

# Nano-Saniye Puls Elektrik Alanların ve Puls Plazmaların Biyolojik Hücreler Üzerine Etkisi

Tamer AKAN , Esmâ EFE\*

Old Dominion Üniversitesi,  
Elektrik ve Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Frank Reidy Biyoelektrik Araştırma Merkezi (FRBAM),  
Norfolk, VIRGINIA/ABD  
[takan@odu.edu](mailto:takan@odu.edu)

\*Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Radyasyon Onkolojisi Bölümü,  
Ankara, TÜRKİYE  
[efesma@yahoo.com](mailto:efesma@yahoo.com)

**Özet:** Puls elektrik alanların çeşitli biyolojik hücreler üzerine uygulanması, özellikle hücreler üzerinde ısı etkisi yaratmaması ve canlı hücreler üzerine etkisinin az olması sebebiyle ilgi çekici yöntem olmaktadır. Son yıllarda özellikle mikro saniyenin altındaki puls elektrik alanların, kanser hücrelerini öldürdüğü bulunmuştur. Plazma televizyonları ve plazma klimalarda son derece başarılı uygulamalarını gördüğümüz plazmalar, son yıllarda tıp ve biyomedikalde kullanılmaktadır. Farklı metotlar kullanılarak farklı özelliklerde plazmalar üretilebilmektedir. Puls elektrik alan kullanılarak üretilen plazmalar, düşük sıcaklıklarda plazmalar üretmeleri sebebiyle ısıya hassas ve pahalı biyomedikal cihazların sterilizasyonunda kullanılmaktadırlar. Bu çalışmada, kısaca nano-saniye elektrik alanların bazı biyolojik hücreler üzerine etkisi ve bazı puls plazmalar verilecektir.

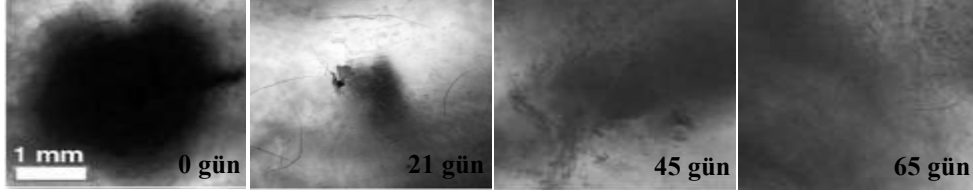
## 1. Giriş

Elektrik alanların biyolojik hücreler üzerine etkisi bilinen bir uygulamadır. Nano-saniye puls elektrik alanlar, elektroporasyonda kimyasalların ve DNA moleküllerinin hücre içine yerleştirilmesinde kullanılmaktadır [1]. Nano-saniye puls elektrik alanların doğrudan biyolojik hücreler üzerine etkisi de incelenmiştir [2]. Elektrik alanların biyolojik hücreler üzerine uygulamaları içinde, farklı tip kanser tedavilerinde kullanımı en ilgi çekici uygulamadır. Bunun için kullanılan radyo frekans ve mikrodalga cihazlar, tümörü 43°C den daha fazla sıcaklıklara ısıtarak hücrenin aşırı ısınma (hipertermia) yoluyla ölmesine sebep olmaktadır [3]. Son yıllarda nano-saniye elektrik alanlar doğrudan kanser hücreleri üzerine uygulanmaktadır [4]. Bu çalışmalarda 40 kV/cm kadar yüksek elektrik alanlar, 300 ns pulslar ile melanomlar üzerine uygulandı ve son derece başarılı sonuçlar bulundu [5]. Bu çalışmalar ve bulunan bu sonuçlar; aşırı ısınma veya ilaç kullanmadan yepyeni bir elektriksel kanser tedavi metodunu geliştirmektedir. Nano-saniye elektrik alanların doğrudan bakteriler üzerine uygulamaları da yapılmaktadır [6].

Maddenin dördüncü hali olarak bilinen plazma; kısaca iyonlaşmış gaz olarak ifade edilebilir. Gaz ortamından farklı olarak, çok sayıda pozitif ve negatif iyon, elektron, foton ve nötral ve radikal parçacıklar içermektedir. Bir gazı iyonlaştırarak plazmasını üretmek için en kolay yöntem, gaz üzerine elektrik alan uygulamaktır. Çok farklı frekanslarda ac elektrik alanlar, plazma üretiminde kullanılmaktadır. Bu plazmaların, materyal sanayinden uzay sanayine kadar çeşitli uygulamaları da yapılmaktadır. Bununla birlikte plazmaların biyolojik hücreler üzerinde etkisi son yıllarda çok daha fazla ilgi görmektedir. Bu çalışmalarda plazma üretmek için audio frekans, radyo frekans ve mikro dalga elektrik alanlar kullanılmaktadır. Ancak bu sinusoidal elektrik alanlarla düşük sıcaklıklarda özellikle oda sıcaklığında plazma üretmek zordur. Puls elektrik alanlar ile üretilen plazma içindeki hızlı enerji taşıyıcısı elektronlar, enerjilerini ağır plazma parçacıklarına aktaramazlar. Bu nedenle çok yüksek enerjili elektronlar üretirler. Bu elektronlar da kimyasal reaksiyonlarla reaktif parçacıklar üretirler. Bu reaktif türler temasta oldukları yüzeyi örneğin bakterileri aşırı aktive ederler ve öldürürler.

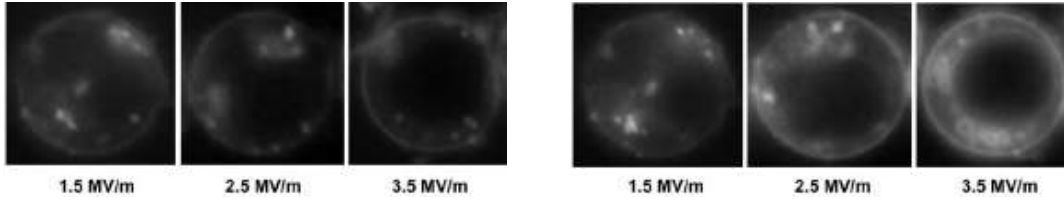
## 2. Nano-saniye Puls Elektrik Alanların Biyolojik Hücreler Üzerine Etkisi

Nano-saniye puls elektrik alanlarla ilgili en son yapılan başarılı bir çalışma Şekil 1'de verilmiştir. Şekil 1'deki görüntülerin birincisi, puls elektrik alan uygulamasından hemen sonra, diğerleri ise sırasıyla, 21 gün, 45 gün ve 65 gün sonra çekilmiş tümör (Melanom) görüntüleridir. Bu görüntülerden görüldüğü gibi 45 gün sonra neredeyse tümör tamamıyla yok olmaktadır.



**Şekil 1.** 40 kV/cm elektrik alanının 300 ns puls zamanı ile Melanom üzerine uygulanması. Geçirmeli aydınlatma (Transillumination) görüntüleri, tümörün zaman içinde gerilemesini göstermektedir [5].

Nano-saniye puls elektrik alanların, biyolojik hücrelere nasıl bir etki yaptığı Jurkat hücrelerinde incelenmiştir. Şekil 2’de, farklı şiddette nano-saniye puls elektrik alanların biyolojik hücrenin zarı üzerine etkisi görülmektedir. Puls elektrik alanlar, hücre içine yayılarak hücre içi yapılarını bozmaktadır. İlk üç şekil farklı elektrik alanların uygulanmasından hemen sonraki görüntülerdir. Diğer üç resim, elektrik alan uygulandıktan 5 dakika sonra çekilmiş fotoğraflardır.



**Şekil 2.** Jurkat hücrelerinde farklı şiddette 30 ns puls elektrik alanların yayılımı [2].

Nano-saniye elektrik alanların doğrudan bakteriler üzerine uygulamaları da yapılmaktadır [6]. Bu çalışmalar, sıvı veya katı malzemeler üzerine uygulanabildiği için gıda sektöründe sterilizasyon için çok önemli olmaktadır.

### 3. Nano-saniye Puls Plazmaların Biyolojik Hücreler Üzerine Etkisi

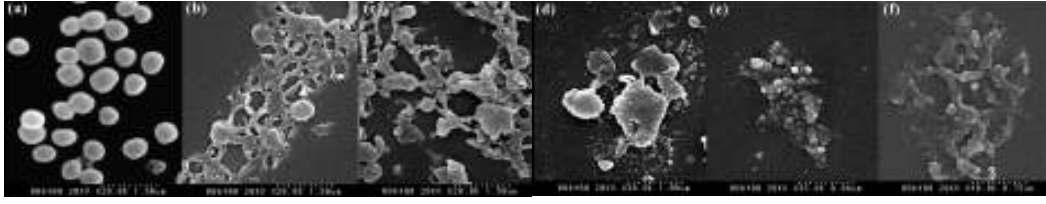
11 kV’luk dc puls elektrik alanlar, 1 mikro-saniye puls aralığı ile atmosferik basınçtaki hava üzerine uygulanarak hava ortamının plazması üretilmiştir. Bu plazmalar doğrudan *E.coli* prokaryot biyolojik hücreleri üzerine uygulanmıştır. Şekil 3’te, *E.coli* biyolojik hücreleri üzerine farklı zamanlarda hava plazması uygulandıktan sonra çekilmiş SEM görüntüleri verilmiştir.



**Şekil 3.** Hava plazmasının *E.coli* bakterileri üzerine a) 0 s, b) 10 s, c) 30 s, d) 50 s ve e) 70 s sürelerle uygulandıktan sonra çekilen SEM görüntüleri [7].

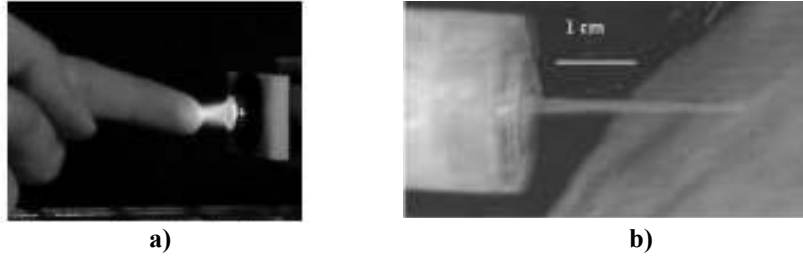
Şekil 3’ten görüldüğü gibi plazma ortamına maruz kalan *E.coli* bakterileri 10 saniye sonra deformasyona uğramaktadır. Daha yüksek zamanlarda hücre zarlarının ve hücrelerin yapılarının fiziksel olarak önemli derecede zarar gördüğü görülmektedir. Bakteriler için benzer çalışma, 1 kW ve 2.45 GHz mikrodalga güç kaynağı ile atmosferik basınçta argon plazması kullanılarak yapıldı. Bu plazmalar daha sonra *MRSA* hücreleri üzerine uygulandı. Şekil 4a’da, referans yani plazma uygulanmayan hücrenin SEM görüntüsü, diğerleri ise sırasıyla 1,2,3,4,5 saniye sürelerle plazma ortamına maruz bırakılan *MRSA* hücrelerinin SEM görüntüleridir. Şekil 3’deki gibi hücrelerin fiziksel zarar gördükleri açıkça görülmektedir. Burada daha yüksek güç ve daha kısa puls kullanılması bakterilerin daha kısa zamanda etkilenmesine sebep olmaktadır.

Benzer çalışmalar sonucu, plazma ortamında bulunan UV ışınların, O ve OH gibi reaktif parçacıkların ve yüklü parçacıkların bakteriler üzerine öldürücü etkileri ispatlanmıştır. Fakat plazmaların çoğu sıcak ortamlar oldukları için bakteriler üzerine ısı etkisi de vardır. Isı etkisi ile sterilizasyon uygulaması, yeni teknolojilerde çok da kullanışlı olmamaktadır. Son yıllarda tıp ve biyomedikalde çok pahalı polimer tabanlı yeni cihazlar kullanılmaktadır. Örneğin damar içinde hareket eden ve tıkalı damar tespiti yapan mikro kameralar, son derece pahalı cihazlardır. Bu tip kameraların kullanıldıktan sonra, bir başka insanda tekrar kullanılabilmesi için steril edilmesi gereklidir. Ancak bu cihazlar ısıya karşı çok hassas oldukları için ısı etkisi olmadan steril edilmelidirler.



**Şekil 4.** *MRSA* hücreleri üzerine mikrodalga plazmaların etkisi. a) referans, b) 1s, c) 2s, d) 3s, e) 4s, ve f) 5 saniye plazma ortamına maruz kalan *MRSA* hücrelerinin SEM görüntüleri [8].

Isıya hassas cihazları dahi zarar vermeden steril edebilecek soğuk plazmalar, düşük basınç veya yüksek basınç gaz kullanılarak üretilir. Düşük basınç için vakum ünitesine ihtiyaç olması, sistemin maliyetini ve kullanılabilirliğini arttırmaktadır. Yüksek basınç özellikle atmosferik basınçta plazma üretmek için de yüksek güce ihtiyaç vardır. Bu yüksek güç, plazmanın aşırı ısınmasına sebep olmaktadır. Bu nedenle atmosferik basınçta soğuk (oda sıcaklığı kadar) plazma üretmek için en etkili yöntem, nano-saniye puls elektrik alan kullanmaktır. Bu işlem için bir kaç metod kullanılmıştır. Konunun genişliği nedeniyle bu cihazlardan en soğuk plazmayı üreten ikisi aşağıda verilmiştir. Şekil 5a’ da 600 ns puls ile üretilen plazmanın bir insan eline kısa süreli teması (çünkü yaklaşık 80°’dir), Şekil 5b’de ise 300 ns puls ile üretilen helyum plazmasının insan eli üzerine saatlerce teması (çünkü 20 °C’dir) gösterilmiştir. Yaklaşık 80°’ye bir insan elinin ne kadar dayanabileceği veya bu plazmaya ne kadar soğuk plazma denebilir tartışılır. Şu an atmosferik basınçta en soğuk plazmayı üreten ve FRBAM’nde Dr. M. Laroussi ve ekibi tarafından geliştirilen plazma kılıcı (Şekil 5b) gelecekte çok daha önemli biyolojik uygulamalarda kullanılacaktır.



**Şekil 5a)** 600 ns puls elektrik alan kullanarak üretilen Argon plazmasına insan parmağının teması [9], **b)** 300 ns puls elektrik alan kullanarak üretilen Helyum plazmasına insan eli üstünün teması [10].

## Kaynaklar

- [1] Gothelf A., Mir L.M. ve Gehl J., “Electrochemotherapy: results of cancer treatment using enhanced delivery of bleomycin by electroporation”, *Cancer Treat. Rev.*, 29, s. 371–387, 2003.
- [2] Vernier P. T., Sun Y., Marcu L., Craft C.M. ve Gunderson M.A., “Nanosecond pulsed electric fields perturb membrane phospholipids in T lymphoblasts”, *FEBS Letters*, 572, s. 103–108, 2004.
- [3] Haemmerich D. ve Laeseke P.F., “Thermal tumour ablation: devices, clinical applications and future directions”, *Int. J. Hyperthermia*, 21, s. 755–760, 2005.
- [4] Buescher E.S. ve Schoenbach K.H., “Effects of submicrosecond, high intensity pulsed electric fields on living cells-intracellular electromanipulation”, *IEEE Trans. Dielect. El. In.*, 10, s.788–794, 2003.
- [5] Nuccitelli R., Pliquett U., Chen X., Ford W., Swanson R.J., Beebe S.J., Kolb J. F., Schoenbach K.H., “Nanosecond pulsed electric fields cause melanomas to self-destruct”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 343, s. 351–360, 2006.
- [6] Frey W., Gusbeth C., Schwartz T., Volkmann H., Kirchen S., Wuestner R., Straessner R. ve Bluhm H., “Inactivation of Microorganisms by Pulsed Electric Field Treatment”, *Proceedings the 33rd IEEE International Conference on Plasma Science*, Haziran 4-8, Michigan, ABD, 2006,
- [7] Choi J.H., Han I., Baik H.K., Lee M.H., Han D., Park J., Lee I., Song K.M., Lim Y.S., “Analysis of sterilization effect by pulsed dielectric barrier discharge”, *Journal of Electrostatics*, 64, s. 17–22, 2006.
- [8] Lee K.Y., Park B.J., Lee D.H., Lee I., Hyun S., Chung K., Park J., “Sterilization of *E. coli* and *MRSA* using microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure”, *Sur. & Coa. Tech.*, 193, s. 35– 38, 2005.
- [9] Forster S., Mohr, C. ve Viol W., “Investigations of an atmospheric pressure plasma jet by optical emission spectroscopy”, *Surface & Coatings Technology*, 200, s. 827-830, 2005.
- [10] Laroussi M. ve Lu X., “Room-temperature atmospheric pressure plasma plume for biomedical applications *Applied Physics Letters*, 87 (11), s. 113902-113904, 2005.