dalga boyları ve şiddetlerinde belirgin olarak farklılıklar gözlenmiştir. Ar plazmanın, farklı akış hızlarındaki OES ölçüm grafiklerinin 190-360 nm aralığındaki dalga boyu-şiddet değişim grafiği şekil 4.17’de, 680-1000 nm aralığındaki dalga boyu-şiddet değişim grafiği şekil 4.18’de gösterilmiştir.

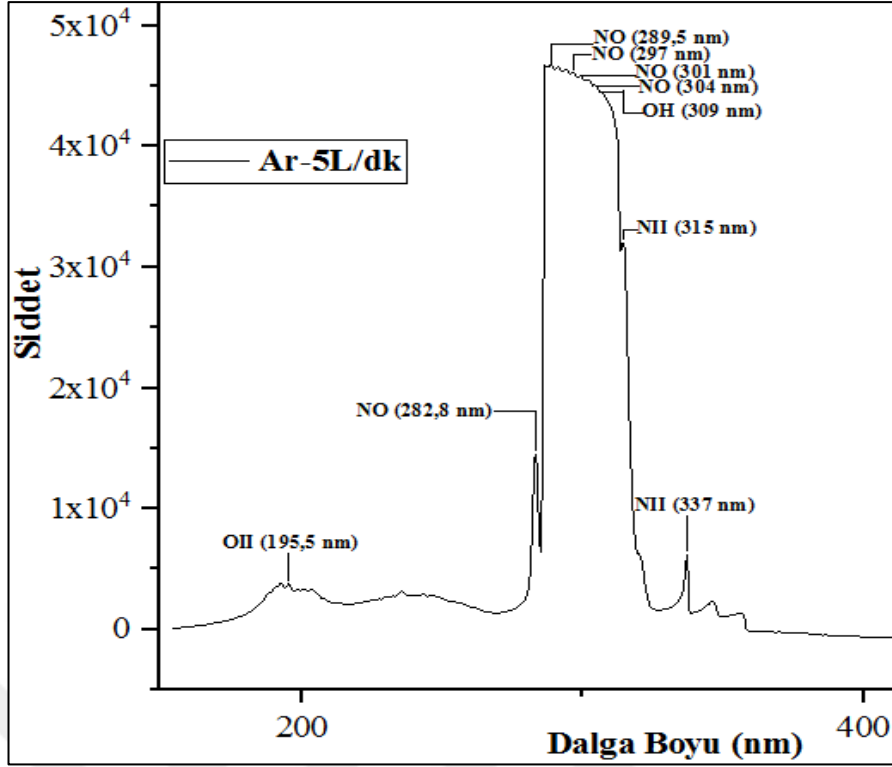


Şekil 4.17. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında Ar gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (190-360 nm aralığı)

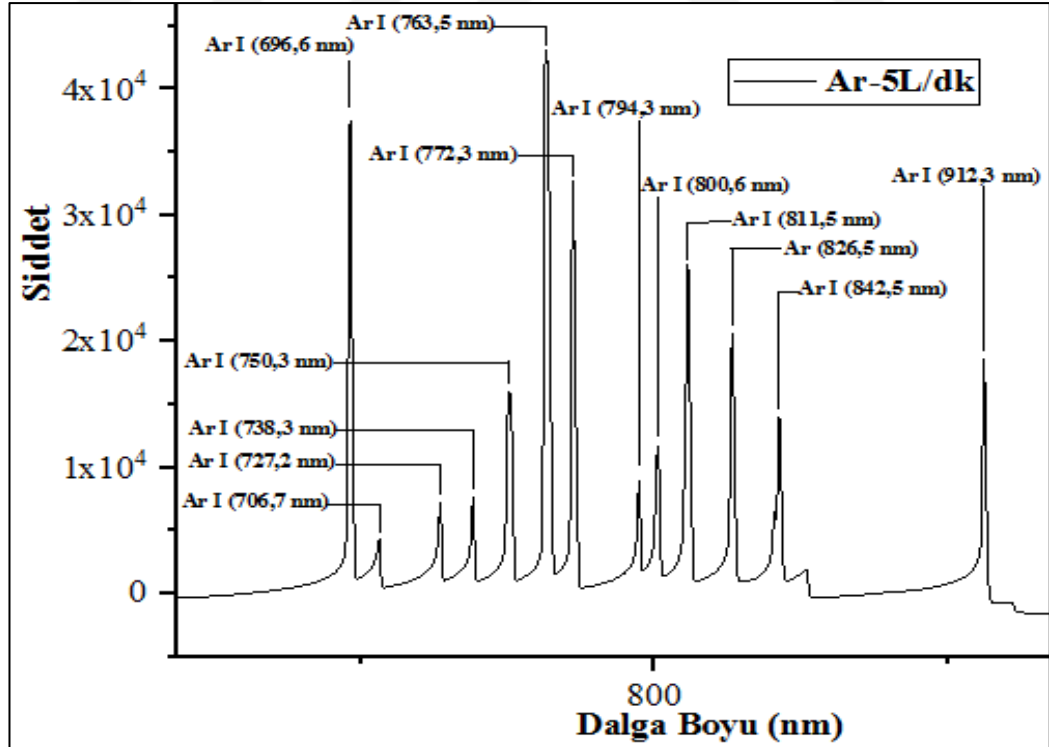


Şekil 4.18. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında Ar gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (680-1000 nm aralığı)

3 mm iç yarıçapa sahip olan cam boruda özellikle Al bantlı olarak çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu plazma kalem sistemi için farklı voltaj ve farklı frekanslarda kullanılan farklı bir güç kaynağı bağlantısında, kalem içerisine gönderilen gaz çeşidi ile oluşturulan plazmanın OES’da ölçülen dalga boylarındaki şiddetlerde ve plazma içeriğinde oluşturduğu reaktif türler üzerindeki etkilerin meydana getirdiği değişiklikler gözlemlenmiştir. 7 kV voltaj, 50 kHz frekans ayarlamalarında Al bant varlığı, hem sistem üzerinde ark geçişlerine engel olarak sistemin stabil çalışmasını sağlamakta hem de dalga boylarında meydana gelen reaktif türlerinin pik şiddetlerinin daha güçlü olarak spektrumda var olmasına neden olduğunu gözlemledik. Ayrıca plazma kalemden çıkan plazma jetin içeriğinin ortama aktarılmasının önem arz etmesinden dolayı plazma kalemden çıkan plazma jetin uzunluğunun yeterli olması da gerekmektedir. Plazma kalem üzerinde Al bant varlığında oluşan plazma jetin hem daha parlak olmasında hem de yeterli olabilecek uzunluğa erişmesinde etkili olduğunu tespit ettik. Plazma uygulamaları sırasında 5 L/dk gaz akış hızı ayarında elde ettiğimiz Ar plazmanın 190-400 nm aralığındaki ölçümü alınan OES dalga boyu-şiddet değişim grafiği, şekil 4.19’da, 650-950 nm aralığındaki ölçümü alınan OES dalga boyu-şiddet değişim grafiği ise şekil 4.20’de gösterilmiş ve belirli dalga boylarındaki reaktif türlerin pikleri tespit edilmiştir.



Şekil 4.19. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen Ar plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (190-400 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri



Şekil 4.20. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk gaz akış hızında elde edilen Ar plazmanın dalga boyu-şiddet değişim grafiği (650-950 nm aralığı) ve belirli dalga boylarındaki tespit edilen reaktif tür pikleri

Çizelge 4.5'te 6 kV voltaj, 4 kHz frekans parametrelerinde ayarlı güç kaynağı ve Al bantlı plazma kalem kullanılarak oluşturulan Ar plazma jetin 5 L/dk akış hızında tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türlerin şiddetleri gösterilmiştir. Dalga boylarına karşılık gelen reaktif türlerin verileri, (NIST ASD, 2019) veri tabanından alınmıştır.

Çizelge 4.5. 3 mm iç çapa sahip Al bantlı cam boruda 5L/dk akış hızında, Ar gazı kullanılarak elde edilen plazmada sırasıyla tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türler

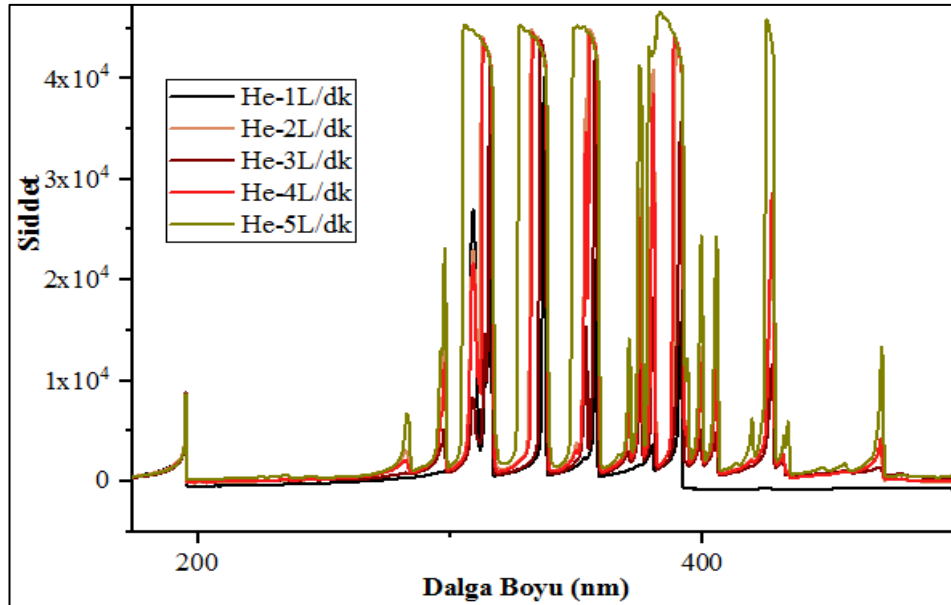
Akış Hızı	Spektrumda oluşan reaktif türler ve dalga boyları (nm)
5 L/dk	195,5 (O II), 282,8 (NO), 289,5 (NO), 297 (NO), 301 (Ar II), 304 (Ar II), 309 (OH), 315 (NII), 337 (N II), 696,6 (Ar I), 706,7 (Ar I), 727,2 (Ar I), 738,3 (Ar I), 750,3 (Ar I), 763,5 (Ar I), 772,3 (Ar I), 794,3 (Ar I), 800,6 (Ar I), 811,5 (Ar I), 826,5 (Ar I), 842,3 (Ar I), 912,3 (Ar I)

Genel olarak bakıldığında, farklı akış hızlarında oluşan aynı dalga boyu değerleri incelendiğinde, Ar gazı akış hızı 1 L/dk dan 5 L/dk ya arttıkça aynı dalga boylarında oluşan dalga boyu şiddetlerinin birbirlerine yakın değerlerde oldukları gözlenmiştir. Özellikle genel olarak 5 L/dk akış hızındaki dalga boylarındaki şiddetlere yakın olan değerler bazı akış hızlarında ortaya çıkmışlardır. Ancak 5 L/dk akış hızındaki ölçülen plazma jet uzunluğu 3 cm uzunluğa kadar ulaşmış olması plazma içeriğinin izotonik serum, distile su gibi sıvı ortamları üzerine etkisinin geçmesi açısından önemli hale gelmiştir. 1 L/dk dan 5 L/dk ya ulaşan akış hızları sırasıyla incelendiğinde, dalga boylarındaki oluşan türlerin akış hızının değişimiyle bazı akış hızlarında fazla sayıda pik oluşabilirken bazı akış hızlarında belirlenen dalga boylarındaki piklerin yok olduğunu 7 kV voltaj, 50 kHz frekans parametrelerinde çalışan güç kaynağı çalışmasında gözlemledik. Burada kullandığımız 6 kV voltaj, 4 kHz frekans parametrelerinde çalışan farklı güç kaynağı ile denendiği zaman akış hızı değiştikçe oluşan dalga boyları ve şiddet değerlerinin akış hızlarında çoğunlukla değişmediğini gözlemledik. Bu da bize plazma içeriğinde ortaya çıkan reaktif türlerin ortamdan yok olmadan var olmaya devam ettiğini, plazma içeriğinin korunduğu ve plazma şiddetlerinin 5 L/dk da arttığını göstermiştir. 6 kV voltaj, 4 kHz frekans ayarlamalarında diğer güç kaynağında çalıştırılan plazma kalem sisteminde gözlenen

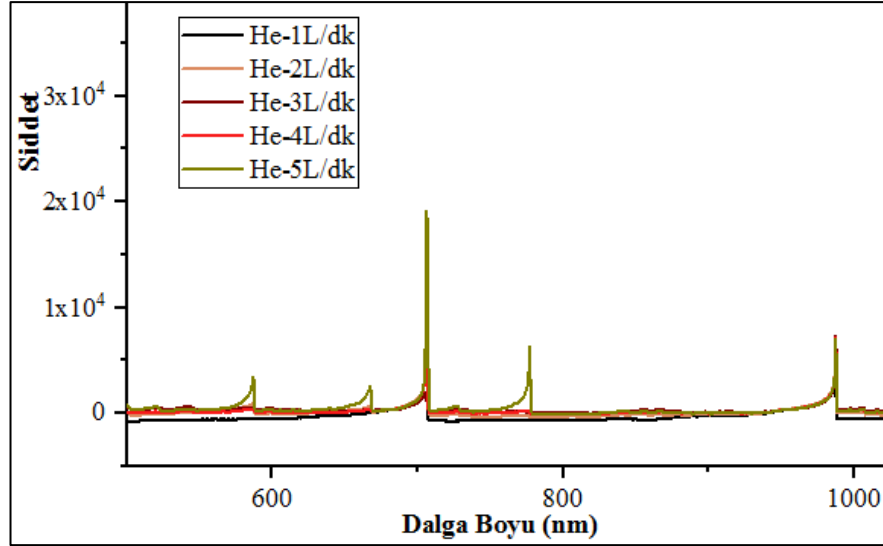
OES dalga boyu-şiddet karşılaştırmalarına göre oluşturulan plazma içeriğinin reaktif bakımından etkinliğini daha fazla koruduğunu düşündürmektedir.

4.6. 3 mm İç yarıçapa Sahip Al Bantlı Cam Boru, kHz Voltaj, He Gazı APP Bulguları

Şekil 3.23'te gösterilen Al plazma kalem sisteminde 3 mm iç yarıçapa sahip toplamda 7 mm çapta olan cam boruda 6 kV ayarında voltaj, 4 kHz ayarında frekans parametrelerinden oluşturulan He plazma için 1 L/dk dan 5 L/dk ya kadar akış hızlarında ayrı ayrı şekilde OES ile ölçülen spektrumlar, OriginPro 9.0 programı kullanılması sonucunda alınan verilerin çıktıları grafiğe dönüştürülmüştür. Al bantlı cam boruda belirtilen akış hızlarında oluşan plazmaların içerisinde oluşan türler üzerinde meydana getirdiği etkilerin incelenmesi için 1 L/dk dan 5 L/dk ya kadar alınan ölçümlerden ortaya çıkan grafikler üst üste çizilerek dalga boyları ve şiddetlerinde belirgin olarak farklılıklar gözlenmiştir. He plazmanın, farklı akış hızlarındaki OES ölçüm grafiklerinin 190-500 nm aralığındaki dalga boyu-şiddet değişim grafiği şekil 4.21'de, 680-1000 nm aralığındaki dalga boyu-şiddet değişim grafiği ise şekil 4.22'de gösterilmiştir.

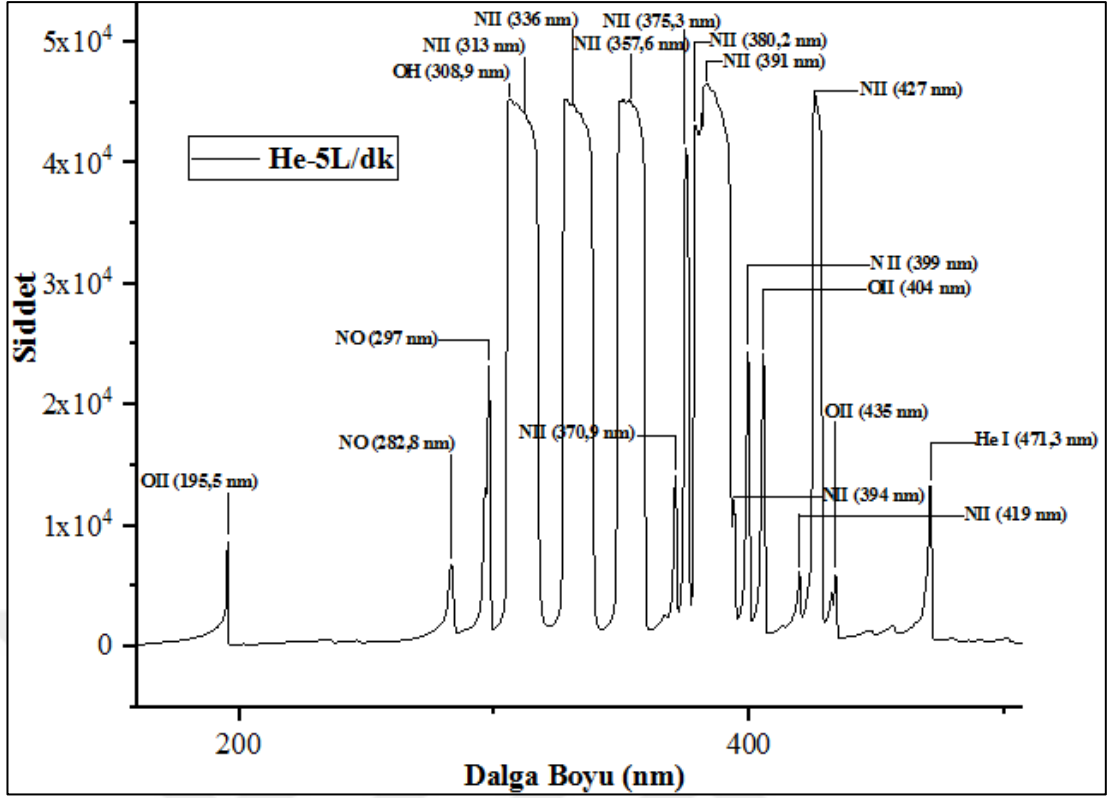


Şekil 4.21. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (190-500 nm aralığı)

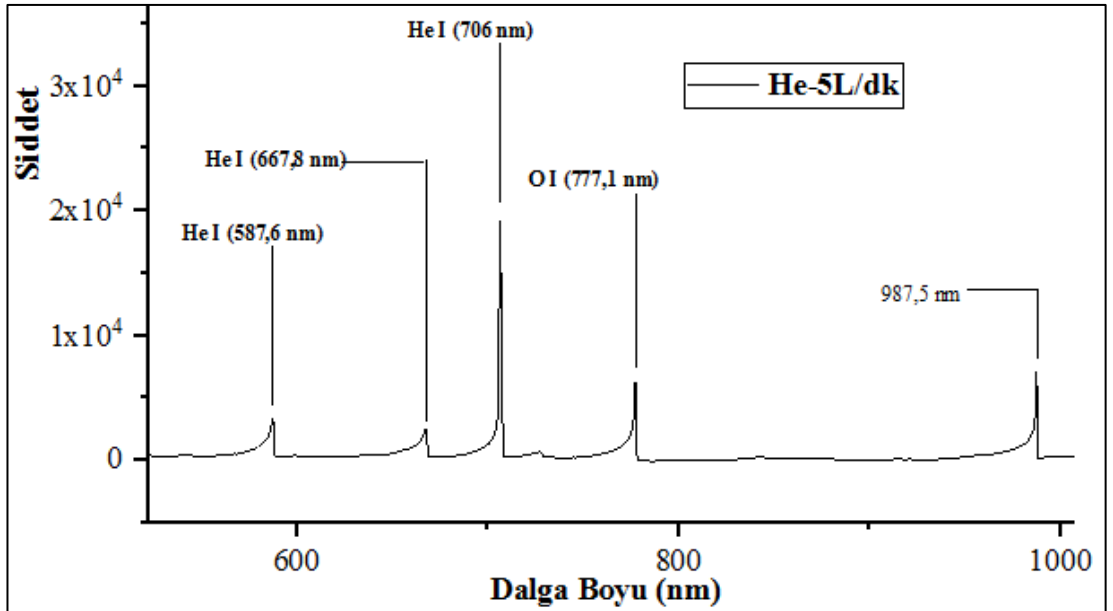


Şekil 4.22. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda farklı akış hızlarında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (500-1000 nm aralığı)

3 mm iç yarıçapa sahip olan cam boruda özellikle Al bantlı olarak çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu plazma kalem sistemi için farklı voltaj ve farklı frekanslarda kullanılan farklı bir güç kaynağı bağlantısında, kalem içerisine gönderilen gaz çeşidi ile oluşturulan plazmanın OES’da ölçülen dalga boylarındaki şiddetlerde ve plazma içeriğinde oluşturduğu reaktif türler üzerindeki etkilerin meydana getirdiği değişiklikler gözlemlenmiştir. 7 kV voltaj ve 50 kHz frekans parametrelerinde ayarlanmış farklı güç kaynağı ile çalıştırılan plazma kalemden alınan önceki ölçüm verileri ile karşılaştırıldığında oluşan dalga boyu sayısının daha fazla olduğu görülmüştür. Yani bu durum dalga boylarında pik sayısı arttıkça o piklerde oluşan reaktif türlerin daha fazla olacağını düşündürmektedir ancak reaktif tür miktarı fazla olsa dahi plazma içeriğinin ortama aktarılması açısından plazma jet uzunluğunun yeterli uzunlukta olması gerekmektedir. 7 kV voltaj, 50 kHz frekans ayarlarındaki güç kaynağı etkisinde oluşan plazma jetin 5 cm uzunluğa eriştiği gözlenirken 6 kV voltaj, 4 kHz frekans ayarlarında olan diğer güç kaynağı etkisinde oluşan plazma jetin ise 3 cm uzunluğa erişebildiği gözlemlenmiştir. 5L/dk akış hızındaki He plazmanın 190-500 nm aralığındaki ölçümü alınan OES dalga boyu-şiddet değişim grafiği, şekil 4.23’te, 600-1000 nm aralığındaki ölçümü alınan OES dalga boyu-şiddet değişim grafiği ise şekil 4.24’te gösterilmiş ve belirli dalga boylarındaki reaktif türlerin pikleri tespit edilmiştir.



Şekil 4.23. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk akış hızında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (190-500 nm aralığı)



Şekil 4.24. 3 mm iç yarıçapa sahip Al bantlı cam boruda 5 L/dk akış hızında He gazı kullanılarak üretilen plazmalarda ortaya çıkan dalga boylarının akış hızlarındaki değişimlere bağlı olarak şiddet değişim grafiği (600-1000 nm aralığı)

Farklı akış hızlarında oluşan aynı dalga boyu değerleri incelendiğinde, He gazı akış hızı arttıkça aynı dalga boylarında oluşan dalga boyu şiddetlerinin birbirlerine yakın değerlerde oldukları gözlenmiştir. Özellikle 5 L/dk akış hızındaki dalga boylarındaki şiddetlere yakın olan değerler bazı akış hızlarında ortaya çıkmışlardır. Çizelge 4.6'da 6 kV voltaj, 4 kHz frekans parametrelerinde ayarlı güç kaynağı ve Al bantlı plazma kalem kullanılarak oluşturulan He plazma jetin 5 L/dk akış hızında tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türlerin şiddetleri gösterilmiştir. Dalga boylarına karşılık gelen reaktif türlerin verileri, (NIST ASD, 2019) veri tabanından alınmıştır.

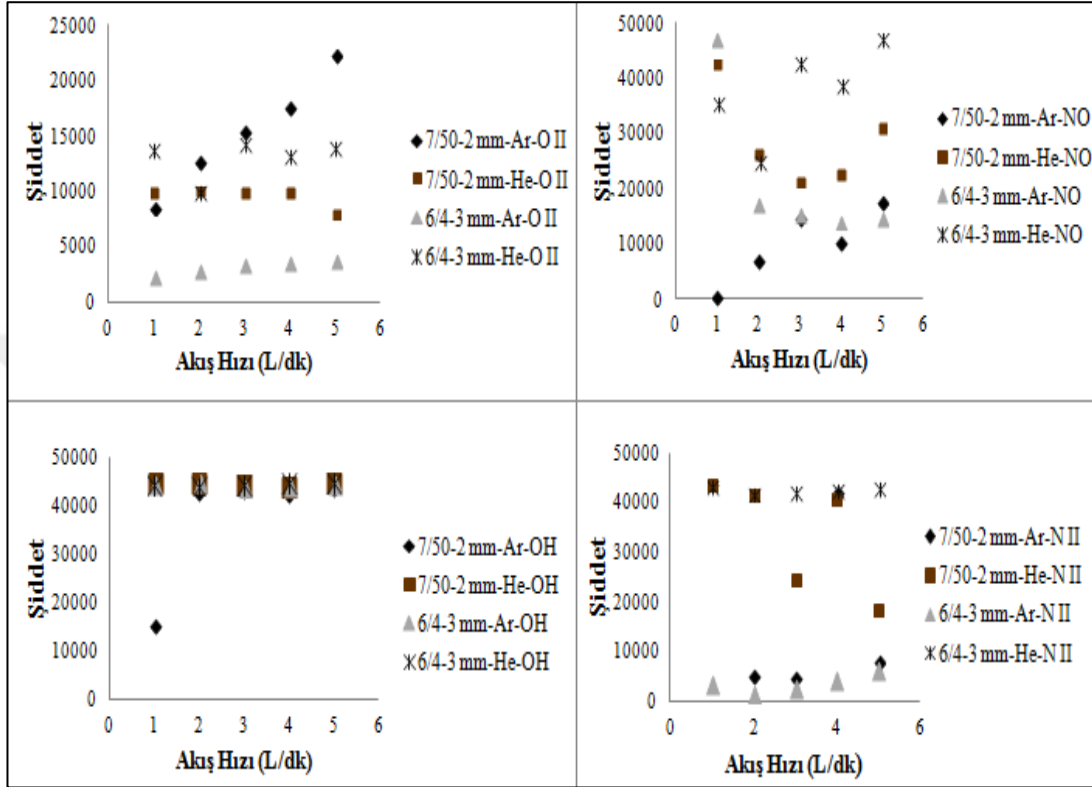
Çizelge 4.6. 3 mm iç çapa sahip Al bantlı cam boruda 5L/dk akış hızında, He gazı kullanılarak elde edilen plazmada sırasıyla tespit edilen dalga boylarına karşılık gelen reaktif türler

Akış Hızı	Spektrumda oluşan reaktif türler ve dalga boyları (nm)
5 L/dk	195,5 (O II), 282,8 (NO), 297 (O II), 308,9 (OH), 313 (N II), 336,2 (N II), 357,6 (N II), 370,9 (N II), 375,3 (N II), 380,2 (N II), 391 (N II), 394 (N II), 399 (N II), 404 (O II), 419 (N II), 427 (N II), 435 (O II), 471,3 (He I), 587,6 (He I), 667 (He I), 706 (He I), 777,1 (O I)

5 L/dk akış hızındaki ölçülen plazma jet uzunluğunun 3 cm uzunluğa kadar ulaşmış olması plazma içeriğinin izotonik serum, distile su gibi sıvı ortamları üzerine etkisinin geçmesi açısından önem arz etmektedir. 7 kV voltaj, 50 kHz frekans parametrelerinde çalışan güç kaynağı etkisinde farklı akış hızları incelendiğinde dalga boylarındaki türlerin akış hızlarında hem oluşan hem de yok olan pik sayılarında ve pik şiddetlerinde değişiklik gösterdiğini gözlemledik. Plazma kalem sisteminde 6 kV ve 4 kHz parametrelerinde ayarlı olan güç kaynağı bağlantısında farklı akış hızlarında ölçülen spektrum analizinde ortaya çıkan dalga boylarındaki piklerin farklı akış hızlarında oluşup farklı akış hızlarında yok olma miktarı azalmış ve pik şiddetleri genel anlamda korunmuştur.

2 mm iç yarıçapı ve 3 mm iç yarıçapı olan cam borulardan tasarlanmış plazma kalem sisteminde 1 L/dk dan 5 L/dk ya akış hızlarında ölçülen OES spektrumlarında Ar plazma için genel olarak O II, NO, OH, N II, O I gibi reaktif türlerin pikleri

gözlenmiştir. He plazma için de genel olarak O II, NO, OH, N II, O I gibi reaktif türlerin pikleri gözlenmiştir. Şekil 4.25'te hem 2 mm hem de 3 mm iç yarıçaplı Ar ve He plazma kaleminden alınan ölçümlerde ortak olarak gözlenen başlıca önemli türlerin akış hızı-şiddet grafikleri verilmiştir.



Şekil 4.25. Önemli reaktif türlerin değişen akış hızı ve plazma türüne göre ölçülen şiddet değerleri (O II:195,501 nm, NO:282,87 nm, OH:309 nm, N II:337 nm)

4.7. Reaksiyon Tahmini, Plazma Sıcaklığı ve Elektron Yoğunluğu Bulguları

Tasarlanmış plazma kalem sisteminde oluşturulan plazma türlerinde plazmayı en önemli olarak tanımlayacak parametrelerden birisi sıcaklık olacaktır. Plazmaya ait olan bir emisyon spektrumu cihaz yardımıyla alındıktan sonra kolay şekilde uyarma sıcaklığı (T_{exc}) hesaplanması gerçekleştirilir. Bu hesaplamayı gerçekleştirmek için Boltzmann dağılımından faydalanılmaktadır. Boltzmann dağılımından T_{exc} hesabını yapmak için ($y = mx + n$) biçiminde lineerleştirilmiş haliyle;

$$\ln \left(\frac{I_{ji} \lambda}{A_{ji} g_j} \right) = - \frac{1}{k.T_{exc}} E_j + \ln \left(\frac{h.c.N}{4\pi.U(t)} \right) \quad (4.1)$$

denklemini kullanılır (Karadağ, 2016). Denklemdaki sembol ifadeleri sırasıyla I_{ji} , dalga boyu şiddeti; λ , dalga boyu; A_{ji} , geçiş olasılığı; g_j , istatistiksel ağırlık; k , Boltzmann sabiti; T_{exc} , uyarma sıcaklığı; E_j , uyarılma enerjisi; h , Planck sabiti; c , ışık hızı; N , iyon miktarı; $U(t)$, bölüşüm fonksiyonu olarak ifade edilmektedir. Denklemden bulunan y ve x değerine karşılık gelmiş olan değerler ile lineer doğru elde edilir. Ortaya konulan doğrunun eğimi, $-1/kT_{exc}$, kullanılarak T_{exc} değerinin hesabı yapılmıştır. Denklemde yer alan λ ve I_{ji} değerleri, LR1-B spektrometre cihazı ile ölçülmüş olup dalga boyu, dalga boyu şiddeti yerlerine bulunan değerleri kullanılmıştır. Denklemden diğer değerler için (NIST ASD,2019) veri tabanından faydalanılmıştır. Plazmalara ait sıcaklık tahminlerinde Ar plazması için Ar I (uyarılmış Ar)'de tespit edilmiş olan dalga boyları kullanılırken He plazma için He I (uyarılmış He)'de tespit edilmiş olan dalga boyları kullanılmıştır. 2 mm cam boruda Ar plazma (7 kV, 50 kHz) için bulgular çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. 2 mm cam boruda oluşan Ar (7 kV, 50 kHz) plazmanın T_{exc} değerinin hesaplanması için kullanılan veriler

Veri APP türü	E_j (eV)	λ (nm)	I_{ji}	$A_{ji} \cdot g_j$	$I_{ji} \cdot \lambda / A_{ji} \cdot g_j$	$\ln(I_{ji} \cdot \lambda / A_{ji} \cdot g_j)$
2mm Ar	13,3278	695,365	43213,441	1,90E+07	1,58E+00	0,458394211
	13,3278	727,468	19812,494	5,49E+06	2,63E+00	0,965199226
	13,3022	738,578	21635,331	4,20E+07	3,80E-01	-0,966370509
	13,4798	750,588	39901,675	4,50E+07	6,66E-01	-0,407142566
	13,1531	771,404	43066,074	1,60E+07	2,08E+00	0,730603771
	13,2826	794,811	22636,62	5,58E+07	3,22E-01	-1,131855849
	13,1717	801,194	28956,003	2,40E+07	9,67E-01	-0,033928454

* Ar plazma için 5 L/dk akış hızı verileri kullanılmıştır.

3 mm cam boruda Ar plazma (6 kV, 4 kHz) için bulgular çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. 3 mm cam boruda oluşan Ar (6 kV, 4 kHz) plazmanın T_{exc} değerinin hesaplanması için kullanılan veriler

Veri APP türü	E_j (eV)	λ (nm)	I_{ji}	$A_{ji} \cdot g_j$	$I_{ji} \cdot \lambda / A_{ji} \cdot g_j$	$\ln(I_{ji} \cdot \lambda / A_{ji} \cdot g_j)$
3mm Ar	13,3278	696,54	37497,187	1,90E+07	1,37E+00	0,31819688
	13,3278	727,167	7209,509	5,49E+06	9,55E-01	-0,046126523
	13,3022	738,277	7645,68	4,20E+07	1,34E-01	-2,006965022
	13,4798	750,588	16052,543	4,50E+07	2,68E-01	-1,31769359
	13,1531	772,316	32771,934	1,60E+07	1,58E+00	0,45862227
	13,2826	794,811	9021,691	5,58E+07	1,29E-01	-2,051793009
	13,1717	801,194	11724,777	2,40E+07	3,91E-01	-0,938001699

* Ar plazma için 5 L/dk akış hızı verileri kullanılmıştır.

2 mm cam boruda He plazma (7 kV, 50 kHz) için bulgular çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. 2 mm cam boruda oluşan He (7 kV, 50 kHz) plazmanın T_{exc} değerinin hesaplanması için kullanılan veriler

Veri APP türü	E_j (eV)	Λ (nm)	I_{ji}	$A_{ji} \cdot g_j$	$I_{ji} \cdot \lambda / A_{ji} \cdot g_j$	$\ln(I_{ji} \cdot \lambda / A_{ji} \cdot g_j)$
2mm He	23,5719	391,328	19224,821	2,27E+08	3,31E-02	-3,40695701
	23,5939	470,978	3433,08	1,59E+07	1,02E-01	-2,28379058
	23,0736	587,537	7600,788	8,84E+07	5,05E-02	-2,98504009
	22,7184	706,149	42423,88	2,79E+07	1,08E+00	0,07284172

* He plazma için 5 L/dk akış hızı verileri kullanılmıştır.

3 mm cam boruda He plazma (6 kV, 4 kHz) için bulgular çizelge 4.10'da verilmiştir.

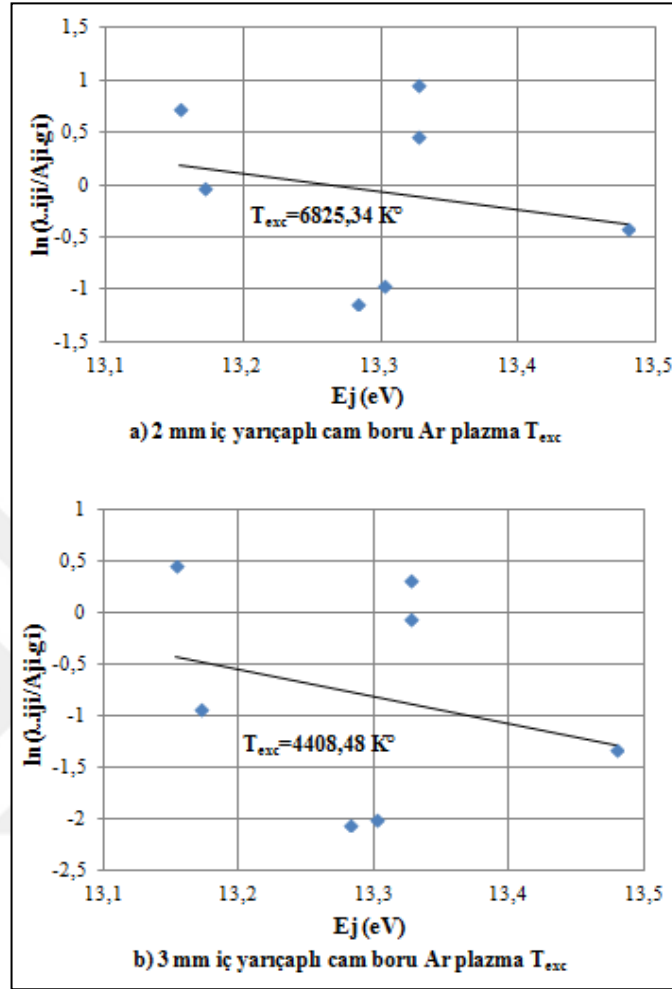
Çizelge 4.10. 3 mm cam boruda oluşan He (6 kV, 4 kHz) plazmanın T_{exc} değerinin hesaplanması için kullanılan veriler

Veri APP türü	E_j (eV)	Λ (nm)	I_{ji}	$A_{ji} \cdot g_j$	$I_{ji} \cdot \lambda / A_{ji} \cdot g_j$	$\ln(I_{ji} \cdot \lambda / A_{ji} \cdot g_j)$
3mm He	23,5719	388,879	41314,884	2,27E+08	7,08E-02	-2,648214233
	23,5939	471,261	6009,585	1,59E+07	1,78E-01	-1,723292006
	23,0736	587,243	42533,412	8,84E+07	2,83E-01	-1,263502607
	22,7184	706,149	44444,512	2,79E+07	1,13E+00	0,119371794

* He plazma için 5 L/dk akış hızı verileri kullanılmıştır.

Boltzmann dağılımından T_{exc} hesabını yapmak için “ $y = mx + n$ ” biçiminde lineerleştirilmiş halindeki x eksenini için E_j (eV) değeri, y eksenini için $\ln(\lambda \cdot I_{ji} / A_{ji} \cdot g_j)$ değerine karşılık olup denklemden elde edilen doğrunun eğimine karşılık olan m değeri, k ($8,617 \times 10^{-5}$ eV/K) değeri olan Boltzmann sabiti ile çarpılmış sonra tersi alınmıştır. Alınan sonuç T_{exc} sıcaklığı sonucu olur. 7 kV voltaj, 50 kHz frekans parametresinde ayarlanmış güç kaynağı etkisinde 2 mm içyarıçaplı cam boruda oluşan Ar plazma ve 6 kV voltaj, 4 kHz frekans parametresinde ayarlanmış güç kaynağı etkisinde 3 mm içyarıçaplı cam boruda oluşan Ar plazmaların, Boltzmann denklemi ile çizilmiş sonuçları şekil 4.26'da gösterilmiştir. 2 mm iç yarımçaplı cam boruda oluşan Ar plazma için hesaplanan T_{exc} sıcaklığı için hesaplanmış değer 6825,34 K°, 3 mm iç yarımçaplı cam boruda oluşan Ar plazma için hesaplanan T_{exc} sıcaklığı için hesaplanmış değer 4408,48 K° olarak bulunmuştur. 3 mm iç yarımçaplı olan cam boruda oluşan Ar plazmanın sıcaklık değerinin daha yüksek olduğu sonucu görülmüştür. Buna neden olarak güç kaynaklarının farklı voltaj ve frekanslarda

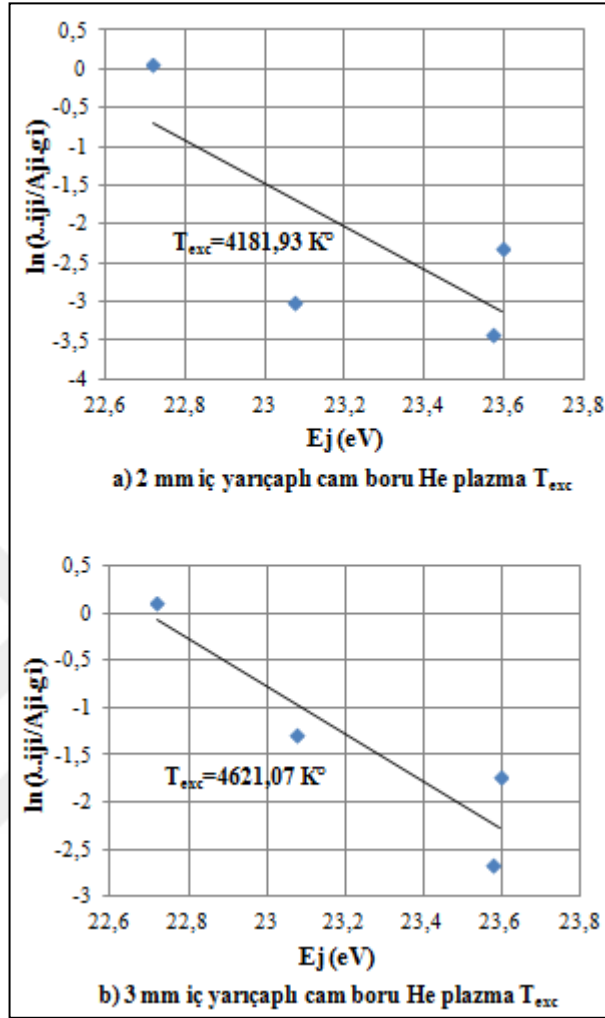
olması ayrıca farklı çaplarda cam boru gibi değişkenlerden dolayı hesaplanan T_{exc} sıcaklığı üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.26. a) 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın T_{exc} hesabı, b) 6 kV-4 kHz güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın T_{exc} hesabı

7 kV voltaj, 50 kHz frekans parametresinde ayarlanmış güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçaplı cam boruda oluşan He plazma ve 6 kV voltaj, 4 kHz frekans parametresinde ayarlanmış güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçaplı cam boruda oluşan He plazmaların, Boltzmann denklemi ile çizilmiş sonuçları şekil 4.27’de gösterilmiştir. 2 mm iç yarıçaplı cam boruda oluşan He plazma için hesaplanan T_{exc} sıcaklığı için hesaplanmış değer 4181,93 K°, 3 mm iç yarıçaplı cam boruda oluşan He için hesaplanan T_{exc} sıcaklığı için hesaplanmış değer 4621,07 K° olarak bulunmuştur. 3 mm iç yarıçaplı olan cam boruda oluşan He plazmanın sıcaklık değerinin daha yüksek olduğu sonucu görülmüştür. Hesaplanan T_{exc} sıcaklığı üzerinde, güç kaynaklarının farklı voltaj ve frekanslarda olması, farklı çaplarda cam

boru kullanılarak tasarlanmış plazma kalem sistemi ve ayrıca plazma oluşturmak için Ar ve He gazları kullanımı gibi değişkenlerin etkili olduğunu düşündürmektedir.



Şekil 4.27. a) 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He plazmanın T_{exc} hesabı, b) 6 kV-4 kHz güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçapta oluşan He plazmanın T_{exc} hesabı

Ar plazmanın T_{exc} hesabının ardından diğer bir önemli parametre elektron yoğunluğudur. Elektron yoğunluğu hesabı için Griem, 1963 yayınından faydalanılmıştır. Plazmanın elektron yoğunluğu hesabını yapabilmek için yayında yer alan,

$$n_e(cm^{-3}) \geq 10^{17} \left(\frac{kT_{exc}}{E_H} \right)^{\frac{1}{2}} \left(\frac{E_2 - E_1}{E_H} \right)^3 \quad (4.2)$$

denklem kullanılmıştır. Elektron yoğunluğu hesabı için denklem içerisinde yer alan n_e , elektron yoğunluğu; k , Boltzmann sabiti, $8,62 \times 10^{-5}$; T_{exc} , plazma sıcaklığı (denklem 4.1’de He ve Ar değerleri hesabı için kullanılmıştır); E_H şeklinde ifade edilen değer için, hidrojen atomunun iyonlaşma enerjisi, 13,6 eV olarak ifade edilmiştir; E_2-E_1 , birinci uyarılmış durum (E_2) ile temel durum (E_1) arasındaki enerji farkı hesabı olarak (He ve Ar plazma için (NIST ASD,2019) veri tabanından bulunmuştur) ifade etmektedir. Buna göre farklı güç kaynağı etkisinde elektron yoğunlukları sırasıyla;

$$n_{e,Ar} (7 \text{ kV}; 50 \text{ kHz}) \geq 1,33 \times 10^{16} \text{ cm}^{-3}$$

$$n_{e,Ar} (6 \text{ kV}; 4 \text{ kHz}) \geq 1,07 \times 10^{16} \text{ cm}^{-3}$$

$$n_{e,He} (7 \text{ kV}; 50 \text{ kHz}) \geq 7,52 \times 10^{14} \text{ cm}^{-3}$$

$$n_{e,He} (6 \text{ kV}; 4 \text{ kHz}) \geq 7,91 \times 10^{14} \text{ cm}^{-3}$$

hesaplanmıştır. Plazma sıcaklığı ve elektron yoğunluğu için farklı güç kaynakları etkisinde ölçüm verilerinden aldığımız sonuçlar çizelge 4.11’de verilmiştir.

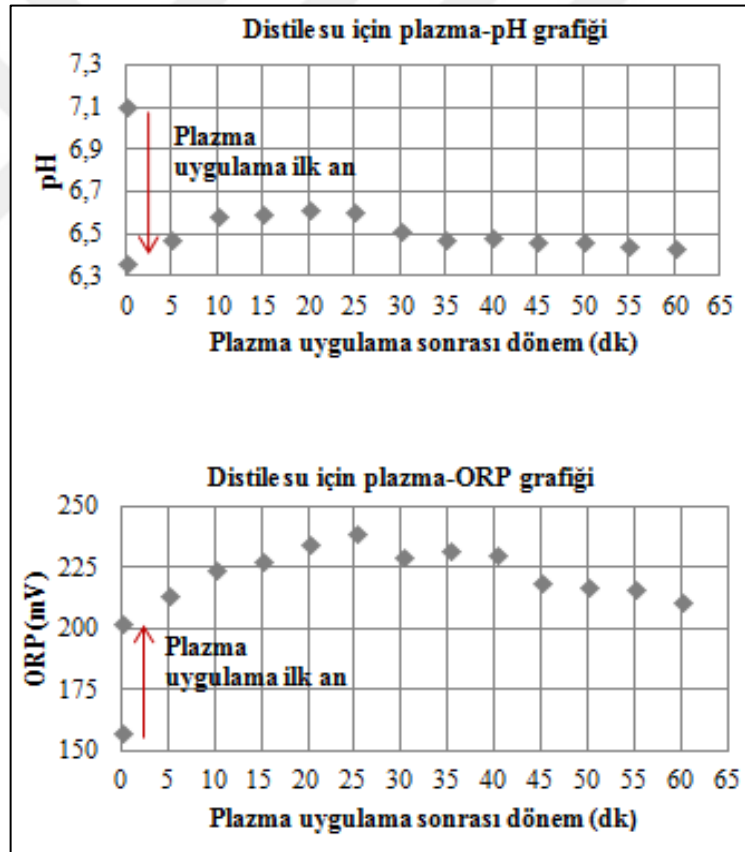
Çizelge 4.11. Ar ve He plazma için hesaplanan T_{exc} ve n_e değerleri

APP türü \ Veri	Plazma sıcaklık, $T_{exc}(K^\circ)$	Elektron yoğunluk, $n_e(\text{cm}^{-3})$
Ar plazma (7 kV, 50 kHz)	6825,34	$1,33 \times 10^{16}$
Ar plazma (6 kV, 4 kHz)	4408,48	$1,07 \times 10^{16}$
He plazma (7 kV, 50 kHz)	4181,93	$7,52 \times 10^{14}$
He plazma (6 kV, 4 kHz)	4621,07	$7,91 \times 10^{14}$

Sonuçlarda her iki güç kaynağı için alınan Ar plazma yoğunlukları 6 kV-4 kHz güç bağlantısında ölçülen plazma yoğunluk değerinin 7 kV-50 kHz güç bağlantısında ölçülen plazma yoğunluk değerine göre daha yüksek olduğu sonucu verilmiştir. Aynı durum He plazmanın ölçülen elektron yoğunluk değeri için de geçerlidir. Ar plazmanın elektron yoğunluğu ile He plazmanın elektron yoğunlukları karşılaştırıldığında Ar plazmada hesaplanan elektron yoğunluk değerlerinin He plazma için hesaplanan elektron yoğunluk değerlerinden daha yüksek olduğu görülmüştür.

4.8. Plazma Uygulama Sonrası Ortamdaki pH, Oksidasyon Redüksiyon Potansiyeli (ORP), Hidrojen Peroksit (H₂O₂), Nitrit (NO₂), Nitrat (NO₃) Miktarları ve Reaksiyon Tahminleri Bulguları

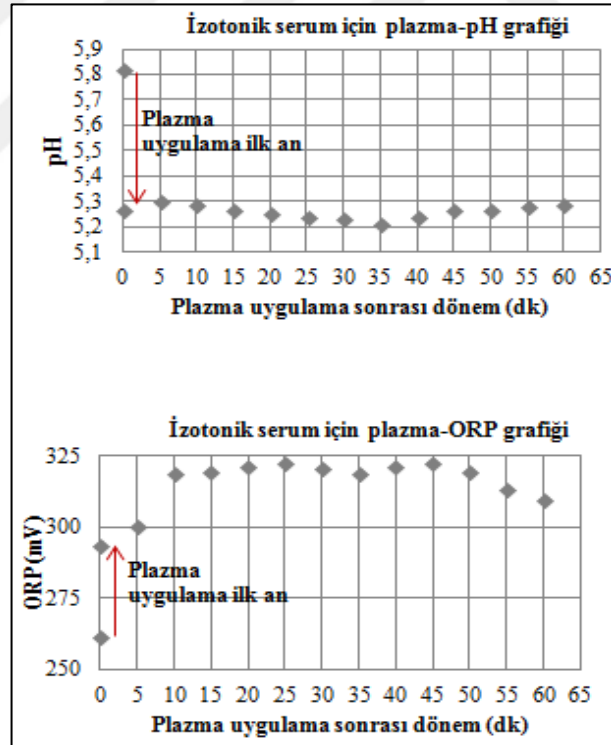
2 mm iç yarıçapında borosilikat cam boruya 7 kV voltaj ve 50 kHz frekans parametrelerinde ayarlanmış güç kaynağı bağlantısında cam borudan 5 lt/dk akış hızında geçirilen He gazı ve Ar gazının distile su ve izotonik serumu uygulamaları sonrasında sıvı ortamındaki pH, ORP, H₂O₂ değerleri incelenmiştir. İlk olarak He plazma aralıksız olarak 5 dk boyunca 20 ml miktardaki distile suya, su yüzeyinden 1 cm mesafeden plazma uygulaması sonrasında 5 dk ara ile 1 saate kadar pH, ORP ölçüm verileri pH metre cihazı yardımıyla, H₂O₂ miktarları ise test şeritleri yardımıyla alınmıştır. Şekil 4.28’de He plazmanın distile suya ilk 5 dk uygulaması sonrası 1 saate kadar zamanla değişen pH ve ORP grafikleri verilmiştir.



Şekil 4.28. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He plazmanın distile suya ilk 5 dk uygulama sonrası zamanla değişen pH ve ORP grafiği

Şekil 4.28’de plazma uygulamasına maruz bırakılan distile suyun plazma uygulamadan önceki ilk pH değeri 7,11 olarak ölçüldü. 5 dk He plazma uygulaması

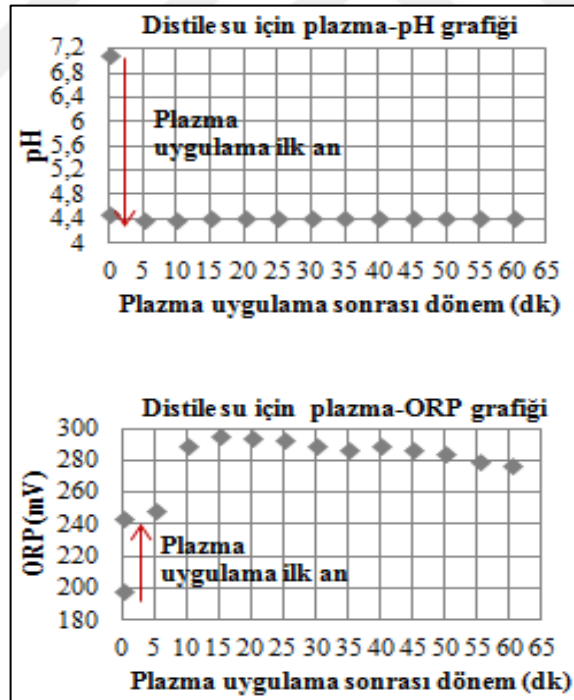
sonrası 6,37 olarak ölçüldü. 5 dk uygulama sonrası başlangıç pH değerini düşürdüğü gözlemlenmiştir. 1 saate kadar alınan ölçümlerde 60 dk sonunda distile suyun pH değeri 6,44 olarak ölçüldü. Burada He plazmanın ilk uygulamada pH değerini düşürdüğü ve 60 dk sonuna gelinceye kadar pH değerini korumaya devam ettiği ancak plazmanın distile sudaki etkisini yavaş yavaş kaybetmesinden dolayı pH düzeyinin ilk ölçülen pH değerine yaklaşmaya başladığı gözlemlendi. Plazma uygulanmadan önceki ORP değeri 157 mV olarak ölçülürken uygulama sonrası ilk anda ölçülen değeri ise 202 mV olarak kaydedilirken 60 dk sonunda ORP değeri 211 mV olarak ölçüldü. Buradan pH değerinde olduğu gibi ORP değerinde de plazmanın sıvı ortam üzerinde etkisini 1 saate kadar korumaya devam ettirdiği sonucuna varılabilir. Distile suya plazma uygulaması sonrası yine aynı plazma kalem 20 ml izotonik serum için de gerçekleştirilmiştir. He plazmanın 5 dk uygulaması sonrası 1 saate kadar zamanla değişen pH ve ORP değerlerinin grafikleri şekil 4.29'da verilmiştir.



Şekil 4.29. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He plazmanın izotonik serumu ilk 5 dk uygulama sonrası zamanla değişen pH ve ORP grafiği

Şekil 4.29'da plazma uygulamasına maruz bırakılan izotonik serumu plazma uygulamadan önceki ilk pH değeri 5,82, 5 dk He plazma uygulaması sonrası 5,27

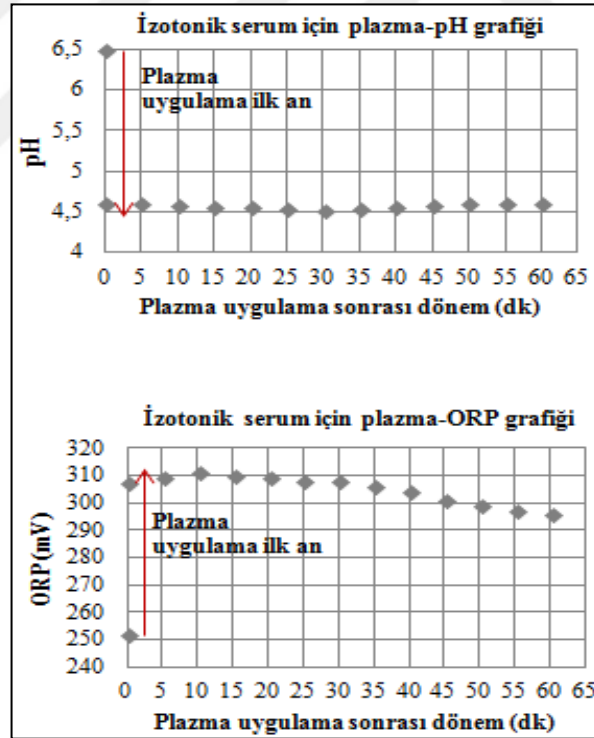
olarak ölçüldü ve plazmanın 5 dk uygulama sonrası başlangıç pH değerini düşürdüğü gözlemlenmiştir. 1 saate kadar alınan ölçümlerde 60 dk sonunda izotonik serumun pH değeri 5,29 olarak ölçüldü. He plazmanın ilk uygulamada pH değerini düşürdüğü ve 60 dk sonuna gelinceye kadar pH değerini korumaya devam ettiği ancak plazmanın etkisinin distile suya plazma uygulamasında olduğu gibi izotonik serumda da yavaş yavaş kaybetmesinden dolayı pH düzeyinin ilk ölçülen pH değerine yaklaşmaya başladığı gözlemlendi. Plazma uygulanmadan önceki ORP değeri ise 262 mV olarak ölçülürken uygulama sonrası ise ilk anda ölçülen değeri 294 mV olarak kaydedildi. ORP değeri 60 dk sonunda 310 mV olarak ölçüldü. He plazmanın distile su ve izotonik serum gibi sıvılarda meydana getirdiği pH ve ORP değişiklikleri 5 lt/dk akış hızında Ar plazma uygulamasında da gözlemlenmiştir. İlk olarak Ar plazmanın aralıksız olarak 5 dk boyunca 20 ml miktarındaki distile suya, sıvı yüzeyinden 0,5 cm mesafeden plazma uygulaması sonrasında şekil 4.30'da 5 dk ara ile 1 saate kadar plazma sonrası dönemde zamanla pH ve ORP değerlerinde gözlemlenen değişiklik verilmiştir.



Şekil 4.30. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın distile suya ilk 5 dk uygulama sonrası zamanla değişen pH ve ORP grafiği

Şekil 4.30'da plazma uygulamasına maruz bırakılan distile suyun plazma uygulamadan önceki ilk pH değeri 7,12, 5 dk Ar plazma uygulaması sonrası 4,50

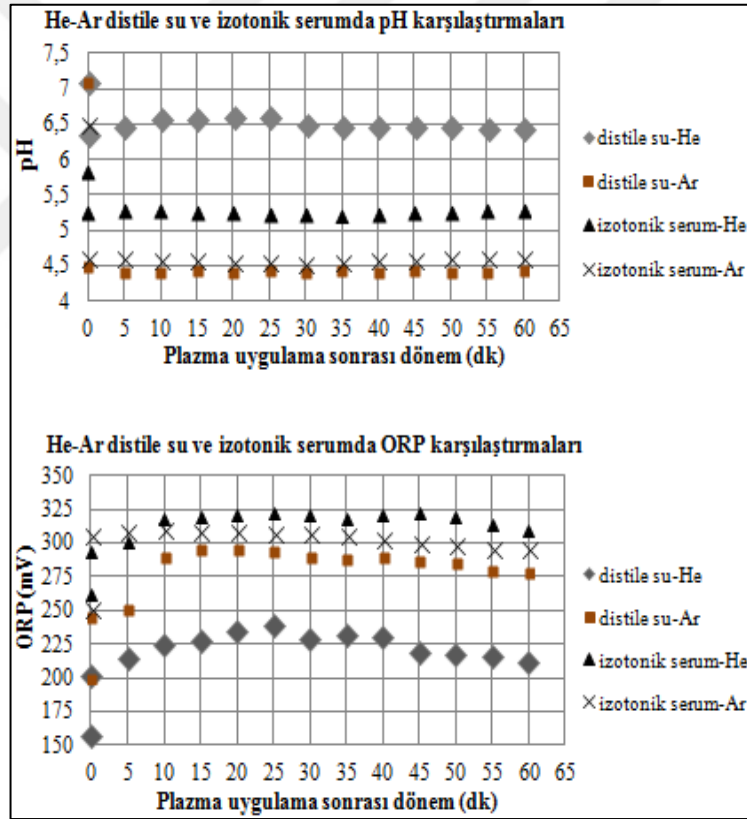
olarak ölçüldü. 5 dk uygulama sonrası başlangıç pH değerini düşürdüğü gözlemlenmiştir. 1 saate kadar alınan ölçümlerde 60 dk sonunda distile suyun pH değeri 4,44 olarak ölçüldü. Burada Ar plazmanın ilk uygulamada pH değerini düşürdüğü ve 60 dk sonuna gelinceye kadar pH değerini korumaya devam ettiği ancak plazmanın distile sudaki etkisini yavaş yavaş kaybetmesinden dolayı pH düzeyinin ilk ölçülen pH değerine yaklaşmaya başladığı gözlemlendi. Plazma uygulanmadan önceki ORP değeri ise 199 mV olarak ölçüldü ardından uygulama sonrası ise ilk anda ölçülen değeri 240 mV, 60 dk sonunda ORP değeri 278 mV olarak ölçüldü. Buradan pH değerinde olduğu gibi ORP değerinde de 1 saate kadar plazmanın sıvı ortam üzerinde etkisini korumaya devam ettirdiği sonucuna varılabilir. Distile suya plazma uygulaması sonrası yine aynı plazma kalem 20 ml izotonik serum için de gerçekleştirilmiştir. Uygulanan Ar plazmanın 5 dk uygulaması sonrası 1 saate kadar zamanla değişen pH ve ORP değerlerinin grafikleri şekil 4.31’de verilmiştir.



Şekil 4.31. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın izotonik serumu ilk 5 dk uygulama sonrası zamanla değişen pH ve ORP grafiği

Şekil 4.31’de plazma uygulamasına maruz bırakılan izotonik serumun plazma uygulamadan önceki ilk pH değeri 6,5, 5 dk Ar plazma uygulaması sonrası 4,62 olarak ölçüldü ve 5 dk uygulama sonrası başlangıç pH değerini düşürdüğü

gözlemlenmiştir. 1 saate kadar alınan ölçümlerde 60 dk sonunda izotonik serumun pH değeri 4,61 olarak ölçüldü. Ar plazmanın ilk uygulamada pH değerini düşürdüğü ve 60 dk sonuna gelinceye kadar pH değerini korumaya devam ettiği ancak plazmanın etkisinin distile suya plazma uygulamasında olduğu gibi izotonik serumda da yavaş yavaş kaybetmesinden dolayı pH düzeyinin ilk ölçülen pH değerine yaklaşmaya başladığı gözlemlendi. Plazma uygulanmadan önceki ORP değeri 252 mV olarak ölçülürken uygulama sonrası ise ilk anda ölçülen değeri 307 mV olarak kaydedildi ve 60 dk sonunda ORP değeri 296 mV olarak ölçüldü. Hem He plazma hem de Ar plazmanın distile su ile izotonik serum gibi sıvılarda pH ve ORP değerleri üzerinde zamanla yaptığı değişikliklerin karşılaştırılan pH ve ORP grafikleri şekil 4.32’de verilmiştir.



Şekil 4.32. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He ve Ar plazmanın distile su ve izotonik serum için ilk 5 dk uygulamaları sonrası zamanla değişen pH ve ORP grafiği

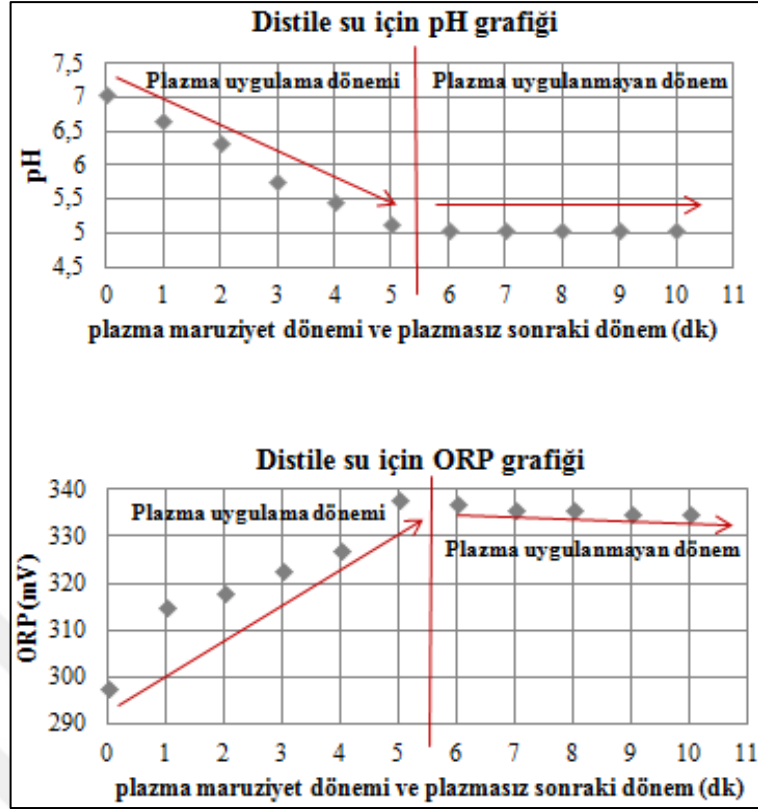
5 lt/dk akış hızında cam borudan geçirilen He gazı ve Ar gazı için distile su ve izotonik serumda uygulamaları sonrasında sıvı ortamlarındaki H₂O₂ miktarlarının test şeritleri ile ölçüm değerleri çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. He ve Ar plazmanın distile su ve izotonik serumda oluşturdukları H₂O₂ miktarlarının mg/L cinsi ile µM cinsinden ölçüm değerleri

APP türü	Veri	mg/L cinsinden oluşan H ₂ O ₂ miktarı	µM cinsinden oluşan H ₂ O ₂ miktarı
He plazma-Distile su (7 kV, 50 kHz)		>1 mg/L	29,399 µM
He plazma-İzotonik serum (7 kV, 50kHz)		>3 mg/L	88,197 µM
Ar plazma-Distile su (7 kV, 50 kHz)		>3 mg/L	88,197 µM
Ar plazma-İzotonik serum (7 kV, 50 kHz)		>3 mg/L	88,197 µM

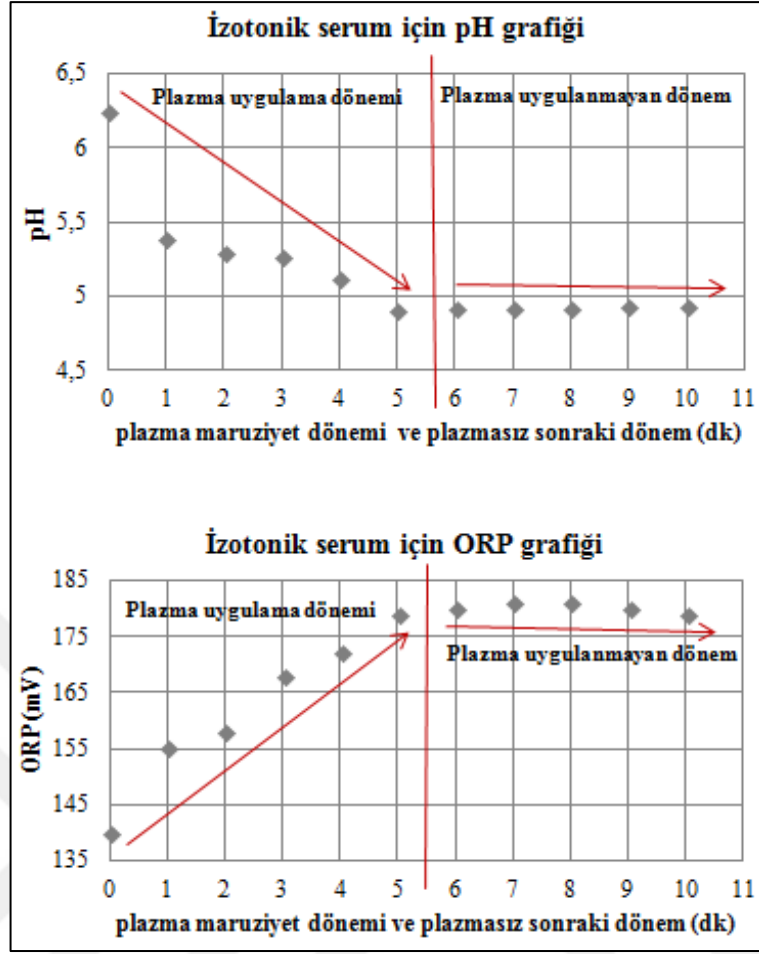
* mg/L (miligram/Litre) değeri µM (mikromolar) değerine dönüştürülmüştür.

İzotonik serum ve distile suya 5'er dk ayrı ayrı He ve Ar plazma uygulamaları sonrasında sıvı ortamlarında oluşan H₂O₂ miktarları ölçüldüğünde, izotonik serum içerisinde oluşan H₂O₂ miktarlarının distile suda oluşan H₂O₂ miktarına göre daha fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca distile su ve izotonik serum için uygulaması yapılan He ve Ar plazmalarda, Ar plazmanın sıvı içeriğinde daha fazla miktarda H₂O₂ oluşturduğu gözlenmiştir. 5 dk sonunda plazmanın oluşturduğu H₂O₂ miktarı 1 saat sonuna kadar gözlemlenmiş ve 1 saat sonunda da yine test şeritleri ile ölçümler alınmış ve başlangıçtaki ilk 5 dk sonucunda elde edilen H₂O₂ değerleri ile aynı oldukları saptanmıştır. Bu durum, plazmanın sıvı ortamda oluşan reaksiyonlardan meydana gelen H₂O₂ miktarını 1 saate kadar koruduğu yani plazmanın sıvı ortam içeriğindeki etkisinin bir süre daha kaldığı anlamına gelmektedir. Burada He ve Ar plazmanın ortam sıvısına ilk 5 dk uygulanmasının ardından 1 saate kadar olan uzun süreçteki zamana göre değişimi incelenmiştir. İlk uygulandığı dakikadan itibaren 1'er dk arayla pH, ORP, H₂O₂ değerlerinin daha kısa süre aralıklarında etkilerinin izlenmesi için 1.dk, 2.dk, 3.dk, 4.dk, 5.dk ya kadar olan pH, ORP, H₂O₂ değerlerine ve plazma sonrasında plazma uygulanmayan dönem olarak 10.dk ya kadar oluşan değerler gözlemlenmiştir. He plazma 20 ml miktardaki distile suya, su yüzeyinden 1 cm mesafeden plazma uygulanarak 1.dk, 2.dk, 3.dk, 4.dk, 5.dk ya kadar her 1 dk da distile su örneğinde pH, ORP ölçüm verileri pH metre cihazı yardımıyla, H₂O₂ miktarları ise test şeritleri yardımıyla alınmıştır. Şekil 4.33'te He plazmanın distile suya ilk 5 dk plazma uygulama dönemi ve plazmasız sonraki 5 dk dönem olmak üzere toplamda 10 dk'lık süreçten oluşan grafik verilmiştir.



Şekil 4.33. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He plazmanın distile suya ilk 5 dk uygulama dönemi ve sonraki 5 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği

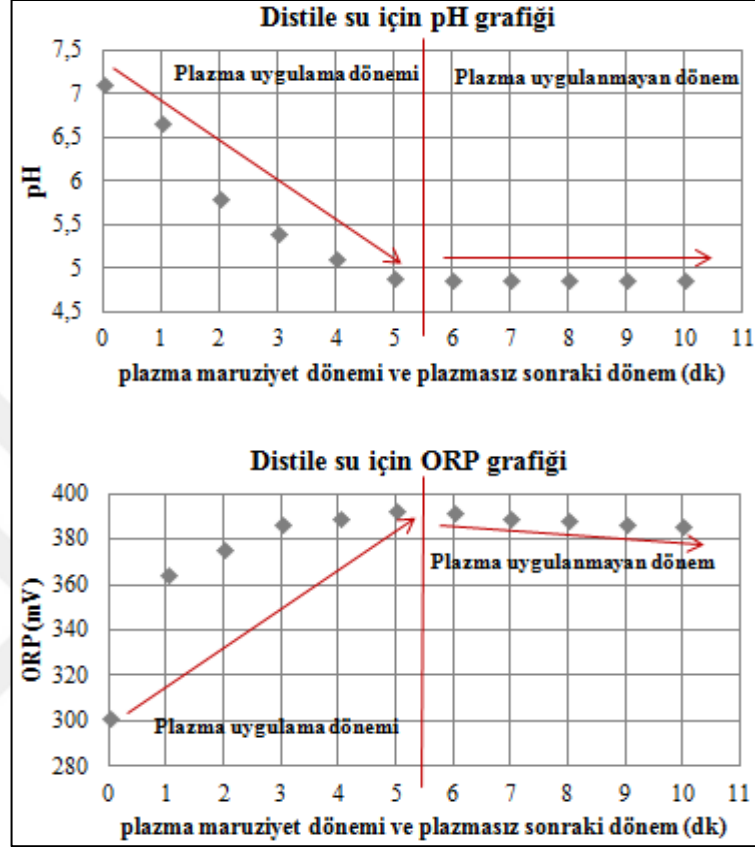
He plazmanın ilk 5 dk plazma uygulama dönemi boyunca distile sudaki pH değerini 7,07'den 5,15'e düşürmüş olduğu gözlemlenmiş, sonraki 5 dk plazmasız dönemde ölçümlere devam edildiğinde pH değerinin düşmeye devam ederek 5,06 değerine ulaştığı kaydedildi. ORP değeri için He plazmanın etkisi, ilk 5dk uygulama dönemi boyunca 298 mV'dan 338 mV değerine kadar yükseltmiş sonraki 5 dk plazmasız dönem olarak ölçümlere devam edildiğinde 335 mV değerine ulaşmıştır. ORP değeri plazma uygulama dönemi boyunca artış göstermiş iken plazma uygulama kesildikten sonra bir süre boyunca değerini korumuş sonrasında zamanla azalmaya başlamıştır. He plazma 20 ml miktardaki izotonik serum için, sıvı yüzeyinden 1 cm mesafeden plazma uygulaması 1.dk, 2.dk, 3.dk, 4.dk, 5.dk ya kadar her 1 dk da izotonik serum örneğinde pH, ORP ölçüm verileri pH metre cihazı yardımıyla, H₂O₂ miktarları ise test şeritleri yardımıyla alınmıştır. Şekil 4.34'te He plazmanın izotonik seruma ilk 5 dk plazma uygulama dönemi ve plazmasız sonraki 5 dk dönem olmak üzere toplamda 10 dk'lık süreçten oluşan grafik verilmiştir.



Şekil 4.34. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He plazmanın izotonik serumda ilk 5 dk uygulama dönemi ve sonraki 5 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği

He plazmanın ilk 5 dk plazma uygulama dönemi boyunca izotonik serumda pH değerini 6,24'ten 4,90'a düşürmüş olduğu gözlemlenmiş sonraki 5 dk plazmasız dönem olarak ölçümlere devam edildiğinde pH değeri 4,93 değerine ulaşmıştır. ORP değeri için He plazmanın etkisi, ilk 5 dk uygulama dönemi boyunca 140 mV'dan 179 mV değerine kadar yükseltmiş sonraki 5 dk plazmasız dönem olarak ölçümlere devam edildiğinde ORP değeri 179 mV değerinde kalmaya devam ettiği gözlemlenmiştir. ORP değeri plazma uygulama dönemi boyunca artış göstermiş iken plazma uygulama kesildikten sonra bir süre daha değerini koruduğu gözlemlenmiştir. He plazma uygulamasının ardından Ar plazmanın distile su ve izotonik serum gibi sıvılar üzerindeki pH, ORP ve H₂O₂ değerleri ölçülmüştür. Ar plazma 20 ml miktardaki distile suya, su yüzeyinden 0,5 cm mesafeden plazma uygulaması 1.dk, 2.dk, 3.dk, 4.dk, 5.dk ya kadar her 1 dk da distile su örneğinde pH, ORP ölçüm verileri pH metre cihazı yardımıyla, H₂O₂ miktarları ise test şeritleri yardımıyla

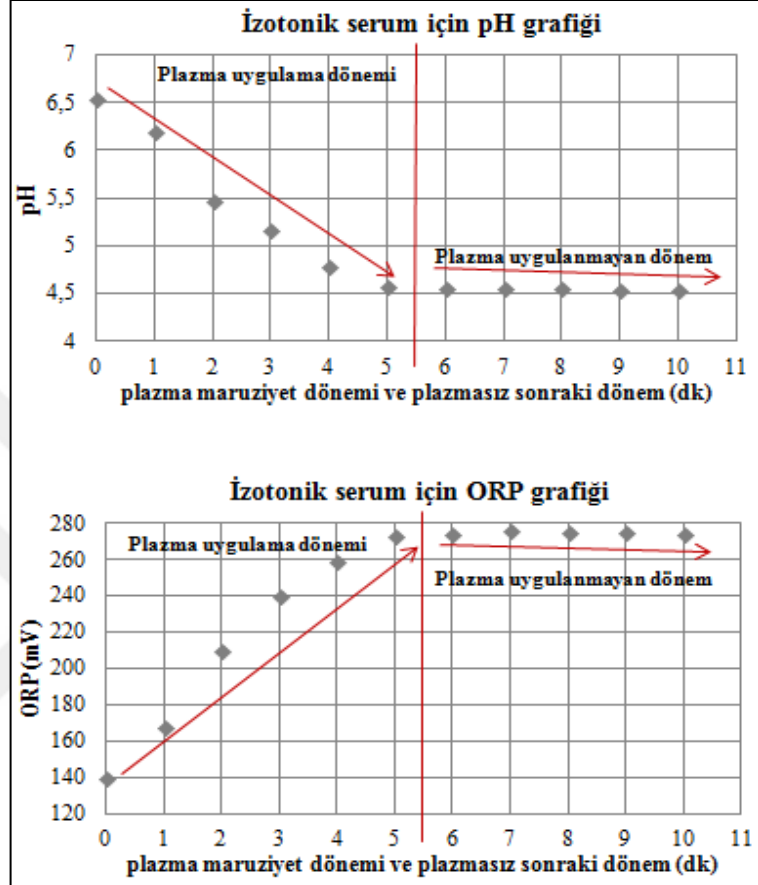
alınmıştır. Şekil 4.35'te Ar plazmanın distile suya ilk 5 dk plazma uygulama dönemi ve plazmasız sonraki 5 dk dönem olmak üzere toplamda 10 dk'lık süreçten oluşan grafiği verilmiştir.



Şekil 4.35. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın distile suya ilk 5 dk uygulama dönemi ve sonraki 5 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği

Ar plazmanın ilk 5 dk plazma uygulama dönemi boyunca distile suda pH değerini 7,11'den 4,89'a düşürmüş olduğu gözlemlenmiş sonraki 5 dk plazmasız dönem olarak ölçümlere devam edildiğinde pH değerinin düşmeye devam ederek 4,87 değerine ulaşmıştır. ORP değeri için Ar plazmanın etkisi, ilk 5dk uygulama dönemi boyunca 302 mV'dan 393 mV değerine kadar yükseltmiş sonraki 5 dk plazmasız dönem olarak ölçümlere devam edildiğinde ORP değeri 386 mV değerine ulaşmıştır. ORP değeri plazma uygulama dönemi boyunca artış göstermiş iken plazma uygulama kesildikten sonra bir süre boyunca değerini korumuş sonrasında zamanla azalmaya başladığı gözlemlenmiştir. Ar plazma 20 ml miktardaki izotonik serum için 0,5 cm mesafeden plazma uygulaması 1.dk, 2.dk, 3.dk, 4.dk ve 5.dk ya kadar her 1 dk da izotonik serum örneğinde pH, ORP ölçüm verileri pH metre cihazı yardımıyla,

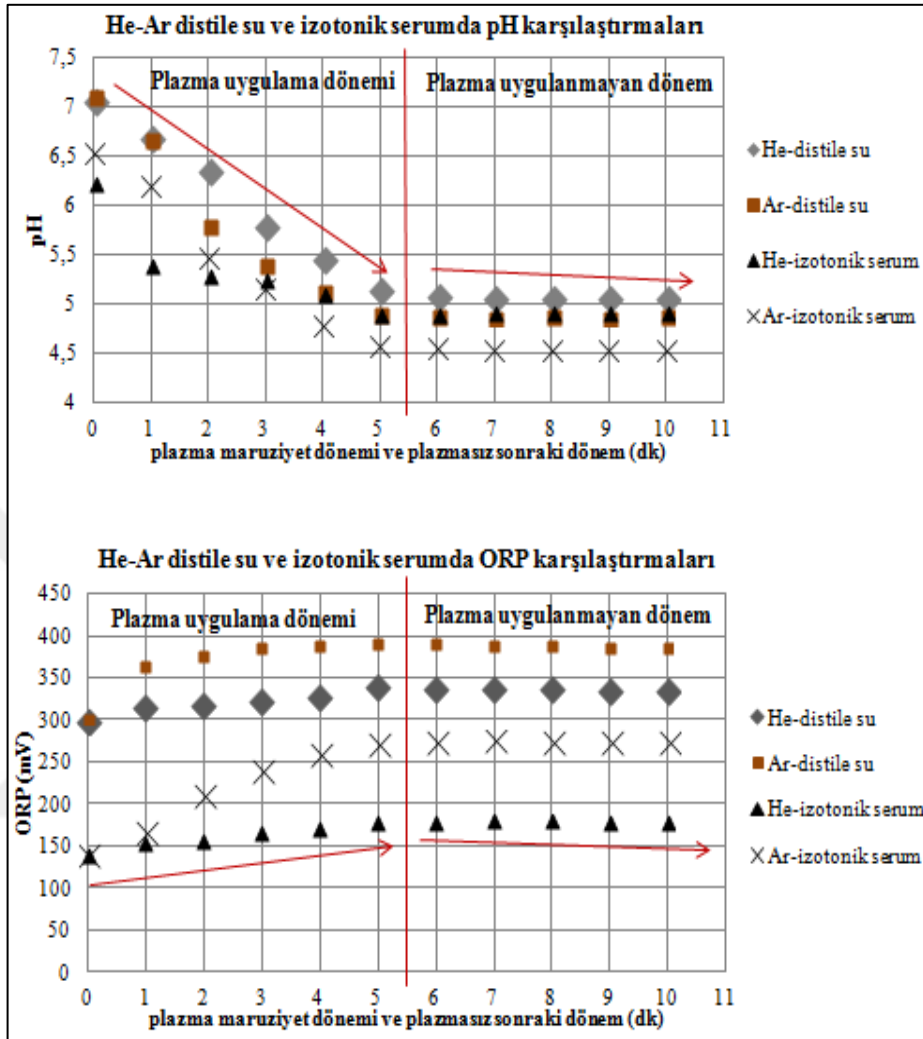
H₂O₂ miktarları ise test şeritleri yardımıyla alınmıştır. Şekil 4.36’da Ar plazmanın izotonik seruma ilk 5 dk plazma uygulama dönemi ve plazmasız sonraki 5 dk dönem olmak üzere toplamda 10 dk’lık süreçten oluşan grafiği verilmiştir.



Şekil 4.36. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın izotonik seruma ilk 5 dk uygulama dönemi ve sonraki 5 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği

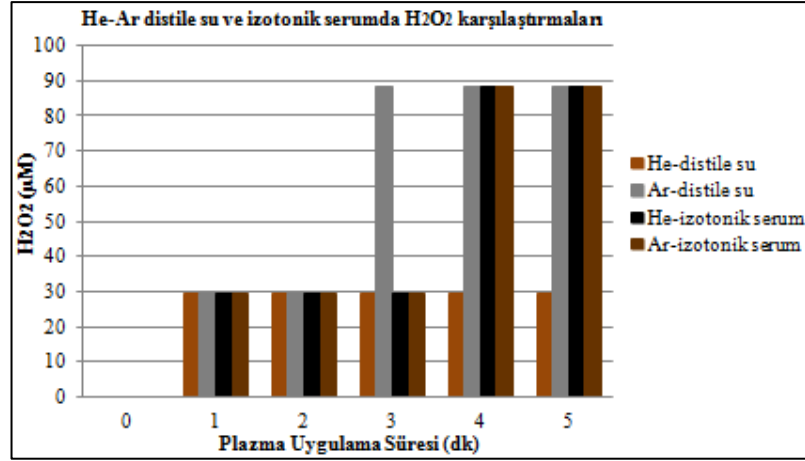
Ar plazmanın ilk 5 dk plazma uygulama dönemi boyunca izotonik serumda pH değerini 6,54’ten 4,58’e kadar düşürmüş olduğu gözlemlenmiş sonraki 5 dk plazmasız dönem olarak ölçümlere devam edildiğinde pH değeri 4,54 değerine ulaşmıştır. ORP değeri için Ar plazmanın etkisi, ilk 5 dk uygulama dönemi boyunca 139 mV’dan 273 mV değerine kadar yükseltmiş sonraki 5 dk plazmasız dönem olarak ölçümlere devam edildiğinde ORP değeri 274 mV değerine ulaştığı gözlemlenmiştir. ORP değeri plazma uygulama dönemi boyunca artış göstermiş iken plazma uygulama kesildikten sonra bir süre boyunca değerini korumuş olduğu gözlemlenmiştir. Hem He plazma hem de Ar plazmanın distile su ile izotonik serum gibi sıvılarda pH ve ORP değerleri üzerinde zamanla yaptığı değişikliklerin

uygulamasý yapılan distile su ve izotonik serumda sonuçlarını karşılaştıran pH ve ORP grafikleri şekil 4.37’de verilmiştir.



Şekil 4.37. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He ve Ar plazmanın distile su ve izotonik serum için ilk 5 dk uygulama dönemi ve sonraki 5 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği

5 lt/dk akış hızında cam borudan geçirilen He ve Ar gazı için distile su ve izotonik serumda uygulamaları sonrasında sıvı ortamlarındaki H₂O₂ miktarlarının test şeritleri ile ölçüm değerleri 1.dk dan 5.dk ya kadar 1'er dk ara ile değişen değerlerin grafiği şekil 4.38’de µM cinsinden verilmiştir.



Şekil 4.38. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 2 mm iç yarıçapta oluşan He ve Ar plazmanın 5 dk uygulama süresi boyunca 1'er dk aralıklarla distile su ve izotonik serumda oluşturduğu H₂O₂ miktarlarının µM cinsinden ölçüm değeri

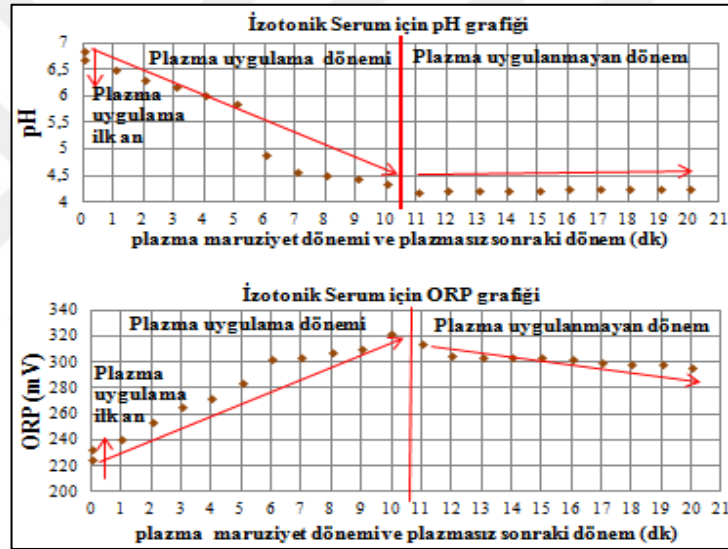
H₂O₂ miktarlarının test şeritleri ile ölçüm değerleri 1.dk dan 5.dk ya kadar 1'er dk ara ile değişen mg/L değerleri dönüştürülerek çizelge 4.13'de µM cinsinden verilmiştir.

Çizelge 4.13. He ve Ar plazmanın distile su ve izotonik serumda oluşturdukları H₂O₂ miktarlarının µM cinsinden ölçüm değerleri

dk \ Veri	He-distile su H ₂ O ₂ (µM)	Ar-distile su H ₂ O ₂ (µM)	He-izotonik serum H ₂ O ₂ (µM)	Ar-izotonik serum H ₂ O ₂ (µM)
0.dk	0	0	0	0
1.dk	29,399	29,399	29,399	29,399
2.dk	29,399	29,399	29,399	29,399
3.dk	29,399	88,197	29,399	29,399
4.dk	29,399	88,197	88,197	88,197
5.dk	29,399	88,197	88,197	88,197

2 mm iç yarıçapındaki cam boruya 7 kV voltaj ve 50 kHz frekans parametrelerinde olan güç kaynağı bağlantısında cam borudan 5 lt/dk akış hızında geçirilen He gazı ve Ar gazının distile su ve izotonik serumu uygulamaları sonrasında sıvı ortamındaki pH, ORP, H₂O₂ değerlerinin incelenmiştir. Ar plazma etkinliğinin uygulama ortamı üzerinde daha etkili olduğu gözlenmiştir. Plazmanın içeriğinin etkili olmasında hem kullanılan materyallerin parametrelerinin etkinliği hem de uygulama süresinin önem arz ettiği düşünülmektedir. Kullanılan materyallerden borosilikat cam borunun iç yarıçapı 2 mm'den 3 mm iç yarıçapına arttırılmıştır. Plazma uygulama süresi 5 dk'dan 10 dk'ya çıkartılmıştır. Kullanılan 7 kV voltaj, 50 kHz frekans güç kaynağı yanında 6 kV voltaj, 4 kHz frekans parametrelerinde farklı bir güç kaynağı

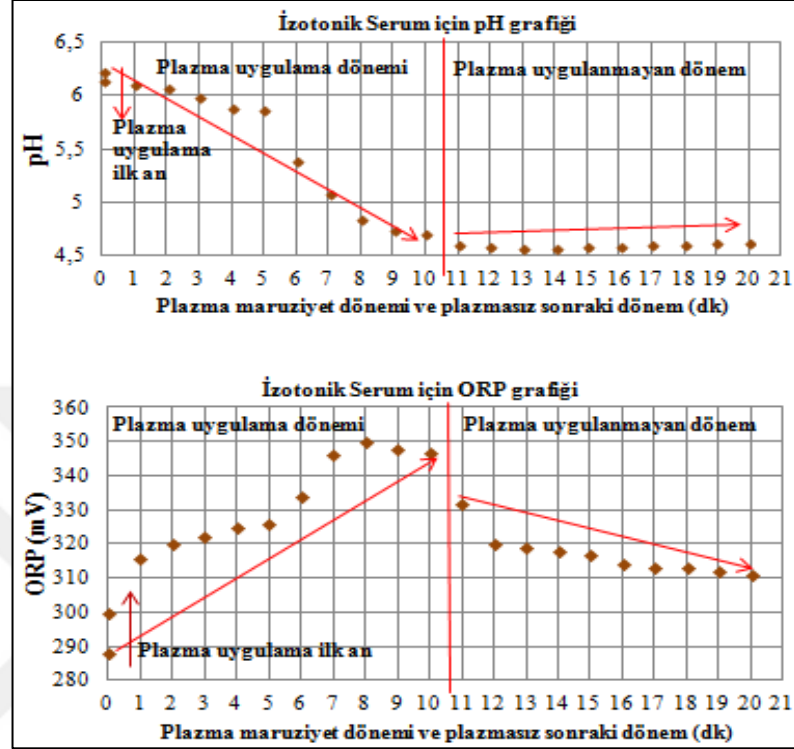
kullanılmıştır. Bu durumun incelenmesi açısından Ar gazının 5 lt/dk akış hızında, 6 kV voltaj, 4 kHz frekans ayarında farklı bir güç kaynağı etkisinde farklı iç yarıçapındaki (3 mm) borosilikat cam boru kullanılarak şekil 3.22’de tasarlanmış olan plazma kalem izotonik seruma uygulanarak plazma verileri elde edilmiştir. Ayrıca Ar gazının 5 lt/dk akış hızında, 7 kV voltaj, 50 kHz frekans ayarındaki güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçapındaki borosilikat cam boruda oluşturduğu Ar plazmadan alınan veriler ile karşılaştırılması yapılmıştır. Şekil 4.39’da 6 kV voltaj, 4 kHz frekans parametresindeki güç kaynağı bağlantısında cam boruda oluşturulan Ar plazmanın izotonik seruma ilk 10 dk plazma uygulama dönemi ile sonraki 10 dk plazma olmayan dönem olarak toplamda 20 dk boyunca zamanla değişen pH ve ORP grafikleri verilmiştir.



Şekil 4.39. 6 kV-4 kHz güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın izotonik serum için ilk 10 dk uygulama dönemi ve sonraki 10 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği

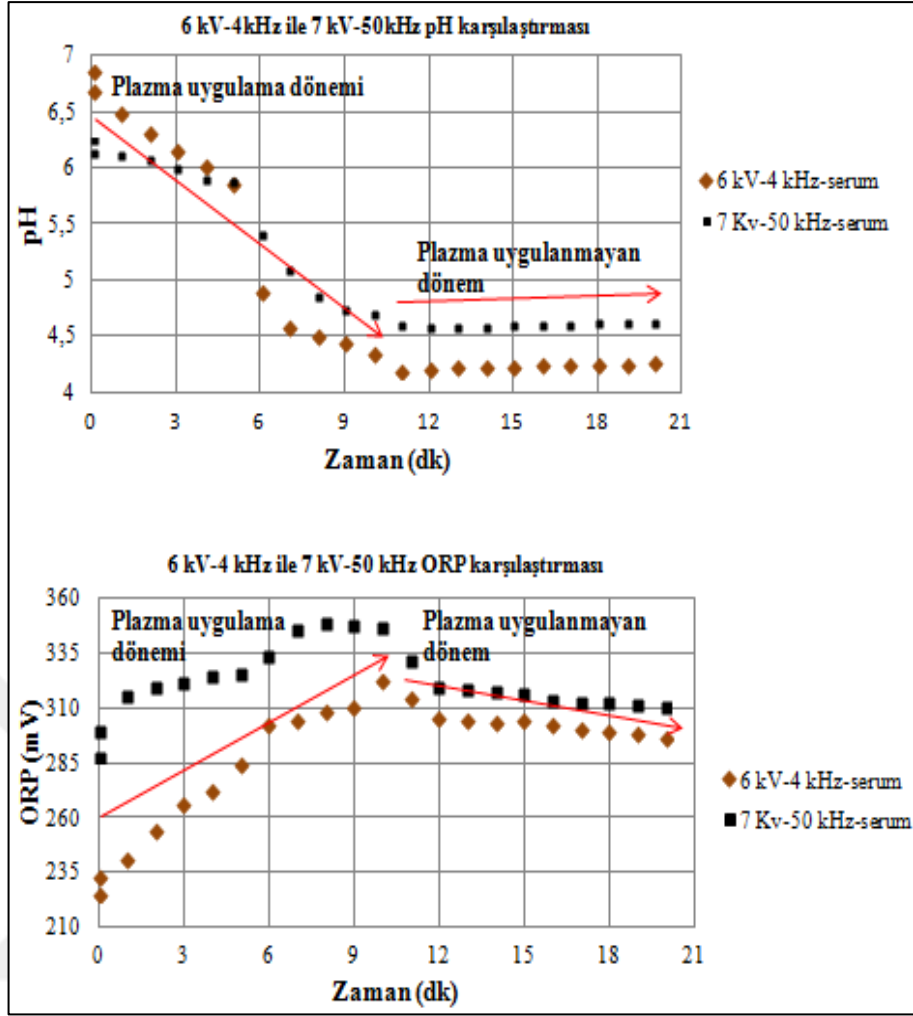
Ar plazmanın ilk 10 dk plazma uygulama dönemi boyunca izotonik serumda pH değerini 6,85’ten 4,35’e düşürmüş olduğu gözlemlenmiş sonraki 10 dk plazmasız dönem olarak ölçümlere devam edildiğinde pH değeri 4,26 değerine ulaşmıştır. ORP değeri için Ar plazmanın etkisi, ilk 10 dk uygulama dönemi boyunca 226 mV’dan 323 mV değerine kadar yükseltmiş sonraki 10 dk plazmasız dönem olarak ölçümlere devam edildiğinde ORP değeri 297 mV değerine ulaştığı gözlemlenmiştir. ORP değeri plazma uygulama dönemi boyunca artış göstermiş iken plazma uygulama kesildikten sonra bir süre boyunca değerini korumuş sonrasında azalmaya başladığı gözlemlenmiştir. Şekil 4.40’da 7 kV voltaj, 50 kHz frekans parametresindeki güç

kaynağı bağlantısında cam boruda oluşturulan Ar plazmanın izotonik serumda ilk 10 dk plazma uygulama dönemi ile sonraki 10 dk plazma olmayan dönem olarak toplamda 20 dk boyunca zamanla değişen pH ve ORP grafikleri verilmiştir.



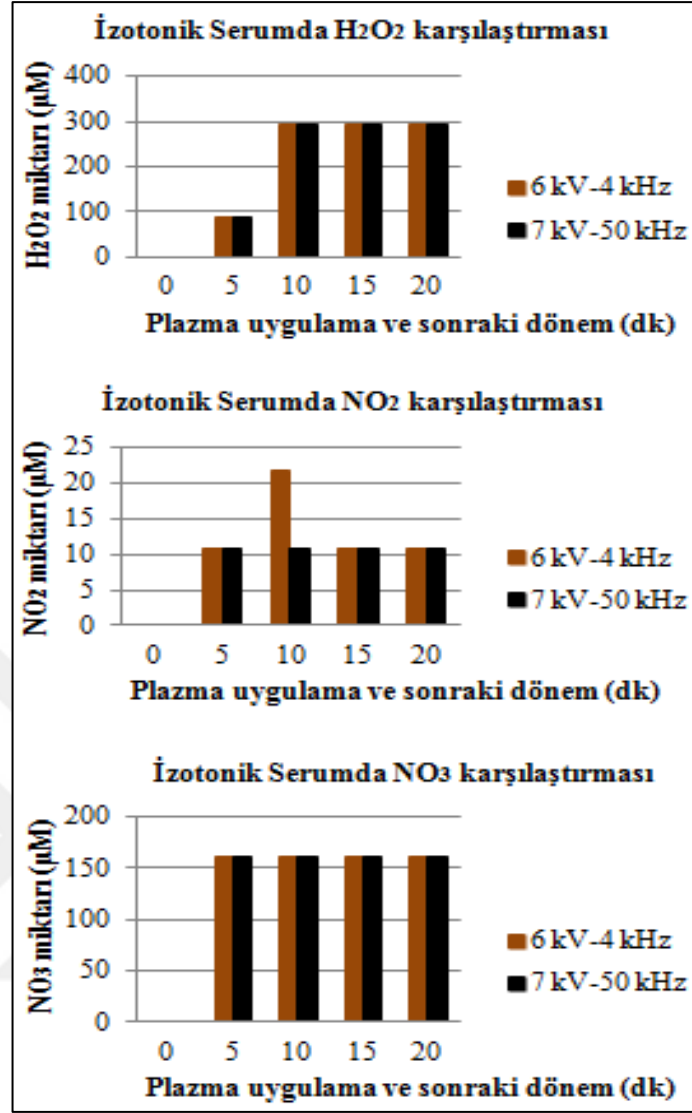
Şekil 4.40. 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın izotonik serum için ilk 10 dk uygulama dönemi ve sonraki 10 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği

Ar plazmanın ilk 10 dk plazma uygulama dönemi boyunca izotonik serumda pH değerini 6,24'ten 4,7'ye düşürmüş olduğu gözlemlenmiş sonraki 10 dk plazmasız dönem olarak ölçümlere devam edildiğinde pH değeri 4,62 değerine ulaşmıştır. Yani pH değeri belli bir süre daha düşmeye devam etmiştir. ORP değeri için Ar plazmanın etkisi, ilk 10 dk uygulama dönemi boyunca 288 mV'dan 347 mV değerine kadar yükseltilmiş sonraki 10 dk plazmasız dönem olarak ölçümlere devam edildiğinde ORP değerinin 311 mV değerine ulaştığı gözlemlenmiştir. ORP değeri plazma uygulama dönemi boyunca artış göstermiş iken plazma uygulama kesildikten sonra bir süre boyunca değerini korumuş sonrasında azalmaya başladığı gözlemlenmiştir. Her iki güç kaynağı etkisinde oluşan plazmaların izotonik serumda uygulama süreci ve sonrasında pH ve ORP verilerinin karşılaştırılması şekil 4.41'de verilmiştir.



Şekil 4.41. 6 kV-4 kHz ile 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın izotonik serum için ilk 10 dk uygulama dönemi ve sonraki 10 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen pH ve ORP grafiği

Her iki güç kaynağı etkisinde oluşan plazmaların izotonik seruma uygulama süreci ve sonrasında uygulaması yapılan ortamdaki alınan H_2O_2 (Hidrojen peroksit), NO_2 (Nitrit) ve NO_3 (Nitrat) verilerinin karşılaştırılması şekil 4.42’de verilmiştir.



Şekil 4.42. 6 kV-4 kHz ile 7 kV-50 kHz güç kaynağı etkisinde 3 mm iç yarıçapta oluşan Ar plazmanın izotonik serum için ilk 10 dk uygulama dönemi ve sonraki 10 dk uygulama olmayan dönem boyunca değişen H₂O₂, NO₂ ve NO₃ grafiği

Her iki güç kaynağı etkisinde oluşan plazmaların izotonik seruma uygulama süreci ve sonrasında uygulaması yapılan ortamdan alınan H₂O₂ (Hidrojen peroksit) ölçüm değerleri mg/L cinsinden µM cinsine, NO₂ (Nitrit) ve NO₃ (Nitrat) ölçüm değerleri ppm cinsinden µM cinsine dönüştürülerek çizelge 4.14'de verilmiştir.

Çizelge 4.14. Ar plazmanın izotonik serumda oluşturdukları H₂O₂, NO₂ ve NO₃ miktarlarının µM cinsinden değerlerin zamana bağlı değişen ölçüm değerleri

türler dk	H ₂ O ₂ (µM)		NO ₂ (µM)		NO ₃ (µM)	
	6kV, 4kHz	7 kV,50kHz	6kV, 4kHz	7 kV,50kHz	6kV, 4kHz	7 kV,50kHz
0 dk	0	0	0	0	0	0
5 dk	88,2	88,2	10,8	10,8	161,2	161,2
10 dk	294	294	21,7	10,8	161,2	161,2
15 dk	294	294	10,8	10,8	161,2	161,2
20 dk	294	294	10,8	10,8	161,2	161,2

Her iki güç kaynağının H₂O₂, NO₂ ve NO₃ değerleri oluşturma miktarları incelendiğinde 6 kV, 4 kHz parametrelerindeki güç kaynağı bağlantısında oluşturulan plazmadan elde edilen verilerde içerik olarak reaktif tür değerlerinin 7 kV, 50 kHz parametrelerindeki güç kaynağında oluşturulan plazmadaki reaktif tür miktarlarına göre daha zengin olduğu bilgisine ulaşılmaktadır. Çizelge 4.12 incelendiğinde Ar plazma içeriğinde ölçümü yapılan türlerin değerleri, H₂O₂ ve NO₃ için fazla değişiklik göstermemiştir. NO₂ değerleri ise 6 kV, 4 kHz parametrelerindeki güç kaynağı etkisinde 10.dk sonunda 21,7 µM değerine ulaşırken 7 kV, 50 kHz parametrelerinde ayarlanmış diğer güç kaynağı etkisindeki izotonik serumdan alınan ölçüm değeri 10,8 µM değerini korumaya devam etmiştir. Buradan 6 kV, 4 kHz parametresinde ayarlanmış olan güç kaynağının, 7 kV, 50 kHz parametresinde ayarlı diğer güç kaynağına göre plazma içeriğinde değişiklikler yaptığını böylelikle etki ettiği sıvı ortam içeriğinde oluşan kimyasalların ölçüm değerlerini değiştirdiği gözlemlenmiştir. Spektrum analizlerinde Ar ve He plazma içeriklerinde OH, NO, NII, OI, OII gibi reaktif türlerin oluştuğunu sonuçlarda gözlemlenmiştir. Plazma içeriğinde yer alan tür miktarları arttıkça plazmanın uygulamasının yapıldığı ortama geçmesiyle birlikte ortamda reaksiyonlar meydana gelecektir. Plazma içerisinde oluşup belli bir süre sonrasında yok olan bu türlerin nasıl reaksiyonlar sonucu ortaya çıktıklarının reaksiyon tahminlerini içeren reaksiyon türleri çizelge 4.15'te verilmiştir.

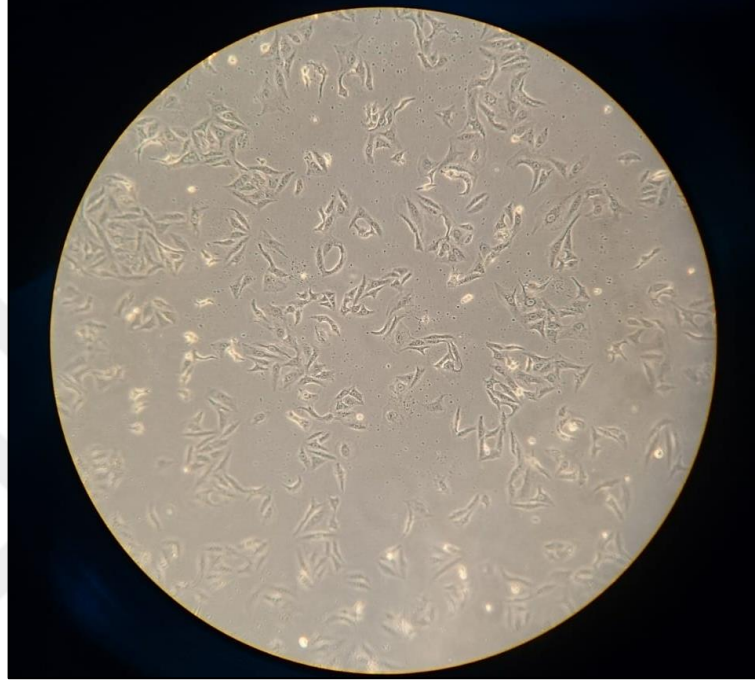
Çizelge 4.15. Reaktif türlere ait reaksiyon tahminleri (Kutlu, 2018)

Numarası	Tepkime türü	Referans
1	$e + H_2O \rightarrow H + OH + e$	Liu vd., 2014
2	$e + H_2O \rightarrow 2e + H_2O^+$	Liu vd., 2014
3	$e + H_2O^+ \rightarrow H + OH$	Liu vd., 2014
4	$e + H_2O^+ \rightarrow H + H + O$	Liu vd., 2014
5	$OH + OH \rightarrow O + H_2O$	Liu vd., 2014
6	$O + OH \rightarrow H + O_2$	Liu vd., 2014
7	$H + O_2 \rightarrow OH + O$	Liu vd., 2014
8	$H_2O + O \rightarrow OH + OH$	Liu vd., 2014
9	$He^+ + H_2O \rightarrow H_2O^+ He$	Liu vd., 2014
10	$He^* + H_2O \rightarrow e + H_2O^+ + He$	Liu vd., 2014
11	$He_2^* + H_2O \rightarrow e + 2He + H_2O^+$	Liu vd., 2014
12	$Ar^* + O_2 \rightarrow O^* + O + Ar$	Jiang vd., 2017
13	$Ar^* + O_2 \rightarrow Ar + 2O$	Schmidt-Bleker vd., 2015
14	$e + Ar \rightarrow e + Ar$	Jiang vd., 2017
15	$e + Ar \rightarrow 2.e + Ar^+$	Jiang vd., 2017
16	$2.Ar \rightarrow Ar^+ + Ar + e$	Jiang vd., 2017
17	$Ar^* + O \rightarrow O^* + Ar$	Jiang vd., 2017
18	$O + O + M \rightarrow O_2 + M$	Jeong vd., 2000
19	$O + O_2 + M \rightarrow O_3 + M$	Jeong vd., 2000
20	$O + O_3 \rightarrow O_2 + O_2$	Jeong vd., 2000
21	$O_3 + M \rightarrow O + O_2 + M$	Jeong vd., 2000
22	$e + O_2 \rightarrow O^* + O + e$	Jiang vd., 2017
23	$e + O \rightarrow O^* + e$	Jiang vd., 2017
24	$e + O_2 \rightarrow O + O^-$	Schmidt-Bleker vd., 2015
25	$e + O_2 \rightarrow e + O_2$	Schmidt-Bleker vd., 2015
26	$e + O_2 \rightarrow 2.e + O_2^+$	Schmidt-Bleker vd., 2015
27	$e + O_2 \rightarrow e + O + O^+$	Schmidt-Bleker vd., 2015
28	$N + OH \rightarrow NO + H$	Schmidt-Bleker vd., 2015
29	$N_2^* + O_2 \rightarrow N_2O + O$	Schmidt-Bleker vd., 2015
30	$N_2^* + O_2 \rightarrow 2O + N_2$	Schmidt-Bleker vd., 2015
31	$N + O_2 \rightarrow NO + O$	Schmidt-Bleker vd., 2015
32	$N + NO \rightarrow N_2 + O$	Schmidt-Bleker vd., 2015
33	$N_2^* + O \rightarrow NO + N$	Schmidt-Bleker vd., 2015
34	$e + N_2 \rightarrow e + N_2$	Schmidt-Bleker vd., 2015
35	$e + N_2 \rightarrow 2.e + N_2^+$	Schmidt-Bleker vd., 2015
36	$e + N_2 \rightarrow e + 2.N$	Schmidt-Bleker vd., 2015

4.9. Plazma Uygulama Öncesinde MCF-7 Meme Kanseri Hücre Kültürü Hazırlama Sonrası Gözlemlenen Bulgular

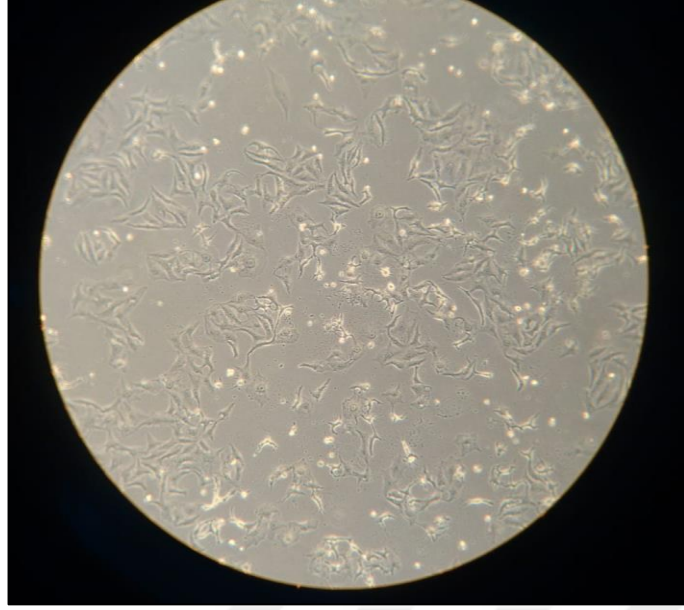
Laboratuvarımıza ulaştırılan MCF-7 meme kanseri hücre hattı, meme kanseri hücre kültürü için besiyer hazırlama işlemlerinin ardından iki adet 75 cm²'lik flask içerisinde 37°C'de %5 CO₂ gaz akış parametrelerinde ayarladığımız inkübatöre steril koşullarda yerleştirilerek inkübasyon işlemine maruz bırakıldı. Bu işlem hücrelerin çoğaltılarak pasajlama işlemine uygun duruma getirilmesi için gereklidir. Böylelikle hücrelerin çoğalarak %80 doygunluğa ulaşması için ve de laboratuvarımıza getirilen

hücre kültürünün ortama uyum sağlaması için belirli bir süre inkübatörde muhafaza edilmesi sonrası inkübatörden çıkarıldı. İnkübatörden çıkarılan flasklarımız inverted mikroskoba yerleştirilerek hücrelerin durumu gözlemlendi. Şekil 4.43’de inverted mikroskopta çoğaldığını gözlemlediğimiz MCF-7 meme kanseri hücre kültürü verilmiştir.



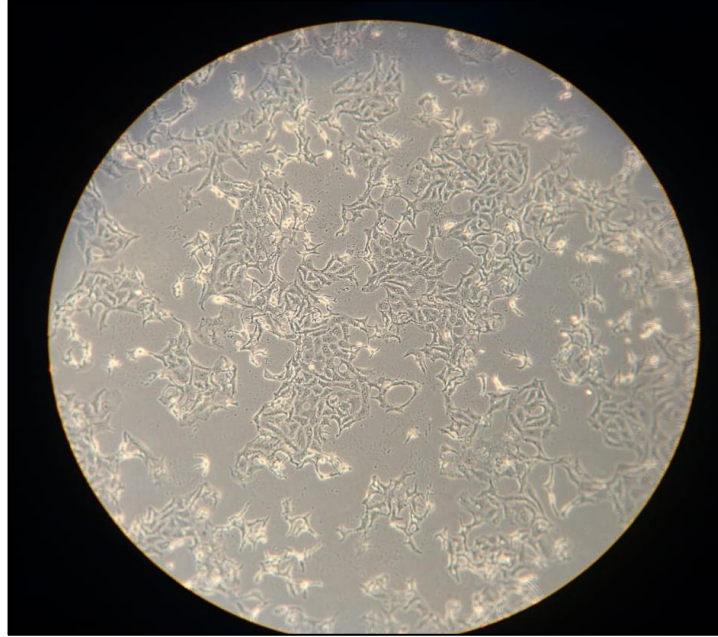
Şekil 4.43. İnkübatörde 1.gün sonunda çoğalmakta olduğu gözlemlenen MCF-7 meme kanseri hücre kültürü

Flasklardaki MCF-7 meme kanseri hücrelerin inkübatörde muhafaza edildiği 1.gün sonunda ortama uyum sağlayarak çoğalmaya başladığı inverted mikroskopta gözlemlenmiştir. Ancak %80 doygunluk oranına ulaşması için belirli zamanlarda hücre kültür besiyeri değiştirilerek gözlem yapılmaya devam edildi. 3.gün sonunda inkübatörden çıkarılarak inverted mikroskopta yapılan inceleme şekil 4.44’de verilmiştir.



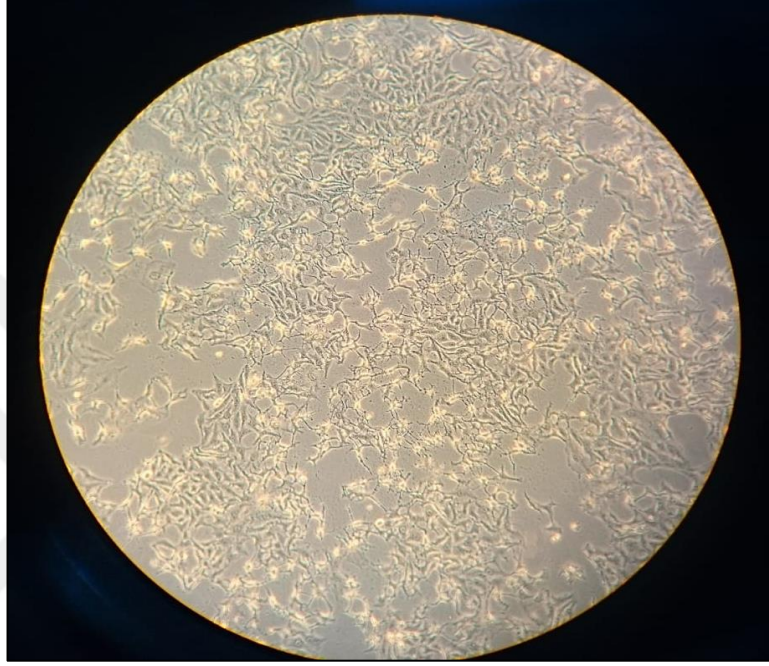
Şekil 4.44. İverted mikroskofta 3.gün sonunda çoğalmakta olduğu gözlemlenen MCF-7 meme kanseri hücre kültürü

3.gün sonunda gözlemlediğimiz meme kanseri hücre kültürünün 1.güne nispeten hücre sayılarında artış meydana geldiği gözle görülür seviyededir. Besiyer değişim işlemi yapılmasının ardından hücreler 2 gün daha inkübatör içerisinde çoğalmaya bırakıldı. 5.gün sonunda tekrar mikroskofta incelediğimiz görüntü şekil 4.45’de verilmiştir.



Şekil 4.45. İverted mikroskofta 5.gün sonunda çoğalmakta olduğu gözlemlenen MCF-7 meme kanseri hücre kültürü

5.gün sonunda gözlelediğimiz meme kanseri hücre kültürünün 3.güne nispeten çoğalmakta olan hücre sayılarında artış gözle görülebilmektedir. Besiyer değişim işlemi yapılmasının ardından 2 gün daha inkübatör içerisinde çoğalmaya bırakılan hücreler 7.gün sonunda tekrar mikroskopta incelendiğinde şekil 4.46'da ki görüntü elde edilmiştir.

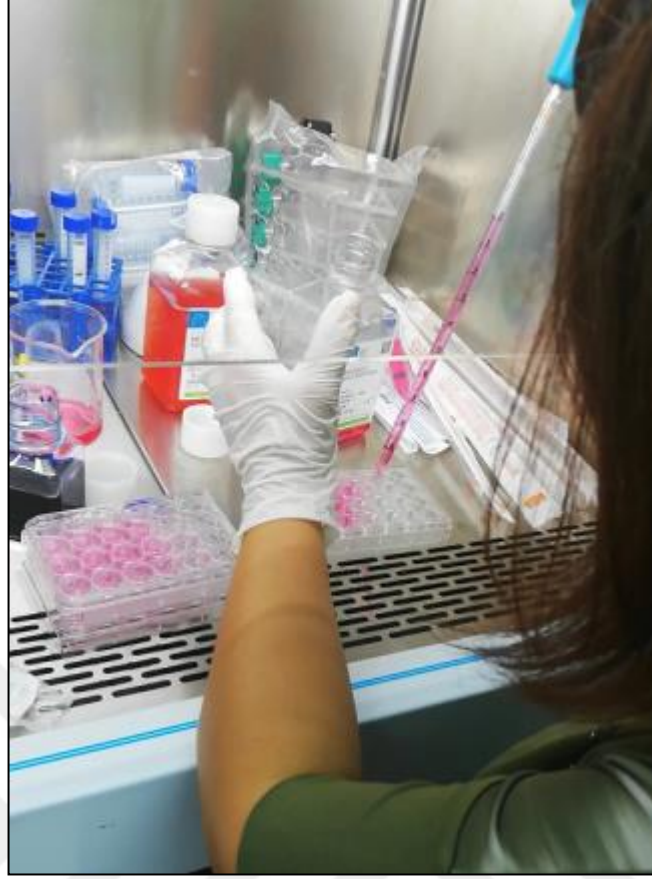


Şekil 4.46. İverted mikroskopta 7.gün sonunda çoğalmakta olduğu gözlemlenen MCF-7 meme kanseri hücre kültürü

7.gün sonunda gözlelediğimiz meme kanseri hücre kültürü pasajlama için hazır hale gelmiştir. Pasajlama işlemiyle hücreler daha fazla çoğaltılarak ilaç ve plazma uygulaması için hazır hale getirilmiştir.

4.10. MCF-7 Hücre Kültürü Deney Gruplarına Doxorubisin İlacı Uygulaması ve He/Ar Plazma Uygulamalarının Gerçekleştirilmesi

MCF-7 meme kanseri hücre kültürü, inkübasyon işleminin ardından hücrelerin çoğaltılarak pasajlama işlemine uygun duruma getirilmesiyle %80 doygunluğa ulaştıkları gözlemlendi. Doksorubisin ilacı ve plazma uygulaması işlemine hazır hale gelene kadar 5 kez pasajlama işlemine tabi tutuldu. Planlanan deney grupları için 24 kuyucuklu plate içerisine hücre kültürü ekim işlemleri yapıldı. Şekil 4.47'de 24 kuyucuklu plate içerisine yapılan hücre ekimi gösterilmiştir.



Şekil 4.47. 5.kez pasajlama sonucu 24 kuyucuklu plate içerisine yapılan hücre ekimi

24 kuyucuklu platalere hücre ekimi yapılmasından 24 saat sonra inkübatörden alınarak biyogüvenlik kabini içerisinde $1 \mu\text{M}$ ve $0,5 \mu\text{M}$ dozlarda hazırlanmış olan Doksorubisin ilacı kuyucuklara $20 \mu\text{L}$ miktarında eklenmiştir. Doksorubisin eklenmesinin ardından 24 saat inkübasyon sonrasında He/Ar plazma uygulamasına hazır hale getirilmiştir. Deney grupları; sadece plazma uygulamasının olduğu gruplar sırasıyla 100 sn He plazma, 300 sn He plazma, 100 sn Ar plazma, 300 sn Ar plazma olarak, sadece ilaç uygulamasının olduğu gruplar sırasıyla DOX $1 \mu\text{M}$, DOX $0,5 \mu\text{M}$ olarak gruplanırken, He plazma+ilaç uygulamasının olduğu gruplar, DOX $1 \mu\text{M}$ +100 sn He plazma, DOX $0,5 \mu\text{M}$ +100 sn He plazma, DOX $1 \mu\text{M}$ +300 sn He plazma, DOX $0,5 \mu\text{M}$ +300 sn He plazma olarak, Ar plazma+ilaç uygulamasının olduğu gruplar sırasıyla DOX $1 \mu\text{M}$ +100 sn Ar plazma, DOX $0,5 \mu\text{M}$ +100 sn Ar plazma, DOX $1 \mu\text{M}$ +300 sn Ar plazma, DOX $0,5 \mu\text{M}$ +300 sn Ar plazma olarak belirlenmiştir. Şekil 4.48’de 24 kuyucuklu plate içerisinde her bir kuyucuğa He/Ar plazma uygulamaları gösterilmiştir. He plazma uzunluğu yeterli uzunluklara ulaşmasından dolayı 1 cm mesafeden kuyucuklardaki hücre kültürüne uygulanabilirken, Ar plazma 0,5 cm mesafeden kuyucuklardaki hücre kültürüne uygulanabilmiştir.



Şekil 4.48. Hücre kültürü deney gruplarına 7 kV-50 kHz parametrelerinde 5 L/dk akış hızında oluşturulan He plazma uygulaması (solda), Hücre kültürü deney gruplarına 7 kV-50 kHz parametrelerinde 5 L/dk akış hızında oluşturulan Ar plazma uygulaması (sağda)

Yalnızca plazma, yalnızca Doksorubisin, Doksorubisin + plazma grupları uygulamalarının ardından 24 saat, 48 saat ve 72 saat sonunda deney grupları üzerindeki etki mekanizmaları değerlendirilmiş ve sonuçları karşılaştırılmıştır. İlk 24 saat inkübasyon sonrası inkübatörden alınıp hücre kültüründen alınan örnek sayım işlemine hazır hale getirildi. Thoma lamına eklenen örneğin ışık mikroskopunda yapılan incelemelerinde Sadece He plazmanın 100 sn ve 300 sn'lerdeki uygulamalarında ortamdaki meme kanseri hücrelerinin tamamiyle yok ettiği gözlenirken, Sadece Ar plazmanın 100 ve 300 sn'lerdeki uygulamalarında ortamdaki meme kanseri hücrelerini neredeyse büyük oranda yok ettiği gözlemlenmiştir. Doksorubisin'li olan sadece ilaç gruplarında ise 24.saat sonunda tamamiyle meme kanseri hücrelerini yok ettiği gözlenirken 48.saat ve 72.saat sonunda meme kanseri hücrelerinin ortamda var olmaya başladığı gözlemlenmiş ve bu durum meme kanseri hücrelerinin Doksorubisin ilacına direnç gösterme eğilimde olduğunu ifade etmektedir. Doksorubisin+plazma gruplarında ise 24, 48 ve 72 saat sonunda meme kanseri hücrelerini tümüyle yok ettiği gözlemlenmiş olup ilaç ile birlikte He/Ar plazma uygulamalarının gerçekleştirilmesi meme kanseri hücrelerinin Doksorubisin ilacına direnç gösterme eğilimine engel olduğunu göstermiştir.

Genel olarak çalışma sonunda elde edilen bulgular sırasıyla incelendiğinde 7 kV voltaj, 50 kHz frekans parametrelerinde oluşturulan He ve Ar plazmaların spektrometre ile alınan ölçüm verileri Origin programında analiz edildiğinde tespit

edilen piklerin dalga boyu ve şiddetlerinin NIST 2019 veri tabanında hangi türe karşılık geldiğinin tespit edilmesinin ardından $y = mx + n$ denklemine göre yapılan hesaplamada ortaya çıkan plazma sıcaklık değerleri, literatürde sınıflandırılan non-LTE plazmalar sınıfına giren soğuk plazmalar olarak adlandırılmıştır (Tendero vd., 2006). Plazma içeriğinde yer alan reaktif oksijen türlerin (ROS) ve reaktif nitrojen türlerin (RNS) seviyeleri normal hücrelerde küçük antioksidanlar ve enzimler tarafından düzenlenmektedir (Gay-Mimbrera vd., 2016). Ortamda aşırı miktarda oluşan ROS türleri kanser hücreleri üzerinde oksidatif stres meydana getirerek hücre ölümlerine sebep olmaktadır. Normal hücreler ROS seviyelerini düzenleyebilirken kanser hücreleri zayıf antioksidan mekanizmalarına sahip olmalarından dolayı hücre ölümleri meydana gelmektedir (Tanaka ve Hori, 2017). Plazmanın sıvı ortam içeriğinde oluşturduğu kimyasalları tespit etmede tek kullanımlık test şeritleri ile distile su, izotonik serum gibi sıvılarına He ve Ar plazmanın 5 dk ve 10 dk uygulamaları yapılmıştır. Ortamda RNS'nin radikal türlerinden olan NO_2 ve NO_3 türleri, ROS'un radikal olmayan türlerinden H_2O_2 tespit edilmiş ve plazmanın meme kanseri hücrelerine etki etme mekanizmasında önemli rol oynamaktadırlar. Ayrıca plazma uygulanan sıvının pH ve ORP gibi parametreleri de uygulama süresi boyunca değiştirmiş olduğu gözlemlenmiştir. ORP değerinin plazma uygulama süreci boyunca artış göstermesi ve belli süre boyunca artış gösterdiği değeri koruduğu gözlemlenmiştir. Milivolt (mV) cinsinden ölçülen ORP değeri, sıvı dezenfeksiyon parametrelerini standardize etmede kullanılan bir yaklaşım olduğu böylelikle sıvı dezenfeksiyon potansiyelinin gerçek zamanlı olarak izlenmesi olanağı sağladığı ifade edilmiştir (Suslow, 2004). Böylelikle plazmanın sıvı ortam üzerindeki oluşturduğu artan ORP seviyeleri sıvının antimikrobiyel kalitesini arttırdığı anlamına gelebilir. Çalışmamızda iki farklı dozda ($0,5 \mu M$ ve $1 \mu M$) Doksorubisin ilacı ile iki farklı sürede (100 ve 300 sn) He/Ar plazma uygulamaları gerçekleştirilerek farklı sürelerde plazma uygulamaları ile farklı dozlarda Doksorubisin ilacı etkisi karşılaştırılmıştır. Koşar ve arkadaşları, çalışmalarındaki Doksorubisin ilacının farklı dozlardaki etkisini karşılaştırabilmek için iki farklı dozda Doksorubisin ilacı ile çalıştıkları belirtilmiştir (Koşar vd., 2016). Mirpour ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada atmosferik basınç He plazma jet, 60 ve 300 sn boyunca meme kanseri hücrelerine, sağlıklı normal hücrelere uygulamaları gerçekleştirilerek etki süreleri sonrası elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır (Mirpour vd., 2014). He ve Ar plazma içerikleri ve etki mekanizmaları incelendiğinde uygulamalar için hem daha güvenli hem de daha

etkili olan plazmanın He plazma olduğu belirtilmiştir (Kutlu, 2018) Uygulamamız sonrası He plazmanın Ar plazmaya göre istatistiksel yapılan değerlendirmelerde He plazmanın daha etkili olduğu gözlenmiştir.

İstatistiksel açıdan yapılan değerlendirmede, kültür kaplarında yer alan hücre hatlarından ölçülen verilerin normallik analizi için grafiksel histogramlar, basıtlık ve çarpıklık değerleri Şekil 4.49’da gösterilen Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi.

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Süre_24	,300	54	,000	,752	54	,000
Süre_48	,198	54	,000	,839	54	,000
Süre_72	,276	54	,000	,612	54	,000

Şekil 4.49. Shapiro-Wilk (normallik) analizi

Ölçüm verilerinin normal dağılıma uymadığı görüldü. Aynı zamanda verilerin homojenliği için Şekil 4.50’de gösterilen Levene testi ile analiz edildi.

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Süre_24	1,815E16	14	39	,000
Süre_48	1,815E16	14	39	,000
Süre_72	1,588E16	14	39	,000

Şekil 4.50. Levene (homojenlik) analizi

Verilerin homojen olmadığı görüldü. Bu sebeple veri normal dağılıma uymadığı, homojen olmadığı ve aşırı uç değer olduğu için non-parametrik test yapmaya karar verildi. 2’den fazla bağımsız değişken olduğu için şekil 4.51’de gösterilen Kruskal-Wallis testi kullanılarak analiz edildi.

	Süre_24	Süre_48	Süre_72
Chi-square	52,945	52,779	52,730
df	14	14	14
Asymp. Sig.	,000	,000	,000
a. Kruskal Wallis Test			

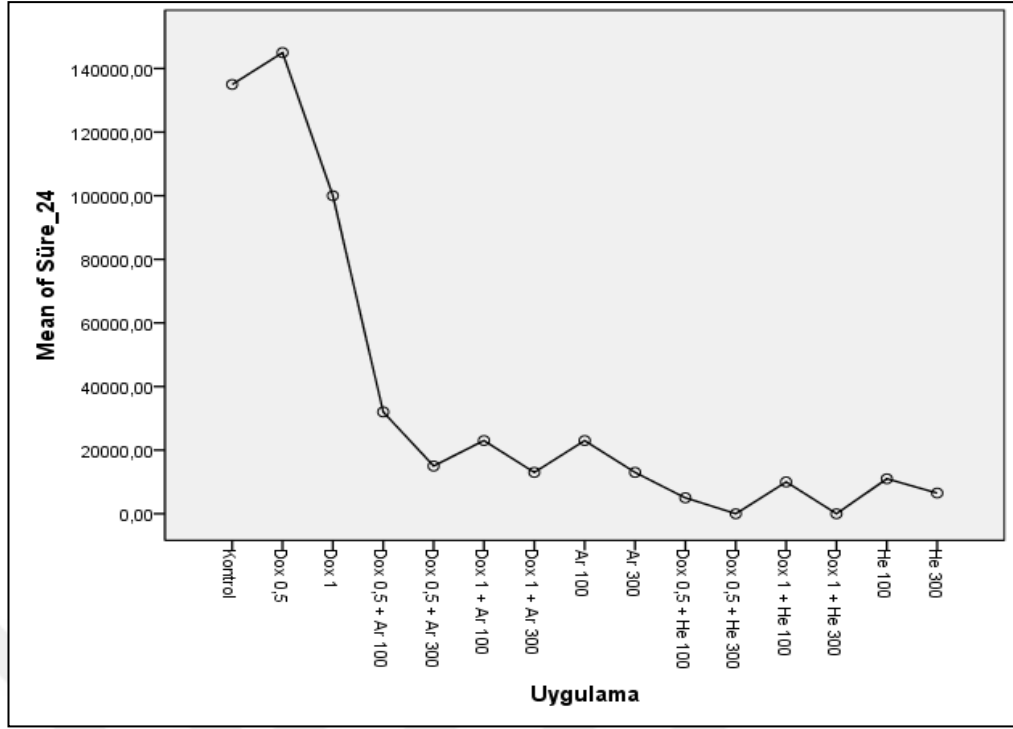
Şekil 4.51. Kruskal-Wallis analizi

Kruskal-Wallis'de H_0 hipotezi $p < 0.05$ olduğu için red edilerek en az iki grup arasında anlamlı fark olduğu görüldü. 24, 48, 72 saatlerde tekrarlanan ölçümlerde Anova'nın non-parametrik alternatifi olan şekil 4.52'de gösterilen Fridman testi (Bonferonni düzeltmeli) kullanılarak zamanın hücre canlılığı üstündeki etkisi incelendi.

N	54
Chi-square	37,781
df	2
Asymp. Sig.	,000
a. Friedman Test	

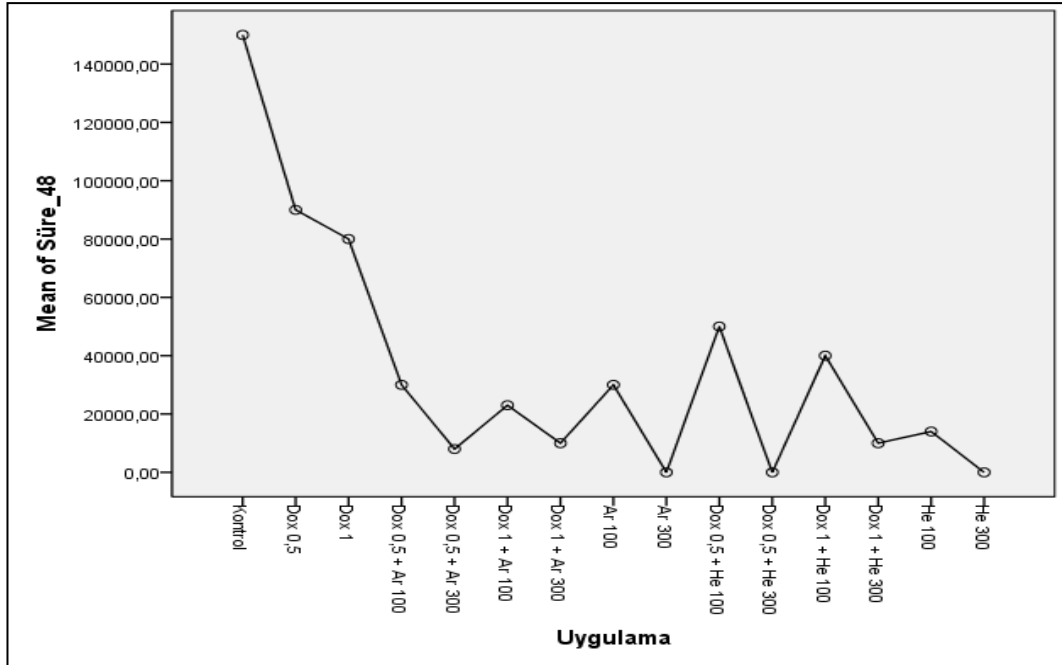
Şekil 4.52. Fridman (Bonferonni düzeltmeli) analizi

Buna göre anlamlı fark olduğu görüldü. Bu anlamlı farkların hangi zaman diliminden kaynaklandığını anlamak için ikili karşılaştırmalar yapıldı ve 24-48 saat arasında anlamlı fark olmadığı 48-72 ve 24-72 saat arasında anlamlı fark olduğu görüldü. Bunun sebebinin ilacın etki mekanizmasının ancak 48 saat sonrasında ortaya çıktığı ve 72 saate kadar artarak devam ettiği anlamına gelmekte olabilir. Ayrıca da plazmanın ilk uygulandığı 24 saat içinde kuyucuk içindeki besiyeri içeriğindeki kimyasallar ile etkileşime girdiği ancak 48.saatte kadar ortamdaki besiyerinin azalması ile plazmanın içeriğinin etki mekanizmasını ortaya koyabildiği anlamına gelebilir. Sonuçta Kruskal Wallis test sonucuna göre gruplar arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür. Bu farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını anlamak için Mann-Whitney testi ile 2'li karşılaştırmalar yapıldı. Karşılaştırmaların yapılabilmesi anlamlılık grafikleri incelenmiştir. Şekil 4.53'te 24 saat sonunda tüm deney gruplarını içeren anlamlılık grafiği gösterilmiştir.



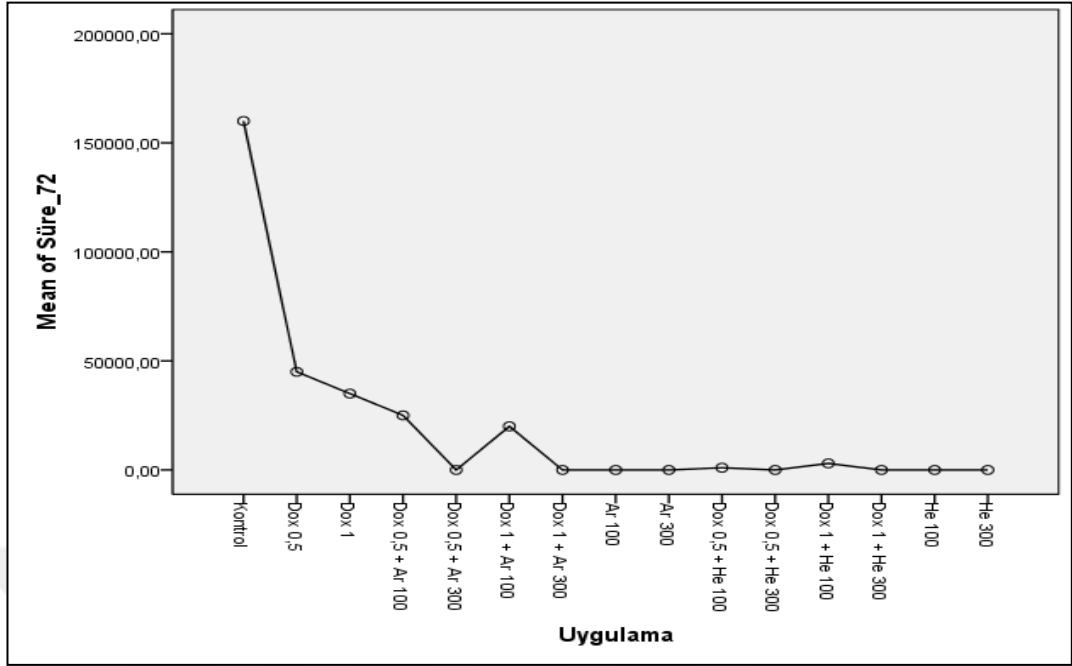
Şekil 4.53. 24 saat için anlamlılık grafiği

Şekil 4.54'te 48 saat sonunda tüm deney gruplarını içeren anlamlılık grafiği gösterilmiştir.



Şekil 4.54. 48 saat için anlamlılık grafiği

Şekil 4.55'te 72 saat sonunda tüm deney gruplarını içeren anlamlılık grafiği gösterilmiştir.



Şekil 4.55. 72 saat için anlamlılık grafiği

Karşılaştırmalarda He plazmanın Ar plazmaya göre daha etkin olduğu gözlenmiştir. Ayrıca plazma uygulama süresini arttırmak ilk 24 saatte hücre canlılık düzeyini hızlı bir şekilde azaltmıştır. Plazma etkinliği 48.saate kadar sürdüğü gözlenmiş olup plazma etki süresini arttırmak için plazma uygulama süresinin arttırılabileceği söylenebilir. Plazma uygulaması yanında 0,5 μ M ve 1 μ M olarak uygulanan iki farklı doz kanser hücreleri üzerinde ilk 24 saatte hücre canlılık düzeyini oldukça fazla oranda azaltmasına rağmen 24,48 ve 72 saatte ortamda Doksorubisin ilacına direnç olduğu gözlenmiş ve hücre canlılık düzeylerinde artış meydana geldiği görülmüştür. İlaça direnç gösteren hücreler ilaç+plazma uygulamalarında ilk 24 saatte hücre canlılığını ortadan kaldırmakta ancak plazma etkinliğinin 48.saate giderek azalmasıyla beraber meme kanseri hücreleri ilaca yeniden direnç gösterme eğiliminde olmuşlardır. He plazma+ilaç uygulamaları sırasında ilaç dozunu azaltarak uygulanmada plazmanın etkinliğini arttırdığı gözlenmiş, ilaç dozu arttırıldığı takdirde plazma etkinliğine engel olduğu gözlenmiştir. Ar plazma+ilaç uygulamalarında ilaç dozu arttırılma veya azaltılmasına rağmen ilacın varlığının Ar plazma etki mekanizmasına destek olmadığı gözlenmiştir. He ve Ar plazmaların ilaçla birlikte etkinliği devam ederken bu süreç boyunca meme kanseri hücrelerinin ilaca direnç gösterme eğilimine engel oldukları ancak plazma etkinliği 48.saatin sonunda azalmaya başlaması ile hücrelerin ilaca direnç göstererek hücre canlılık düzeylerini

değiştirdiği gözlemlenmiştir. Genel olarak gruplarda 72.saate gelindiğinde plazma hücre canlılığını ilk 24 saatte ortadan kaldırdığı gözlemlendiği için 48.saat ve 72.saat sonunda hücre canlılığının olmadığı durumu gözlemlenmeye devam etmiştir. 72.saat için kesinlikle plazma etkisi ya da ilaç etkisinden kaynaklı hücre canlılığının olmadığı ifade etmek tam olarak doğru olmayacaktır çünkü 72.saat sonunda ortamda besiyeri azlığı, hücrelerin atık maddelerinin çoğalması gibi parametrelerin de hücre canlılığını etkileyen faktörler olduğu tahmin edilmektedir. Tüm istatistiksel analiz ve hesaplamalar için Microsoft Office-Excel 2010 ve “SPSS for Windows Ver. 13.0” paket programları kullanılmıştır. İstatistiksel kararlarda $p < 0.05$ düzeyi anlamlı farklılığın göstergesi olarak kabul edilmiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüz kanser tedavilerine alternatif bir yöntem olması açısından tez çalışmamız önem arz etmektedir. Bu amaçla kanser tedavisinde kullanılabilir olacak şekilde tasarlanmış olan plazma kalem sistemi oluşturulmuş ve incelemesi yapılmıştır. Tasarlanmış plazma kalem sisteminde farklı kHz'li frekanslarda DC yüksek voltajlar güç kaynakları bağlantıları sağlanarak denemeleri yapılmıştır. Yüksek voltajlı kHz'li frekanslar ile atmosferik basınç plazma kalem sistemi ortaya konulmuş ve ayrı ayrı helyum ve argon gaz akışlarında çalışılarak helyum ve argon plazmaları elde edilmiştir.

Helyum gazı için dışarıdan elektrot bağlantıları yapılmış halde plazma kalem sistemi tasarlanmış iken Ar gazı için toprak bağlantısı içeriye yerleştirilmiş halde plazma kalem sistemi tasarlanmıştır. Bunun sebebi helyum gazının plazma haline dönüşmesinin daha kolay olmasından dolayı tercih edilmiş iken argon gazı dıştan verilen elektrot bağlantılarında oluşmadığı gibi stabil bir oluşum göstermeyip ark geçişleri olmasından ötürü toprak bağlantısı cam boru ucuna yakın mesafede olacak şekilde içeriye uzatılmış böylelikle argon plazma oluşumu görülebilir halde stabil olarak plazma çıkışı gözlenmiştir. He plazma kalem ucundan oldukça düzgün bir deşarj halinde ve rahat bir şekilde görülebilir uzunlukta elde edilebilirken, Ar plazma, He plazma kadar uzun olmayıp dallanmalı deşarj halinde ortaya çıkmaktadır.

Plazma üretmek için 2-3 mm iç yarıçaplara sahip borosilikat cam borular kullanılmıştır. Bunun sebebi ısınmaya karşı dayanma özelliğinin anlaşılması üzere kullanılmasına karar verilmiştir. Farklı yarıçaplarda cam boruların kullanılması plazma içeriğini etkileyip etkilemediğinin anlaşılması açısından değerlendirme yapılmıştır. Aynı gaz akışında farklı yarıçaplarda oluşan plazma içeriklerinde anlamlı değişimler gözlemlenmiştir. Plazmaları oluştururken elektrot bağlantılarının yerlerine Al bant kullanılmasının plazma çıkışını güçlendirdiği aynı zamanda ölçülen pik şiddet değerlerinin Al bant olmayan bağlantıya göre daha şiddetli olduğu ölçülmüştür. Bunun sebebi Al bant elektrot bağlantılarının yüzey alanının genişlemesini sağlamasıdır. Elektrot bağlantı yerlerine plazmayı güçlendirmek amacıyla Al bant konulabilir ve elektrot yerlerine yapıştırılan Al bantların yüzey alanı değiştirilerek plazmada piklerin oluşumu ve piklerin şiddet değerleri

değiştirilebilir. He plazma kalem tasarım modeli ile Ar plazma tasarım modelinin değişiklik gösterdiği görülmektedir. Bunun sebebi He gazı periyodik tabloda 2 atom numarası iken Ar gazının atom numarası 9 olması iyonlaşma enerji düzeylerinin farklılık göstermesi, He plazmanın Ar plazmaya göre daha kolay oluştuğunu göstermektedir. Ar plazma oluşumunda cam boru içerisine uzatılan paslanmaz çelik ya da bakır çubuktan uyarılmış olan elektronların üretilen plazma içeriğinde yer almasıyla birlikte plazmanın aktarıldığı ortama geçme riski oluşturabilmektedir. Ayrıca hücre kültürüne plazma uygulaması sırasında hücre kültür ortamı ile plazma kalem ucunun mesafesine dikkat edilmesi gerekmekte olup dikkat edilmediği takdirde hücre ortamında kontaminasyon riskini oluşturabilmektedir. Bu gibi risklerden dolayı He plazma kalem tasarım modelinde olduğu gibi elektrot bağlantılarının cam boru üzerinden bağlanması uygulamanın güvenilirliği açısından önem arz etmektedir. Ar plazma kalem sisteminde cam boru içerisine uzatılan elektrotun plazma içeriğine karışmasının önlenmesi açısından elektrot çubuğun dışından elektrota temas etmeyen bir ucu kapalı olan cam boru ile kapanarak kalem sisteminin içerisinde güvenli olarak çalıştırılabilir. Ayrıca bir çözüm olarak hem He plazma oluşumunda hem de Ar plazma oluşumunda plazma kalem tipi parametrelerinin aynı olması elde edilecek sonucu daha güvenilir yapması açısından önemli olup tasarlanan kalem sisteminin her ikisinde de aynı tasarıma sahip olmasına dikkat edilmesi önerilmektedir. Plazma kalem tasarımında cam boru cinsinin ısınmaya karşı daha dayanıklı olması açısından cam boru cinsi borosilikat cinsinden farklı olarak quartz tip cam borunun kullanılabilir olması da sistemin güvenliğini daha fazla arttırabileceğini düşündürmektedir.

LR-1 optik emisyon spektrum cihazı ile hem He hem de Ar plazmalarda çoğunlukla 195,501 nm de O II, 282,87 nm de NO, 309 nm de OH, 337 nm de NII, 777, 1 nm de O I gibi pikler tespit edilmiştir. Hem He plazma için hem de Ar plazma için 5 L/dk akış hızlarında çoğunlukla en yüksek pik şiddetlerine ulaşılmıştır. Ayrıca plazma içeriği, hücre kültürü ortamına plazma uygulaması yapılırken gaz akış hızının fazla olmasıyla oluşan plazmanın çıkış uzunluğuna fayda sağlaması, kontaminasyon riskine karşı bir önlem oluşturmaktadır.

Plazma karakteristiğinin iki önemli parametresinden uyarma sıcaklığı (K) ve elektron yoğunluğu $n_e(\text{cm}^{-3})$ verilen formüllerle hesaplamaları yapılmıştır. Uyarma

sıcaklıkları sırasıyla Ar plazma (7 kV, 50 kHz) için 6825,34 K°, Ar plazma (6 kV, 4 kHz) için 4408,48 K°, He plazma (7 kV, 50 kHz) için 4181,93 K°, He plazma (6 kV, 4 kHz) için 4621,07 K° olarak hesaplanmıştır. Elektron yoğunlukları sırasıyla Ar plazma (7 kV, 50 kHz) için $1,33 \times 10^{16} \text{ cm}^{-3}$, Ar plazma (6 kV, 4 kHz) için $1,07 \times 10^{16} \text{ cm}^{-3}$, He plazma (7 kV, 50 kHz) için $7,52 \times 10^{14} \text{ cm}^{-3}$, He plazma (6 kV, 4 kHz) için $7,91 \times 10^{14} \text{ cm}^{-3}$ olarak hesaplanmıştır. He ve Ar plazmanın farklı güç kaynaklarında hesaplanan hem uyarma sıcaklık değerini hem de elektron yoğunluk değerlerini değiştirdiği gözlemlenmiş olup çalışma sırasında soğuk atmosferik basınç plazma üretimi için en uygun olacak voltaj ve frekans değerleri ayarlamalarının yapılması anlamına gelmektedir.

MCF-7 insan meme kanseri hücre kültürü çalışma aşamasına geçmeden ön hazırlık olarak distile su ve izotonik serum gibi sıvı ortamlarda çalışılmıştır. Plazmanın uygulanması sırasında aktarıldığı sıvı ortam içeriğinde başlattığı etki mekanizmasını anlamak için farklı güç kaynakları (7 kV, 50 kHz; 6 kV, 4 kHz) ve farklı iç yarıçaplarla (2 mm; 3 mm) tasarlanan plazma kalemden elde edilen He ve Ar plazma belirli sürelerde sıvı örneklerine ayrı ayrı şekilde muamele edilmiştir. Plazma uygulama dönemi ve plazma uygulanmayan sonraki dönemlerde pH, ORP, H₂O₂, NO₂ ve NO₃ ölçüm değerlerinin sonuçları karşılaştırılmıştır. Sonuçlarda He plazmanın izotonik serumda pH değerini distile suya göre daha fazla oranda düşürdüğü gözlemlenmiş ve bu durumun izotonik serum içeriğindeki tuz iyonları sebebiyle olmuş olabileceğini düşündürmüştür. Ar plazmanın ise hem distile suda hem de izotonik serumda pH değerini her ikisi için de aynı oranda düşürdüğü gözlemlenmiştir. Bu anlamda Ar plazmanın He plazmaya göre pH değerini daha fazla düşürdüğü görülmüştür. ORP değerlerinin hem He hem de Ar plazmada uygulama sonrası ortamdaki değerini arttırdığı gözlemlenmiştir. H₂O₂, NO₂ ve NO₃ ölçüm değerlerinin ise Ar plazma ve He plazma uygulamalarının hemen ardından ortamda oluşarak ölçülen değerlerinin plazma uygulama süresi arttıkça daha fazla artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Burada plazma içeriğinde önem arz eden reaktif türlerin uygulanan ortama yok olmadan geçmesiyle beraber oluşan kimyasalların ortamdaki değerlerinin artış göstermesi ile ilgisi olduğu tahmin edilmekte olup plazma içeriği ne kadar reaktif türce zengin olursa olsun muamele ortamına kayıp olmadan geçmesi önemli hale gelmektedir. Burada He plazma içeriği tamamen aktarması açısından Ar plazmaya göre daha etkili olmaktadır ki bunun sebebi He

plazmanın düzgün bir akış halinde kayıp olmadan aktarıldığı, Ar plazmanın ise dallanmalı bir halde akış yapması içeriğinin tam olarak muamele ortamına geçemediğini düşündürmüştür. Yani He plazma ile çalışmanın daha uygun olduğu gözlemlenmiştir. He plazma için sıvı yüzeyinden 1 cm mesafeden uygulanma gerçekleştirilirken Ar plazma için 0,5 cm mesafeden uygulaması gerçekleştirilmiştir. Bu durum, He plazma jetin kalem ucundan çıkış uzunluğunun Ar plazma jet'e göre daha uzun olmasıyla alakalıdır. Hem He plazmanın hem de Ar plazmanın distile su ve izotonik serum pH, ORP, H₂O₂, NO₂ ve NO₃ ölçüm değerlerini uygulama süreci boyunca ve sonrasında dikkate değer ölçüde değiştirdiği anlaşılmıştır. Bu durum MCF-7 insan meme kanseri hücre kültürü numunelerinin plazma ile muamele edildikleri zaman, hücre kültürünün içinde yer alan sıvı besiyerine plazma içeriğinin aktarılacak olması halinde böylece hem hücre kültürü hem de sıvı ortam üzerinde etki etme mekanizmasının baskın bir şekilde rol alabileceğini anlamına gelmektedir. Çalışmada kuyucuklarda besiyeri içinde yer alan meme kanseri hücrelerine 100 sn ve 300 sn boyunca ayrı ayrı uygulanan He ve Ar plazmanın uygulama sonunda besiyeri sıvısının rengini değiştirdiği gözlemlenmiş olup plazma içeriğinin besiyeri sıvısı içeriğindeki kimyasallar ile etkileşime girmesinden dolayı bu değişimin gözlemlendiği tahmin edilmiştir.

MCF-7 meme kanseri hücre kültürüne plazma uygulama öncesinde laboratuvarımıza ulaştırılan hücre hattı için, uygun steril koşullarda laboratuvar ortamı hazırlanmış ve hücre kültürü çoğaltma işlemi yapılmıştır. Bu amaçla meme kanseri hücre kültürü için besiyer hazırlama işlemlerinin ardından iki adet 75 cm²'lik flask içerisinde 37°C'de %5 CO₂ gaz akış parametrelerinde ayarladığımız inkübatöre steril koşullarda yerleştirilerek inkübasyon işlemine maruz bırakılmıştır. Bu işlemle çoğaltılarak %80 doygunluğa ulaşan hücre kültürleri pasajlama işlemiyle yeni steril flasklara bölünmüştür. Çoğaltma işlemleriyle yeterli sayıya ulaşan hücre kültürleriyle oluşturulan deney grupları; sadece plazma uygulamasının olduğu gruplar sırasıyla 100 sn He plazma, 300 sn He plazma, 100 sn Ar plazma, 300 sn Ar plazma olarak, sadece ilaç uygulanan gruplar sırasıyla DOX 1µM, DOX 0,5µM ve He plazma+ilaç uygulamasının olduğu gruplar sırasıyla DOX 1µM+100 sn He plazma, DOX 0,5µM+100 sn He plazma, DOX 1µM+300 sn He plazma, DOX 0,5µM+300 sn He plazma olarak, Ar plazma+ilaç uygulamasının olduğu gruplar sırasıyla DOX

1 μ M+100 sn Ar plazma, DOX 0,5 μ M+100 sn Ar plazma, DOX 1 μ M+300 sn Ar plazma, DOX 0,5 μ M+300 sn Ar plazma olarak belirlenmiştir.

Yalnızca plazma, yalnızca Doksorubisin, Doksorubisin + plazma grupları uygulamalarının ardından 24 saat, 48 saat ve 72 saat sonunda deney grupları üzerindeki etki mekanizmaları değerlendirilmiş ve sonuçları karşılaştırılmıştır. İlk 24 saat inkübasyon sonrası inkübatörden alınıp hücre kültüründen alınan örnek sayım işlemine hazır hale getirildi. Thoma lamına eklenen örneğin ışık mikroskobunda yapılan incelemelerinde Sadece He plazmanın 100 sn ve 300 sn'lerdeki uygulamalarında ortamdaki meme kanseri hücrelerinin tamamıyla yok ettiği gözlenirken, Sadece Ar plazmanın 100 ve 300 sn'lerdeki uygulamalarında ortamdaki meme kanseri hücrelerini neredeyse büyük oranda yok ettiği gözlemlenmiştir. Bu durum He plazma uygulamasının Ar plazma uygulamasına göre meme kanseri hücreleri üzerinde daha etkili ve daha güvenli olduğunu göstermiştir. Ancak plazma uygulama sonrası meme kanseri ortamındaki etkinliğinin 48 saate kadar devam edebildiği istatistiksel olarak gözlenmiştir.

Doksorubisin'li olan sadece ilaç gruplarında ise 24.saat sonunda tamamıyla meme kanseri hücrelerini yok ettiği gözlenirken 48.saat sonunda meme kanseri hücrelerinin ortamda var olmaya başladığı gözlemlenmiş ve bu durum meme kanseri hücrelerinin Doksorubisin ilacına direnç gösterme eğilimde olduğunu ifade etmektedir. Doksorubisin+plazma gruplarında ise 24, 48 saate kadar meme kanseri hücrelerini tümüyle yok ettiği gözlemlenmiş ancak plazma etkinliğinin kaybolması ile hücreler ilaca yeniden direnç gösterme eğiliminde olup hücre canlılığı düzeylerini arttırmışlardır. İlaç ile birlikte He/Ar plazma uygulamalarının gerçekleştirilmesi meme kanseri hücrelerinin, Doksorubisin ilacına karşı direnç gösterme eğilimine engel olduğunu göstermiş olup ilaçla beraber meme kanseri hücreleri üzerinde ilacın etkinliğini uzun süreli olarak arttırmasına yardımcı olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak He/Ar plazma uygulamalarında meme kanseri hücreleri üzerinde He plazmanın Ar plazmaya göre daha etkili olduğu, İlaç+plazma uygulamalarında plazmanın meme kanseri tedavisinde kullanılan Doksorubisin ilacı etkinliğinin uzun süreli olmasına yardımcı olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca daha az dozlarda Doksorubisin ilacı ile plazma uygulamaları yapmak plazmanın etkinliği arttırabileceği düşünülmektedir. İleride yapılabilecek çalışmalarda ilaç etki

mekanizmasının etkinliğini daha iyi anlayabilmek için daha kısa süreli aralıklarda hücre canlılığı kontrol edilebilir. Sadece plazma uygulamasının daha etkili olduğu gözlemlenmiş olup ayrıca ilaç dozu azaldığında plazmanın etkinliğini arttırdığının gözlenmesine bağlı olarak ileriki çalışmalarda ilaç dozu azaltılarak plazma ile birlikte uygulamaları gerçekleştirilmesi önerilmektedir. Plazmanın ilaca destek olan etkisi, hücrelerin ilaca direnç kazanma eğiliminin önüne geçtiği gözlenmesine bağlı olarak ilerideki çalışmalarda ilacın plazma ile muamele edildiği grup ile ilaca plazma muamele edilmeyen grup meme kanseri hücreleri için nasıl bir etkiye neden olabileceği araştırılabilir. Son olarak en fazla önem arz eden kısım ise plazmanın hasta ve sağlıklı olan hücreler üzerindeki seçici öldürme etkisi ile Doksorubisin ilaç tedavisinin meme kanserindeki tedavi edici mekanizmasının yanında verdiği olumsuz yan etkiler karşılaştırıldığında, plazma uygulamasının ilaç tedavisine alternatif bir tedavi yöntemi olabilmesi yolunda önemli bir temel oluşturmuştur.

KAYNAKLAR

- Adachi, T. (2017). Introduction to serial reviews: Biomedical application of non-thermal atmospheric pressure plasma and its usefulness. *Journal Of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 60(1), 1-2. <https://doi.org/10.3164/jcbn.16-78>
- Ahlbom, A., Bergqvist, U., Bernhardt, J. H., Cesarini, J. P., Grandolfo, M., Hietanen, M., McKinlay, A. F., Repacholi, M. H., Sliney, D. H., Stolwijk, J. A. J., Swicord, M. L., Szabo, L. D., Taki, M., Tenforde, T. S., Jammet, H. P. & Matthes, R. (1998). Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz). *Health Physics*, 74(4), 494-521.
- Akan, T. (2006). Maddenin 4. Hali Plazma ve Temel Özellikleri. *Elektronik Çağdaş Fizik Dergisi*, 4, 1-10.
- Akşit, H. & Bildik, A. (2008). Apoptoz. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(1), 55-63.
- Akyolcu, N. & Uğraş, G. A. (2011). Kendi kendine meme muayenesi: Erken tanıda ne kadar önemli?. *Meme Sağlığı Dergisi/Journal of Breast Health*, 7(1), 10-14.
- Allen, A. (1992). The cardiotoxicity of chemotherapeutic drugs. *Seminars in Oncology*, 19(5), 529-542.
- Anonim (2019). NIST Atomic Spectra Database (ASD). <https://physics.nist.gov/asd>. (Erişim tarihi: 14 Mayıs 2019)
- Arcamone, F., Cassinelli, G., Fantini, G., Grein, A., Orezzi, P., Pol, C. & Spalla, C. (1969). Adriamycin, 14-hydroxydaimomycin, a new antitumor antibiotic from *S. Peucetius* var. *caesius*. *Biotechnology and Bioengineering*, 11(6), 1101-1110. <https://doi.org/10.1002/bit.260110607>
- Arndt, S., Unger, P., Wacker, E., Shimizu, T., Heinlin, J., Li, Y. F., Thomas, H. M., Morfill, G. E., Zimmermann, J. L., Bosserhoff, A. K. & Karrer, S. (2013). Cold Atmospheric Plasma (CAP) changes gene expression of key molecules of the wound healing machinery and improves wound healing in vitro and in vivo. *Public Library of Science One*, 8(11), e79325. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079325>
- Ashley, N. & Poulton, J. (2009). Mitochondrial DNA is a direct target of anti-cancer anthracycline drugs. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 378(3), 450-455. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.11.059>
- Bárdos, L. & Baránková, H. (2010). Cold atmospheric plasma: Sources, processes, and applications. *Thin Solid Films*, 518(23), 6705-6713. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2010.07.044>

- Baykara, O. (2016). Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, 5(3), 154-165. <https://doi.org/10.5505/bsbd.2016.93823>
- Buchholz, T. A., Stivers, D. N., Stec, J., Ayers, M., Clark, E., Bolt, A., Şahin, A. A., Symmans W. F., Hess, K. R., Kuerer, H. M., Valero, V., Hortobagyi, G. N. & Pusztai, L. (2002). Global gene expression changes during neoadjuvant chemotherapy for human breast cancer. *The Cancer Journal*, 8(6), 461-468.
- Budihardjo, I., Oliver, H., Lutter, M., Luo, X. & Wang, X. (1999). Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 15(1), 269-290. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.15.1.269>
- Büyükgebiz, O. & Caferler, J. S. (2001). Apoptoz. *Sendrom*, 13, 102-107.
- Cain, K., Bratton, S. B., Langlais, C., Walker, G., Brown, D. G., Sun, X. M. & Cohen, G. M. (2000). Apaf-1 oligomerizes into biologically active approximately 700-kDa and inactive~ 1.4-MDa apoptosome complexes. *Journal of Biological Chemistry*, 275(9), 6067-6070. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.9.6067>
- Conrads, H. & Schmidt, M. (2000). Plasma generation and plasma sources. *Plasma Sources Science and Technology*, 9(4), 441. <https://doi.org/10.1088/0963-0252/9/4/301>
- Cooper, M., Fridman, G., Fridman, A. & Joshi, S. G. (2010). Biological responses of *Bacillus stratosphericus* to floating electrode- dielectric barrier discharge plasma treatment. *Journal of Applied Microbiology*, 109(6), 2039-2048. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04834.x>
- Crookes, W. (1883). The Bakerian Lecture—On radiant matter spectroscopy. A new method of spectrum analysis. *Proceedings of the Royal Society of London*, 35(224-226), 262-271. <https://doi.org/10.1098/rspl.1883.0045>
- Cross, T. G., Scheel-Toellner, D., Henriquez, N. V., Deacon, E., Salmon, M. & Lord, J. M. (2000). Serine/threonine protein kinases and apoptosis. *Experimental cell research*, 256(1), 34-41. <https://doi.org/10.1006/excr.2000.4836>
- Çelik, D. A. (2017). Okratoksin A'nın İnsan Proksimal Tübül Hücrelerinde Hücre Döngüsü Moleküler Mekanizmaları Üzerine Etkisi. (Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü)
- Daeschlein, G., von Woedtke, T., Kindel, E., Brandenburg, R., Weltmann, K. D. & Jünger, M. (2010). Antibacterial activity of an atmospheric pressure plasma jet against relevant wound pathogens in vitro on a simulated wound environment. *Plasma Processes and Polymers*, 7(3- 4), 224-230. <https://doi.org/10.1002/ppap.200900059>
- Danacı, M., Çelik, M. & Akkaya, A. E. (2010). Veri madenciliği yöntemleri kullanılarak meme kanseri hücrelerinin tahmin ve teşhisi. *Akıllı sistemlerde*

Yenilikler ve Uygulamaları Sempozyumu (ASYU'2010), 21-24 Haziran 2010, Kayseri, 9-12.

- Dobrynin, D., Fridman, G., Friedman, G. & Fridman, A. (2009). Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue. *New Journal of Physics*, 11(11), 115020, 1-26. <https://doi.org/10.1088/1367-2630/11/11/115020>
- Ekmekçi, P. & Bostancı, S. (2002). Yara iyileşmesi. *Türkiye Klinikleri Journal of Dermatology*, 12(2), 114-120.
- Erkin, Ö. & Ardahan, M. (2014). Meme kanseri ve kendi kendine meme muayenesi'nin pullardaki tarihi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, 4(3), 22-28.
- Eröz, R., Karataş, A., Alkoç, O. A., Baltacı, D., Oktay, M. & Çolakoğlu, S. (2012). Apoptozis hakkında bilinenler (literatür taraması). *Düzce Medical Journal*, 14(2), 87-101.
- Fornari, F. A., Randolph, J. K., Yalowich, J. C., Ritke, M. K. & Gewirtz, D. A. (1994). Interference by doxorubicin with DNA unwinding in MCF-7 breast tumor cells. *Molecular pharmacology*, 45(4), 649-656.
- Fridman, G., Brooks, A. D., Balasubramanian, M., Fridman, A., Gutsol, A., Vasilets, V. N., Ayan H. & Friedman, G. (2007). Comparison of direct and indirect effects of non-thermal atmospheric-pressure plasma on bacteria. *Plasma Processes and Polymers*, 4(4), 370-375. <https://doi.org/10.1002/ppap.200600217>
- Fridman, G., Friedman, G., Gutsol, A., Shekhter, A. B., Vasilets, V. N. & Fridman, A. (2008). Applied plasma medicine. *Plasma Processes and Polymers*, 5(6), 503-533. <https://doi.org/10.1002/ppap.200700154>
- Gay-Mimbrera, J., García, M. C., Isla-Tejera, B., Rodero-Serrano, A., García-Nieto, A. V. & Ruano, J. (2016). Clinical and biological principles of cold atmospheric plasma application in skin cancer. *Advances in Therapy*, 33(6), 894-909.
- Gewirtz, D. (1999). A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. *Biochemical Pharmacology*, 57(7), 727-741. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(98\)00307-4](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(98)00307-4)
- Graves, D. B. (2012). The emerging role of reactive oxygen and nitrogen species in redox biology and some implications for plasma applications to medicine and biology. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 45(26), 263001. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/45/26/263001>
- Grill, A. (1993). Cold plasma in materials fabrication from fundamentals to applications. New York, USA, IEEE Press.

- Guo, L., Xu, R., Gou, L., Liu, Z., Zhao, Y., Liu, D., Zhang, L., Chen, H. & Kong, M. G. (2018). Mechanism of virus inactivation by cold atmospheric-pressure plasma and plasma-activated water. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(17), 1-10. <https://doi.org/10.1128/AEM.00726-18>
- Gültekin, M. & Boztaş, G. (2014). Türkiye kanser istatistikleri. Ankara, Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu.
- Gweon, B., Kim, M., Bee Kim, D., Kim, D., Kim, H., Jung, H., Jennifer, H. S. & Choe, W. (2011). Differential responses of human liver cancer and normal cells to atmospheric pressure plasma. *Applied Physics Letters*, 99(6), 063701. <https://doi.org/10.1063/1.3622631>
- Hampton, M. B. & Orrenius, S. (1998). Redox regulation of apoptotic cell death. *Biofactors*, 8(1- 2), 1-5. <https://doi.org/10.1002/biof.5520080101>
- Heinlin, J., Morfill, G., Landthaler, M., Stolz, W., Isbary, G., Zimmermann, J. L., Shimizu, T. & Karrer, S. (2010). Plasma medicine: possible applications in dermatology. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 8(12), 968-976. <https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2010.07495.x>
- Heinlin, J., Isbary, G., Stolz, W., Morfill, G., Landthaler, M., Shimizu, T., Steffes, B., Nosenko, T., Zimmermann, J. L. & Karrer, S. (2011). Plasma applications in medicine with a special focus on dermatology. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 25(1), 1-11. <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2010.03702.x>
- Hızel, N. (1997). Apoptoz (programlanmış hücre ölümü). *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, 6:196-197.
- Hilmer, S. N., Cogger, V. C., Muller, M. & Le Couteur, D. G. (2004). The hepatic pharmacokinetics of doxorubicin and liposomal doxorubicin. *Drug Metabolism and Disposition*, 32(8), 794-799. <https://doi.org/10.1124/dmd.32.8.794>
- Igney, F. H. & Krammer, P. H. (2002). Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nature Reviews Cancer*, 2(4), 277-288. <https://doi.org/10.1038/nrc776>
- Isbary, G., Heinlin, J., Shimizu, T., Zimmermann, J. L., Morfill, G., Schmidt, H. U., Monetti, R., Steffes, B., Bunk, W., Li, Y., Klaempfl, T., Karrer, S., Lanthaler, M. & Stolz, W. (2012). Successful and safe use of 2 min cold atmospheric argon plasma in chronic wounds: results of a randomized controlled trial. *British Journal of Dermatology*, 167(2), 404-410. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2012.10923.x>
- Isbary, G., Shimizu, T., Li, Y. F., Stolz, W., Thomas, H. M., Morfill, G. E. & Zimmermann, J. L. (2013). Cold atmospheric plasma devices for medical issues. *Expert review of medical devices*, 10(3), 367-377. <https://doi.org/10.1586/erd.13.4>

- Iseki, S., Nakamura, K., Hayashi, M., Tanaka, H., Kondo, H., Kajiyama, H., Kano, H., Kikkawa, F. & Hori, M. (2012). Selective killing of ovarian cancer cells through induction of apoptosis by nonequilibrium atmospheric pressure plasma. *Applied Physics Letters*, 100(11), 113702. <https://doi.org/10.1063/1.3694928>
- Ishaq, M., Evans, M. & Ostrikov, K. (2014). Effect of atmospheric gas plasmas on cancer cell signaling. *International Journal of Cancer*, 134(7), 1517-1528. <https://doi.org/10.1002/ijc.28323>
- Israels, E. D. & Israels, L. G. (2000). The cell cycle. *The oncologist*, 5(6), 510-513. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.5-6-510>
- Itoh, N. & Nagata, S. (1993). A novel protein domain required for apoptosis. Mutational analysis of human Fas antigen. *Journal of Biological Chemistry*, 268(15), 10932-10937.
- Jain, D. (2000). Cardiotoxicity of doxorubicin and other anthracycline derivatives. *Journal of Nuclear Cardiology*, 7(1), 53-62. <https://doi.org/10.1067/mnc.2000.103324>
- Jeong, J. Y., Park, J., Henins, I., Babayan, S. E., Tu, V. J., Selwyn, G. S., Ding, G. & Hicks, R. F. (2000). Reaction chemistry in the afterglow of an oxygen-helium, atmospheric-pressure plasma. *Journal of Physics Chemistry A*, 104(34), 8027-8032.
- Jiang, S. P., Duan, S., Liu, K. Q., Yang, X. Y., Cheng, C., Li, J. & Wang, G. W. (2017). Highly efficient synthesis of [60] fullerene oxides by plasma jet. *Royal Society Open Science*, 4, 1-9. <https://doi.org/10.1098/rsos.170658>
- Joh, H. M., Choi, J. Y., Kim, S. J., Chung, T. H. & Kang, T. H. (2014). Effect of additive oxygen gas on cellular response of lung cancer cells induced by atmospheric pressure helium plasma jet. *Scientific Reports*, 4, <https://doi.org/10.1038/srep06638>.
- Karahan, H. A. (2007). *Atmosferik Plazma Kullanılarak Doğal Liflerinin Yüzeysel Özelliklerinin Değiştirilmesi Üzerine Bir Araştırma. (Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).*
- Kaushik, N., Kumar, N., Kim, C. H., Kaushik, N. K. & Choi, E. H. (2014). Dielectric barrier discharge plasma efficiently delivers an apoptotic response in human monocytic lymphoma. *Plasma Processes and Polymers*, 11(12), 1175-1187. <https://doi.org/10.1002/ppap.201400102>
- Keidar, M. (2015). Plasma for cancer treatment. *Plasma Sources Science and Technology*, 24(3). <https://doi.org/10.1088/0963-0252/24/3/033001>
- Kerr, J. F., Wyllie, A. H. & Currie, A. R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer*, 26(4), 239-257. <https://doi.org/10.1038/bjc.1972.33>

- Kim, C. H., Kwon, S., Bahn, J. H., Lee, K., Jun, S. I., Rack, P. D. & Baek, S. J. (2010). Effects of atmospheric nonthermal plasma on invasion of colorectal cancer cells. *Applied Physics Letters*, 96(24). <https://doi.org/10.1063/1.3449575>
- King, K. L. & Cidlowski, J. A. (1998). Cell cycle regulation and apoptosis. *Annual review of physiology*, 60(1), 601-617. <https://doi.org/10.1063/1.344957510.1146/annurev.physiol.60.1.601>
- Klämpfl, T. G., Isbary, G., Shimizu, T., Li, Y. F., Zimmermann, J. L., Stolz, W., Schlegel, J., Morfill, G. E. & Schmidt, H. U. (2012). Cold atmospheric air plasma sterilization against spores and other microorganisms of clinical interest. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(15), 5077-5082. <https://doi.org/10.1128/AEM.00583-12>
- Kong, M. G., Kroesen, G., Morfill, G., Nosenko, T., Shimizu, T., Van Dijk, J. & Zimmermann, J. L. (2009). Plasma medicine: an introductory review. *New Journal of Physics*, 11(11), 1-35. <https://doi.org/10.1088/1367-2630/11/11/115012>
- Koşar, P. A., Nazıroğlu, M., Övey, İ. S. & Çiğ, B. (2016). Synergic effects of doxorubicin and melatonin on apoptosis and mitochondrial oxidative stress in MCF-7 breast cancer cells: involvement of TRPV1 channels. *The Journal of Membrane Biology*, 249(1-2), 129-140. <https://doi.org/10.1007/s00232-015-9855-0>
- Kumar, S. (1995). ICE-like proteases in apoptosis. *Trends in Biochemical Sciences*, 20(5), 198-202.
- Kurosaka, K., Takahashi, M., Watanabe, N. & Kobayashi, Y. (2003). Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages. *The Journal of Immunology*, 171(9), 4672-4679. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.9.4672>
- Kutlu, S. N. (2018). MCF-7 meme kanseri hücrelerine muamele edilecek soğuk plazma sisteminin tasarlanması. (Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü)
- Laroussi, M. & Akan, T. (2007). Arc- free atmospheric pressure cold plasma jets: a review. *Plasma Processes and Polymers*, 4(9), 777-788. <https://doi.org/10.1002/ppap.200700066>
- Liang, Y., Wu, Y., Sun, K., Chen, Q., Shen, F., Zhang, J., Yao, M., Zhu Z. & Fang, J. (2012). Rapid inactivation of biological species in the air using atmospheric pressure nonthermal plasma. *Environmental Science & Technology*, 46(6), 3360-3368. <https://doi.org/10.1021/es203770q>
- Liu, X. Y., Pei, X. K., Ostrikov, K., Lu, X. P. & Liu, D. W. (2014). The production mechanisms of oh radicals in a pulsed direct current plasma jet. *Physics of Plasmas*, 21(9). <https://doi.org/10.1063/1.4895496>

- Lowe, S. W., Schmitt, E. M., Smith, S. W., Osborne, B. A. & Jacks, T. (1993). p53 is required for radiation-induced apoptosis in mouse thymocytes. *Nature*, 362(6423), 847-849. <https://doi.org/10.1038/362847a0>
- Majno, G. & Joris, I. (1995). Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *The American journal of pathology*, 146(1), 3-15.
- Martinvalet, D., Zhu, P. & Lieberman, J. (2005). Granzyme A induces caspase-independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. *Immunity*, 22(3), 355-370. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2005.02.004>
- Matthes, R. (1996). Guidelines on UV radiation exposure limits. *Health physics*, 71(6), 978-978.
- McCubrey, J. A., May, W. S., Duronio, V. & Mufson, A. (2000). Serine/threonine phosphorylation in cytokine signal transduction. *Leukemia*, 14(1), 9-21.
- Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G. & Gianni, L. (2004). Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacological Reviews*, 56(2), 185-229. <https://doi.org/10.1124/pr.56.2.6>
- Mirpour, S., Ghomi, H., Piroozmand, S., Nikkhah, M., Tavassoli, S. H. & Azad, S. Z. (2014). The selective characterization of nonthermal atmospheric pressure plasma jet on treatment of human breast cancer and normal cells. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 42(2), 315-322. <https://doi.org/10.1109/TPS.2013.2291860>
- Momparler, R. L., Karon, M., Siegel, S. E. & Avila, F. (1976). Effect of adriamycin on DNA, RNA, and protein synthesis in cell-free systems and intact cells. *Cancer Research*, 36(8), 2891-2895.
- Morfill, G. E., Shimizu, T., Steffes, B. & Schmidt, H. U. (2009). Nosocomial infections—a new approach towards preventive medicine using plasmas. *New Journal of Physics*, 11(11). <https://doi.org/10.1088/1367-2630/11/11/115019>
- Mountz, J. D. & Zhou, T. (2001). Apoptosis and Autoimmunity. In: Koopman WJ ed. *A Textbook of Rheumatology: Arthritis and Allied Conditions*. Lippincott Williams&Wikins.
- Muzio, M., Salvesen, G. S. & Dixit, V. M. (1997). FLICE induced apoptosis in a cell-free system cleavage of caspase zymogens. *Journal of Biological Chemistry*, 272(5), 2952-2956. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.5.2952>
- Ortatatlı, M., Kenar, L., Yaren, H. & Karayılanoğlu, T. (2006). Biyolojik araştırma laboratuvarında güvenlik. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 26(4), 396-403.

- Ölgen, S., Bıçak, I. & Nebioğlu, D. (2002). Angiogenesis ve Kanser Tedavisinde Yeni Yaklaşımlar. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 31(3), 193-214.
- Öncül, S. (2013). *Karaciğer ve Meme Kanseri Hücreleri ile Embriyonik Böbrek Hücrelerinde Doksorubisinin Apoptotik Genlerin ve Mdr-1 Geninin Ekspresyon Düzeylerine Etkisi*. (Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü)
- Özkan, S. & Alçalar, N. (2009). Meme Kanserinin Cerrahi Tedavisine Psikolojik Tepkiler. *Meme Sağlığı Dergisi/Journal of Breast Health*, 5(2), 60-64.
- Özvaran, M. K. (2004). Malign mezotelyomada gen tedavisi. *Toraks Dergisi*, 5(2), 110-115.
- Partecke, L. I., Evert, K., Haugk, J., Doering, F., Normann, L., Diedrich, S., Weiss, F. U., Evert, M., Huebner, N. O., Guenther, C., Heidecke, C. D., Kramer, A., Bussiahn, R., Weltmann, K. D., Pati, O., Bender, C. & Bernstorff, W. V. (2012). Tissue tolerable plasma (TTP) induces apoptosis in pancreatic cancer cells in vitro and in vivo. *BMC Cancer*, 12(1), 473. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-473>
- Poletti, G., Orsini, F., Raffaele-Addamo, A., Riccardi, C. & Selli, E. (2003). Cold plasma treatment of PET fabrics: AFM surface morphology characterisation. *Applied Surface Science*, 219(3-4), 311-316. [https://doi.org/10.1016/S0169-4332\(03\)00703-7](https://doi.org/10.1016/S0169-4332(03)00703-7)
- Rad, Z. S., Davani, F. A. & Etaati, G. (2018). Determination of proper treatment time for in vivo blood coagulation and wound healing application by non-thermal helium plasma jet. *Australasian Physical & Engineering Sciences in Medicine*, 41(4), 905-917. <https://doi.org/10.1007/s13246-018-0686-z>
- Roberts, R. A., Smith, R. A., Safe, S., Szabo, C., Tjalkens, R. B. & Robertson, F. M. (2010). Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. *Toxicology*, 276(2), 85-94. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.07.009>
- Roth, J. R. (2001). *Industrial plasma engineering: Volume 2: Applications to nonthermal plasma processing*. CRC press.
- Saatçi, E. (2014). Dünyada ve Türkiye'de Kanser Epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri Family Medicine-Special Topics*, 5(2), 1-8.
- Salvesen, G. S. & Dixit, V. M. (1997). Caspases: intracellular signaling by proteolysis. *Cell*, 91(4), 443-446. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80430-4](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80430-4)
- Saltiel, E. & McGuire, W. (1983). Doxorubicin (adriamycin) cardiomyopathy—a critical review. *Western Journal of Medicine*, 139(3), 332-341.

- Saraçlıgil, B. (2015). *D vitamini MCF-7 meme kanseri hücreleri metabolizması üzerine etkisi* (Tıpta Uzmanlık Tezi, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı).
- Savill, J. & Fadok, V. (2000). Corpse clearance defines the meaning of cell death. *Nature*, 407(6805), 784-788. <https://doi.org/10.1038/35037722>
- Scaffidi, C., Schmitz, I., Zha, J., Korsmeyer, S. J., Krammer, P. H. & Peter, M. E. (1999). Differential modulation of apoptosis sensitivity in CD95 type I and type II cells. *Journal of Biological Chemistry*, 274(32), 22532-22538. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.32.22532>
- Schlegel, J., Köritzer, J. & Boxhammer, V. (2013). Plasma in cancer treatment. *Clinical Plasma Medicine*, 1(2), 2-7. <https://doi.org/10.1016/j.cpme.2013.08.001>
- Schmidt-Bleker, A., Winter, J., Bösel, A., Reuter, S. & Weltmann, K. D. (2015). On the plasma chemistry of a cold atmospheric argon plasma jet with shielding gas device. *Plasma Sources Science and Technology*, 25(1), 015005. <https://doi.org/10.1088/0963-0252/25/1/015005>
- Schutze, A., Jeong, J. Y., Babayan, S. E., Park, J., Selwyn, G. S. & Hicks, R. F. (1998). The atmospheric-pressure plasma jet: a review and comparison to other plasma sources. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 26(6), 1685-1694. <https://doi.org/10.1109/27.747887>
- Sert, H. (2015). Onkoloji hasta yakınlarında ortak bir sorun: Bakım yükü. *Türkiye Klinikleri Internal Medicine Nursing-Special Topics*, 1(2), 62-66.
- Setsuhara, Y. (2016). Low-temperature atmospheric-pressure plasma sources for plasma medicine. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 605, 3-10. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.04.009>
- Singal, P. K., & Iliskovic, N. (1998). Doxorubicin-induced cardiomyopathy. *New England Journal of Medicine*, 339(13), 900-905. <https://doi.org/10.1056/NEJM199809243391307>
- Soule, H. D., Vazquez, J., Long, A., Albert, S. & Brennan, M. (1973). A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 51(5), 1409-1416. <https://doi.org/10.1093/jnci/51.5.1409>
- Stoffels, E., Sakiyama, Y. & Graves, D. B. (2008). Cold atmospheric plasma: charged species and their interactions with cells and tissues. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 36(4), 1441-1457. <https://doi.org/10.1109/TPS.2008.2001084>
- Stonies, R., Schermer, S., Voges, E. & Broekaert, J. A. (2004). A new small microwave plasma torch. *Plasma Sources Science and Technology*, 13(4), 604-609. <https://doi.org/10.1088/0963-0252/13/4/009>

- Suslow, T. V. (2004). Oxidation-reduction potential (ORP) for water disinfection monitoring, control, and documentation. *Division of Agriculture and Natural Resources*, 8149, 1-5. <https://doi.org/10.3733/ucanr.8149>
- Tanaka, H. & Hori, M. (2017). Medical applications of non-thermal atmospheric pressure plasma. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 60(1), 16-67. <https://doi.org/10.3164/jcbtn.16-67>
- Tendero, C., Tixier, C., Tristant, P., Desmaison, J. & Leprince, P. (2006). Atmospheric pressure plasmas: A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 61(1), 2-30. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2005.10.003>
- Thompson, E. B. (1998). The many roles of c-Myc in apoptosis. *Annual review of physiology*, 60(1), 575-600. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.60.1.575>
- Tomatır, A. G. (2003). Apoptoz: Programlı hücre ölümü. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 23(6), 499-508.
- Trump, B. E., Berezsky, I. K., Chang, S. H. & Phelps, P. C. (1997). The pathways of cell death: oncosis, apoptosis, and necrosis. *Toxicologic Pathology*, 25(1), 82-88. <https://doi.org/10.1177/019262339702500116>
- Türel, G. Y. (2017). Curcuma Longa (Zerdeçal) Bitkisinden Elde Edilen Kurkumin Etken Maddesinin Kolon Kanseri Hücre Hattı Üzerine Apoptotik Etkisinin Araştırılması. (Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü)
- Utz, P. J. & Anderson, P. (1998). Posttranslational protein modifications, apoptosis, and the bypass of tolerance to autoantigens. *Arthritis & Rheumatism*, 41(7), 1152-1160. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(199807\)41:7<1152::AID-ART3>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/1529-0131(199807)41:7<1152::AID-ART3>3.0.CO;2-L)
- Von Woedtke, T., Reuter, S., Masur, K. & Weltmann, K. D. (2013). Plasmas for medicine. *Physics Reports*, 530(4), 291-320. <https://doi.org/10.1016/j.physrep.2013.05.005>
- Walk, R. M., Snyder, J. A., Srinivasan, P., Kirsch, J., Diaz, S. O., Blanco, F. C., Shashurin, A., Keidar, M. & Sandler, A. D. (2013). Cold atmospheric plasma for the ablative treatment of neuroblastoma. *Journal of Pediatric Surgery*, 48(1), 67-73. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2012.10.020>
- Wang, M., Holmes, B., Cheng, X., Zhu, W., Keidar, M., & Zhang, L. G. (2013). Cold atmospheric plasma for selectively ablating metastatic breast cancer cells. *Public Library of Science One*, 8(9), e73741. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073741>
- Weiss, M., Gumbel, D., Hanschmann, E. M., Mandelkow, R., Gelbrich, N., Zimmermann, U., Walther, H., Ekkernkamp, A., Sckell, A., Kramer, A., Burchardt, M., Lillig, C. H. & Stope, M. B. (2015). Cold atmospheric plasma treatment induces anti-proliferative effects in prostate cancer cells by redox

and apoptotic signaling pathways. *Public Library of Science One*, 10(7), e0130350. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130350>

Weltmann, K. D., Brandenburg, R., von Woedtke, T., Ehlbeck, J., Foest, R., Stieber, M. & Kindel, E. (2008). Antimicrobial treatment of heat sensitive products by miniaturized atmospheric pressure plasma jets (APPJs). *Journal of Physics D: Applied Physics*, 41(19), 194008. https://doi.org/10.1007/>978-1-4020-8439-3_4

Yan, D., Sherman, J. H. & Keidar, M. (2017). Cold atmospheric plasma, a novel promising anti-cancer treatment modality. *Oncotarget*, 8(9), 15977. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13304>

Yastıbaş, C. & Dirik, G. (2018). Kanser ve Farkındalık Temelli Müdahale Programları: Sistemik Derleme. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar. Current Approaches in Psychiatry*, 10(3), 375-393.

Yaşa, B., Uysal Uzel, E. & Chakmakçı, S. (2015). Restoratif diş hekimliğinde plazma uygulamaları: Derleme. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 25 (1). <https://doi.org/10.17567/dfd.61417>

Yılmaz, İ. (2005). Erişkin ratlarda deneysel varikozel oluşturulması sonrası testislerde germ hücrelerinde apoptozis düzeylerinin yükselmesi ve yükselmiş olan apoptozisin varikoselektomi sonrası gerileme düzeyi ve süresinin tunel yöntemi ile değerlendirilmesi. (Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Fazilet CANATAN

Doğum Yeri ve Yılı : Tarsus, 1993

Medeni Hali : Bekâr

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : fzlt.cntn93@gmail.com

Eğitim Durumu

Lise : Tarsus Cengiz Topel Anadolu Lisesi, 2011

Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,
Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, 2016

Yayınlar

Kutlu, S. N., Canatan, F., & Güleç, A. 2018. Plasma Activated Water for Plasma
Medicine. Erişim Tarihi: 11.05.2019.
http://www.biyoklinikder.org/TIPTEKNO18_Bildiriler/44.pdf