

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

**635 nm ÇOK-MODLU FOTODİNAMİK TERAPİ LAZER CİHAZI
İLE İNEK KARACİĞER DOKUSUNUN OPTİK
KARAKTERİZASYONUNUN YAPILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yaşar Barış DOLUKAN

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ
Tez Danışmanı : DR. ÖĞR. ÜYESİ HALİL ARSLAN

Mayıs 2019

T.C.
SAKARYA UYGULAMALI BİLİMLER ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

635nm ÇOK-MODLU FOTODİNAMİK TERAPİ LAZER CİHAZI
İLE İNEK KARACİĞER DOKUSUNUN OPTİK
KARAKTERİZASYONUNUN YAPILMASI

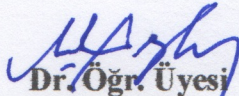
YÜKSEK LİSANS TEZİ

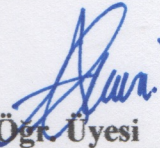
Yaşar Barış DOLUKAN

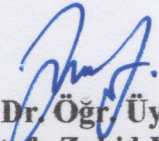
Enstitü Anabilim Dalı

: BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ

Bu tez 23/05/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.


Dr. Öğr. Üyesi
Halil ARSLAN
Jüri Başkanı


Dr. Öğr. Üyesi
Ayla EREN ÖZDEMİR
Üye


Dr. Öğr. Üyesi
Mustafa Zahid YILDIZ
Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Yaşar Barış DOLUKAN

23/05/2019



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitiminin boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Halil ARSLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar olanakları konusunda anlayış ve yardımlarını esirgemeyen Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı Başkanı Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Zahid YILDIZ'a, Yüksek Lisans hayatım boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım sayın hocam Arş. Gör. Ayşe Nur AY'a ve her zaman desteklerini eksik etmeyen aileme teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: 2017-09-00-013), Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: 2019-50-01-065) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
TABLOLAR LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	vii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Işığın Doku ile Etkileşimi	4
2.1.1. Yansıma ve kırılma	4
2.1.2. Soğurma	6
2.1.3. Saçılma	8
2.2. Işığın Dokudaki Yayılımı	11
2.1.1. Işımalı taşınım denklemi	12
2.1.2. Difüzyon yaklaşımı.....	13
2.1.3. Kubelka-Munk yöntemi.....	14
BÖLÜM 3.	
FOTODİNAMİK TERAPİ	16
3.1. Foto-Duyarlı Madde	17
3.2. FDT Lazer Cihazları	23
3.3. Optik Doz Hesabı.....	25

BÖLÜM 4.	
MATERYAL VE YÖNTEM	27
4.1. Lazer Cihazı.....	27
4.2. Doku Örneklerinin Hazırlanması	29
4.3. Deneysel Ölçümler.....	29
4.2. IAD Yazılımı	31
BÖLÜM 5.	
SONUÇ VE TARTIŞMA.....	34
5.1. Sonuçların İstatistiksel Analizi.....	36
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	45

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

FDT	: Fotodinamik terapi
g	: Anizotropi faktörü
H _p D	: Hematoporfirin
IAD	: Inverse Adding Doubling
ms	: Milisaniye
n	: Kırılma indeksi
PS	: Foto-duyarlı madde
RTE	: Işımalı taşınım teorisi
UV	: Ultraviyole
IAD	: Inverse Adding Doubling
5-ALA	: 5-Aminolevulinik asit
μ_a	: Soğurma katsayısı
μ_s	: Saçılma katsayısı
μ'_s	: İndirgenmiş saçılma katsayısı

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Elektromanyetik spektrum	3
Şekil 2.2. Işığın doku ile etkileşimi	4
Şekil 2.3. Yansıma ve kırılma	5
Şekil 2.4. Su molekülünün 650 - 2200 nm aralığında dalgaboyuna bağlı olarak soğurma katsayısı	7
Şekil 2.5. Hemoglobinin 250 - 1000 nm aralığında dalgaboyuna bağlı olarak soğurma katsayısı	7
Şekil 2.6. Lipidlerin 450 – 1100 nm aralığındaki dalgaboyuna bağlı olarak soğurma katsayısı	8
Şekil 2.7. Bir saçılma olayında, gelen ışının \hat{s} yönünden \hat{s}' yönüne doğru sapması	9
Şekil 2.8. Şematik olarak ışımali taşınım teorisinin bileşenleri	12
Şekil 2.9. İki boyutlu Kubelka-Munk teorisinin geometrisi	14
Şekil 3.1. Tekli oksijenin oluşumu	16
Şekil 3.2. Fotodinamik terapi işlem basamakları	17
Şekil 3.3. Photofrin'in soğurma spektrumu	18
Şekil 3.4. Vertoporfın'in soğurma spektrumu	19
Şekil 3.5. Taloporfın'in soğurma spektrumu	20
Şekil 3.6. Indocyanine - green'in soğurma spektrumu	21
Şekil 3.7. PpIX'in soğurma spektrumu	21
Şekil 3.8. Lazer modlarının çıkış sinyalleri	24
Şekil 3.9. Işınım modlarının doku sıcaklık artışı üzerindeki etkisi	24
Şekil 4.1. Deney düzeneği	27
Şekil 4.2. Lazer cihazının dalgaboyu spektrumu	28
Şekil 4.3. Farklı frekanslardaki darbe modları	28
Şekil 4.4. Ölçüm için hazırlanmış bir doku örneği	29

Şekil 4.5. Toplam transmitans hesabı için gereken ölçümler	30
Şekil 4.6. Toplam reflektans hesabı için gereken ölçümler	31
Şekil 4.7. IAD program veri dosyası	32
Şekil 5.1. Darbe sürelerinin bir fonksiyonu olarak soğurma katsayısı	35
Şekil 5.2. Darbe sürelerinin bir fonksiyonu olarak indirgenmiş saçılma katsayısı ..	35
Şekil 5.3. Darbe sürelerinin bir fonksiyonu olarak penetrasyon derinliği	36



TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1. Fotodinamik terapide kullanılan foto-duyarlı maddelerin özellikleri...	22
Tablo 5.1. İnek karaciğer dokusunun 635 nm dalgaboyundaki optik özellikleri...	34
Tablo 5.2. T-testlerinin p değerleri.....	37
Tablo 5.3. Farklı darbe sürelerinin soğurma ve indirgenmiş saçılma katsayıları için ANOVA testi sonuçları	38

635 nm ÇOK-MODLU FOTODİNAMİK TERAPİ LAZER CİHAZI İLE İNEK KARACİĞER DOKUSUNUN OPTİK KARAKTERİZASYONUNUN YAPILMASI

ÖZET

Fotodinamik terapi (FDT) son yıllarda kanser tedavisi için kullanılan ve başarı oranı oldukça yüksek olan bir tedavi yöntemidir. Başlıca bileşenleri ışık, foto-duyarlı madde ve moleküler oksijen olan FDT, ışığın foto-duyarlı maddeye etki etmesiyle ortaya çıkan enerjinin dokudaki moleküler oksijeni, kanserli dokuda nekroza neden olan tekli oksijene dönüştürmesi prensibine dayanır. Bu uygulamada, doku üzerinde oluşabilecek termal hasarı azaltmak için farklı ışımaya modlarına sahip lazer cihazları geliştirilmiştir. FDT'nin verimli bir şekilde uygulanabilmesinde, optik doz hesabının doğru olarak yapılması büyük bir öneme sahiptir. Optik doz hesabının yapılabilmesi için hedef dokunun optik özelliklerini tanımlayan parametrelerin belirlenmesi gerekmektedir.

Bu tez çalışmasında, FDT doz hesabında kullanılan optik parametrelerden olan soğurma katsayısı ve indirgenmiş saçılma katsayısı, 635 nm FDT lazer cihazı ve tekli toplayıcı küre ölçüm sistemi kullanılarak inek karaciğer dokusu için belirlenmiştir. Yapılan deneylerde lazer cihazının sürekli ve 14 farklı frekanstaki darbe modu için ölçüm alınmıştır. Her ölçüm, 0.3 - 0.6 mm aralığındaki 10 farklı doku örneği için tekrarlanmıştır. Alınan ölçüm sonuçlarından, Inverse-Adding-Doubling (IAD) programı kullanılarak doku örneklerine ait söz konusu parametreler belirlenmiştir. Elde edilen bu değerler, T-test ve ANOVA (One way) istatistiksel testleri kullanılarak analiz edilmiş, değişen darbe sürelerinin soğurma ve indirgenmiş saçılma katsayıları üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Fotodinamik terapi, Toplayıcı küre, Darbe modu, IAD

OPTICAL CHARACTERIZATION OF BOVINE LIVER TISSUE WITH 635 nm MULTI-MODE PHOTODYNAMIC THERAPY LASER DEVICE

SUMMARY

Photodynamic therapy (PDT), which has been used for the treatment of cancer in recent years, has a high success rate. The PDT, which has the main components of light, photosensitizer and molecular oxygen, is based on the principle that the energy produced by the interaction of light with the photosensitizer converts the molecular oxygen in tissue into the single oxygen, which causes necrosis in cancerous tissue. For PDT, laser devices with different radiation modes have been developed to reduce the thermal damage that may occur on the tissue. For efficient therapy, the optical dose calculation should also be done properly. The optical properties of the tissue and the parameters that defines these properties are needed to be known for the calculations.

In this thesis, the absorption coefficient and the reduced scattering coefficient were determined for bovine liver tissue by using a 635 nm PDT laser device and a single integrating sphere measurement system. In the experiment, the measurements were done by running the laser device in both continuous mode and pulse mode (with 14 different frequencies). Each measurement was repeated for 10 different tissue samples with thicknesses ranging from 0.3 to 0.6 mm. The measurement results were analyzed by using Inverse-Adding-Doubling (IAD) program in order to determine above-mentioned parameters. Obtained values, were analyzed by using T-test and ANOVA (One way) statistical tests and it was concluded that changing pulse duration had no effect on absorption and reduced scattering coefficients.

Keywords: Photodynamic Therapy, Integrated Sphere, Pulse mode, IAD

BÖLÜM 1. GİRİŞ

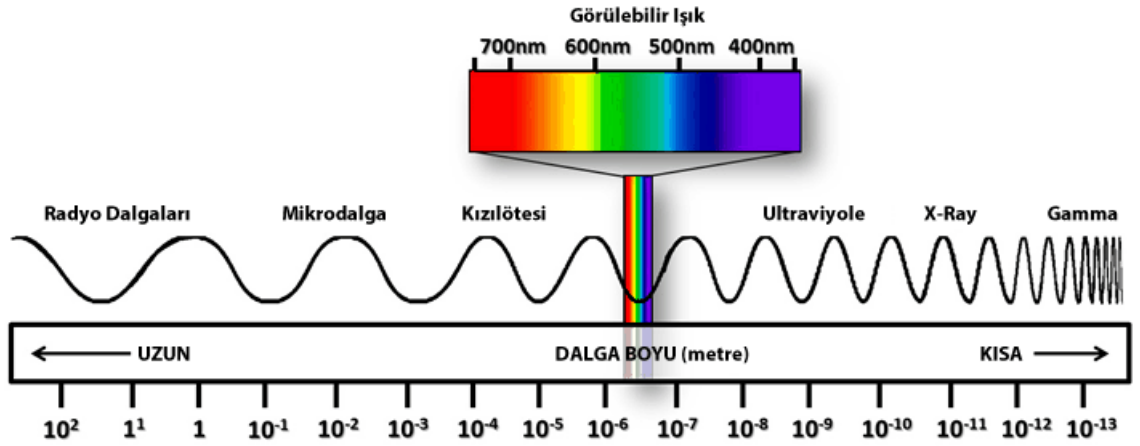
Dünya genelinde ikincil ölüm nedeni olan kanser her geçen sene daha da çok insanın ölümüne neden olmaktadır (Bray, 2018). Günümüzde kanser tedavisinde temel olarak üç yöntem kullanılmaktadır. Bunlar; cerrahi, kemoterapi ve radyoterapidir. Bazı kanserli dokuların yapısının ameliyata uygun olmaması ve iyileşme sürecinin çok uzun olması sebebiyle farklı yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Cerrahi uygulamaya ek olarak yapılan kemoterapi, saç dökülmesi, mide bulantısı ve halsizlik gibi ciddi yan etkilere sahiptir. Radyoterapide ise yorgunluk, kusma, ishal gibi yan etkiler görülebilirken, ayrıca bu yöntem sağlıklı dokuya da zarar vermektedir. Bu gibi durumlar, bilim insanlarını kanser tedavilerinde daha az yan etkiye sahip ve daha etkili tedavi yöntemleri üzerinde çalışmaya yöneltmiştir. Fotodinamik terapi bu etkin tedavi yöntemlerinden biridir. Fotodinamik terapi, ışığın foto-duyarlı maddeye etki etmesiyle ortaya çıkan enerjinin dokudaki moleküler oksijeni kanserli dokuda nekroza neden olan tekli oksijene çevirmesi temeline dayanır. Teknolojinin ilerlemesiyle FDT’de kullanılan lazer cihazlarında da yenilikler olmuştur. Tek dalgaboylu, güvenli ve kolay programlanabilen diyot lazerleri ile tedavi daha etkin bir hal almıştır. Fotodinamik terapi esnasında dokuda oluşan fotokimyasal olaylar, doku sıcaklığının artmasına neden olmaktadır (Svensson, 2005). Bu durumun önüne geçebilmek için lazer cihazlarında farklı ışınım modları (sürekli, darbeli, patlama darbeli) kullanılmaya başlanmıştır (Lim, 2011). Bu modlarda, iki darbe arasında geçen sürede dokunun termal dengesine tekrar yaklaşması mümkün olduğundan olası hasarlar önlenmiş olur. Fotodinamik terapinin etkin bir şekilde yapılabilmesi için optik doz hesaplamalarının doğru bir şekilde yapılması gerekmektedir. Bu nedenle, dokunun optik özelliklerinin bilinmesi ve bu hesaplamalarda kullanılacak parametrelerin belirlenmesi çok büyük önem taşımaktadır (Huang, 2008).

Bu tez çalışmasında 635 nm FDT lazer cihazı ve tekli toplayıcı küre ölçüm sistemi kullanılarak inek karaciğer dokusu için soğurma ve indirgenmiş saçılma katsayıları

belirlenmiştir. Yapılan deneylerde lazer cihazının sürekli ve 14 farklı frekanstaki darbe modu için ölçüm alınmıştır. Her ölçüm, 0.3 - 0.6 mm aralığındaki 10 farklı doku örneği için tekrarlanmıştır. Alınan ölçüm sonuçları Inverse-Adding-Doubling (IAD) programında kullanılarak doku örneklerine ait söz konusu parametreler belirlenmiştir. Elde edilen bu değerler, T-test ve ANOVA (One way) istatistiksel testleri kullanılarak analiz edilmiş. Bu çalışmanın bir sonraki bölümünde ışık doku etkileşimi hakkında genel bilgiler verilmiş olup ışığın doku ile etkileşim mekanizmaları ele alınmıştır. Üçüncü bölümde, fotodinamik terapi tanıtılmış, klinikte kullanılan bazı fotoduyarlı maddeler, lazer cihazları hakkında bilgiler verilmiştir. Ayrıca, bu bölümde FDT lazer cihazlarının farklı ışınım modları ele alınmış, sürekli modda ve darbeli modda çalışan lazer cihazlarıyla yapılan tedavilerin avantajlarından bahsedilmiştir. Kullanılan deney düzeneği ve yapılan ölçümlere ait bilgilere dördüncü bölümde yer verilmiştir. Doku hazırlığı, kullanılan ışık kaynağı, deneysel ölçümler ve optik parametrelerin elde edilmesi adımları bu bölümde ayrıntılı olarak anlatılmıştır. Son bölümde, deney sonuçları verilmiş ve bu sonuçlar istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER

Bilim ve teknolojideki ilerleme, tıpta ışığın kullanıldığı yeni teşhis ve tedavi yöntemlerinin de gelişmesine neden olmuştur. Bu gelişme ışığın biyolojik malzemeler ile etkileşimi konusunu daha önemli hale getirmiştir. Ayrıca biyolojik malzemenin niteliği hakkında bilgi sahibi olmaya olanak sağlamıştır. Şekil 2.1' de gösterilen elektromanyetik spektrum; radyo dalgasından, gama radyasyonuna kadar uzanmakta olup görünür ışık bölgesi spektrumun 400 nm ile 700 nm dalga boyu aralığında bulunmaktadır.

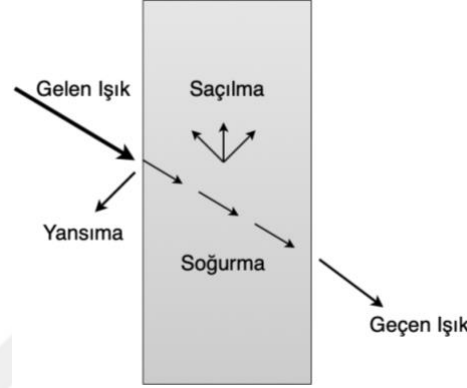


Şekil 2.1. Elektromanyetik spektrum

Elektromanyetik spektrumda farklı dalgaboyuna sahip ışınlar madde üzerinde farklı etkiler gösterir. Örneğin; insan vücudu düşük frekanslı radyo dalgalarına karşı oldukça şeffafken, mikrodalgalara ve kızıl ötesi görünür ışığa doğru gidildikçe vücut opaklaşır. Aynı şekilde ışık düşük ultraviyole (UV) aralığında cildin ince dış katmanında emilirken, X-ışını bölgesine doğru hareket ederken, vücut tekrar şeffaf hale gelir (Yavari, 2006).

2.1. Işığın Doku ile Etkileşimi

Biyolojik dokular, farklı organel ve yapılara sahip olduğu için homojen olmayan bir ortam olarak kabul edilir (Tuchin, 2004). Bu ortamda ışığın dokuyla etkileşimi birkaç farklı şekilde açıklanır.

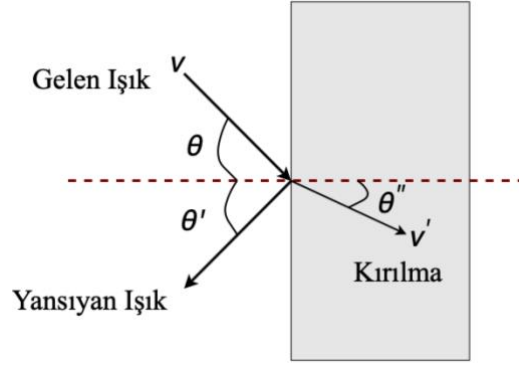


Şekil 2.2. Işığın doku ile etkileşimi

Işığın doku ile etkileşimi sırasında yaşadığı fiziksel özellikler Şekil 2.2’de gösterilmiştir. Dokunun üzerine ışık geldiğinde, ışık doku üzerinden yansımaya uğrayabilir. Doku içerisine girdiğinde saçılma ve soğurmaya uğrayabilir. Tüm bu olaylardan sonra ise ışığın bir kısmı da dokudan geçen ışık olarak çıkabilir. Bahsedilen bu fiziksel özellikler aşağıdaki bölümlerde tek tek incelenmiştir.

2.1.1. Yansımaya ve kırılma

Işığın optik özelliklerinden biri olan yansımaya, ışığın üzerine geldiği yüzeyler tarafından geri gönderilmesi olarak tanımlanırken kırılma ise farklı kırılma indekslerine sahip iki malzeme arasındaki fiziksel sınır olarak ifade edilir (Jenkins, 1976).



Şekil 2.3 Yansıma ve kırılma

Işığın bir ortamdan kırılma indeksi farklı başka bir ortama geçişinde maruz kaldığı kırılma ve yansıma olayları Şekil 2.3’de gösterilmiştir.

Yansımanın temel yasasında gelen ışının açısı (θ), yansıma açısına (θ') eşittir. ($\theta = \theta'$) Yansıtma yüzeyinin pürüzlülüğü gelen ışığın dalga boyundan daha fazla veya daha büyük olduğunda, dağınık yansıma oluşur. Hiçbir doku optik aynalar gibi çok parlak yüzeylere sahip olmadığı için dağınık yansıma tüm dokular için ortak bir olgudur (Niemz, 2007). Kırılma ise, ışığın madde ile etkileşime girdiğinde hızındaki değişikliğinden kaynaklanır. Işığın gelme açısı ile kırılma açısı (θ'') arasındaki ilişki Snell yasası olarak bilinir ve;

$$\frac{\sin \theta}{\sin \theta''} = \frac{v}{v'} \quad (2.1)$$

eşitliği ile ifade edilir. Burada v ve v' sırasıyla ışığın yansıtıcı yüzey öncesi ve sonrası ortamdaki hızlarıdır. Işığın boşluktaki hızının (c), bir ortamdaki yayılma hızına (v) oranı, o ortamın kırılma indeksi (n) olarak tanımlanmıştır.

$$n = \frac{c}{v} \quad (2.2)$$

Buna göre; Snell yasası ortamların kırılma indeksleri cinsinden,

$$n \sin \theta = n' \sin \theta'' \quad (2.3)$$

şeklinde ifade edilir. Dokunun kırılma indisinin bilinmesi, dokuda ışığın yayılmasına temel bir anlayış oluşturmak için esastır (Tearney, 1995). Biyolojik dokularda ortalama kırılma indeksi havanınkinden daha yüksektir ve heterojen yapılarından dolayı, dokudaki kırılma indeksi sabit değildir (Bolin, 1989). Bu durumdan dolayı literatürdeki kırılma indeksleri genellikle dokunun bileşenlerinin hacim ağırlıklı bir ortalamasıdır. Su, vücut sıvıları ve yumuşak dokuların ana bileşeni olduğundan, indeksi ($n = 1,33$) biyolojik numunelerde gözlemlenen minimum değerdir (Fiee, 2015). Dokular için ışığın kırılma indisi genel olarak 1,34 ile 1,41 aralığındadır (Yavari, 2006).

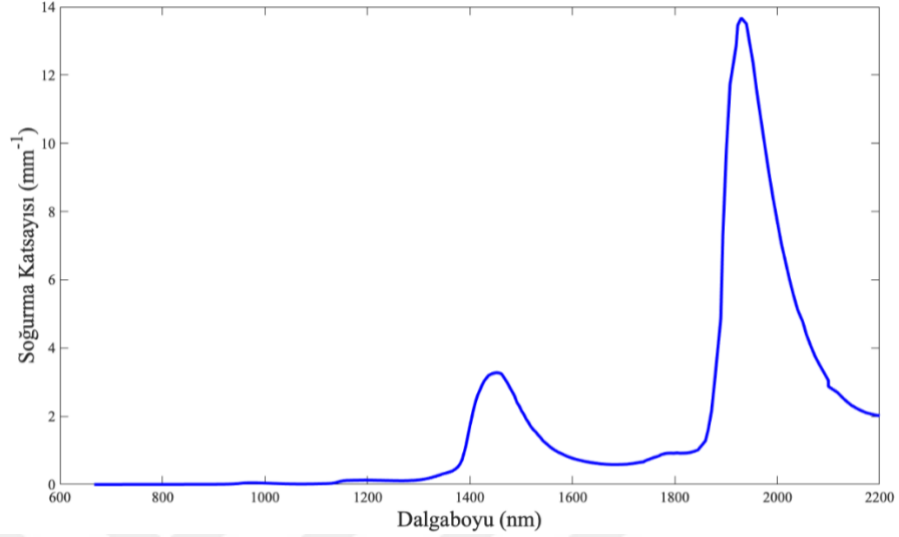
2.1.2. Soğurma

Soğurma; ışık enerjisinin kısmen ısıya veya soğurucu malzemenin belirli moleküllerinde titreşimlere dönüştürülmesinden kaynaklanmaktadır. Bir maddenin soğurganlığı, soğurulan ve gelen ışığın yoğunluklarının oranı olarak tanımlanır. Mükemmel şeffaf bir ortam, herhangi bir soğurma olmaksızın ışığın geçmesine izin verir ve böyle bir ortama giren ve çıkan ışık enerjileri aynıdır. Bir dokunun soğurma kabiliyeti; atomlarının ve moleküllerinin elektronik yapısı, ışığın dalga boyu ve yüzey kalınlığı gibi bir dizi faktöre bağlıdır. Yüzey kalınlığının etkisini tanımlamak için Denklem 2.4' de verilen Lambert ve Beer yasası sıklıkla kullanılır.

$$I = I_0 e^{-\mu_a d} \quad (2.4)$$

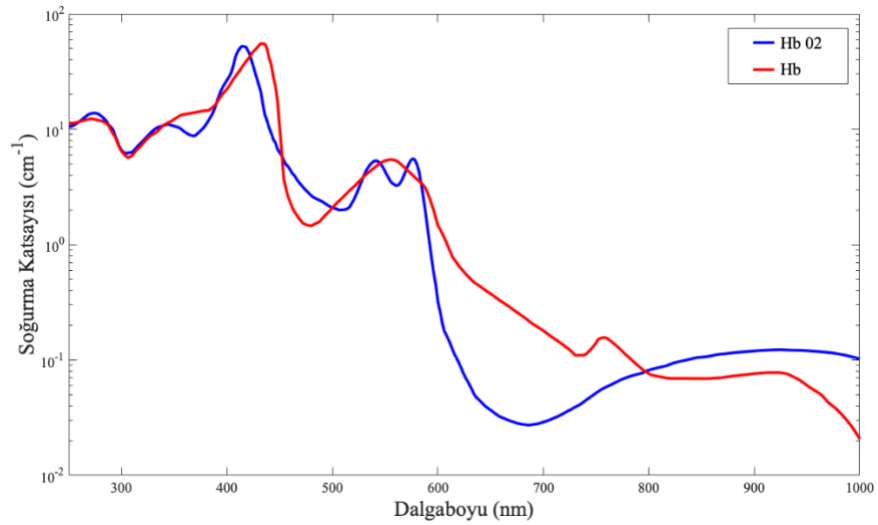
Bu denklemde I_0 ve I gelen ve iletilen ışık şiddetleri, d ; yüzey kalınlığı ve μ_a ; soğurma katsayısıdır. Homojen ve dağılmayan numunelerin soğurma katsayıları $\mu_a [cm^{-1}]$ Lambert ve Beer yasası ile belirlenebilir. Işık, doku içinde kromofor olarak adlandırılan moleküller tarafından soğurulabilir. Biyolojik dokularda bulunan ana kromoforlar su, lipitler, proteinler ve hemoglobinlerdir. Her kromofor farklı dalga boylarında farklı soğurma özelliklerine sahiptir (Jacques, 2013). Canlıların vücudunda en çok bulunan kimyasal madde olan su vücut kütlelerinin %75' ini oluşturur. Ayrıca su, dokularda yüksek bir konsantrasyona sahip olduğu için en önemli kromoforlardan biri olarak kabul edilir. Su molekülünün 650 – 2200 nm dalga boyu aralığındaki soğurma katsayısı grafiği

Şekil 2.4' de verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi su en yüksek soğurmayı kızılötesi bölgede yapmaktadır.



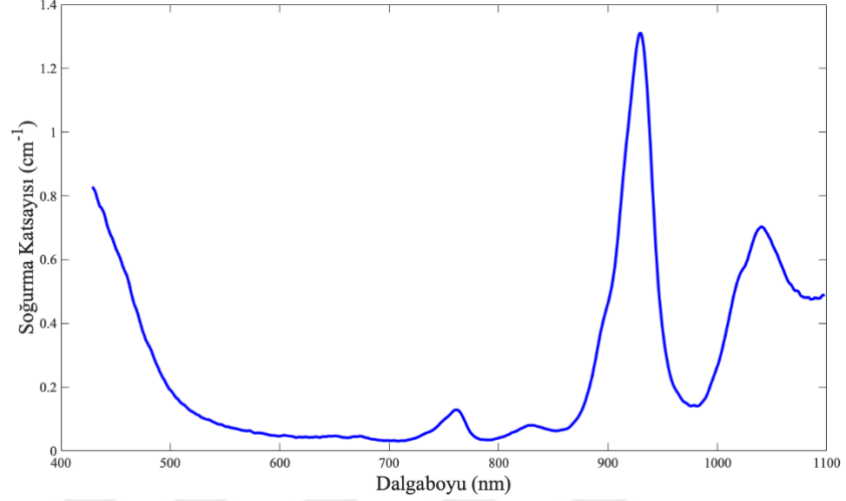
Şekil 2.4 Su molekülünün 650 - 2200 nm aralığında dalga boyuna bağlı olarak soğurma katsayısı (Hale, 1973)

Sudan sonraki en önemli soğurucu molekül ise hemoglobindir. Hemoglobin, akciğerlerden tüm hücrelere oksijen taşınmasında ve atık gazların hücrelerden akciğere geri dönmesinde önemli rol oynar. Hemoglobinin oksijenlenmiş haline oksihemoglobin adı verilirken, indirgenmiş hali deoksihemoglobin olarak adlandırılır. Şekil 2.5'de görüldüğü gibi oksihemoglobin ve deoksihemoglobinin soğurma spektrumları farklılık göstermektedir. Bu farktan yararlanılarak dokudaki oksijen yoğunluğu ölçülebilmektedir.



Şekil 2.5 Hemoglobinin 250 - 1000 nm aralığında dalga boyuna bağlı olarak soğurma katsayısı (Cope, 1991)

Temel kromoforlardan biri olan yağlar, lipidlerin en yaygın şeklidir. Genellikle deri altı dokularda ve organların çevresinde bulunurlar.



Şekil 2.6 Lipitlerin 450 - 1100 nm aralığında dalga boyuna bağlı olarak soğurma katsayısı (Van, 2004)

Şekil 2.6'dan da görülebileceği gibi lipidler yakın kızıl ötesi bölgede en yüksek soğurmayı yapmaktadırlar.

2.1.3. Saçılma

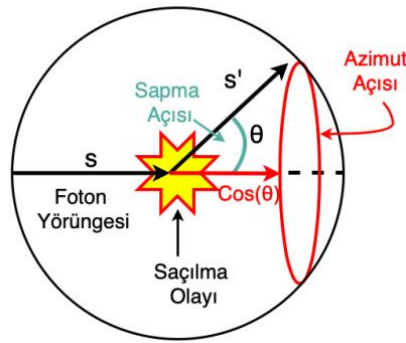
Biyolojik dokuların kırılma indeksinin havadan daha büyük olması nedeniyle, dokuya gelen ışığın bir kısmı hava ile doku sınırından yansımaktadır. Bununla birlikte, doku içinde yayılan ışık, hücresel organeller ve sıvılar ile karşılaşacaktır. Organellerin kırılma indekslerinin mikroskopik uyuşmazlığı ışığın yönünü değiştirmesine neden olur ve bu olaya saçılma denir (Schmidt, 1999). Işığın saçılması, numunenin boyutuna, ışığın dalga boyuna ve numunenin kırılma indisine bağlıdır. Saçılma katsayısı ($\mu_s [cm^{-1}]$), Lambert-Beer yasasının soğurulduğu olmayan bir madde için uyarlanmasıyla elde edilir ve Denklem 2.4'e benzer olarak;

$$I = I_0 e^{-\mu_s d} \quad (2.5)$$

eşitliği ile hesaplanabilir.

Saçılma da soğurma gibi ışığın dalga boyuna bağlıdır ve artan dalga boyu ile saçılma azalır (Hlavac, 2013). Dokuya gelen ışığın bir kısmı saçılma sürecinde enerjisini değiştirir. Bu duruma esnek olmayan saçılım denir (Raman, Brillouin saçılımı). Enerjinin korunduğu esnek saçılma Rayleigh ve Mie saçılma kuramları ile açıklanmaktadır. Dokulardaki baskın elastik etkileşimler Rayleigh ve Mie saçılmalarıdır. Maxwell denklemlerine dayanan Rayleigh ve Mie teorileri, monokromatik bir optik dalganın tek bir parçacık tarafından saçılmasını modellemektedir (Wang, 2007).

Rayleigh teorisi, ışığın dalga boyundan çok daha küçük parçacıklar tarafından saçılmasını modellemektedir. Bu durumun en önemli sonucu da parçacık etrafında eşit dağılımlı elektrik alanının oluşmasıdır. Böylece saçılmanın, yönden bağımsız olduğu sonucu çıkarılabilir. Gökyüzünün mavi renkte görünmesinin nedeni güneş ışığının maruz kaldığı Rayleigh saçılması olup saçılan ışığın yoğunluğu yaklaşık olarak λ^{-4} ile orantılıdır. Mie saçılmasında ışık saçılmasının dalga boyu bağımlılığı, saçılma partikülünün boyutundan, şeklinden ve kırılma indeksinden etkilenerek yaklaşık olarak λ^{-2} değerini alır (Miles, 2001). Mie teorisi tarafından tahmin edilen ışık saçılma özellikleri, dalga boyu saçılma partikülünden çok daha büyük hale geldiğinden Rayleigh saçılma özelliklerine yaklaşır (Saidi, 1995). Rayleigh ve Mie saçılmaları, dokuda saçılmayı tanımlamada çok önemli olmalarına rağmen tamamen açıklamada yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, deneysel verilere girdi olabilmesi için bir fotonun θ açısı ile saçılmasına ait olasılık fonksiyonunun tanımlanması gerekmektedir.



Şekil 2.7 Bir saçılma olayında, gelen ışının s yönünden s' yönüne doğru sapması.

Bir fotonun saçılmasına ait diyagram Şekil 2.7'de verilmiştir. Dokunun fiziksel özellikler (Örneğin; kırılma indisi, yoğunluk, vb.) açısından izotropik olduğu varsayıldığı için

saçılma sadece birim vektör yönleri \hat{s} ve \hat{s}' arasındaki açığa bağlıdır. Dağılımın açılma ihtimali $p(\theta)$, olasılık dağılım fonksiyonu ya da saçılma fazı fonksiyonu olarak adlandırılır. $p(\theta)$ fonksiyonu, anizotropi faktörünün (g) bir fonksiyonu olarak da ifade edilebilir. Saçılma açılarının ortalama kosinüsü olarak tanımlanan anizotropi faktörü;

$$g = \langle \cos\theta \rangle = \int_{-1}^1 p(\cos\theta) \cos\theta d(\cos\theta) \quad (2.6)$$

eşitliği ile hesaplanır ve -1 ile 1 arasında değerler almaktadır. $g = 0$ durumu saçılmanın izotropik (yönbağımsız) olduğuna, $g > 0$ ve $g < 0$ durumları ise sırasıyla ileri yönlü ve geri yönlü saçılmayı ifade eder. Biyolojik dokularda g değeri 0,70 ile 0,99 değerleri arasında olup (Niemz, 2007), bu değerler biyolojik dokularda saçılmanın ileri yönlü olduğunu göstermektedir.

Biyolojik saçılmaları açığa bağlı olarak açıklamak için Henyey-Greenstein fonksiyonu kullanılmaktadır (Henyey, 1941). Denklem 2.10' da belirtilen bu fonksiyonda, saçılma faz açısı kullanılarak anizotropi faktörünün belirlenebildiği gösterilmiştir.

$$p(\theta) = \frac{1}{4\pi} \frac{1-g^2}{(1+g^2-2g\cos\theta)^{3/2}} \quad (2.7)$$

g faktörü faz açısı cinsinden parametrelendirildiği ve simülasyonlarda kullanımlarında tersine çevrilebileceği için bu denklem sıklıkla tercih edilmektedir.

Çoğu zaman anizotropi katsayısı bilinmemektedir. Bu durumda, indirgenmiş saçılma katsayısının kullanılması gerekmektedir. Optik özelliklerin ölçümünde genellikle Denklem 2.8'de gösterildiği gibi saçılma katsayısı (μ_s) ve anizotropi katsayısını (g) birleştirilmesiyle oluşan indirgenmiş saçılma katsayısı (μ'_s) [cm^{-1}] kullanılmaktadır.

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g) \quad (2.8)$$

2.2. Işığın Dokudaki Yayılımı

Doku ortamında ışık yayılımı analitik olarak çözülebilir ve temel olarak Maxwell denklemleriyle başlar. Elektromanyetik teori yaklaşımı, ışığın dalga özelliklerini koruduğu için cazip olmasına rağmen, matematiksel işlemlerinin karmaşıklığı düşünüldüğünde çözüm için elverişli değildir. Bunun yerine foton taşınımına dayanan ışınımlı taşınım teorisi (Radiative Transport Equation) ve difüzyon teorisi gibi modeller, biyomedikal optik alanında sıklıkla kullanılmaktadır. Işınımlı taşınım teorisi, doğrudan doku ortamındaki enerji aktarımı ile hesaplanır. Temel olarak elektromanyetik teori, elektromanyetik alanların üst üste konmasıyla ışık yayılımını tanımlar, enerji akışlarını kullanır. Bunun için öncelikle ışınımlı taşınım teorisinde kullanılan optik parametreler ve bulanık ortamdaki ışık yayılımı tanımlanmalıdır.

Foton dağılım fonksiyonu $N(r, \hat{s})$ birim vektör \hat{s} yönünde hareket eden birim hacim başına düşen foton sayısı olarak tanımlanır. Ortamdaki fotonların, ışık hızı ve enerjisi ile çarpılmasıyla parlaklık $L(r, \hat{s})$ elde edilir.

Foton enerjisinin yayılmasını tanımlamak için kullanılan parlaklık;

$$L(r, \hat{s}) = N(r, \hat{s}) \frac{hc_t^2}{\lambda} \quad (2.9)$$

eşitliğiyle hesaplanır. Denklemden; h , plack sabiti, c_t ışığın dokudaki hızı, λ ise dokudaki ışığın dalgaboyudur.

Her yönde birim alan başına yayılma yönüne dik hareket eden fotonların sayısı Fluens oranı $\phi(r)$ olarak adlandırılır. Fluens oranı Denklem 2.10'de gösterildiği gibi parlaklığın, tüm katı açılarda integrali alınarak elde edilir ve doku optiğinde parlaklıktan daha çok öneme sahiptir. Çünkü dokuda bulunan kromoforlar başlangıç yönünden bağımsız olarak ışığı emer (Walsh, 2011).

$$\phi(r) = \int_{4\pi} L(r, \hat{s}) d\omega \quad (2.10)$$

Bir diğer nicelik olan akı $F(r)$, birim alan başına düşen fotonun enerji aktarımını tanımlar ve birimi W/m^2 dir. Denklem 2.11' de görüldüğü üzere,

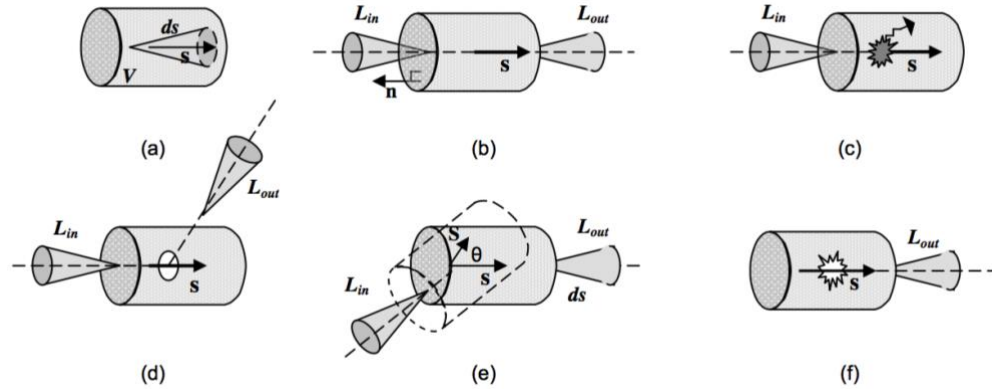
$$F(r) = \int_{4\pi} L(r, \hat{s}) \hat{s} d\omega \quad (2.11)$$

eşitliğinden net akı vektörü vektörel olarak parlaklık vektörlerinin toplanmasıyla hesaplanır.

2.2.1. Işımalı taşınım teorisi (RTE)

Fiziğin çeşitli alanlarında uygulanan ışımalı taşınım teorisinin bulanık ortam olarak adlandırılan dokularda ışık yayılımının modellenmesi için avantajlı olduğu kanıtlanmıştır. Işımalı taşınım teorisi ve elektromanyetik teori ışık yayılımını farklı olarak açıklamaktadır. Elektromanyetik teori, ışık yayılımını elektromanyetik alanların süperpozisyonu ile açıklarken, RTE ışığın yayılımını enerji akışlarının üst üste binmesi temeline dayandırır. Bu nedenle, polarizasyon, faz ve girişim gibi olaylar, RTE’de dikkate alınmaz (Dam, 2000).

Işımalı taşınım teoremi farklı bileşenlerden ve terimlerden oluşur. Şekil 2.8’ de gösterildiği gibi bu terimleri tanımlamak için, küçük bi hacim dV içinde, \hat{s} yönünde, c hızında hareket eden fotonlar dikkate alınır.



Şekil 2.8 Şematik olarak ışımalı taşınım teorisinin birleşenleri (Yavari, 2006).

Zamana bağlı ışımalı taşınım denklemi Denklem 2.11 ‘da verilmiştir.

$$\int_V \frac{dN(r, \hat{s}, t)}{dt} dV = - \int_V c \hat{s} \cdot \nabla N(r, \hat{s}, t) dV - \int_V c \mu_a(r) N(r, \hat{s}, t) dV - \int_V c \mu_s(r) N(r, \hat{s}, t) dV + \int_V c \mu_s(r) \int_{4\pi} p(\hat{s}', \hat{s}) N(r, \hat{s}', t) d\hat{s}' dV + \int_V q(r, \hat{s}, t) dV \quad (2.11)$$

Bu durumda, taşıma denkleminin ilk terimi, zamanla foton dağılımı fonksiyonundaki değişiklikleri ifade eder. İkinci terim, bir yüzey integrali olarak ifade edilebilen sınır boyunca kaybolan fotonları Gauss teoremi kullanılarak bulunmasını sağlar. Üçüncü terim, gelen fotonların \hat{s} yönündeki soğurulmasını ifade eder. Dördüncü terim, \hat{s} yönünden diğer herhangi bir \hat{s}' yönüne saçılan fotonları gösterir. Beşinci terim, \hat{s}' yönünden gelen fotonların \hat{s} yönünde saçılmasını gösterir. Son terim ise bir ışık kaynağı "q" ile elde edilen fotonları ifade eder.

2.2.2. Difüzyon yaklaşımı

Işımalı taşınım teorisinin analitik çözümlerinde sıklıkla difüzyon yaklaşımı kullanılmaktadır. Difüzyon teorisi, foton taşınmasında fotonun hareketinin düşük konsantrasyona olan ilgisiyle modellenmesidir. Difüzyon teorisi, soğurmadan ziyade saçılma tarafından baskın olan ortamlarda uygundur. Böylece her bir foton, bir soğurma olayı ile sonlandırılmadan önce birçok saçılmaya uğrar (Prahl, 1998). Işımalı taşınım teorisini difüzyon yaklaşımına uygun hale getirildiğinde, analitik olarak daha kolay çözülebilir ve işlenebilir olacaktır. Bunun için Denklem 2.12 yazılabilir.

$$(\nabla^2 - \kappa^2) \phi(r) = -Q_o(r) \quad (2.12)$$

Burada $\phi(r)$ bütün saçılmaların fluens oranı olup, Denklem 2.13 'de verilmiştir. Kaynak terimi $Q_o(r)$ ise kolime edilmiş normal ışınlamanın saçılması ile üretilir ve;

$$Q_o(r) = -3\mu_s [\mu_a + \mu_s(1 - g) + \mu_t g] (1 - r_s) F_0(r) \exp(-\mu_t z) \quad (2.13)$$

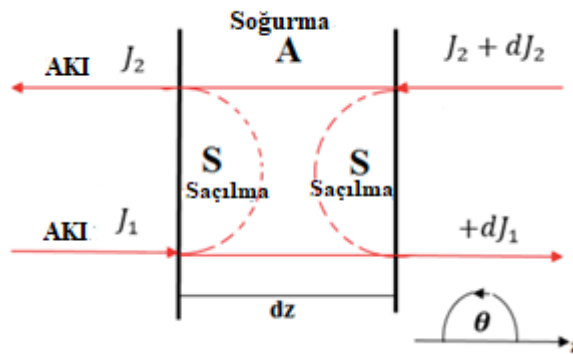
eşitliğiyle hesaplanır. Denklem 2.12'deki κ sabiti, yaklaşık olarak etkin zayıflama katsayısına (μ_{eff}) eşittir.

$$\kappa = \mu_{eff} = \sqrt{3\mu_a[\mu_a + (1 - g)\mu_s]} \quad (2.14)$$

RTE çoklu saçılma ortamında ışık yayılımını tarif eder. Bununla birlikte, RTE uygulamak karmaşık durumlar için zordur, çünkü RTE denkleminin kesin çözümleri sadece basit problemler için bilinmektedir ve çok sayıda değişken olması durumunda sayısal çözümler zordur.

2.2.3. Kubelka-Munk (KM)

Bir boyutlu ışınalı taşınım denkleminin bir yaklaşımı olarak Kubelka-Munk teorisi kullanılabilir (Sandoval, 2016). Kubelka-Munk yöntemi, biyolojik dokular gibi bulanık ortamlardaki saçılma nedeniyle oluşan kayıptan kaynaklanan ışık zayıflamasını ayırmak için kullanılmıştır (Wei, 2003). Kubelka-Munk modeli için bazı varsayımlarda bulunulmalıdır. Doku sonlu kalınlıkta, sonsuz genişlik ve uzunlukta düzlemsel bir katman olarak modellendiği için hiçbir sınır etkisi yoktur. Modellenen yüzeye mükemmel izotropik bir aydınlatma kullanılmalıdır. Işığın ortamla tek etkileşimi saçılma ve soğurmadır. Dış ve iç yüzey yansımaları meydana gelmez. Katman kalınlığı ne olursa olsun saçılma katsayısı (S) ve soğurma katsayısı (K) parametreleri sabittir (Kubelka, 1948). Kubelka-Munk modeli Şekil 2.9’da gösterildiği gibi doku içindeki iki ışık akışına dayanmaktadır. Şekilde J_1 gelen ışık ile aynı yönlü olan akışı gösterirken, J_2 ters yönde olan akıştır.



Şekil 2.9 İki boyutlu Kubelka-Munk teorisinin geometrisi (Hamdy, 2017)

KM modelinde ölçümü yapılan dağınık reflektans ve transmitansa göre aşağıdaki denklemler elde edilebilir. D optik kalınlık, S ise KM saçılma katsayısı olmak üzere;

$$R_d = \frac{\sinh(S b D)}{a \cosh(S b D) + b \sinh(S b D)} \quad (2.15)$$

$$T_d = \frac{b}{a \cosh(S b D) + b \sinh(S b D)} \quad (2.16)$$

denklemleri elde edilir. a ve b katsayıları;

$$a = \frac{1 + R_d^2 - T_d^2}{2R_d} \quad (2.17)$$

$$b = \sqrt{a^2 - 1} \quad (2.18)$$

denklemleri ile elde edilir. Birim yol uzunluğu tarafından soğurma nedeniyle akıdaki kayıp A , saçılma kayıp ise S olarak ifade edilir, A ve S katsayılarının R_d ve T_d ile ilişkisi;

$$S = \frac{1}{b D} \ln \left[\frac{1 - R_d (a - b)}{T_d} \right] \quad (2.19)$$

$$A = (a - 1) S \quad (2.20)$$

eşitliğiyle hesaplanır. Daha sonra ise S ve A değerlerinin saçılma ve soğurma katsayıları ile ilişkisi şöyle ifade edilebilir:

$$A = 2\mu_a \quad (2.21)$$

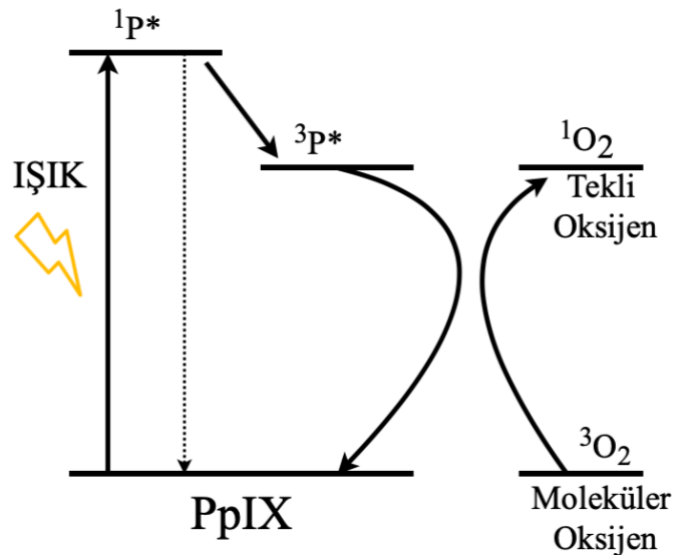
$$S = \frac{3}{4}\mu_s(1 - g) - \frac{1}{4}\mu_a \quad (2.22)$$

Genellikle, KM modeli veya difüzyon yaklaşımı gibi basit yöntemler, dokuların ve kanın optik özelliklerini tahmin etmek için ters algoritmaların ilk adımı olarak kullanılır. Optik özellikleri değiştirme ile yansıtılan ve iletilen sinyalleri hesaplama prosedürleri, ölçülen değerler hesaplanan değerlerle istenen hassasiyetle eşleşene kadar tekrarlanır (Bashkatov, 2011)

BÖLÜM 3. FOTODİNAMİK TERAPİ

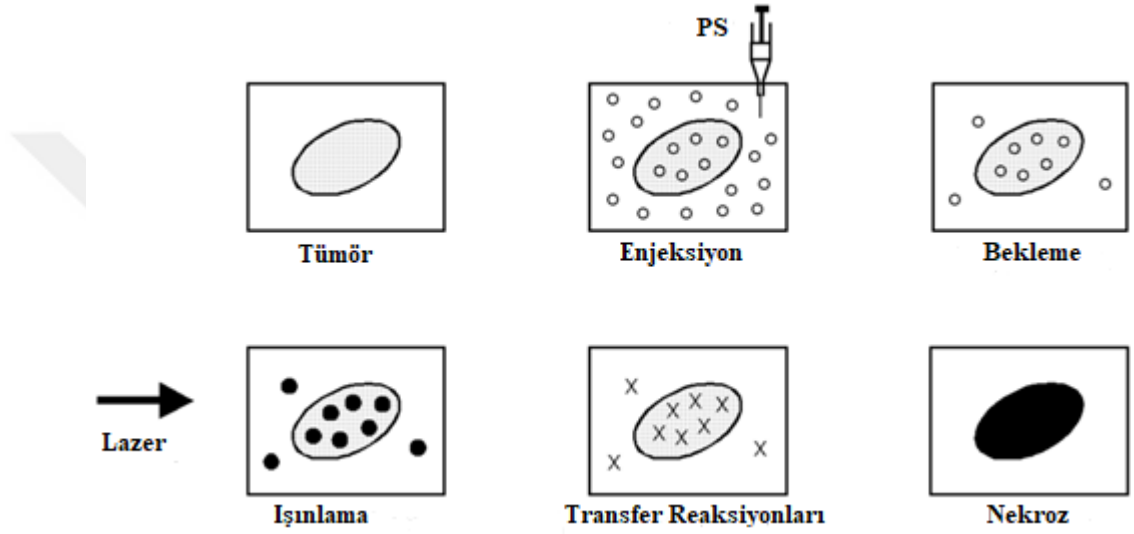
Işığın tedavi etmek amacıyla ilk kullanımı yüzyıllar öncesine dayanır. Mısırlılar, Çinliler ve Kızılderililer tarafından vitiligo, raşitizm, sedef hastalığı ve hatta cilt kanseri dahil olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır (Daniel, 1991). 20. yüzyılın başlarından itibaren bazı maddelerin ışığa duyarlı oldukları konusunda çalışmalar yapılmıştır. 1976 yılında ise insan mesane kanseri tedavisi ilk kez foto-duyarlı madde kullanımıyla yapılmıştır (Kelly, 1976). Tedavi sonuçlarının olumlu olmasıyla birlikte günümüzde fotodinamik terapi (FDT) olarak bilinen bu yöntem modern kanser tedavisinin ana direklerinden biri olmuştur.

Fotodinamik terapi üç ana bileşenden oluşur; foto-duyarlı madde, ışık ve oksijen. Bu bileşenlerin hiçbiri tek başına zehirli değildir. Ancak birlikte zehirli kimyasal bir maddenin oluşumuyla sonuçlanan fotokimyasal reaksiyon başlatabilirler. Şekil 3.1’ de gösterildiği gibi foto duyarlı madde ışık ile aktive olur ve kendi kararlı yapısına dönerken oluşan enerji ile moleküler oksijen (O_2), tekli oksijen (1O_2)’ e dönüşür.



Şekil 3.1 Tekli oksijenin oluşumu (Garg, 2015)

Tedavi süreci ise Şekil 3.2’de gösterildiği gibi ilerlemektedir. Hastaya verilen foto-duyarlı madde tüm vücuda yayılmaktadır, ancak ilacın vücuttan atılım süresi dokudan dokuya farklılık gösterir. Bu ilaç sağlıklı hücreden kısa sürede atılırken, tümör hücrelerinden atılması daha uzun zaman alır. Süreler arasındaki farklılık fotodinamik tedavinin temelini oluşturmaktadır. Bir sonraki adımda, foto-duyarlı maddeyi aktive edebilecek uygun dalga boyundaki ışık, hastalıklı dokuya uygulanır. Verilen ışık sonucu hücredeki oksijenin tekli oksijene dönüşmesi ile kanserli hücrenin ölümü sağlanır.



Şekil 3.2 Fotodinamik terapi işlem basamakları (Niemz, 2007)

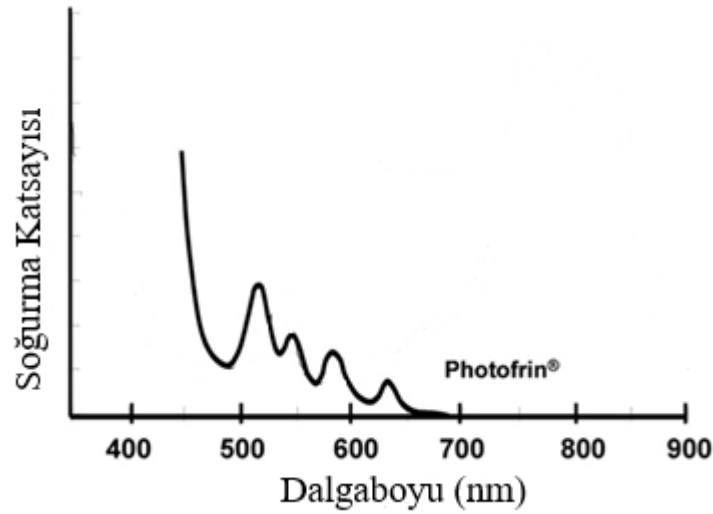
Fotodinamik terapide sağlıklı dokuda foto-duyarlı madde kalmadığı için doku zarar görmez ve sadece belirli bir bölgede tedavi gerçekleştirilir. Fotodinamik terapi diğer kanser tedavi yöntemleri gibi ağır yan etkiler göstermemektedir ve tedavi tekrar tekrar uygulanabilmektedir.

3.1 Foto-Duyarlı Madde (PS)

Foto-duyarlı madde, belirli dalgaboylarındaki ışık ile fotokimyasal reaksiyona giren ve sonucunda başka bir molekülde kimyasal değişikliğe neden olabilen kimyasallardır. Fotodinamik terapide birbirinden farklı foto-duyarlı maddeler kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları; HpD, photofrin, vertaporfin, talaporfin, indocyanin-green, ALA-5'dir.

Genel olarak fotodinamik terapide kullanılan ışığın dalgaboyu 600-900 nm aralığındaki kırmızı ve yakın kızılötesi bölgedir. Çünkü; hemoglobin 600 nm 'nin altında güçlü bir soğurmaya sahiptir. Bu nedenle gelen fotonların çoğunu yakalar (Parrish, 1978). 900 nm üst limiti ise, ışığın dalga boyunun arttığında enerjisinin azalmasından kaynaklanmaktadır. Çünkü bu durumda yüksek dalga boylu fotonlar tekli oksijen oluşumu için yeterli enerjiyi üretemeyecektir (Moor, 2003).

Tümörlerde hematoporfirin türevlerinin (HpD) etkinliği, modern FDT'nin kapılarını açtı ve bu tür maddelerin kararsız yapısı yeni PS'lerin geliştirilmesine de neden oldu. Hematoporfirinden türetilmiş olan ilk Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi onaylı PS olan photofrin şu anda çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Photofrin'in soğurma spektrumu, Şekil 3.3'de gösterilmektedir.

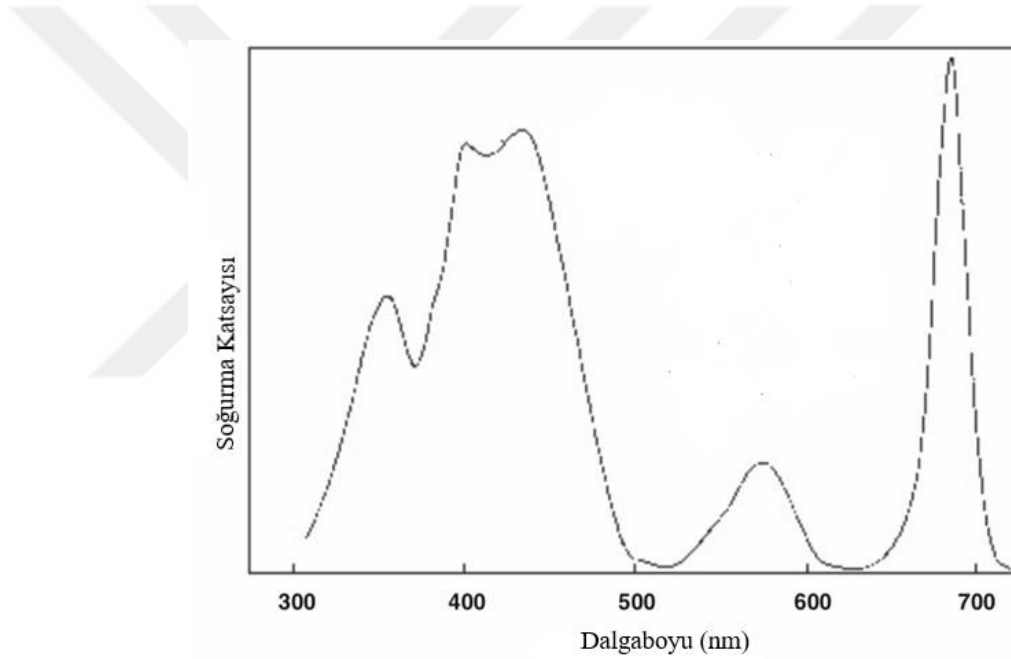


Şekil 3.3 Photofrin'in soğurma spektrumu (Wilson and Patterson 2008)

Şekil 3.3'de görüldüğü gibi photofrin 400 nm civarında büyük bir tepe noktasına sahipken daha uzun dalga boylarında birkaç küçük tepe noktasına sahiptir. Hemoglobinin en yüksek soğurma noktasındaki dalga boyunda verilen ışığı soğurmasından dolayı bu dalga boyundaki ışık kanserli bölgeye uygulanamaz. Bunun yerine ışığın oldukça zayıf soğurmanın olduğu 630 nm' de ışığın verilmesi gerekir. Bu durum yeterli fotodinamik etki elde etmek için gereken ilaç dozunu artıran bir etkidir (Wilson, 2008). Photofrin,

etkili bir foto-duyarlı madde olsa da vücuttan atılma süresi uzundur. Bu durum cildin birkaç hafta boyunca ışığa duyarlı hale gelmesine neden olduğu için photofrinin klinikte kullanımı sınırlıdır (You,2003). Photofrin ile ilgili bu sınırlar, daha etkin olabilecek yeni PS'lere ihtiyaç duyulmasına neden olmuştur (Sharman, 1999).

Verteporfin yeni keşfedilen foto-duyarlı maddelerden biridir ve birinci nesil porfirinlerde karşılaşılan sorunları hafifleterek FDT'nin etkinliğini artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Verteporfin vücuttan atılma süresinin kısalığı nedeniyle genellikle oftalmoloji alanında kullanılır. Verteporfin Şekil 3.4'de gösterildiği gibi 689nm'da en yüksek soğurmaya uğramaktadır (Scott, 2000).

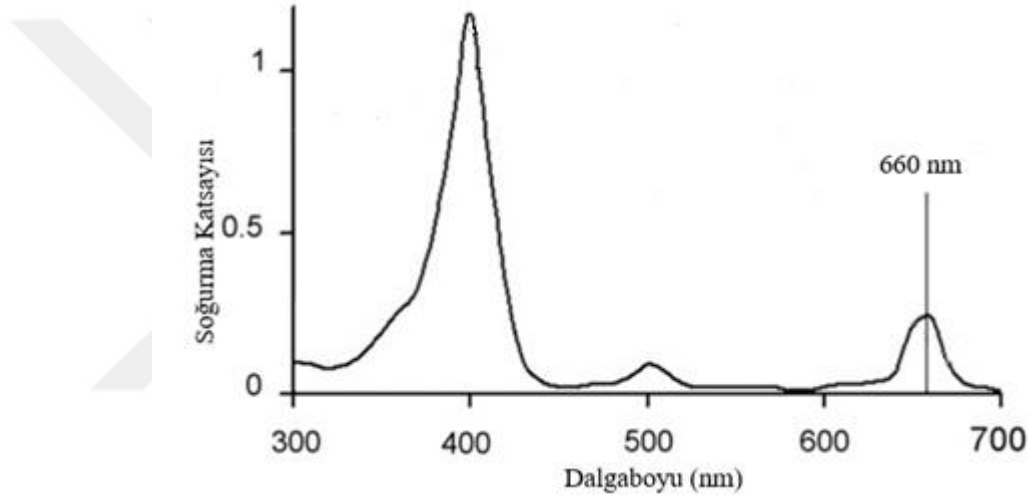


Şekil 3.4 Verteporfin'in soğurma spektrumu (Mellish, 2005)

Verteporfinin tedavi sırasında sebep olduğu hasarı bildirmek için yapılan çalışmada, ışıkla etkileştiği sırada kan akışında bazı değişiklikler olduğunu görülmüştür. Verteporfin-FDT sırasında, tümör kan akışında ve tümör oksijenasyonunda önemli düşüşler meydana gelmiştir (Pham, 2001). Photofrin-FDT ile olan sonuçların aksine, Verteporfin-FDT sırasında kan akışının azaltılması olumlu bir olaydır. Çünkü tümörler verteporfin sayesinde kan akışında veya oksijenasyonda daha büyük düşüşe uğradığı için tedaviden sonra daha çok nekroza uğrar. Böylece Verteporfin-FDT'nin ışık etkileşimi

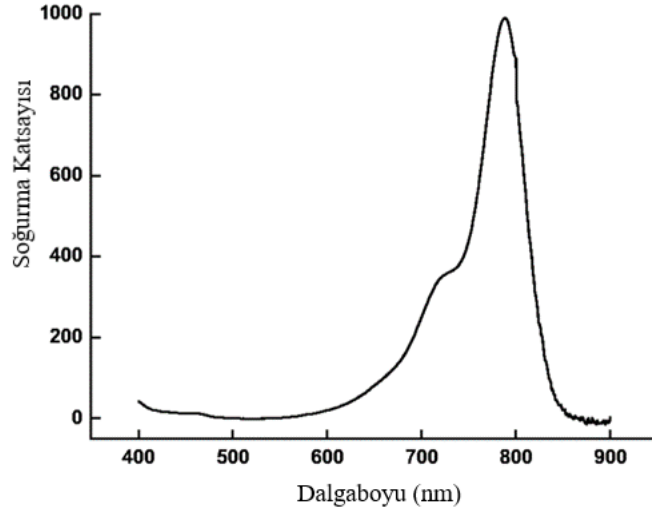
sırasında oluşan doğrudan sitotoksik sınırlamaları hafifletebilir ancak; bu durum kalıcı damar tıkanıklığına yol açabilmektedir (Hamblin, 2013).

İkinci nesil bir foto-duyarlı madde olan talaporfin, hastanın ışığa duyarlılık süresini azaltır. Bunun yanında ilaç uygulaması ile lazer ışığına maruz bırakma arasında photofrine kıyasla daha kısa bir zaman aralığı gerektirdiği için diğer foto-duyarlı maddelerden daha avantajlıdır. Ancak yine de etkinlik yeterliliği ve cildin ışığına duyarlılığı gibi konulara çözüm getirememiştir (Kataoka, 2011). Talaporfin Şekil 3.6'da görüldüğü gibi 660 nm'de en yüksek soğurmaya sahiptir.



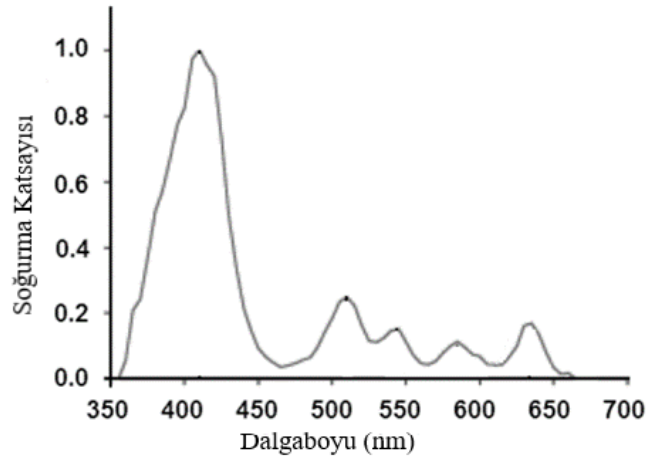
Şekil 3.5 Talaporfin'in soğurma spektrumu (Yoshida, 2008)

FDT'nin klinik etkinliği, kullanılan ışık kaynağının dalga boyuna da bağlıdır, FTD'de kullanılan ışığa duyarlı maddelerin çoğunun aktive edildiği 630 ile 690 nm aralığındaki dalgaboylu ışığın dokudaki penetrasyon derinliği 1-2 mm civarındadır. Bu nedenle, FDT verimliliğini artırma yaklaşımlarından biri olarak, yakın kızılötesi (NIR) bölgede etkileşime giren yeni fotoduyarlı maddeler geliştirilmektedir (Luo, 2008). Şekil 3.6'da görüldüğü gibi indocyanin-green en yüksek soğurmaya yakın kızılötesi bölge olan 805nm'de yapmaktadır (Bozkulak, 2009). Yapılan çalışmaların sonucu olarak ise indocyanine-green'in kanserli hücrelerinin büyümesini engellemek için de kullanıldığı görülmüştür (Ak, 2015).



Şekil 3.6 Indocyanine- green'in soğurma spektrumu (Genina, 2004)

FDT'de kullanılan foto-duyarlı maddeler önceden oluşturulmuş moleküller olarak doğrudan damar yolundan uygulanır. Bu durum fotoduyarlı maddenin seçici dağılımına ve farklı hücre tipleri arasındaki fizikokimyasal farklılıklara neden olmaktadır. Buna karşılık protoporfirin IX (PpIX) ise, 5-aminolevulinik asit (5-ALA) adı verilen maddenin uygun koşullar altında hücre için birincil enerji kaynağı olan mitokondride sentezlenmesiyle foto-duyarlı madde haline gelir. Ancak bazı hücre tipleri 5-ALA ya maruz kaldıkları halde ışığa duyarlı hale gelemezler. Bu tür hücresel özgüllük, FDT'de ALA kaynaklı PpIX'in klinik kullanımı için bir temel sağlar (Kennedy, 1992). PpIX yapılarına oksidatif hasar vererek enerji metabolizmasını engelleyebileceği için hücre ölümüne neden olur.



Şekil 3.7 PpIX'in soğurma spektrumu (Hernandez-Quintanar, 2011)

Şekil 3.7’de görüldüğü gibi PpIX’in soğurma spektrumunda 409, 509, 544, 584 ve 635 nm dalgaboylarında tepeler görülmüştür. Ancak daha önce de açıklandığı gibi tedavi için kullanılan 635 nm dalga boylu kırmızı ışıktır. (5-ALA) kullanıldığı fotodinamik terapi ağrısızdır, lokalize lezyonlar düşük enerjili bir seviyede tedavi edildiği için anestezi gerektirmez. Ayrıca radyoterapiden farklı olarak tekrar tekrar uygulanabilir (Inoue, 2017). Bu özellikler 5-ALA maddesini klinik onkolojide kanser tedavisinde kullanılan en başarılı ön ilaçlardan biri olmasını sağlamıştır (Wachowska, 2011).

Fotodinamik terapi uygulamalarında kullanılan ve bu çalışmada bahsedilen foto-duyarlı maddelerin özellikleri Tablo 3.1’de karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

Tablo 3.1 Fotodinamik terapide kullanılan foto-duyarlı maddelerin özellikleri

Fotoduyarlı madde	Dalgaboyu (nm)	Enjeksiyon sonrası zaman	Işık hassasiyet süresi	Referans
Phorfrin	630	24- 48 saat	2-3 ay	(Sharman, 1999)
Verteporfin	690	30-150 dakika	3-5 gün	(Sharman, 1999)
Talaporfin	660	15– 60 dakika	1-2 hafta	(Wittmann, 2014)
Indocyanine-Green	805	30-120 dakika	24 saat	(Tamai, 2018)
5-ALA	635	3- 4 saat	24-36 saat	(Hamblin, 2013)

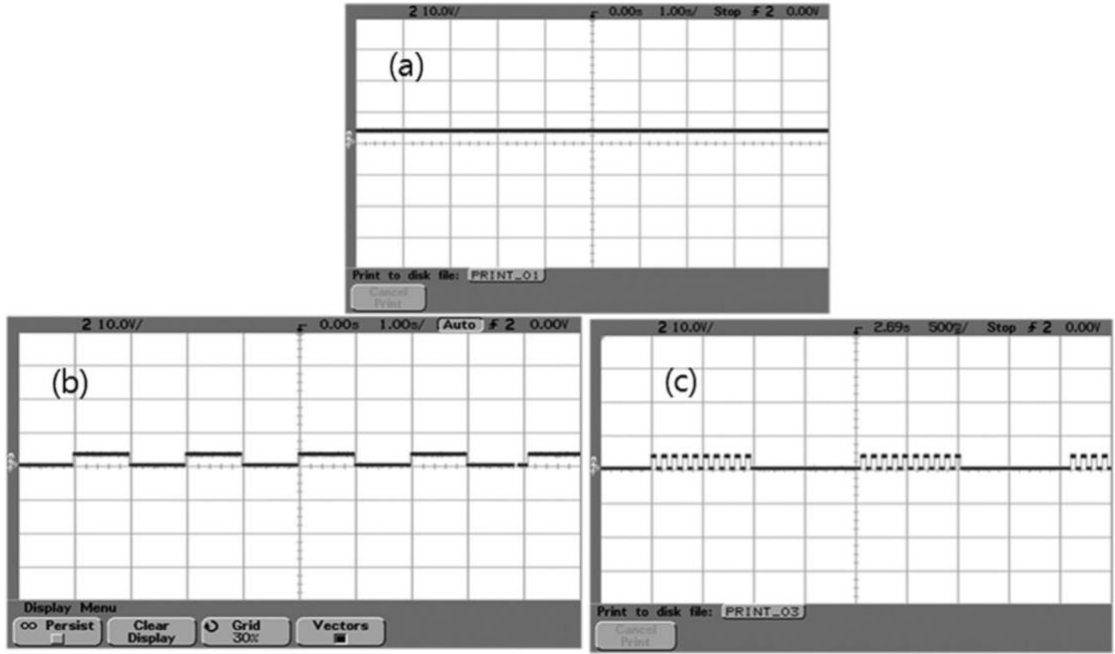
Tabloda görüldüğü gibi kullanılan her bir foto-duyarlı maddenin kendine özgü bir dalgaboyu vardır. Kişinin yaş, vücut ve kanser türüne bağlı olarak tercih edilebilen bu maddeler, farklı enjeksiyon sonrası bekleme süresine sahip olup, yine kişiden kişiye değişen sürelerde ışık hassasiyetine neden olmaktadır. Ancak tabloda da belirtildiği gibi 5-ALA hem kısa enjeksiyon sonrası bekleme süresi, hem de kısa süren ışık hassasiyeti ile sıklıkla kullanılan foto-duyarlı bir maddedir.

3.2. FDT Lazer Cihazları

Tedavi yöntemi olarak fotodinamik terapinin kullanılması, bu alandaki araştırmaları foto-duyarlı madde ve bu maddeyi aktif etmek için kullanılacak ışık kaynaklarına yöneltmiştir. FDT’de ışık kaynakları için temel şart, foto-duyarlı maddenin soğurma spektrumundaki tepe noktasında dalga boyunda ışık üretebilmesi ve bu dalga boyunda yüksek verimle çalışabilmesidir. Ayrıca ışık kaynaklarının klinik ortamda güvenli bir şekilde kullanılabilmesi ve düşük maliyetli olması istenmektedir.

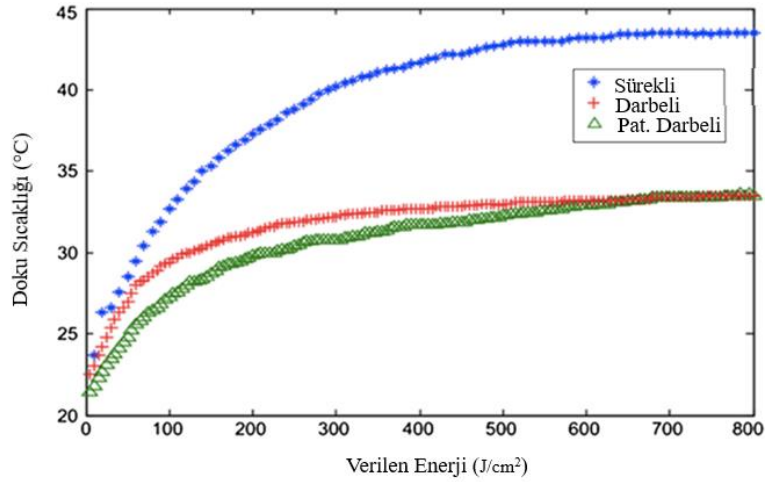
1970'lerin sonunda, çoğu klinik tedavi argon-iyon adı verilen lazerle yapılmıştır. Bu lazer yeterli güç üretme ve aynı ışığın farklı foto-duyarlı malzemelerle kullanılabilmesi için dalgaboyunun değiştirilebilmesi avantajına sahiptir. Ancak, boyut, yüksek elektriksel güç kullanımı ve düşük güvenilirlik gibi nedenlerle klinik çalışmalar için uygun olmadığı anlaşılmıştır. 1980'lerde argon-iyon lazeri yerini Nd:YAG lazere bıraktı. Nd:YAG lazerleri güvenilirlik ve soğutma sorunlarını çözdü ancak yine de hantal ve pahalıydı (Wilson, 2008). Günümüzde ise kullanılan foto-duyarlı maddelerle uyumlu dalga boylarında çalışan diyot lazerleri FDT için en pratik yöntem olarak kullanılmaktadır. Diyot lazerleri artık birçok uygulama için yeterli güce (birkaç watt) sahiptir ve daha önce kullanılan lazerlerden çok daha az maliyetlidir (Triesscheijn, 2006).

Sürekli modda çalışan diyot lazerin fotodinamik terapi uygulamalarında, sürekli modun doku üzerinde bir takım termal etkilere neden olduğu kaydedilmiştir (Abramson, 1987). Bu durum, lazer sistemlerinin darbeli ışımada modlarında kullanıldığında doku sıcaklığındaki istenmeyen artışın önlenebileceği fikrini doğurmuştur. 2011 yılında geliştirilmiş olan çok modlu FDT lazer cihazının sürekli, darbeli, patlama darbeli modları kullanılmış. Şekil 3.8’de diyot lazerin bu çıkış sinyalleri verilmiştir.



Şekil 3.8 Lazer modlarının çıkış sinyalleri; (a) sürekli mod , (b) darbe modu, (c) patlama-darbeleri modu (Lim, 2011).

Yeni ışınım modlarının kullanıldığı çalışmalarda sürekli ve darbe modlarının dokudaki termal etkilerine bakılmıştır. Şekil 3.9’ da darbe modları doku sıcaklığının bir fonksiyonu olarak gösterilmiştir.



Şekil 3.9 Işınım modlarının doku sıcaklık artışı üzerindeki etkisi (Lim, 2012)

Şekilde de görüldüğü gibi sürekli mod yerine darbe modunun kullanımı doku sıcaklığında artışa neden olmamaktadır. İki darbe arasındaki ışığın dokuya ulaşmadığı periyotta dokunun soğuma imkânı buluyor olması bu duruma yol açmıştır. Ayrıca, dokudaki ilgili

bölgenin oksijenlenmesine de imkân vermesi sebebiyle, darbe modu FDT'nin etkinliğini önemli ölçüde arttırmıştır. Ayrıca darbeli moda çalışan lazerlerin kullanıldığı FDT' de sağlıklı dokunun zarar görme ihtimali, sürekli moda göre çok daha azdır (Kawauchi, 2004).

3.3. Optik Doz Hesabı

Fotodinamik terapi sırasında hastanın ışına maruz kalma süresi ve aldığı ışın miktarı, dokudaki hastalıklı bölgede öldürücü etkilere neden olacak kadar uzun ve yoğun olmalı, aynı zamanda da sağlıklı bölgelere hasar vermeyecek kadar kısa ve yeterli olmalıdır. Bir başka deyişle, FDT'nin başarısı gelen ışın miktarı ve uygulanma süresinin optimizasyonuna bağlıdır. Bu da doz hesabının doğru yapılması ile mümkündür. Doz hesabının, FDT' ye dahil olan foto-duyarlı madde konsantrasyonu, doku oksijenasyonu ve ışık akıcılığı gibi faktörler sayesinde tümörün maksimum nekroz ile sonuçlanması amacıyla yapılır. Bu amaca ulaşmak için, bu faktörlerinin hastalıklı dokudaki dağılımının net olarak anlaşılmasını gerektir.

Bu faktörlerin ilki olan foto-duyarlı maddenin konsantrasyonunu belirlemek için en güvenilir yöntem, kan serumu ve doku biyopsilerinin sürekli örneklenmesidir (Eichler, 1998). Hastalardan çok sayıda kan ve doku biyopsisi alma konusundaki bariz kısıtlamalar, araştırmacıları dokunun optik özelliklerini kullanarak fotoduyarlı madde konsantrasyonunu ölçebilecek sistemler geliştirmeye teşvik etmiştir (Weersink, 1997). Örneğin; Optik Farmakokinetik (OP) sistemi anında sonuç veren minimal invaziv bir ölçüm yöntemi olarak bilinir. Bu sistemde iki uçlu fiber optik prop kullanılır. Bu probun bir ucundan beyaz ışık darbeleri ilgilenilen dokuya yönlendirilirken dokudan saçılan ışık probun diğer ucu ile tespit edilir (Austwick, 2011).

Diğer bir faktör olan doku oksijenasyonu için ise hemoglobin incelenir. Hemoglobin, oksijen saturasyonundaki (HbSat) FDT kaynaklı değişiklikleri gerçek zamanlı olarak izlemek ve sonuçları nihai biyolojik etkiyle ilişkilendirmek için kullanılabilir (Woodhams, 2004). Doz hesabı yapılırken oksihemoglobin ve deoksihemoglobin ölçümü için invaziv olmayan birtakım teknikler vardır. Doğrudan doku oksijenitesi

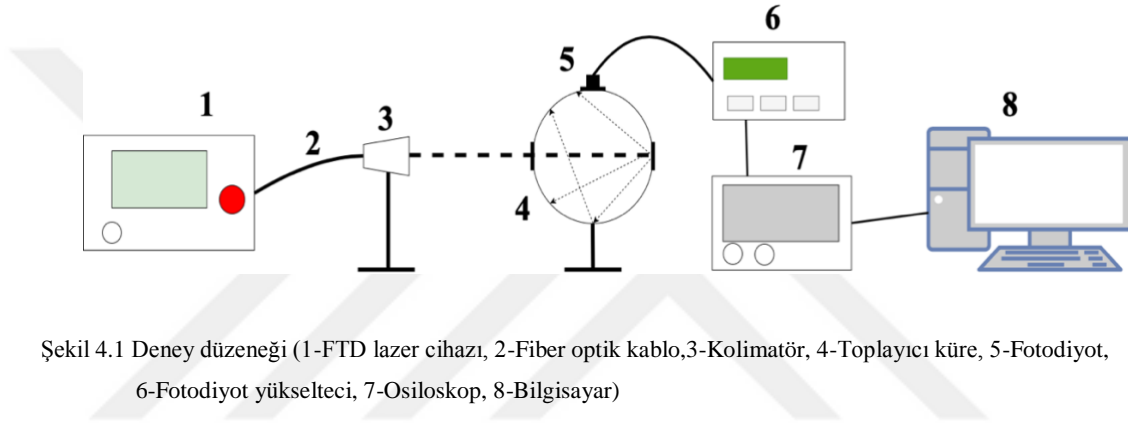
ölçümleri için oksijen elektrotları kullanırken, hemoglobinin oksijen saturasyonunu ölçmek için ise optik spektroskopi kullanılarak nokta ölçümleri yapılabilir. Fotodinamik terapi sırasında oluşan Tekli oksijen ($^1\text{O}_2$) den gelen 1270 nm lik ışılda, SOL (Singlet Oxygen Luminescence) ile doğrudan ölçülerek doz hesabında kullanılabilir (Jarvi, 2012). FDT'ye dahil olan en önemli faktör ise ışık akıcılığıdır. Işık dozu, fotodinamik terapi uygulamasında tümörün yok edilmesini sağlamak için gereken ışık miktarını açıklar. Düşük doz genellikle tedavinin başarısız olmasının nedeni olabileceği için ışık doz hesabı yapılabilmesi için dokunun optik özelliklerinden yararlanılmalıdır. Bu özelliklerden olan soğurmanın (μ_a), indirgenmiş saçılma katsayısının (μ'_s) ve penetrasyon derinliğinin (δ) bilinmesi gerekmektedir. Penetrasyon derinliği, doku yüzeyine uygulanan ışığın doku içinde ilerlerken şiddetinin yaklaşık %37' ye düştüğü derinlik olarak tanımlanır. Denklem 3.1'de penetrasyon derinliğinin matematiksel olarak nasıl hesaplanabileceği gösterilmiştir.

$$\delta = \frac{1}{\mu_{eff}} = \frac{1}{\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}} \quad (3.1)$$

Bu denklemde de görüldüğü gibi penetrasyon derinliğinin bulunması dokunun optik özelliklerinden olan soğurma ve indirgenmiş saçılma katsayılarının bilinmesine bağlıdır. Bu değerler de fotodinamik terapinin doz hesabında çok önemli bir yere sahip olduğu için bu tez çalışmasında 635 nm lazer cihazı kullanılarak inek karaciğer dokusunun soğurma ve indirgenmiş saçılma katsayıları yapılan deneysel çalışmalara belirlenmiştir.

BÖLÜM 4. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasında, sürekli ve darbeli modlarda çalıştırılan 635 nm lazer cihazı ile inek karaciğer dokusunun optik özellikleri tek toplayıcı küre sistemi kullanılarak incelenmiştir. Ölçümlerin yapıldığı deney düzeneği Şekil 4.1'de gösterilmektedir.



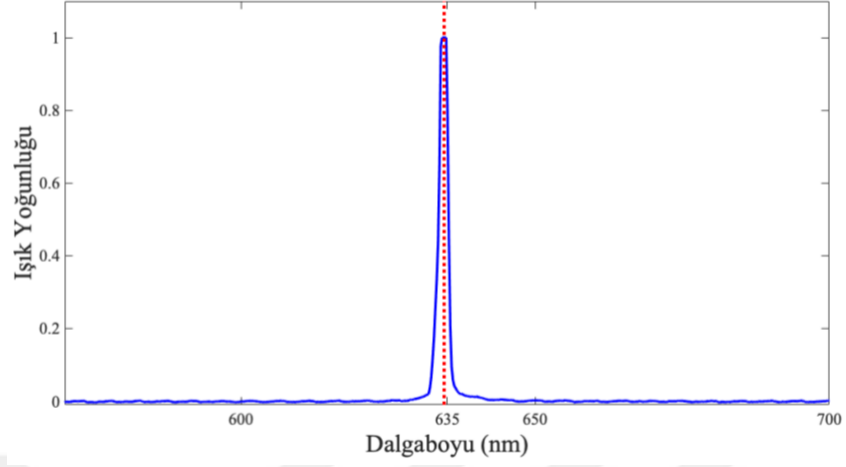
Şekil 4.1 Deney düzeneği (1-FTD lazer cihazı, 2-Fiber optik kablo,3-Kolimatör, 4-Toplayıcı küre, 5-Fotodiyot, 6-Fotodiyot yükselteci, 7-Osiloskop, 8-Bilgisayar)

Deneyleerde kullanılan lazer cihazından çıkan ışık fiber optik kablo ve bir kolimatör yardımıyla toplayıcı kürenin (IS236A, Thorlabs, ABD) giriş portuna gönderilmiştir. Toplayıcı küreye entegre edilmiş fotodiyot, fotodiyot yükselteci ile birlikte kullanılarak küre içerisine ulaşan ışığın şiddeti belirlenmiştir. Ölçülen değerlerinin analizinin yapılabilmesini kolaylaştırmak amacıyla fotodiyot yükseltecinde okunan değerler bir osiloskop üzerinden bilgisayara aktarılmıştır.

4.1. Lazer Cihazı

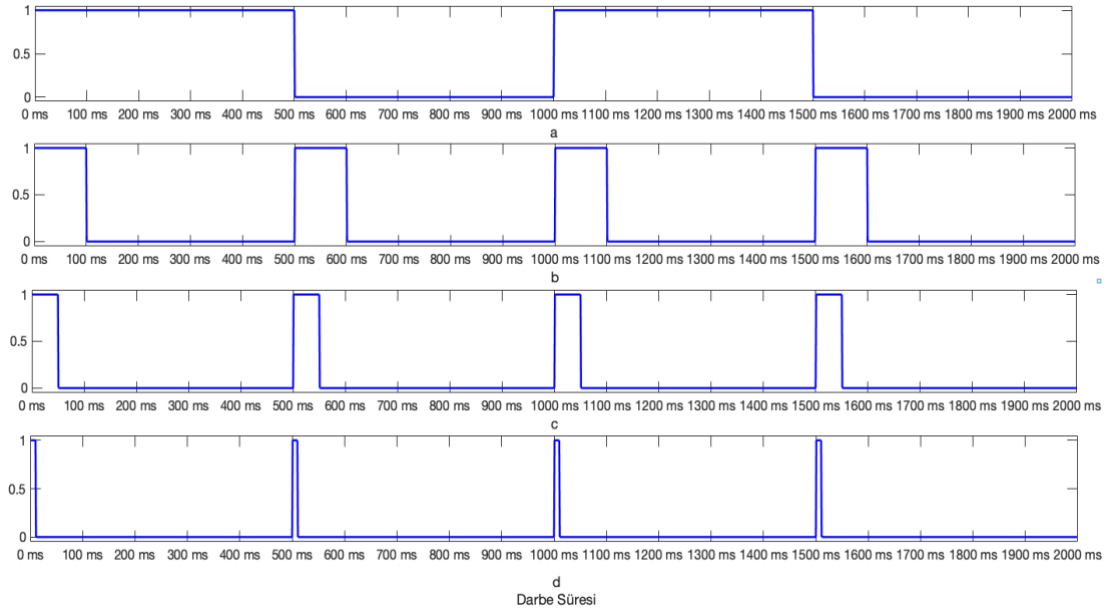
Deneyleerde, Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Biyomedikal Enstrümantasyon Laboratuvarında TUBİTAK 1005 projesi kapsamında geliştirilen çok modlu 635 nm dalgaboyuna sahip lazer cihazı kullanılmıştır. Cihaz, kullanıcının seçebileceği 4 farklı ışınım moduna (sürekli, darbeli, patlamalı darbeli ve süper darbe) sahip olup, darbe süresi ve optik güç kullanıcı arayüzünden belirlenebilmektedir. Cihazın optik çıkış gücü

maksimum 1,5 Watt değerine ulaşmakta olup, lazerin dalga boyu spektrumu Şekil 4.2’ de gösterilmiştir.



Şekil 4.2 Lazer cihazının dalga boyu spektrumu

Karanlık ve izole bir ortamda yapılan ölçümler, cihazın anlık değer değişikliklerini ve optik gürültüyü en aza indirmek için 10 saniye süreyle yapmıştır olup, elde edilen sayısal değerlerin ortalamaları alınmıştır. Darbe süresinin etkisini incelemek için sürekli modun yanı sıra 14 farklı darbe süresinde deneyler yapılmıştır. Kullanılan darbe modlarının bir kısmının grafiksel gösterimi Şekil 4.3’de verilmiştir.

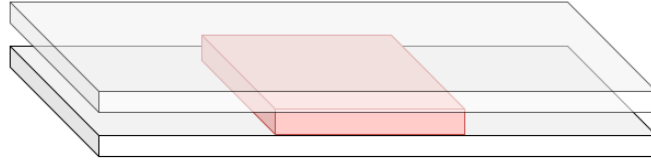


Şekil 4.3 Farklı (a-500 ms, b-100 ms, c-50 ms, d-10 ms) frekanslardaki darbe modları

Deneysel etki süresi araştırılan 14 farklı darbe süreleri; 10, 20, 30, 50, 60, 80, 100, 150, 200, 300, 500, 600, 800 ve 1000 ms olarak belirlenmiştir.

4.2. Doku Örneklerinin Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan doku örnekleri kasap kesiminden yaklaşık 2-3 saat sonra temin edilen inek karaciğerinden hazırlanmıştır. İnce kesitler alabilmek için dondurulan karaciğer dokularından neşter yardımıyla örnekler alınmıştır. Bu işlemin kas haricindeki diğer dokuların optik özelliklerinde önemli değişikliklere neden olmadığı literatürde bildirilmiştir (Prahl, 2011). Karaciğer dokusu damarlar yönünden zengin olduğu için dokudaki damarlı ve delikli olan parçaları ölçüm için kullanılmamış, homojen görümlü örnekler tercih edilmiştir. Kesilen örneklerin boyutunun toplayıcı kürenin giriş portundan daha büyük olmasına dikkat edilmiştir. Donmuş halde alınan örnekler oda sıcaklığına geldikten sonra Şekil 4.4’ de görüldüğü gibi iki adet 1 mm kalınlığındaki lamın arasına yerleştirilmiştir.



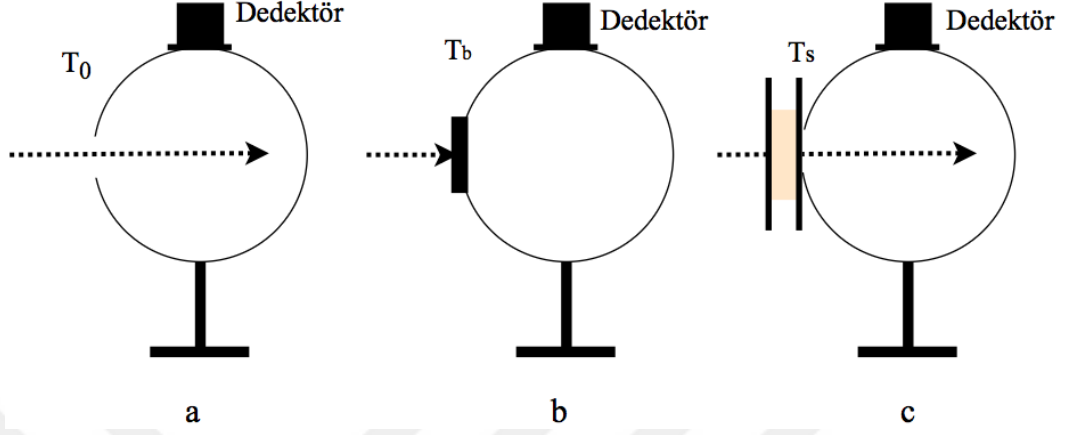
Şekil 4.4 Ölçüm için hazırlanmış bir doku örneği

Doku kalınlıkları mikrometre ile ölçülmüştür ve tüm deneyde kalınlığı 0,3-0,6 mm aralığında olan doku örnekleri kullanılmıştır.

4.3. Deneysel Ölçümler

Toplayıcı küre yöntemi, optik özelliklerin çıkarılmasında yaygın olarak tercih edilen bir yöntemdir. Kullanılan kürenin iç yüzeyi yüksek yansıtıcılık ve düşük soğurmaya sahip malzemeler ile kaplanmıştır. Bu malzemelerle ışığın küredeki iç yansımalarının düşük bir kayıpla dedektöre verilmesi sağlanmıştır. Toplayıcı küre kullanılarak doku örneklerine ait soğurma ve indirgenmiş saçılma katsayılarının belirlenebilmesi için 6 farklı ölçüm yapılması gerekmektedir. Bu ölçümlerden üç tanesinin sonuçları toplam tranmittans (M_T),

diğer üç tanesi ise toplam reflektans (M_R) değerlerinin hesaplanmasında kullanılır. M_T hesabı için gerekli ölçümler Şekil 4.5' de şematik olarak gösterilmiştir.

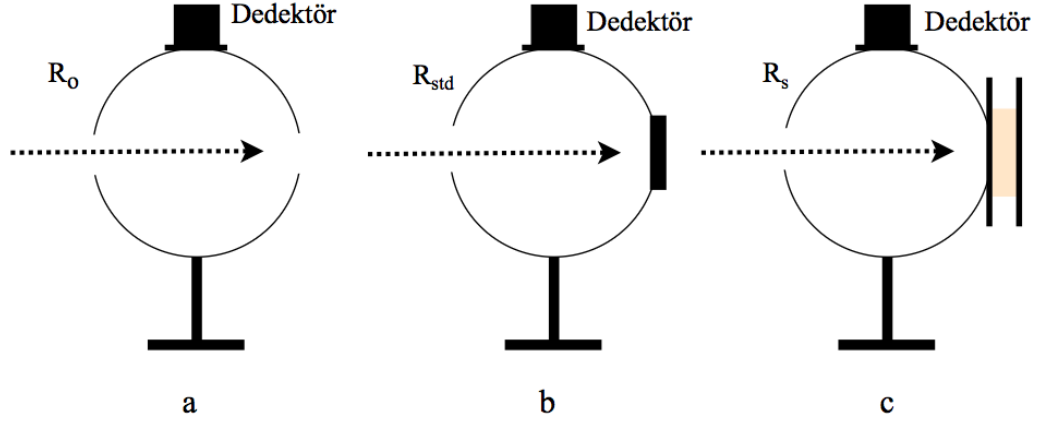


Şekil 2.5 Toplam transmitans hesabı için gereken ölçümler

Toplayıcı kürenin giriş ucu açık olacak biçimde (Şekil 4.5.a) yapılan ölçümün sonucu elde edilen değer T_0 değeri olarak belirlenmiştir. Kürenin giriş ucu kapalı olacak biçimde (Şekil 4.5.b) yapılan ölçüm sonucu ise T_b olarak tanımlanmıştır. Doku örneğinin numune tutucu sayesinde toplayıcı kürenin giriş portuna monte edilerek (Şekil 4.5.c) yapılan ölçümde elde edilen değer de T_s olarak belirlenmiştir. Bu değerlerin

$$M_T = \frac{T_s - T_b}{T_0 - T_b} \quad (4.1)$$

eşitliğinde yerine konulmasıyla M_T değerleri elde edilmiş olur. M_R hesabı için ihtiyaç duyulan ölçümler ise, Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 2.6 Toplam reflektans hesabı için gereken ölçümler

Toplayıcı kürenin giriş ve çıkış uçları açık olacak biçimde (Şekil 4.6.a) yapılan ölçüm sonucu elde edilen değer R_0 olarak adlandırılmıştır. Toplayıcı kürenin çıkış ucu %98 yansıtıcılığa sahip standart bir malzeme ile kapatılarak (Şekil 4.6.b) R_{std} değeri elde edilmiştir. Son olarak doku örneği, numune tutucu sayesinde toplayıcı kürenin çıkış portuna monte edilerek (Şekil 4.6.c) yapılan ölçümün sonucunda R_s değeri elde edilmiştir. Tüm bu değerler;

$$M_R = r_{std} \frac{R_s - R_0}{R_{std} - R_0} \quad (4.2)$$

eşitliğinde yerine konularak M_R değeri elde edilmiştir. Sürekli mod ve 14 farklı darbe modunda yapılan ölçümlerde M_R ve M_T değerleri 10 farklı inek karaciğer doku örnekleriyle tekrar edilmiştir. Bulunan değerler dokunun optik özelliklerinden olan soğurma (μ_a) ve indirgenmiş saçılma (μ_s') katsayılarını belirlemek için IAD programına veri olarak girişmiştir.

4.4 IAD Yazılımı

IAD programı; dokuların homojen olmayan yapısını modelleyebilmesi, izotropik olmayan saçılmaları ve iç yansımaları dahil edebilen esnekliğe sahip olması, hızlı ve yüksek doğruluk oranında sonuçlar verdiği için dokuların optik özelliklerini belirlemede sıklıkla kullanılmaktadır (Nau, 1999).

Program arka planında, ışımali taşınım denkleminde elde edilen reflektans ve transmittans değerlerini, girilen deneysel reflektans ve transmittans değerleriyle karşılaştırır. Yaptığı iterasyonlar sonucunda dokunun optik parametrelerinden olan soğurma (μ_a) ve indirgenmiş saçılma katsayısı (μ'_s) larını programın çıktısı olarak verir. Programın kullanılabilmesi için ölçüm sonuçlarından elde edilen M_T ve M_R değerlerinin yanı sıra kürenin geometrik özellikleri, doku kalınlığı, dokunun kırıcılık indisi gibi bilgileri içeren bir veri dosyasına ihtiyaç duyulur. Örnek bir veri dosyası Şekil 4.7' de verilmiştir.

```
IAD1 # Must be first four characters

# Input Example with a single set of sphere coefficients
# The order of entries is important
# Anything after a '#' is ignored, blank lines are also ignored

1.34 # Index of refraction of the sample
1.50 # Index of refraction of the top and bottom slides
1.0 # [mm] Thickness of sample
1.0 # [mm] Thickness of slides
5.0 # [mm] Diameter of illumination beam
0.96 # Reflectance of the calibration standard

1 # Number of spheres used during each measurement

# Properties of sphere used for reflectance measurements
203.2 # [mm] Sphere Diameter (8 in * 25.4 mm/in)
25.4 # [mm] Sample Port Diameter
12.7 # [mm] Entrance Port Diameter
1.00 # [mm] Detector Port Diameter
0.96 # Reflectance of the sphere wall

# Properties of sphere used for transmittance measurements
203.2 # [mm] Sphere Diameter (8 in * 25.4 mm/in)
25.4 # [mm] Sample Port Diameter
0.00 # [mm] Entrance Port Diameter
1.00 # [mm] Detector Port Diameter
0.96 # Reflectance of the sphere wall

2 # Number of measurements, M_R, M_T
```

Şekil 4.7 IAD programı veri dosyası (Prahl, 2011)

Bu çalışmada, inek karaciğeri kırıcılık indisi olarak literatürde belirtilen 1,39 değeri kullanılmıştır (Bolin, 1989). Deneysel boyunda kırıcılık indisi 1.5 olan 1 mm kalınlığındaki lamlar kullanılmıştır. Küre ile ilgili bilgiler ise üretici firma tarafından hazırlanmış olan kitapçıktan alınmış olup; küre çapı 50,8 mm (2 inc), kürenin giriş ve çıkış portunun çapı 12.7 mm dedektör çapı ise 3.0 mm dir.

Kürenin iç yüzeyinin yansıtıcılık oranı ise 350-1500 nm dalgaboyu aralığında yaklaşık %99 olarak belirtilmiştir (Thorlabs, 2010). Tüm bu bilgilere ek olarak, her bir numune için elde edilen toplam reflektans ve toplam transmitans değerlerinin ayrı ayrı girilmesinin ardından program çalıştırılmıştır. Programın çıktısı olarak elde edilen soğurma ve indirgenmiş saçılma katsayıları ve elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri Bölüm 5’ de verilmiştir.



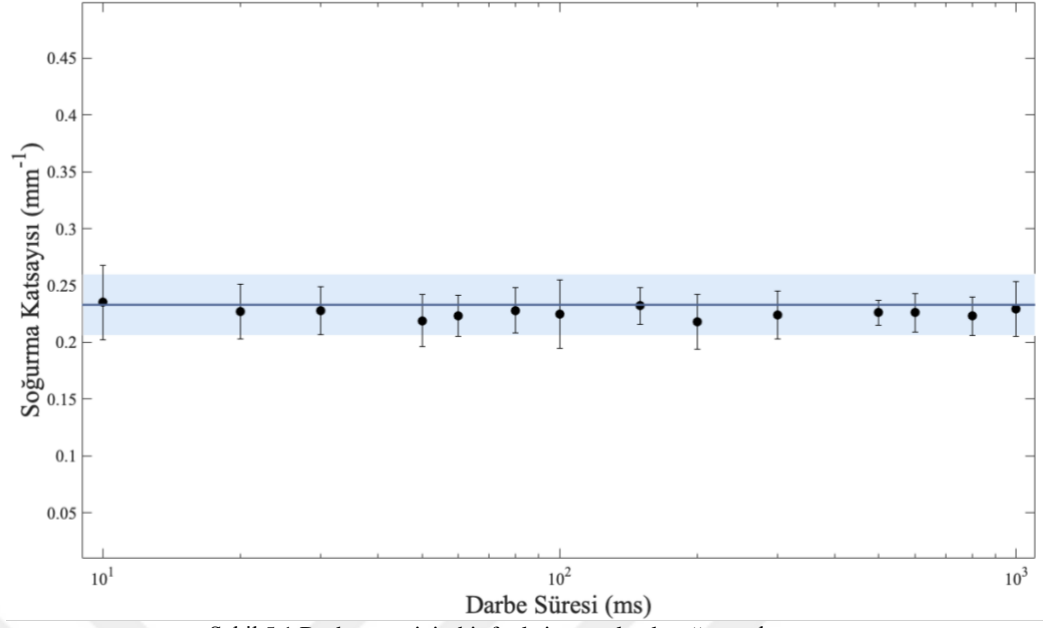
BÖLÜM 5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bölüm 4’ de belirtildiği şekilde ölçülen toplam reflektans (M_R) ve toplam transmitans (M_T) değerlerini (IAD) programına girilmesiyle doku örneklerine ait soğurma (μ_a) ve indirgenmiş saçılma (μ'_s) katsayıları elde edilmiştir. İlk ölçümler, lazer cihazı sürekli modda çalıştırılarak yapılmış olup, elde edilen sonuçların literatürde bulunan benzer çalışmaların sonuçlarıyla birlikte Tablo 5.1’de verilmiştir.

Tablo 5.1-İnek karaciğer dokusunun 635 nm dalga boyundaki optik özellikleri

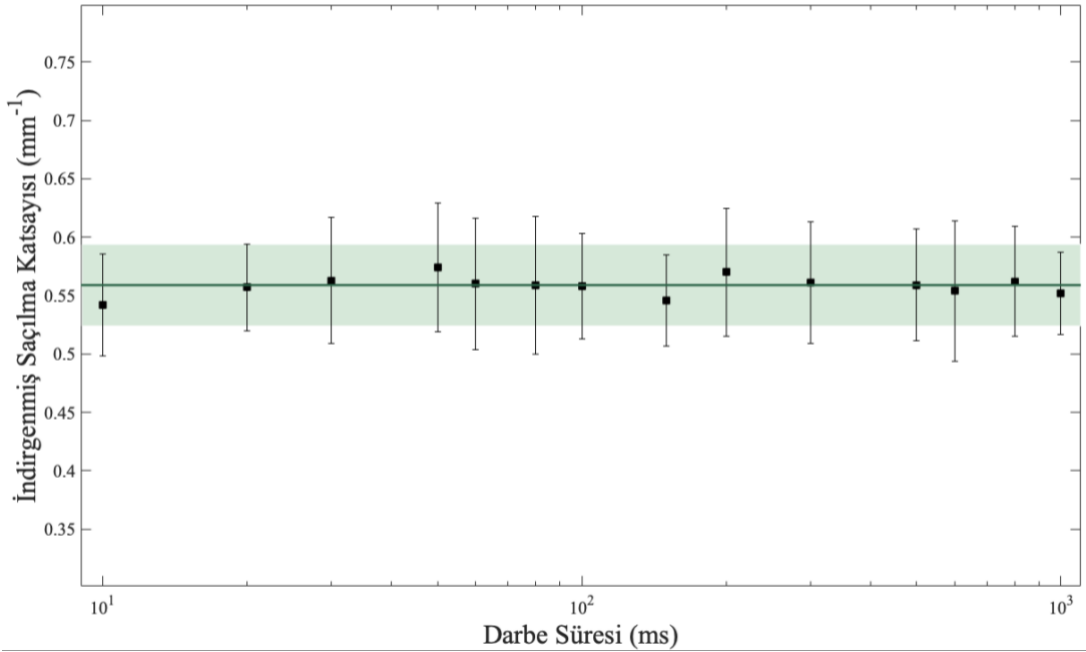
μ_a (mm^{-1})	μ'_s (mm^{-1})	Referans
0,27	0,52	(Kienle, 1996)
0,32	0,52	(Karagiannes, 2009)
0,22	0,51	(Arslan, 2018)
$0,23 \pm 0,03$	$0,56 \pm 0,03$	Bu çalışma

Bu bilgiler ışığında 10 farklı doku örneği için lazer cihazının darbe modunda 14 ayrı darbe süresi için çalıştırılmasıyla deneyler tekrarlanmıştır. Deney sonuçlarından elde edilen M_R ve M_T değerleri IAD programında girilmiş ve her bir darbe modunda dokuya ait soğurma ve indirgenmiş saçılma katsayıları belirlenmiştir. 10 farklı doku örneği için de tekrarlanmış olup elde edilen değerlerin ortalaması ve standart sapmaları hesaplanmıştır.



Şekil 5.1 Darbe süresinin bir fonksiyonu olarak soğurma katsayısı

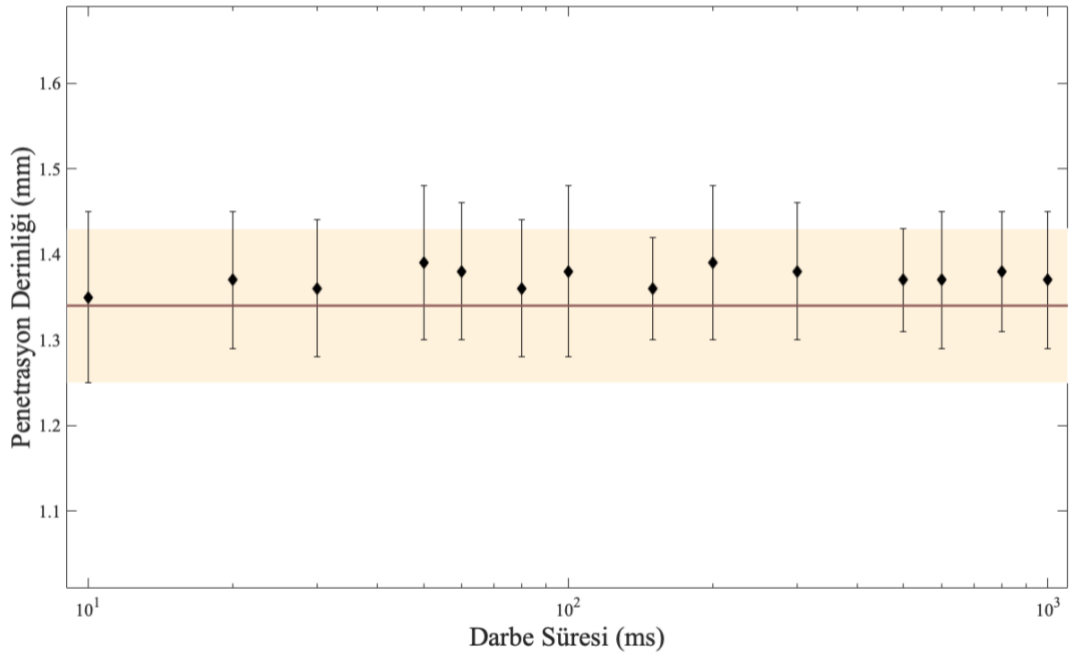
İnek karaciğerinin 635 nm’deki soğurma katsayısı, darbe süresinin bir fonksiyonu olarak Şekil 5.1’de verilmiştir. Koyu mavi çizgi sürekli durumdaki μ_a değerini gösterirken; açık mavi olan bant bu değer üzerindeki hatayı göstermektedir.



Şekil 5.2 Darbe süresinin bir fonksiyonu olarak indirgenmiş saçılma katsayısı

İnek karaciğerinin 635 nm’ deki indirgenmiş saçılma katsayısı ise darbe süresinin bir fonksiyon olarak Şekil 5.2’ de gösterilmiştir. Burada koyu yeşil çizgi sürekli durumdaki μ'_s değerini gösterirken, açık yeşil bant bu değer üzerindeki hatayı göstermektedir.

Bir sonraki adımda sürekli ve darbe modlarında elde edilen μ_a ve μ'_s değerlerinin Denklem 3.1’ de yerine konulmasıyla penetrasyon derinlikleri hesaplanmıştır. Sürekli moddaki 635 nm dalgaboylu lazer için inek karaciğer dokusundaki penetrasyon derinliği $1,34 \pm 0,09$ mm bulunmuştur. Farklı darbe süreleri için elde edilen penetrasyon derinliği değerleri, sürekli modda elde edilen değer ile birlikte Şekil 5.3’ de verilmiştir.



Şekil 5.3 Darbe süresinin bir fonksiyonu olarak penetrasyon derinliği

Bu üç şekilde de değişen darbe süreleri, soğurma katsayısı, indirgenmiş saçılma katsayısı ve penetrasyon derinliği değerlerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı göze çarpıyor. Bununla birlikte, daha net bir çıkarım yapabilmek için bu değerler istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

5.1. Sonuçların İstatistiksel Analizi

IAD programından elde edilen μ_a ve μ'_s değerlerinin analizinde T-test ve ANOVA (One-way) testlerinden yararlanılmıştır. Sürekli mod ile değişen her bir darbe süresi ayrı ayrı

karşılaştırıldığında, bu darbe sürelerinde yapılan deneylerin sonuçları ile sürekli modda yapılan deneylerin sonuçları arasında anlamlı bir farkın olup olmadığını belirlemek için 10 farklı doku örneğinden yararlanılarak T-testleri yapılmıştır (anlamlılık seviyesi $\alpha = 0,05$ (Chen, 1997)). Soğurma ve İndirgenmiş saçılma katsayıları için ayrı ayrı tekrarlanan bu testlerin sonuçları Tablo 5.2' de verilmiştir.

Tablo 5.2 T-testlerin p (çift kuyruk) değerleri

	Karşılaştırılan Durumlar	p-değeri
Soğurma Katsayısı	Sürekli Mod- Darbe Modu (1000 ms)	0,362
	Sürekli Mod- Darbe Modu (800 ms)	0,381
	Sürekli Mod- Darbe Modu (600 ms)	0,526
	Sürekli Mod- Darbe Modu (500 ms)	0,307
	Sürekli Mod- Darbe Modu (300 ms)	0,163
	Sürekli Mod- Darbe Modu (200 ms)	0,075
	Sürekli Mod- Darbe Modu (150 ms)	0,922
	Sürekli Mod- Darbe Modu (100 ms)	0,055
	Sürekli Mod- Darbe Modu (80 ms)	0,488
	Sürekli Mod- Darbe Modu (60 ms)	0,154
	Sürekli Mod- Darbe Modu (50 ms)	0,074
	Sürekli Mod- Darbe Modu (30 ms)	0,452
	Sürekli Mod- Darbe Modu (20 ms)	0,505
	Sürekli Mod- Darbe Modu (10 ms)	0,822
İndirgenmiş Saçılma Katsayısı	Sürekli Mod- Darbe Modu (1000 ms)	0,382
	Sürekli Mod- Darbe Modu (800 ms)	0,892
	Sürekli Mod- Darbe Modu (600 ms)	0,850
	Sürekli Mod- Darbe Modu (500 ms)	0,991
	Sürekli Mod- Darbe Modu (300 ms)	0,901
	Sürekli Mod- Darbe Modu (200 ms)	0,499
	Sürekli Mod- Darbe Modu (150 ms)	0,547
	Sürekli Mod- Darbe Modu (100 ms)	0,964
	Sürekli Mod- Darbe Modu (80 ms)	0,975
	Sürekli Mod- Darbe Modu (60 ms)	0,936
	Sürekli Mod- Darbe Modu (50 ms)	0,450
	Sürekli Mod- Darbe Modu (30 ms)	0,850
	Sürekli Mod- Darbe Modu (20 ms)	0,934
	Sürekli Mod- Darbe Modu (10 ms)	0,356

Tablolardan görüldüğü üzere, her bir darbe süresi için p değeri anlamlılık seviyesi olan 0,05 değerinin oldukça üzerindedir. Buna bağlı olarak sürekli mod ile değişen darbe

sürelerinin soğurma ve indirgenmiş saçılma katsayılarının sonuçları üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı söylenebilir.

Sürekli mod ve değişen darbe sürelerinin (15 farklı grup) kendi aralarında anlamlı bir farkın olup olmadığını belirlemek için ise ikiden fazla test grubunun olduğu durumlarda sık sık kullanılan ANOVA testi hem soğurma hem de indirgenmiş saçılma katsayıları için ayrı ayrı uygulanmıştır. Tablo 5.3 'de bu testlerin sonuçları ayrı ayrı gösterilmiştir.

Tablo 5.3 Farklı darbe sürelerinin soğurma ve indirgenmiş saçılma katsayıları için ANOVA testi sonuçları

Soğurma Katsayısı	Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F crit
	Gruplar Arasında	0,0033	14	0,0002	0,469	0,9459	1,766
Grup İçinde	0,0674	135	0,0005				
Genel Toplam	0,0707	149					
İndirgenmiş Saçılma Katsayısı	Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F crit
	Gruplar Arasında	0,0088	14	0,0006	0,2647	0,9965	1,7657
Grup İçinde	0,3222	135	0,0024				
Genel Toplam	0,3311	149					

Tablo 5.3' de görüldüğü gibi soğurma ve indirgenmiş saçılma katsayıları için elde edilen p değeri sırasıyla 0,946 ve 0,996 olarak belirlenmiştir. Bu değerlerin 0,05'den çok büyük olmalarından dolayı, darbe süresinin μ_a ve μ'_s üzerinde bir etkisinin olmadığı çıkarımı ANOVA testi ile de doğrulanmıştır.

KAYNAKLAR

- Abramson, A. L., N. X. Barrezueta, and M. J. Shikowitz. (1987). "Thermal Effects of Photodynamic Therapy on the Larynx: Experimental Study." *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery* 113(8):854–58.
- Ak, Ayşe, Özgür Kaya, Didem Turgut Coşan, and Murat Gülsoy. (2015). "Indocyanine Green-Mediated Photodynamic Therapy on Glioblastoma Cells in Vitro." *International Journal of Applied Mathematics, Electronics and Computers* 3(2):133.
- Arslan, Halil and Yasar Baris Dolukan. (2018). "Determination of the Optical Properties of Bovine Liver Tissue Using Integrating Sphere Technique." 2018(November).
- Austwick, Martin R., Josephine H. Woodhams, Vadzim Chalau, Charles A. Mosse, Caroline Eliot, Laurence Lovat, Alexander J. Macrobert, Irving J. Bigio, and Stephen G. Bown. (2011). "Optical Measurement of Photosensitizer Concentration In-Vivo." *Journal of Innovative Optical Health Sciences* 04(02):97–111.
- Bashkatov, A. N., E. A. Genina, and Valery V. Tuchin. (2011). *Handbook of Biomedical Optics*. edited by D. Boas, C. Pitris, and N. Ramanujam. CRC Press.
- Bolin, Frank P., Luther E. Preuss, Roy C. Taylor, and Robert J. Ference. (1989). "Refractive Index of Some Mammalian Tissues Using a Fiber Optic Cladding Method." *Applied Optics* 28(12):2297.
- Bozkulak, Ozguncem, Rezan Fahrioglu Yamaci, Ozgur Tabakoglu, and Murat Gulsoy. (2009). "Photo-Toxic Effects of 809-Nm Diode Laser and Indocyanine Green on MDA-MB231 Breast Cancer Cells." *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 6(2):117–21.
- Bray, Freddie, Jacques Ferlay, Isabelle Soerjomataram, Rebecca L. Siegel, Lindsey A. Torre, and Ahmedin Jemal. (2018). "Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries." *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 68(6):394–424.
- Chen, Qun, Brian C. Wilson, Sugandh D. Shetty, Michael S. Patterson, Joseph C. Cerny, and Fred W. Hetzel. (1997). "Changes in In Vivo Optical Properties and Light Distributions in Normal Canine Prostate during Photodynamic Therapy." *Radiation Research* 147(1):86.

- Cope, Mark. (1991). "The Development of a near Infrared Spectroscopy System and Its Application for Noninvasive Monitoring of Cerebral Blood and Tissue Oxygenation in the Newborn Infants." University Collage London.
- Dam, Jan Sørensen. (2000). "Optical Analysis of Biological Media- Continuous Wave Diffuse Spectroscopy." Lund Institute of Technology.
- Daniel, M. D. and J. S. Hill. (1991). "A History of Photodynamic Therapy." *Australian and New Zealand Journal of Surgery* 61(5):340–48.
- Eichler, Georg and Markus Müller. (1998). "Drug Distribution." *Clinical Pharmacokinetics* 34(2):95–99.
- Fiee, Peter Q. .. (2015). "Double Integrating Sphere Characterization of PVA-Cryogels." McMaster University.
- Garg, Abhishek D. and Patrizia Agostinis. (2015). *Resistance to Photodynamic Therapy in Cancer*. Vol. 5. edited by V. Rapozzi and G. Jori. Cham: Springer International Publishing.
- Genina, Elina A., Valery V. Tuchin, Gregory B. Altshuler, Georgy V. Simonenko, Olga D. Odoevskaya, and Alexey N. Bashkatov. (2004). "Low-Intensity Indocyanine-Green Laser Phototherapy of Acne Vulgaris: Pilot Study." *Journal of Biomedical Optics* 9(4):828.
- Hale, George M. and Marvin R. Querry. (1973). "Optical Constants of Water in the 200-Nm to 200-Mm Wavelength Region." *Applied Optics* 12(3):555.
- Hamblin, Michael R. and Ying Ying Huang. (2013). *Handbook of Photomedicine*.
- Hamdy, Omnia, Jala El-Azab, Tarek A. Al-Saeed, Mahmoud F. Hassan, and Nahed H. Solouma. (2017). "A Method for Medical Diagnosis Based on Optical Fluence Rate Distribution at Tissue Surface." *Materials* 10(9).
- Heney, L. C. and J. L. Greenstein. (1941). "Diffuse Radiation in the Galaxy." *The Astrophysical Journal* 93:70.
- Hernandez-Quintanar, L., S. Stolik, and J. M. De La Rosa. (2011). "Development of an Irradiation System for Photodynamic Therapy with Dosimetric Control." *CONIELECOMP 2011 - 21st International Conference on Electronics Communications and Computers, Proceedings* (November):34–38.
- Hlavac, Martin. (2013). "Measurement of Tissue Optical Properties: Methods and Theories." Czech Technical University in Prague.
- Huang, Zheng, Heping Xu, Arlen D. Meyers, Ali I. Musani, Luowei Wang, Randall Tagg, Al B. Barqawi, and Yang K. Chen. (2008). "Photodynamic Therapy for Treatment of Solid Tumors - Potential and Technical Challenges." *Technology in*

Cancer Research and Treatment 7(4):309–20.

Inoue, Keiji. (2017). “5-Aminolevulinic Acid-Mediated Photodynamic Therapy for Bladder Cancer.” *International Journal of Urology* 24(2):97–101.

Jacques, Steven L. (2013). “Optical Properties of Biological Tissues: A Review.” *Physics in Medicine and Biology* 58(11).

Jarvi, Mark T., Michael S. Patterson, and Brian C. Wilson. (2012). “Insights into Photodynamic Therapy Dosimetry: Simultaneous Singlet Oxygen Luminescence and Photosensitizer Photobleaching Measurements.” *Biophysical Journal* 102(3):661–71.

Jenkins, Francis A. and Harvey E. White. (1976). *Fundamental of Optics: 4th Edition*. Vol. 97.

Karagiannes, James L., Zengyao Zhang, Bess Grossweiner, and Leonard I. Grossweiner. (2009). “Applications of the 1-D Diffusion Approximation to the Optics of Tissues and Tissue Phantoms.” *Applied Optics* 28(12):2311.

Kataoka, Mabuchi M., Sakuma S., Takahashi S., Tujii R., Akashi H., Ohi H., Yano S., and Morita A. (2011). “Anticancer Effects of Novel Photodynamic Therapy with Glycoconjugated Chlorin for Gastric and Colon Cancer Tanaka M.” *Anticancer Research* 31(3):763–69.

Kawauchi, S., Y. Morimoto, S. Sato, T. Arai, K. Seguchi, H. Asanuma, and M. Kikuchi. (2004). “Differences between Cytotoxicity in Photodynamic Therapy Using a Pulsed Laser and a Continuous Wave Laser: Study of Oxygen Consumption and Photobleaching.” *Lasers in Medical Science* 18(4):179–83.

Kelly, J. F. and M. E. Snell. (1976). “Hematoporphyrin Derivative: A Possible Aid in the Diagnosis and Therapy of Carcinoma of the Bladder.” *Journal of Urology* 115(2):150–51.

Kennedy, James C. and Roy H. Pottier. (1992). “New Trends in Photobiology. Endogenous Protoporphyrin IX, a Clinically Useful Photosensitizer for Photodynamic Therapy.” *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology* 14(4):275–92.

Kienle, Alwin, Lothar Lilge, Michale S. Patterson, R. Hibst, R. Steiner, and Brian C. Wilson. (1996). “Spatially Resolved Absolute Diffuse Reflectance Measurements for Noninvasive Determination of the Optical Scattering and Absorption Coefficients of Biological Tissue.” *Applied Optics* 35(13):2304–14.

Kubelka, P. (1948). “New Contributions to the Optics of Intensely Light-Scattering Materials.” *Journal of the Optical Society of America* 38(5):448–57.

- Lim, Hyun Soo. (2011). "Development and Optimization of a Diode Laser for Photodynamic Therapy." *Laser Therapy* 20(3):195–203.
- Lim, Hyun Soo. (2012). "Reduction of Thermal Damage in Photodynamic Therapy by Laser Irradiation Techniques." *Journal of Biomedical Optics* 17(12):128001.
- Luo, Ting. (2008). "Femtosecond Time-Resolved Studies on the Reaction Pathways for the Generation of Reactive Oxygen Species in Photodynamic Therapy by Indocyanine Green." University of Waterloo.
- Mellish, Kirste J. and Stanley B. Brown. (2005). "Verteporfin: A Milestone in Ophthalmology and Photodynamic Therapy." *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 2(2):351–61.
- Miles, Richard B., Walter R. Lempert, and Joseph N. Forkey. (2001). "Laser Rayleigh Scattering." *Measurement Science and Technology* 12(5).
- Moor, Anne C. E. Moor, Bernhard Ortel, and Tayyaba Hasan. (2003). *Photodynamic Therapy*. edited by T. Patrice. UK: European Society for Photobiology.
- Nau, William H., Robert J. Roselli, and Douglas F. Milam. (1999). "Measurement of Thermal Effects on the Optical Properties of Prostate Tissue at Wavelengths of 1,064 and 633 Nm." *Lasers in Surgery and Medicine* 24(1):38–47.
- Niemz, Markolf H. (2007). *Laser-Tissue Interactions*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Parrish, John A., R. Rox Anderson, Frederick Urbach, and Donald Pitts. (1978). *UV-A: Biological Effects of Ultraviolet Radiation with Emphasis on Human Responses to Longwave Ultraviolet*. Boston, MA: Springer US.
- Pham, Tuan H., René Hornung, Michael W. Berns, Yona Tadir, and Bruce J. Tromberg. (2001). "Monitoring Tumor Response During Photodynamic Therapy Using Near-Infrared Photon-Migration Spectroscopy." *Photochemistry and Photobiology* 73(6):669–77.
- Prahl, Scott A. (2011). *Everything I Think You Should Know about Inverse Adding-Doubling*.
- Saidi, Iyad S., Steven L. Jacques, and Frank K. Tittel. (1995). "Mie and Rayleigh Modeling of Visible-Light Scattering in Neonatal Skin." *Applied Optics* 34(31):7410.
- Sandoval, Christopher. (2016). "Generalized Kubelka-Munk Theory - A Derivation And Extension From Radiative Transfer." University of California.
- Schmidt, Florian E. W. (1999). "Development of a Time-Resolved Optical Tomography System for Neonatal Brain Imaging." University College London.

- Scott, Lesley J. and Karen L. Goa. (2000). "Verteporfin." *Drugs & Aging* 16(2):139–46.
- Sharman, Wesley M., Cynthia M. Allen, and Johan E. Van Lier. 1999. "Photodynamic Therapeutics: Basic Principles and Clinical Applications." *Drug Discovery Today* 4(11):507–17.
- Svensson, Jenny, Ann Johansson, Katarina Svanberg, and Stefan Andersson-Engels. (2005). "Tissue Temperature Monitoring during Interstitial Photodynamic Therapy." P. 126 in *Thermal Treatment of Tissue: Energy Delivery and Assessment III*. Vol. 5698, edited by T. P. Ryan.
- Tamai, Koki, Tsunekazu Mizushima, Xin Wu, Akira Inoue, Minori Ota, Yuhki Yokoyama, Norikatsu Miyoshi, Naotsugu Haraguchi, Hidekazu Takahashi, Junichi Nishimura, Taishi Hata, Chu Matsuda, Yuichiro Doki, Masaki Mori, and Hirofumi Yamamoto. (2018). "Photodynamic Therapy Using Indocyanine Green Loaded on Super Carbonate Apatite as Minimally Invasive Cancer Treatment." *Molecular Cancer Therapeutics* 17(7):1613–22.
- Tearney, G. J., M. E. Brezinski, J. F. Southern, B. E. Bouma, M. R. Hee, and J. G. Fujimoto. (1995). "Determination of the Refractive Index of Highly Scattering Human Tissue by Optical Coherence Tomography." *Optics Letters* 20(21):2258.
- Thorlabs. (2010). *IS200 Series Integrating Spheres Spec Sheet*.
- Triesscheijn, M., P. Baas, J. H. M. Schellens, and F. A. Stewart. 2006. "Photodynamic Therapy in Oncology." *The Oncologist* 11(9):1034–44.
- Tuchin, Valery V. (2004). *Tissue Optics*.
- Van Veen, Robert L. P. ..., H. j. c. m. Sterenborg, A. Pifferi, A. Torricelli, and R. Cubeddu. (2004). "Determination of VIS- NIR Absorption Coefficients of Mammalian Fat, with Time- and Spatially Resolved Diffuse Reflectance and Transmission Spectroscopy." P. SF4 in *Biomedical Topical Meeting*. Washington, D.C.: OSA.
- Wachowska, Malgorzata, Angelika Muchowicz, Malgorzata Firczuk, Magdalena Gabrysiak, Magdalena Winiarska, Malgorzata Wańczyk, Kamil Bojarczuk, and Jakub Golab. (2011). "Aminolevulinic Acid (Ala) as a Prodrug in Photodynamic Therapy of Cancer." *Molecules* 16(5):4140–64.
- Walsh, Joseph T. (2011). *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue*. Second Edi. edited by A. J. Welch and M. J. C. van Gemert. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Wang, Lihong V. and Hsin-i Wu. (2007). *Biomedical Optics: Principles and Imaging*.
- Weersink, Robert A., Joseph E. Hayward, Kevin R. Diamond, and Michael S. Patterson. (1997). "Accuracy of Noninvasive in Vivo Measurements of Photosensitizer

- Uptake Based on a Diffusion Model of Reflectance Spectroscopy.” *Photochemistry and Photobiology* 66(3):326–35.
- Wei, Hua-Jiang. (2003). “Optical Properties of Human Normal Small Intestine Tissue Determined by Kubelka-Munk Method in Vitro.” *World Journal of Gastroenterology* 9(9):2068.
- Wilson, Brian C. and Michael S. Patterson. (2008). “The Physics, Biophysics and Technology of Photodynamic Therapy.” *Physics in Medicine and Biology* 53(9).
- Wittmann, Johannes, Matthew T. Huggett, Stephen G. Bown, and Stephen P. Pereira. (2014). “Safety Study of Photodynamic Therapy Using Talaporfin Sodium in the Pancreas and Surrounding Tissues in the Syrian Golden Hamster.” *International Journal of Photoenergy* 2014:1–7.
- Woodhams, J. H., L. Kunz, S. G. Bown, and A. J. MacRobert. (2004). “Correlation of Real-Time Haemoglobin Oxygen Saturation Monitoring during Photodynamic Therapy with Microvascular Effects and Tissue Necrosis in Normal Rat Liver.” *British Journal of Cancer* 91(4):788–94.
- Yavari, Nazila. (2006). “Optical Spectroscopy for Tissue Diagnostics and Treatment Control.” University of Bergen.
- Yoshida, Tomoyuki, Ryoji Tokashiki, Hiroyuki Ito, Akira Shimizu, Kazuhiro Nakamura, Hiroyuki Hiramatsu, Kiyooki Tsukahara, Shigetaka Shimizu, Daisuke Takata, Isaku Okamoto, and Mamoru Suzuki. (2008). “Therapeutic Effects of a New Photosensitizer for Photodynamic Therapy of Early Head and Neck Cancer in Relation to Tissue Concentration.” *Auris Nasus Larynx* 35(4):545–51.
- You, Youngjae, Scott L. Gibson, Russell Hilf, Sherry R. Davies, Allan R. Oseroff, Indrajit Roy, Tymish Y. Ohulchanskyy, Earl J. Bergey, and Michael R. Detty. (2003). “Water Soluble, Core-Modified Porphyrins. 3. Synthesis, Photophysical Properties, and in Vitro Studies of Photosensitization, Uptake, and Localization with Carboxylic Acid-Substituted Derivatives.” *Journal of Medicinal Chemistry* 46(17):3734–47.

ÖZGEÇMİŞ

Yaşar Barış DOLUKAN, 16/01/1995’de Zonguldak’da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Zonguldak’da tamamladı. 2012 yılında Karadeniz Ereğili Anadolu Lisesi’nden mezun oldu. 2012 yılında başladığı Sakarya Üniversitesi Elektrik – Elektronik mühendisliği Bölümü’nü 2016 yılında bitirdi. 2016 yılında Sakarya Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü’nde yüksek lisans eğitimine başladı.

