

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**ULTRASONİK KAVİTASYONUN PC3 HÜCRE HATTI İÇİN KLORİN E6
ARACILI SONODİNAMİK TERAPİ İLE İNDÜKLENEN APOPTOZDA ETKİSİNİN
GÖSTERİLMESİ**

AYŞEGÜL TÜRKOL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. MEHMET BİLGEN

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-21018 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2022

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Ayşegül TÜRKOL tarafından hazırlanan “Ultrasonik Kavitasyonun PC3 Hücre Hattı için Klorin E6 Aracılı Sonodinamik Terapi ile İndüklenen Apoptozda Etkisinin Gösterilmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 04/07/2022

Üye (T.D.) : Prof. Dr. Mehmet BİLGİN Aydın Adnan
Menderes
Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN Aydın Adnan
Menderes
Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Murat PEHLİVAN Ege
Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü V.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen, her konuda düşünceleriyle bana destek olan danışmanım Prof. Dr. Mehmet BİLGİN' e çok teşekkür ederim. Yüksek lisans sürecimde her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleriyle yanımda olan Biyofizik Anabilim Dalı Bölüm Başkanı Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN' e çok teşekkür ederim. Ders ve tez döneminde vermiş oldukları bilgilerle bu sürece destek oldukları için Anabilim Dalı öğretim üyemiz Dr. Özlem BOZKURT GİRİT'e çok teşekkür ederim.

Her konuda bilgileriyle bana yol gösteren, karşılaştığım sorunları önemseyip çözebilmem için ellerinden gelen desteği bana gösteren Araş. Gör. Dr. Bakiye GÖKER BAĞCA'ya, Araş. Gör. Dr. Mahmut Alp KILIÇ'a, Araş. Gör. Didem BAKAY İLHAN'a, Araş. Gör. Ayşe Gizem ŞAHMELİKOĞLU' na çok teşekkür ederim.

Bu süreçte karşılaştığım her zorlukta yanımda olan, dertlerimi dinleyen, tecrübeleriyle bana yol gösteren ve çok sıkıldığım zamanlarda yüzümü güldürerek tekrar motive olmamı sağlayan Umutçum'a çok teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında 26 yıldır yanımda olan, her sorunumu dinleyen ve varlığını her daim hissettiren ablam Leyla Nur TÜRKOL'a, tez çalışmam süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için sevgili anne ve babama, kıymetli babaanneme, yaptığım işleri önemseyen ve beni desteklediklerini her zaman hissettiren dayım Ahmet UZAL ve değerli eşi yengem Ayşegül UZAL'a, sıkılmadan her anlatışında özveriyle tez çalışmamı dinleyen ve bana bu süreçte yalnız olmadığımı hissettiren tüm arkadaş ve akrabalarımaya ayrıca teşekkür ederim.

Ne zaman bir ihtiyacım olsa kapılarını çalabildiğim, bilgi ve tecrübelerine güvendiğim ADÜ Tıp Fakültesi Hastanesi Biyomedikal Birimi'nde görevli değerli abilerim ve Kudret Ablam'a, yüksek lisans sürecimde yanımda olan ve her alanda desteğini hissettiren bölümümüz yüksek lisans öğrencisi Büşra ÖZTÜRK'e ayrıca teşekkür ederim.

Ve son olarak getirdiği hak ve özgürlüklerle bu tezi yapabilmemi sağlayan, kurucu önderimiz Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK' e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Ultrases	2
2.1.1. Ultrasesin Biyofiziksel Etkileri ve Tıpta Kullanım Alanları	3
2.2. Ultrasonik Kavitasyon	5
2.2.1. Kavitasyon Kabarcıklarını Etkileyen Faktörler.....	7
2.2.2. Akustik Kavitasyon Ölçüm Yöntemleri	9
2.3.1. Kanser.....	11
2.3.2. Prostat Kanseri İnsidansı.....	11
2.4. Fotodinamik Terapi	12
2.5. Sonodinamik Terapi.....	13
2.5.1. ROS Teorisi.....	14
2.5.1.1. Sonolüminesans Hipotezi.....	15
2.5.1.2. Sonolüminesans Türleri.....	16
2.5.1.3. Sonolüminesansı Açıklayan Teoriler.....	17
2.5.1.3. Piroliz Hipotezi.....	17
2.5.2. Kavitasyon Teorisi.....	17
2.5.3. Apoptozun İndüklenmesi.....	18
2.5.4. Anti-Tümör Bağışıklığının İyileştirilmesi.....	18
2.6. Sonosensitif Ajanlar.....	21

2.6.1. Klorin e6.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Gereç.....	24
3.1.1 Kullanılan Cihazlar.....	24
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar.....	24
3.2. Yöntem.....	25
3.2.1.Hücre Kültürü Optimizasyonu.....	25
3.2.2. Klorin e6 Aracılı Sonodinamik Terapinin Gerçekleştirilmesi.....	25
3.2.3. Kavitasyon Seviyesinin Ölçülmesi.....	28
3.2.4. MTT Hücre Canlılık Analizi.....	29
3.2.5. HO/PI Apoptotik Hücre Canlılığı Analizi.....	29
3.2.6. İstatistiksel Değerlendirme.....	30
4. BULGULAR.....	31
4.1. Kavitasyon Ölçüm Sonuçları.....	31
4.2. MTT Hücre Canlılık Analizi.....	34
4.3. HO/PI Hücre Canlılık Analizi.....	38
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	47
KAYNAKLAR.....	48
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	57
ÖZ GEÇMİŞ.....	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Ce6	:	Klorin e6
HIFU	:	Yüksek Yoğunluklu Odaklanmış Ultrases
MBSL	:	Çoklu Kabarcıklı Sonolüminasans
PDT	:	Fotodinamik Terapi
SBSL	:	Tek Kabarcıklı Sonolüminesans
SDT	:	Sonodinamik Terapi
SL	:	Sonolüminesans
ROS	:	Reaktif Oksijen Türleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Ses dalgasının şekilsel gösterimi	2
Şekil 2.	Ultrases darbe oranlarının gösterilmesi	3
Şekil 3.	Ultrasesin termal ve termal olmayan etkileri	3
Şekil 4.	Ultrasesin dokuyla etkileşiminin şematik gösterimi	4
Şekil 5.	Birkaç periyod boyunca kabarcık oluşumu, kabarcık büyümesi ve ardından çökme olayının grafiksel özeti	6
Şekil 6.	1056 kHz frekans altında akustik güç ve kabarcık boyutu ilişkisi.....	9
Şekil 7.	Kavitasyon aktivitesi ölçüm yöntemleri.....	11
Şekil 8.	Fotodinamik Tedavi temel bileşenleri.....	13
Şekil 9.	SDT' nin ROS etki mekanizması.....	15
Şekil 10.	Sonodinamik Terapi ROS Etki Mekanizması.....	20
Şekil 11.	Klorin e6 molekülünün yapısı.....	23
Şekil 12.	Materyal metodun grafik özeti.....	27
Şekil 13.	MTT testi çalışma prensibi.....	29
Şekil 14.	Değişen güç yoğunluğuna göre % kavitasyon değerleri.....	32
Şekil 15.	Değişen görev döngüsüne göre % kavitasyon değerleri.....	33
Şekil 16.	Sabit tutulan %25 görev döngüsü sonrası % hücre canlılığı grafiği.....	36
Şekil 17.	Sabit tutulan %50 görev döngüsü sonrası % hücre canlılığı grafiği.....	36
Şekil 18.	Sabit tutulan %100 görev döngüsü sonrası % hücre canlılığı grafiği.....	37
Şekil 19.	Sabit tutulan %25 görev döngüsü ve HO/PI % apoptoz grafiği.....	40
Şekil 20.	Sabit tutulan %50 görev döngüsü ve HO/PI % apoptoz grafiği.....	40
Şekil 21.	Sabit tutulan %100 görev döngüsü ve HO/PI % apoptoz grafiği.....	41

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	SBSL ve MBSL ışına fotoğrafları	16
Resim 2.	Inverted mikroskop altında PC3 hücreleri	28
Resim 3.	Kavitasyon ölçüm cihazı.....	28
Resim 4.	Kontrol ve Klorin e6 gruplarına ait HO/PI merge görüntüleri.....	38
Resim 5.	%25 puls görev faktörü sabit tutularak güç yoğunluğu arttırılan deney gruplarına ait HO/PI merge görüntüleri.....	38
Resim 6.	%50 puls görev faktörü sabit tutularak güç yoğunluğu arttırılan deney gruplarına ait HO/PI merge görüntüleri.....	39
Resim 7.	%100 puls görev faktörü sabit tutularak güç yoğunluğu arttırılan deney gruplarına ait HO/PI merge görüntüleri.....	39

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.	Çeşitli ultrases frekanslarında teorik ve deneysel kabarcık yarıçapları	8
Tablo 2.	SDT uygulamasında kullanılmış duyarlaştırıcı molekülleri.....	22
Tablo 3.	Kavitasyon ölçüm sonuçlarına ait grup ortalamaları ve standart hataları	31
Tablo 4.	Deney gruplarının tedaviden 24 saat sonra % hücre canlılığı sonuçlarına ait grup ortalamaları ve standart hataları.....	34
Tablo 5.	%25 puls ultrases uygulanmış deney gruplarının tedaviden 24 saat sonra % hücre canlılığı sonuçlarına ait p değerleri	34
Tablo 6.	%50 puls ultrases uygulanmış deney gruplarının tedaviden 24 saat sonra % hücre canlılığı sonuçlarına ait p değerleri.....	35
Tablo 7.	%100 puls ultrases uygulanmış deney gruplarının tedaviden 24 saat sonra % hücre canlılığı sonuçlarına ait p değerleri.....	35

ÖZET

ULTRASONİK KAVİTASYONUN PC3 HÜCRE HATTI İÇİN KLORİN E6 ARACILI SONODİNAMİK TERAPİ İLE İNDÜKLENEN APOPTOZDA ETKİSİNİN GÖSTERİLMESİ

Türkkol A. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2022.

Amaç: Sonodinamik Terapi (SDT), Fotodinamik Terapiden türetilmiş, etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılmamış ve giderek önem kazanan bir kanser terapi yöntemidir. SDT etki mekanizmalarının açığa çıkarılması terapi sürecinin olumlu sonuçlanmasına katkı sağlayacaktır. Bu çalışmada SDT etki mekanizmalarından biri olarak kabul edilen akustik kavitasyonun SDT uygulaması kaynaklı hücre ölümü üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: *In vitro* SDT uygulaması için PC3 prostat kanser hücre hattı kullanılmıştır. Altı kuyucuklu plakalara kuyu başına 10^5 hücre ekilmiştir. Sonosensitif ajan Klorin e6 önceden belirlenen dozda (5 μ M) hücrelere uygulanmıştır. Ardından hücreler değişen yoğunluk ve görev döngülerine sahip 1 MHz frekansta ultrasese maruz bırakılmıştır. Hücrelerin bulunduğu besiyerinde oluşan kavitasyon değerleri ölçülmüştür. Tedavi etkinliğinin anlaşılması için hücrelere hücre canlılığını gösteren ve hücrelerin metabolik aktivitelerini belirleyen 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür tetrazolyum tahlili (MTT) yapılmış ve hücreler Hoechst/ Propidium İodide (HO/PI) ile boyanmıştır. Ölçümler kavitasyon seviyeleriyle ilişkilendirilmek üzere kaydedilmiştir.

Bulgular: MTT bulgularına göre ultrases görev döngüsü arttıkça kavitasyon seviyesi anlamlı artış gösterdi ve hücre canlılığında anlamlı azalma meydana geldi. Ultrases güç yoğunluğunun artmasına bağlı olarak hücre canlılığı anlamlı azalma gösterdi ancak kavitasyon seviyelerinde kararlı anlamlı artış görülmedi.

Sonuç: Kavitasyon seviyesi ile SDT etkinliği arasında bir ilişkinin mevcut olduğu doğrudur fakat hücre canlılığının azaldığı tüm durumlarda kavitasyon seviyesinin arttığı

gözlemlenmemiştir. Hücre canlılığı üzerinde görülen bu negatif etkiyi keşfetmek için SDT'nin diğer etki mekanizmalarının araştırılması uygun olacaktır.

Anahtar kelimeler: Ultrasonik kavitasyon, Sonodinamik Terapi, Klorin e6, Prostat Kanseri, Ultrases

ABSTRACT

DEMONSTRATION OF THE EFFECT OF ULTRASONIC CAVITATION ON APOPTOSIS INDUCED BY CHLORINE E6 MEDIATED SONODYNAMIC THERAPY FOR PC3 CELL LINE

Türkkol A. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Biophysics Programme, Master Thesis, Aydın, 2022.

Objective: Sonodynamic Therapy (SDT) as derived from Photodynamic Therapy is becoming increasingly important in cancer treatment. Its mechanism of action has not been fully elucidated, but revealing it would contribute to the positive outcome of the therapeutic process. This study aimed to determine the effect of one of the mechanisms called acoustic cavitation on cell death triggered by SDT application.

Material and Methods: PC3 prostate cancer cell line was used for *in vitro* SDT application. Total 10^5 cells per well were seeded in six-well plates. The sonosensitive agent Chlorin e6 was applied to the cells at a predetermined dose (5 μ M). The cells were then exposed to ultrasound at a frequency of 1 MHz with varying intensity and duty cycles. The cavitation values formed in the medium containing the cells were measured. In order to determine the efficacy of SDT treatment, cell viability and metabolic activity were tested with 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide tetrazolium assay (MTT) and Hoechst/Propidium Iodide (HO/PI) stain. Measurements were recorded to relate with cavitation levels.

Results: According to MTT findings, as the ultrasound duty cycle increased, the cavitation level elevated significantly and cell viability decreased significantly. Depending on the increase in ultrasound power density, cell viability decreased significantly, but the increase in cavitation levels was not stable.

Conclusion: There is a relationship between cavitation level and SDT activity, but no increase in cavitation level was observed in all cases where cell viability was reduced. Exploring this negative effect on cell viability would require investigating other mechanisms of SDT action.

Keywords: Ultrasonic cavitation, Sonodynamic Therapy, Chlorine e6, Prostate Cancer, Ultrasound

1. GİRİŞ

Sonodinamik Terapi (SDT), fotodinamik terapiden türetilen güçlü doku penetrasyon kabiliyeti, yüksek hücre zarı geçirgenliği ve ultrasesin iyonize olmayan radyasyon sınıfında yer alması nedeniyle umut verici bir non-invaziv terapötik yöntemdir(D. Li ve diğerleri, 2021). Son yıllarda, nanoteknolojinin gelişmesiyle birlikte, nanoparçacık bazlı yüksek çözünürlüklü sonosensitizer aracılı SDT çalışmaları oldukça önem kazanmıştır(Guo ve diğerleri, 2021).

SDT'nin kanser hücrelerini öldürmesinde etkili olan ROS üretimi, kavitasyon etkisi teorisi, apoptozu indükleme, anti-tümör bağışıklığını iyileştirme, anjiyogenezi sınırlama ve hipertermi oluşturma olmak üzere altı teorik mekanizma bildirilmiştir (Rengeng ve diğerleri, 2017). SDT etki mekanizmalarının anlaşılması ve tedavi etkinliğindeki rollerinin belirlenmesi, tedavi başarısını ve SDT'nin klinik çalışmalarda uygulanabilirliğini arttıracaktır.

Klorin e6 (Ce6), yüksek toksik etki göstermeyen ve SDT'de etkinliği kanıtlanmış bir sensitif ajandır. Klorin e6 aracılı SDT'nin hücreleri apoptotik ve nekrotik olarak ölüme götürdüğü bildirilmiştir. (Chen ve diğerleri, 2013; Köken, 2020; Q. Li ve diğerleri, 2014)

Prostat kanseri, erkeklerde en yaygın teşhis alan maligniteler arasında ikinci sırada yer almaktadır (Freitas ve diğerleri, 2011).

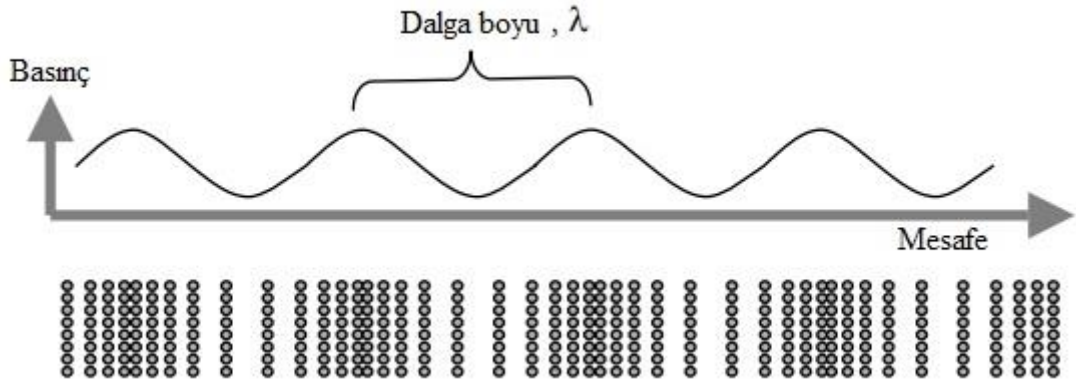
Batı ülkelerinde prostat kanseri teşhisi almış hastaların % 50'si radyasyon tedavisi görmektedir. Tam olarak iyonize radyasyondan kaynaklandığı kanıtlanmasada, radyoterapi ile tedavi edilen prostat kanserli hastalarda radyoterapi içermeyen yöntemlerle tedavi edilenlere kıyasla rektum kanseri riskinde önemli bir artış olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (Nugent ve diğerleri, 2022). Bu nedenlerden dolayı kanser çalışmalarında yeni tedavi yöntemleri arayışı güncel önemini korumaktadır.

Bu çalışmanın amacı akustik kavitasyonun klorin e6 aracılı sonodinamik terapide hücre canlılığı üzerindeki etkinliğini göstererek sonodinamik terapi etki mekanizmalarının aydınlatılmasına katkı sağlamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

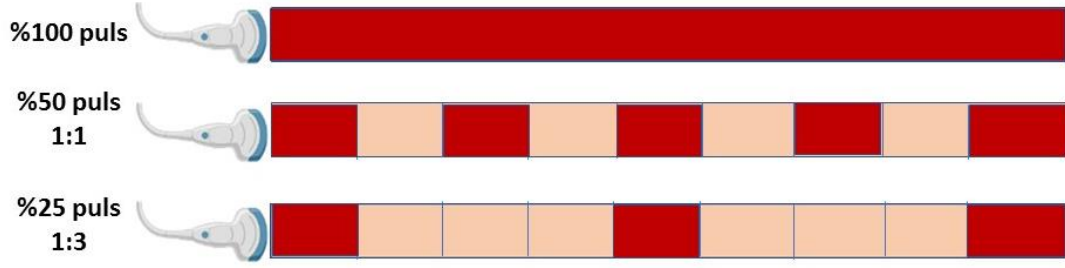
2.1. Ultrases

İnsan kulağının işitemeyeceği 20 kHz ve üzeri ses dalgalarına ultrases denilmektedir (Abu-Zidan ve diğerleri, 2011). Ultrasesi tanımlarken frekans ve dalga boyu kavramları kullanılmaktadır. Frekans, bir ses dalgasının saniyedeki titreşim sayısıdır ve birimi Hertzdir. Dalga boyu ise sesin tek bir döngüde kat ettiği mesafedir. Dalga boyu ve frekans arasında ters ilişki vardır, bir dalganın boyu ne kadar küçükse frekansı o kadar yüksektir (Powles ve diğerleri, 2018). Ultrases enerjisi ortamda sıkıştırma ve seyrekleştirme fazlarındaki değişimlerle yayılmaktadır. (Robinson, 2007)



Şekil 1. Ses dalgasının şekilsel gösterimi (Modifiye şekil (Robinson, 2007))

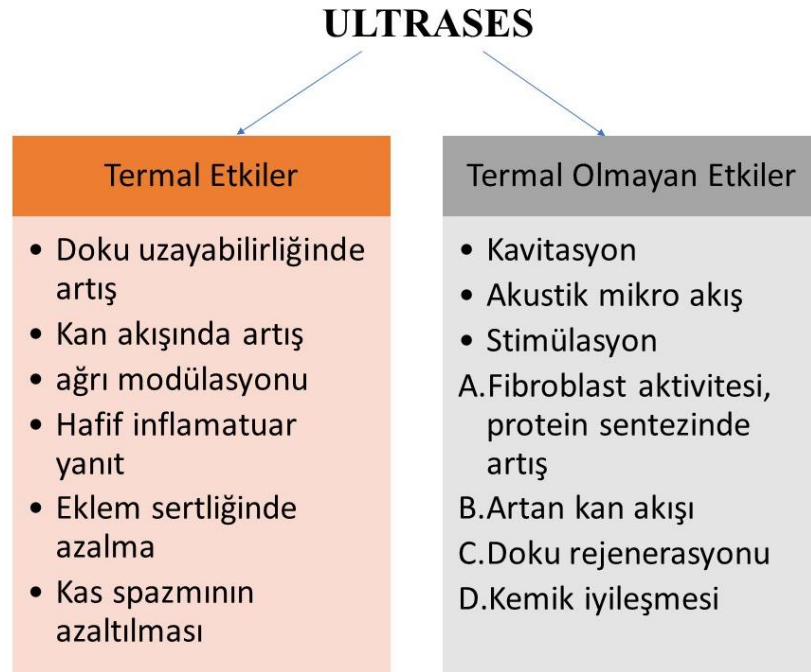
Ultrases darbe oranlarına göre sürekli ve pulslu ultrases olarak iki sınıfta incelenir. Darbe süresi 2 ms olan bir dalga %50 görev döngüsünde 2 ms açık, 2 ms kapalı durumdadır; %25 görev döngüsünde ise 2 ms açık 6 ms kapalı durumdadır. Şekil 2' de çeşitli darbe oranlarına ait görev döngüsü gösterilmiştir.



Şekil 2. Ultrases darbe oranlarının gösterilmesi

2.1.1. Ultrasesin Biyofiziksel Etkileri ve Tıpta Kullanım Alanları

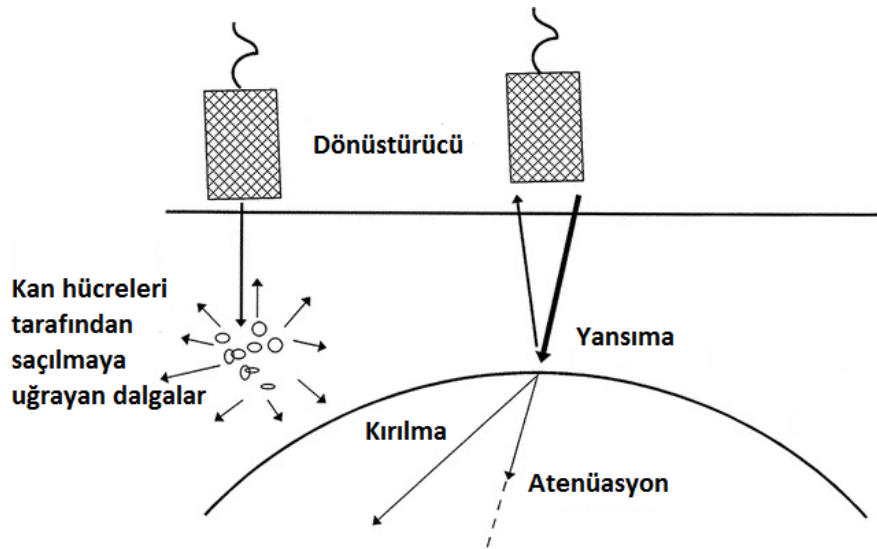
Ultrasesin biyofiziksel etkileri termal ve termal olmayan etkiler olarak iki temel başlık altında toplanmaktadır (Baker ve diğerleri, 2001). Ultrases tarafından dokularda indüklenen sıcaklık, dokunun yoğunluğuna ve uygulanan ultrasesin güç yoğunluğu ve frekansına bağlıdır. Ultrasesin ısı üretme özelliği kas iskelet sistemi rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Yüksek yoğunluklara odaklanmış ultrasesin (HIFU), proteinleri denatüre etmek ve dokuları pıhtılaştırmak için yeterince yüksek sıcaklık üretebildiği gösterilmiştir. Yüksek yoğunluklu ultrases, klinik uygulamalarda böbrek taşlarını, fibroidleri ve kraniyal tümörleri yok etmek için kullanılmıştır (Darrow, 2019; Maloney ve Hwang, 2015). Ultrasesin termal ve termal olmayan etkileri Şekil 3 te gösterilmiştir.



Şekil 3. Ultrasesin termal ve termal olmayan etkileri

Düşük yoğunluklarda doku sıcaklığı değişikliklerinin minimum olduğu ve çok sayıda çalışmada düşük yoğunluklu odaklanmış ultrasese (LIFU) maruziyetin herhangi bir patolojik değişikliğe sebep olmadığı bildirilmiştir. Ultrasesin termal olmayan etkileri arasında mekanik basınç, radyasyon kuvveti ve kavitasyonun yanı sıra kan-beyin bariyerinin bozulması gibi organa özgü etkiler ve sinir sistemindeki hücre zarları üzerindeki etkiler yer alır (Rinaldi ve diğerleri, 1991; Tufail ve diğerleri, 2010).

Ultrases dalgası dokuyla karşılaştığında gerçekleşebilecek dört durum bulunmaktadır. Bunlar; saçılma, kırılma, yansıma ve atenüasyondur. Ultrases doku etkileşimleri Şekil 4'te görülmektedir (Lawrence, 2007).



Şekil 4. Ultrasesin dokuyla etkileşiminin şematik gösterimi. Modifiye şekil (Lawrence, 2007)

Yansıyan dalgalar ultrasonografinin temelini oluşturmaktadır (Abu-Zidan ve diğerleri, 2011). Ultrasesin ilerleyişi sırasında yansıma oluşturması için geçtiği ortamların akustik empedansının farklı olması gerekmektedir. Akustik empedans sesin iletimine karşı gösterilen direnç olarak tanımlanmaktadır. Ses ilerlerken karşılaşılan ortamların akustik empedansları eşitse yankı oluşturulamaz (Powles ve diğerleri, 2018). Akustik empedans farkı küçükse, zayıf bir yankı üretilecek ve ultrasesein çoğu ikinci ortamda ilerleyişine devam edecektir (Lawrence, 2007).

2.2. Ultrasonik Kaviteasyon

Akustik dalga sıvı ortam içerisinde pozitif ve negatif basınç salınımları olarak ilerlemektedir. Bir ses dalgası, sıvıdaki gaz içeren boşluklara sinüzoidal olarak değişen bir basınç uygular. Seyrekleşme bölgelerinde basınç genliği sıvının çekme mukavemetini aştığında, kaviteasyon kabarcıkları adı verilen küçük, buharla dolu boşluklar oluşur (Leong ve diğerleri, 2011; T. Y. Wu ve diğerleri, 2013). Genel olarak, saf sıvılar büyük gerilme mukavemetlerine sahiptir ve bu nedenle mevcut ultrasonik jeneratörler, kaviteasyona neden olmak için yeterince yüksek negatif basınç üretemezler. Bununla birlikte saf olmayan sıvılarda çok sayıda küçük parçacıkların, önceden var olan çözülmüş katıların ve diğer kirleticilerin varlığı nedeniyle gerilme mukavemeti azalır. Sıvıdaki safsızlıklar, bir sıvıda kaviteasyon kabarcıklarının çekirdeklenmesinin meydana geleceği zayıf noktaları temsil eder. (T. Y. Wu ve diğerleri, 2013) Saf su kullanıldığında, kaviteasyon için 1.000 atm'den fazla negatif basınç gerekirken, musluk suyunda kabarcık oluşturmak için sadece birkaç atmosfer basıncın yeterli olacağı gösterilmiştir (Chowdhury ve Viraraghavan, 2009).

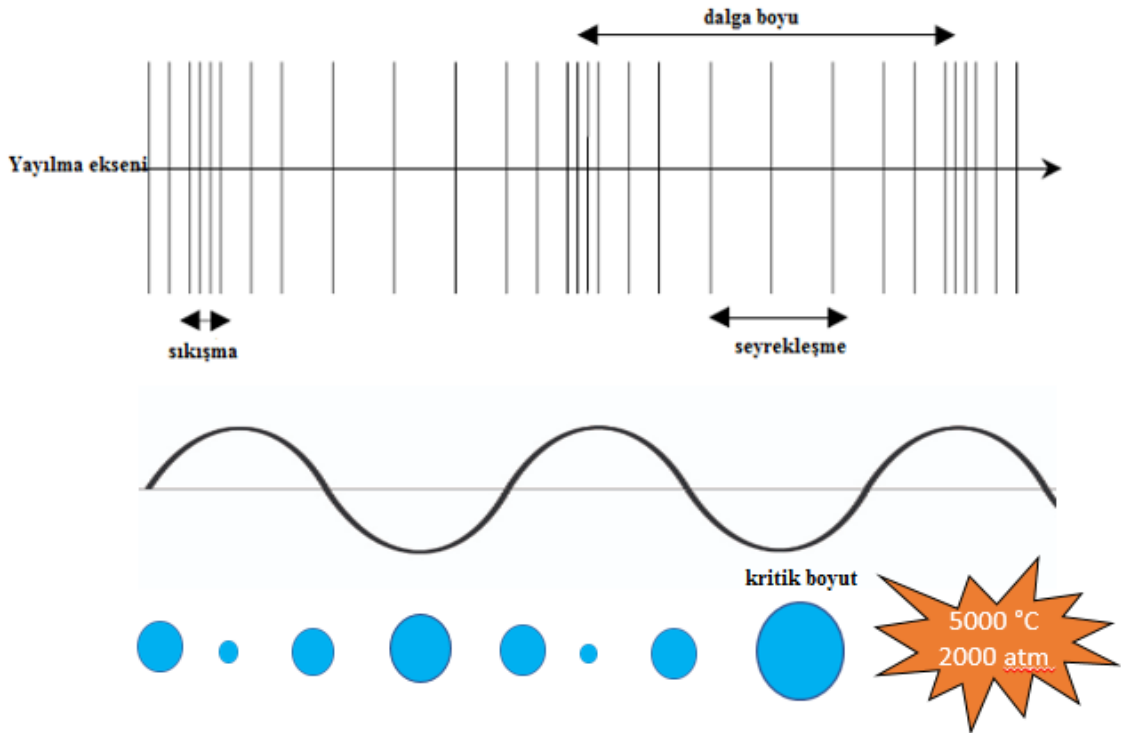
Sıvının bazı bölgelerindeki basınç negatif hale geldiğinde, gazın çözünürlüğünün basınçla orantılı olması nedeniyle sıvıda çözünen gaz son durumda sıvı içerisinde çözünemediği için birçok gaz kabarcığı ortaya çıkmaktadır. Ultrases tarafından oluşturulan basınç değişimleri sonucunda kabarcık oluşturulması ultrasonik (akustik) kaviteasyon olarak adlandırılmaktadır (Ashokkumar ve diğerleri, 2010). Kaviteasyon genellikle akış tarafından taşınan mikroskobik çekirdeklerden başlatılır. Bu tür çekirdekler, makroskopik boşlukların oluşturulduğu ve düşük basınç bölgelerinde büyüme gösteren sıvı için zayıf noktalardır (Franc, 2007). Akustik basınç belirli bir yoğunluktan daha yüksek bir değere yükseltirse, sıvı moleküller arasındaki mikroskobik mesafe, çözücü buharları veya çözülmüş gazlar içeren boşluk oluşumunu başlatmak için yeterince uzak hale gelir. Bir boşluk oluşturmak için akustik basıncın minimum gereksinimi Blake eşiği, P_B olarak adlandırılır (Eşitlik 1).

$$P_B = P_0 + \frac{2}{3} \left[\frac{\left(\frac{2\sigma}{R_0}\right)^3}{3\left(P_0 + \frac{2\sigma}{R_0}\right)} \right]^{1/2}$$

Eşitlik 1. Bir boşluk oluşturmak için akustik basıncın alması gereken minimum değer, Blake eşiği (Formülde kabarcık içi buhar basıncı ihmal edilmiştir.)

Formülde P_0 sıvı üzerindeki statik basınçtır, R_0 oluşan kabarcığın ilk yarıçapıdır ve $2\sigma/R_0$, varsayılan kabarcığın yüzey gerilimidir. Bir sıvı üzerindeki düşük yüzey gerilimi ve düşük statik basınç, kavitasyon çekirdeklerinin oluşumunu ve büyümesini destekler. Sıvılardaki safsızlıkların ve heterojen yarıkların varlığı, yüzey gerilimini azaltarak kavitasyonun gerçek basınç eşiğini düşürür. İşlenmemiş solventler için Blake eşik değeri, ultra saf solventlerdekinin yaklaşık %1-10'u kadardır (Luo ve diğerleri, 2015).

Oluşan mikro kabarcık, negatif akustik basınç aşamasının sonuna kadar sürekli olarak yaklaşık 2–150 μm maksimum kabarcık yarıçapına kadar büyür.



Şekil 5. Birkaç periyod boyunca kabarcık oluşumu, kabarcık büyümesi ve ardından çökme olayının grafiksel özeti. Kabarcık uygulanan ses dalgasıyla aynı fazda salınır, sıkıştırma sırasında boyutu küçülür ve seyrekleşme sırasında genişler.

Şekil 5'te görülebileceği gibi oluşan bir kabarcık, rezonans boyutu olarak bilinen kritik bir boyuta ulaşıncaya kadar büyüyebilir. Bir kabarcığın rezonans boyutu, ses alanının uygulanan frekansına bağlıdır. Kabarcıklar, büyümeye bağlı olarak rezonans boyutlarına ulaştığında, iki olası durum meydana gelebilir: Birinci durumda kabarcık kararsız hale gelebilir ve tek bir akustik döngüde veya az sayıda döngüde şiddetli bir şekilde çökebilir. Bu duruma geçici kavitasyon denilmektedir. Diğer olasılık, kabarcığın birçok döngü boyunca doğrusal rezonans boyutunda veya yakınında salınmasıdır. Buna kararlı kavitasyon denilmektedir (Leong ve

diğerleri, 2011). Kabarcıkların çöküşü, geçici olarak yüksek sıcaklık ve basınç oluşumuna neden olur. Aşırı sıcaklık ve basınç koşulları nedeniyle bu kabarcıklar içinde ışık emisyonu (sonolüminesans, SL) ve yüksek oranda reaktif radikallerin oluşumu meydana gelir (Ashokkumar ve diğerleri, 2010).

2.2.1. Kavitasyon Kabarcıklarını Etkileyen Faktörler

Frekans;

Yüksek frekans, kavitasyon etkisini azaltmaktadır. Yüksek frekansta seyrekleşme döngüsü tarafından üretilen negatif basınç ya süre ve yoğunluk olarak kavitasyonu başlatmak için yetersizdir ya da sıkıştırma döngüsü, mikrokabarcıkların çökme zamanından daha hızlı gerçekleşir (Adewuyi, 2001).

Daha düşük frekansta, daha şiddetli kavitasyonlar üretilecek ve bu da daha yüksek lokalize sıcaklıklar ve basınç ile sonuçlanacaktır (Vajnhandl ve Le Marechal, 2005).

Yoğunluk;

Artan yoğunluk akustik genliği artıracak ve bu da daha şiddetli bir kavitasyon balonu çökmesine neden olacaktır (Adewuyi, 2001; T. Y. Wu ve diğerleri, 2013).

Çözücü özellikleri;

Yüksek buhar basıncına, düşük viskoziteye ve düşük yüzey gerilimine sahip çözücülerde boşluklar daha kolay oluşur. Bununla birlikte, buhar basıncı ne kadar yüksek olursa, kabarcıkların çökmesi o kadar az şiddetli olacaktır, çünkü kabarcıklara giren daha fazla buhar olacaktır (Peters, 1996).

Gaz özellikleri;

Çözünür gazların varlığı, daha fazla sayıda kavitasyon çekirdeğinin oluşmasına neden olacaktır. Bununla birlikte, daha yüksek gaz çözünürlüğü, daha fazla gaz molekülünün kavitasyon kabarcığına difüze olmasına neden olarak, çökmesinin daha az şiddetli olmasına neden olur (Vajnhandl ve Le Marechal, 2005).

Dış basınç;

Sıvının basıncından daha yüksek dış basınç, sıvının buhar basıncını düşürür ve kavitasyonu başlatmak için gereken ultrases yoğunluğunu artırır (Vajnhandl ve Le Marechal, 2005)

Sıcaklık;

Uçucu olmayan substratlar için reaksiyon sıcaklığının düşürülmesi sonokimyasal reaksiyon hızlarında bir artışa neden olacaktır. Kavitasyon yoğunluğundaki artışa, buhar basıncının

düşmesi neden olur ve böylece, kavitasyonel çöküşü yumuşatmak için kabarcıklara yayılan buhar miktarını azaltır (Adewuyi, 2001; T. Y. Wu ve diğerleri, 2013).

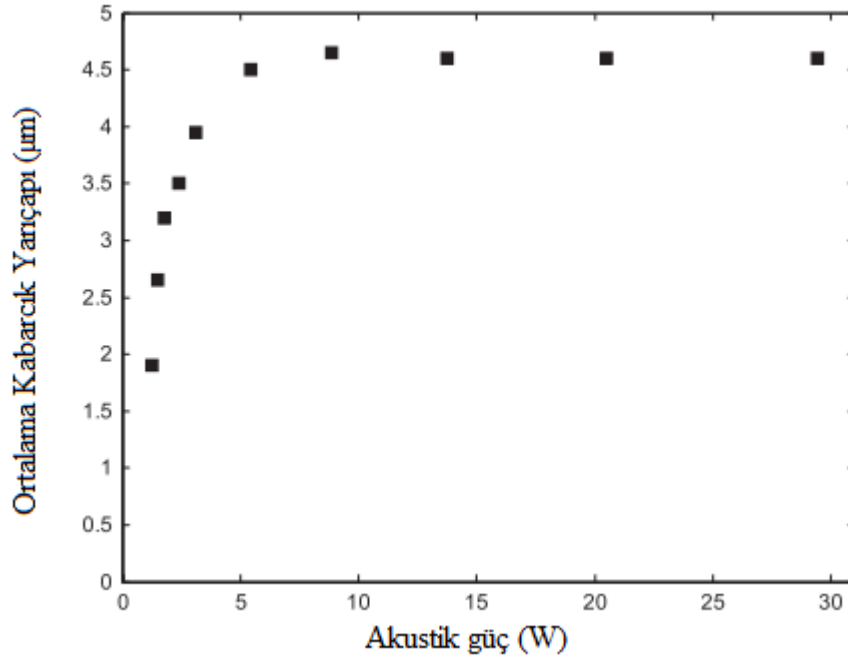
Bir sıvının içinde yayılan akustik dalganın negatif basıncının sıvıyı parçalamaya yetecek kadar güçlü (şok dalgası litotripsisinde ~ 10 MPa) olduğunda, kabarcıkların oluştuğu gösterilmiştir. Ultrases frekansı ve kabarcık boyutu arasındaki ilişki incelendiğinde frekans arttıkça kabarcık boyutunun küçüldüğü ve dağılımının daraldığı bulunmuştur (Brotchie ve diğerleri, 2009).

Tablo 1. Çeşitli ultrases frekanslarında teorik ve deneysel kabarcık yarıçapları (Brotchie ve diğerleri, 2009)

Frekans(kHz)	Lineer Rezonans Yarıçap (μm)*	Ortalama ölçülen kabarcık yarıçapı (μm)
20	150	...
140	21	...
213	14	3,9
355	8,5	3,2
515	5,8	...
647	4,6	2,9
875	3,4	2,7
1000	3,0	...
1056	2,8	2,0
1100	2,7	...

Tablo 1' de deneysel ölçümler ve teorik hesaplamalar sonucunda frekans arttıkça kabarcık yarıçapının küçüldüğü görülmektedir. Deneylein tekrarlanabilirliğine göre kabarcık oluşturmak için en verimli frekansın 1056 kHz olduğu bulunmuştur.

Ultrasonik gücün kabarcık yarıçapı üzerine etkisi Şekil 4 te görülmektedir. Akustik gücün artışıyla birlikte bir değere kadar kabarcık yarıçapının arttığı görülmektedir (Brotchie et al., 2008).



Şekil 6. 1056 kHz frekans altında akustik güç ve kabarcık boyutu ilişkisi (Brotchie ve diğerleri, 2009)

2.2.2. Akustik Kaviteasyon Ölçüm Yöntemleri

Akustik kaviteasyonun miktarını ölçmek için kullanılan yöntemler uygulanan frekansa göre değişiklik göstermektedir. Sıcaklık değişimini ölçmek, basınç değişimini ölçmek, bir malzeme üzerindeki aşınımı ölçmek kullanılan enerji ölçüm yöntemlerindedir (Çiçekdağı, 2013).

Ultrasonik banyoların içine veya ultrasonik kornaların yakınına yerleştirilen alüminyum folyolar, kaviteasyon aktivitesini belirlemek için yapılan en temel testler arasındadır ancak folyo testinin standardizasyon için uygun bir yöntem olmadığı sonucuna varılmış ve alternatif olarak ultrasese maruz kalan kurşun parçalarının veya boyalı cam yüzeylerin aşınmasını içeren alternatif yöntemler geliştirilmiştir (Krefting ve diğerleri, 2004; Verhaagen ve Rivas, 2016).

SonoCheck™, ultrasese maruz kalma nedeniyle birkaç dakika içinde renk değiştiren ve bu nedenle ultrasonik aktivite göstergesi olarak kullanılabilen solüsyona sahip bir şişedir. Ana bileşenleri kloroform, tampon çözelti ve pH'a duyarlı bir boyadır; çalışma prensibi kloroformun ultrasonla bozunmasına dayanmaktadır. Kloroform konsantrasyonu kaviteasyon ile azaldığından, çözeltinin pH'ı değişir ve bu nedenle şişe çözeltisinin rengi

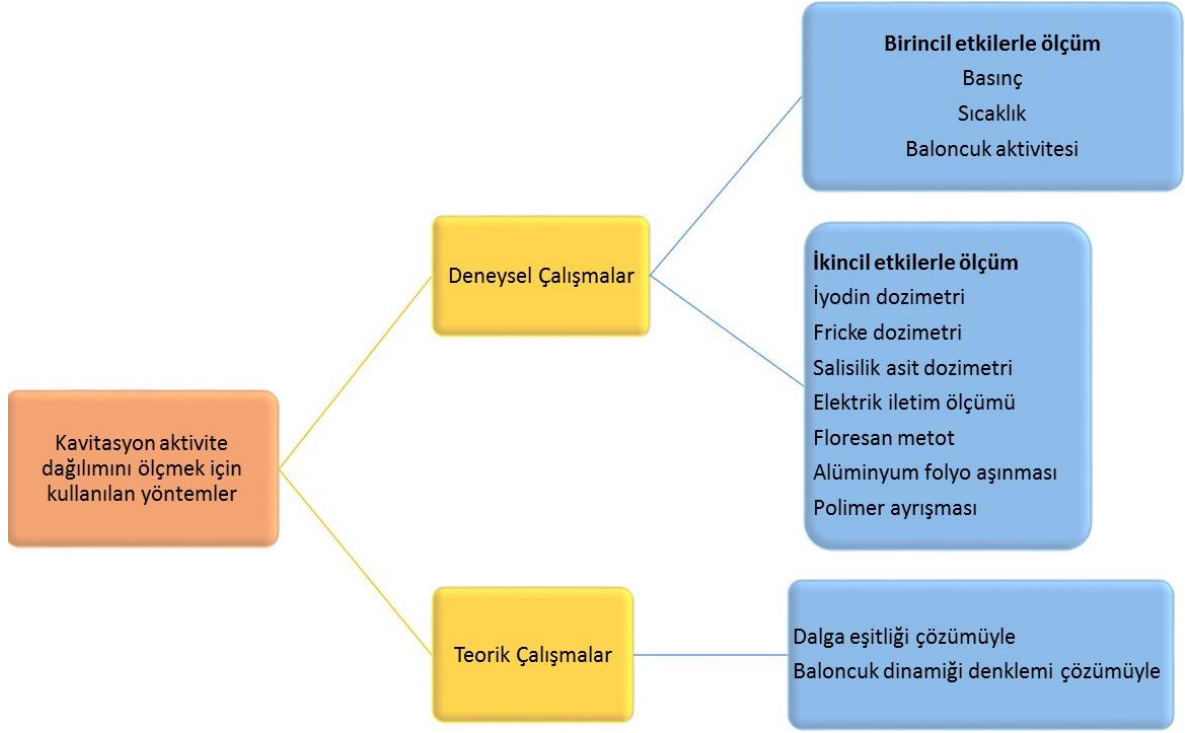
değişir. SonoCheckTM ayrıca bir ultrasonik banyonun performansının zaman içinde izlenmesine izin vermektedir (Verhaagen ve Rivas, 2016).

Pasif kavitasyon dedektörleri, bir sıvıda kavitasyon varlığını tespit etmek için sıklıkla kullanılır. Çöken kabarcıklar, uygun bir hidrofona kullanılarak yakalanabilen yüksek frekanslı akustik sinyaller (beyaz gürültü) üretir. Yüksek frekans bileşeni, sinyal analizi kullanılarak araştırılabilir. Referans ölçüme kıyasla yüksek frekanslı sinyaldeki artış, kavitasyonun varlığını gösterir. Akustik basıncın ölçülmesi kavitasyon miktarıyla ilgili doğrudan bilgi vermese de kavitasyonun meydana gelme olasılığı hakkında bilgi verir (De Santis ve diğerleri, 1967; Verhaagen ve Rivas, 2016).

Yüksek hızlı kameralar kullanılarak kabarcık davranışları gözlemlenebilir. Kabarcık dinamiklerini doğru bir şekilde çözmek için genellikle 100.000 kare/sn düzeyinde kare hızları gerekir. Birkaç milyon kare/saniyelik kare hızlarını kullanarak yapılmış ve kavitasyonla ilgili değerli bilgiler veren çalışmalar mevcuttur (Verhaagen ve Rivas, 2016; Zijlstra ve diğerleri, 2015).

Kavitasyonun etkilerini saptamak ve ölçmek için çeşitli sonokimyasal yöntemler geliştirilmiştir. Klor salma testi, ultrasonik kavitasyona maruz kaldığında klor salan potasyum klorürde çözünen karbon tetraklorürün ayrışmasına dayanır. Klor, potasyum ile reaksiyona girerek iyot verir; ışık Emilimi, konsantrasyon arttıkça spektroskopik olarak analiz edilebilir (Mason ve diğerleri, 1994; Verhaagen ve Rivas, 2016).

Çöken kabarcıkların oluşturduğu sonoluminesans tarafından yayılan ışık, foto çoğaltıcı tüpler ve kameralar gibi hassas dedektörler kullanılarak ölçülebilir. Çöken kabarcıkların bulunduğu bölgeleri haritalamak için bir yöntem de kabarcık çökmesi sırasında oluşan OH⁻ radikalleri ile reaksiyona giren luminol gibi kimyasalların kullanılmasıdır. Uygun karanlık koşullarda fotoğraf kameraları, bu ışığı algılayacak ve ultrasonik bir reaktördeki kavitasyon dağılımı hakkında uzamsal bilgi verecek kadar hassastır (Macedo ve diğerleri, 2014).



Şekil 7. Kavitasyon aktivitesi ölçüm yöntemleri modifiye şekil (Verhaagen ve Rivas, 2016)

2.3. Kanser

Kanser, genetik mutasyonlar sonucu kontrolsüz hücre çoğalmasıyla karakterize bir hastalıktır. Söz konusu mutasyonlar; belirli DNA bazlarının kararsızlığı ve serbest oksijen radikalleri gibi endojen uyarılar tarafından gerçekleşebileceği gibi iyonize radyasyon veya UV maruziyeti, kanserojen kimyasallar gibi eksojen uyarılar tarafından da gerçekleşebilmektedir (Bertram, 2000).

2.3.1. Prostat Kanseri İnsidansı ve Tedavi Yöntemleri

Prostat kanserleri, bazal hücrelerin yokluğu, glandüler oluşum, androjen reseptörü (AR) ve prostata özgü antijen ekspresyonu dahil olmak üzere luminal farklılaşma özelliklerine sahip malign tümör hücrelerinin kontrolsüz proliferasyonu ile karakterize adenokarsinomlardır (Tai ve diğerleri, 2011).

Prostat kanseri erkeklerde en yaygın görülen ikinci solid tümördür ve kansere bağlı ölümlerin beşinci nedenidir (Gandaglia ve diğerleri, 2021). Prostat kanserinin ayırt edici bir

özelliği, yaşlanma ile yakın ilişkisidir; yaşlanma prostat kanseri için en önemli tek risk faktörüdür. Prostatik intraepitelyal neoplazi olarak bilinen pre-neoplastik lezyonlar yirmili yaşlardaki erkeklerde bulunabilmesine rağmen klinik olarak saptanabilir prostat kanseri genellikle 60 veya 70 yaşına kadar kendini göstermez (Abate-Shen ve Shen, 2000).

Prostat kanseri insidansı, hem yüksek riskli hem de düşük riskli popülasyonlarda artmakta olup, nedenleri ülkeler arasında farklılık göstermektedir. ABD'de, artışlar esas olarak prostat kanseri konusunda artan farkındalık ve herhangi bir semptomu olmayan erkeklerde prostat spesifik antijen ile yaygın taramadan kaynaklanmaktadır (Grönberg, 2003).

Batı ülkelerinde prostat kanseri teşhisi almış hastaların %50 si radyasyon tedavisi görmektedir (Nugent ve diğerleri, 2022). Bunun yanı sıra tedavi için yüksek yoğunluklu odaklı ultrases (HIFU), brakiterapi, androjen yoksunluğu terapisi, kemoterapi ve cerrahi kullanılan diğer tedavi yöntemlerindedir (Collins ve diğerleri, 2022; Denmeade ve Isaacs, 2002; Sharifi ve diğerleri, 2005; Zaorsky ve diğerleri, 2017).

Hem hastalık insidansının yüksek olması hem de mevcut tedaviler sonrası gelişen komplikasyonların minimize edilmek istenmesi sonucu yeni prostat kanseri tedavi yöntemleri arayışı güncelliğini korumaktadır (Çakıcı ve diğerleri, 2022; Hayashi ve diğerleri, 2022; D. K. Kim ve diğerleri, 2022; Maalouf ve diğerleri, 2022).

2.4.Fotodinamik Terapi

Fotodinamik terapi (PDT), sonunda apoptoz veya nekroz yoluyla hücre ölümünü hedefleyen serbest oksijen radikalleri üretmek için ışık ve moleküler oksijen varlığında aktive olan bir ışığa duyarlılaştırıcı kullanan alternatif bir tedavi yöntemidir. Üç temel bileşeni vardır; bunlar fotosensitif ajan, oksijen ve ışıktır. (CALISKAN; Correia ve diğerleri, 2021; Niculescu ve Grumezescu, 2021)



Şekil 8. Fotodinamik Tedavi temel bileşenleri

PDT iki temel mekanizmadan oluşmaktadır; Tip 1 ve Tip 2. Tip 1 mekanizmada ışık enerjisi doğrudan elektron/hidrojen transferi (radikal mekanizma) yoluyla uyarılmış moleküllerden biyomoleküllere geçer ve biyomoleküllerde spesifik hasar ve radikal zincir reaksiyonlarının başlamasıyla sonuçlanır. Tip II mekanizmada ise uyarma enerjisi moleküler oksijene (3O_2) aktarılır, bu da son derece elektrofilik olan, membranlara, proteinlere ve DNA'ya zarar verebilen singlet oksijenin (1O_2) oluşumu ile sonuçlanır (dos Santos ve diğerleri, 2019).

PDT, etkinliği malign (gastrointestinal, cilt, baş ve boyun ve jinekolojik kanserler) ve malign olmayan (yaşa bağlı makula dejenerasyonu, sedef hastalığı) hastalıklarda gösterilmiş bir tedavi yöntemidir (Gunaydin ve diğerleri, 2021).

2.5. Sonodinamik Terapi

SDT bilimsel temeli, düşük yoğunluklu ultrases, moleküler oksijen ve sensitif ajanın eş zamanlı kombinasyonu yoluyla ROS üretilmesine dayanır. Ultrasesin yokluğunda, sensitif ajan toksik değildir ve moleküler oksijen varlığında ultrases ile etkileşim üzerine toksik etkiler uygular (Costley ve diğerleri, 2015).

SDT'nin hedef hücreleri öldürmek için ana mekanizması, ROS teorisi, kavitasyon etkisi teorisi, apoptozu indükleme, anti-tümör bağışıklığını iyileştirme, anjiyogenezi sınırlama ve hipertermi oluşturma olmak üzere altı yönü içerir. (X. Li ve diğerleri, 2022; Lin ve diğerleri, 2020; Rengeng ve diğerleri, 2017).

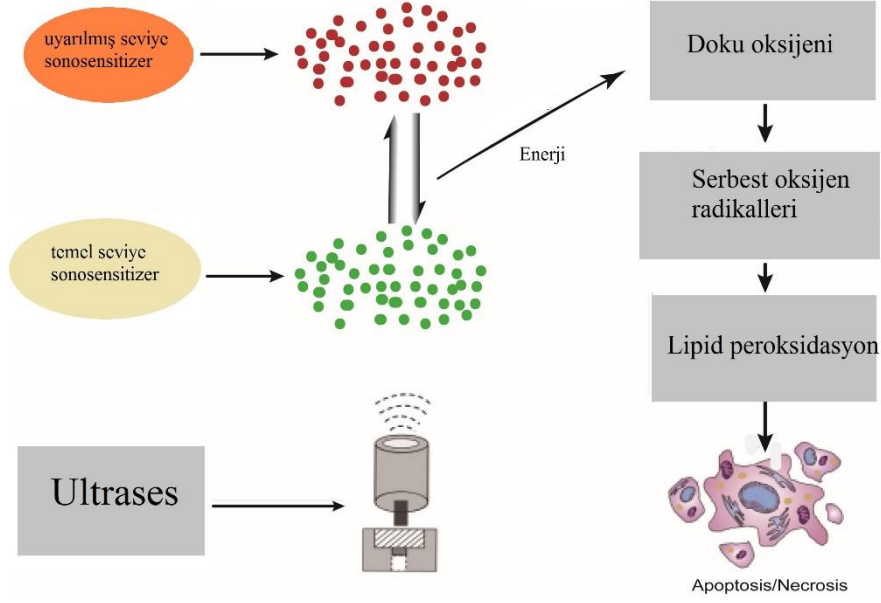
2.5.1. ROS Teorisi

ROS, normal hücre aktivitesinin yan ürünleridir. Birçok hücresel bölmede üretilirler ve sinyal yollarında önemli rol oynarlar. ROS'un aşırı üretimi, çeşitli hastalıklar (kanser, kardiyovasküler, nörodejeneratif ve metabolik bozukluklar dahil), iltihaplanma ve yaşlanma ile ilişkilidir. Tümörler, gelişimlerinde artan seviyelerde sürekli olarak ROS üretirler. Oksidatif stres, DNA hasarı yoluyla tümörün başlamasını, ilerlemesini ve tedaviye direnç göstermesini destekleyebilir, bu da hücre metabolizmasının ve sinyallemenin yeniden programlanmasına yol açabilir. Aksine, yüksek ROS seviyeleri tümör hücresi ölümünü indükleyebilir (Snezhkina ve diğerleri, 2019).

ROS, hücrelerdeki en yaygın oksidanlardandır. ROS; moleküler oksijenin süperoksit ($O_2^- \cdot$), hidrojen peroksit (H_2O_2), lipid peroksit ($ROOH$) veya karşılıklı gelen hidroksil ($HO\cdot$) ve peroksil ($ROO\cdot$) radikallerine indirgenmesiyle oluşur. (Gaschler ve Stockwell, 2017)

Sonosensitizerler, sesin enerjisini absorbe ederek singlet oksijen veya hidroksil radikalleri gibi ROS moleküllerini üretmek için aktive edilir. ROS üretimi SDT etkinliğini yorumlamak için kullanılan bir parametredir. Ultrasesin ROS üretmek için sensitizerle hangi mekanizma aracılığıyla etkileşime girdiği hala üzerinde çalışılan bir konudur. Tablo 2'de literatürde SDT uygulamalarında kullanılan sonosensitizerlerin uygulama frekansları ve ürettikleri ROS türevleri görülmektedir (McHale ve diğerleri, 2016).

Belirli bir frekans ve şiddette ultrases tarafından uyarıldıktan sonra, ses dalgasının verdiği enerji, sonosensitizerlerin temel seviyeden uyarılmış seviyeye geçmesine neden olur. Uyarılmış elektron temel duruma döndüğünde, ROS, lipid peroksidasyonu ile hücreyi ölüme götürür. Bildirilen ROS etki mekanizması Şekil 9'da görülmektedir. ROS'un ömrü çok kısadır (10–320 ns), bu nedenle yalnızca 10-55 nm'lik bir mesafeyi etkileyebilir. Sonuç olarak, yalnızca uyarılmış sonosensitif ajana yakın hücreler ROS tarafından bozulmalara uğratılmaktadır (N. Wu ve diğerleri, 2022).



Şekil 9. SDT' nin ROS etki mekanizması modifiye şekil (Rengeng ve diğerleri, 2017)

Ultras ses enerjisi ile ROS üretim mekanizmasını açıklayan iki hipotez türetilmiştir. Bunlar sonolüminesans ve piroliz hipotezidir (Rengeng ve diğerleri, 2017).

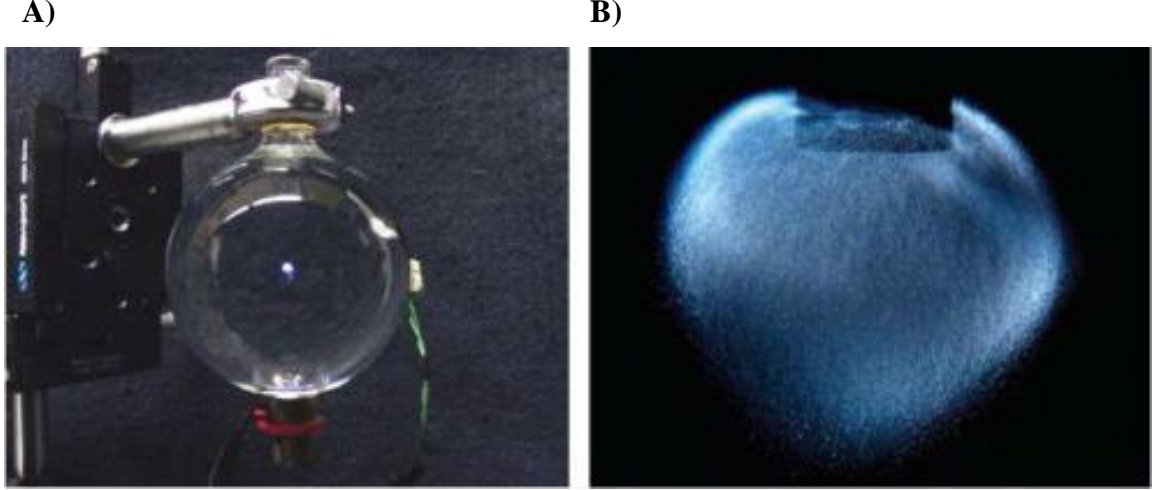
2.5.2. Sonolüminesans Hipotezi

Ultrasonik kavitasyon kabarcıklarının çöküşü sırasında kabarcık içerisindeki gazın türüne göre değişen, sonolüminesans adı verilen ışık emisyonu gerçekleşmektedir (Ashokkumar ve diğerleri, 2010). Solüsyonlarda bu ışık emisyonu incelenmiş ve emisyonun 400-450 nm civarında zirve yaptığı gösterilmiştir. Bu nedenle sonolüminesansın gelen ışığın hematoporfirin gibi sensitif ajanları PDT'ye benzer şekilde aktive edebileceği öne sürülmüştür. Bu konuyla alakalı araştırmalar genellikle *in vitro* ortamda yapılmış ve canlı dokuların %70 su içermesi sebebiyle sudaki sonolüminesansın emisyon spektrumunun dokudaki spektrumu temsil edebileceği kabul edilmiştir (Costley ve diğerleri, 2015). *In vivo* uygulamalarda da ultras sesin dokuda sonolüminesans emisyonuna neden olduğu özel kemilüminesans analiz ajanları kullanılarak gösterilmiştir (He ve diğerleri, 2002).

Saf suda gerçekleşen sonolüminesans, kabarcıkların içinde ve çevresinde oluşan hidroksil plazma ile ilgili olan ultraviyole ya da mavi emisyon üretir (Song ve diğerleri, 2021).

2.5.2.1. Sonolüminesans Türleri

Sonolüminesansın iki sınıfı vardır: çoklu kabarcıklı sonolüminesans (MBSL, Resim 1B) ve tek kabarcıklı sonolüminesans (SBSL, Resim 1A) (Rooze ve diğerleri, 2013).



Resim 1. SBSL ve MBSL ışımaları A, Ksenon ile kısmen gazlandırılmış ağırlıkça %85 H₂SO₄ içinde tek kabarcıklı sonolüminesans; B, Ksenon ile doyurulmuş ağırlıkça %96 H₂SO₄ içinde çok kabarcıklı sonolüminesans (Rooze ve diğerleri, 2013)

SBSL ile ilgili göze çarpan özellikler incelendiğinde ışık emisyonunun çok kısa bir ömre sahip olduğu (35-350 ps) ve balonun çökmesinin bitiminden hemen önce gerçekleştiği görülür. MBSL'den farklı olarak, normal koşullar altında sıvılardan gözlemlenen SBSL spektrumları, uyarılmış moleküler veya atomik türlerden emisyonla atfedilebilecek herhangi bir karakteristik bant göstermez (Ashokkumar ve diğerleri, 2010). Matula ve arkadaşları NaCl çözeltilerinde MBSL ve SBSL'nin spektral özelliklerini araştırmış MBSL spektrumlarında OH• ve Na•'ın karakteristik emisyon bantlarını gözlemlemiş ve bu emisyon bantlarının SBSL spektrumlarında bulunmaması sonucunda MBSL ve SBSL'yi oluşturan kaviteasyon koşullarının farklı olduğu sonucuna varmıştır (Matula ve diğerleri, 1995).

MBSL'de emisyon, salınan kabarcıklardan oluşan bir bulut tarafından oluşturulur. Sıvının gazı genellikle alınmaz. Ses alanının etkisiyle zaten mevcut olan çekirdeklerden kabarcıklar büyütülür. Kabarcık karakteristiklerini ve ses alanını araştırmak SBSL'ye kıyasla daha zordur, çünkü birbirini gizleyen ve sesi yansıtarak ve yayarak ses alanını mekansal ve zamansal olarak düzensiz hale getiren birçok kabarcık vardır (Rooze ve diğerleri, 2013).

Genel olarak, SL yoğunluğunun, balonun maksimum sıcaklığı ile doğrudan bir ilişkisi olduğu kabul edilir. SL yoğunluğu, soy gazın atom ağırlığıyla orantılıdır. Farklı soy gazlar için SL yoğunluklarındaki bu fark, kavitasyon kabarcıkları tarafından elde edilen maksimum kabarcık sıcaklıklarındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Helyumun ısı iletkenliğinin soy gazlar arasında en yüksek olduğu ve soy gazın atom ağırlığının artmasıyla ısı iletkenliğinin azaldığı bilinmektedir. Kabarcıktan çevreye yüksek ısı iletildiği için, helyumla doymuş suda maksimum kabarcık sıcaklığı daha düşüktür ve bu da soygazlar arasında en düşük SL'ye yol açmaktadır (Ashokkumar ve diğerleri, 2010). Sulu çözeltilerde uçucu çözünen maddelerin varlığının, yaygın olarak SL söndürme olarak adlandırılan SL yoğunluğunu azalttığı bulunmuştur (Harvey, 1939).

2.5.2.2. Sonolüminesansı Açıklayan Teoriler

Sonokimyasal etkileri açıklamak için geliştirilen dört teori vardır: (1) sıcak nokta teorisi; (2) elektrik teorisi; (3) plazma deşarjı teorisi ve (4) süper kritik teori. Bu teoriler çeşitli tepkime biçimlerine yol açar: pirolitik bozunma, OH⁻ oksidasyonu, plazma kimyası ve süper kritik su oksidasyonu (T. Y. Wu ve diğerleri, 2013). Bu teoriler arasında sıcak nokta teorisi, çevresel alandaki sonokimyasal reaksiyonları açıklamada yaygın olarak kabul edilen teoridir (K. Suslick ve diğerleri, 1999; K. S. Suslick ve diğerleri, 1990).

2.5.3. Piroliz Hipotezi

Ultrases tarafından oluşturulan kavitasyon kabarcıklarının patlaması sonucu 10000 K'lik geçici ısı üretimi gerçekleşir ve yakındaki alanın sıcaklığının artmasına neden olur. Sonuç olarak, sonosensitif ajanlar uyarılır ve ROS üretilir (Foglietta ve diğerleri, 2022).

2.5.4. Kavitasyon Teorisi

SDT'nin temel etki mekanizmasının ses dalgasının neden olduğu mekanik basınçla ilişkili olduğunu savunan hipotezdir (Alphandéry, 2022). Kavitasyon, hücre iskeletini kırarak hücreleri doğrudan öldürür, ayrıca birçok araştırma ultrasesin hücre zarının geçirgenliğini değiştirebileceğini ve bu durumun da sonosensitif ajan gibi yüksek moleküler bileşiklerin hücrelere taşınmasına yardımcı olduğunu bildirmiştir (Huang ve diğerleri, 2022). Kavitasyon teorisinde ultrases kaynaklı çöken kabarcıklar tarafından salınan enerji, piroliz için yeterli

koşulları sağlayan yüksek sıcaklık ve basınç oluşturarak ROS üretir. Kabarcık çökmesi sırasında salınan enerji, meydana geldiği sıvı içerisinde kimyasal reaksiyonlara neden olabilir. Bu durum apoptotik ve nekrotik hücre ölümlerine sebep olmaktadır(Foglietta ve diğerleri, 2022).

2.5.5. Apoptozun İndüklenmesi

SDT' de apoptozu indükleyen üç mekanizma bildirilmiştir:

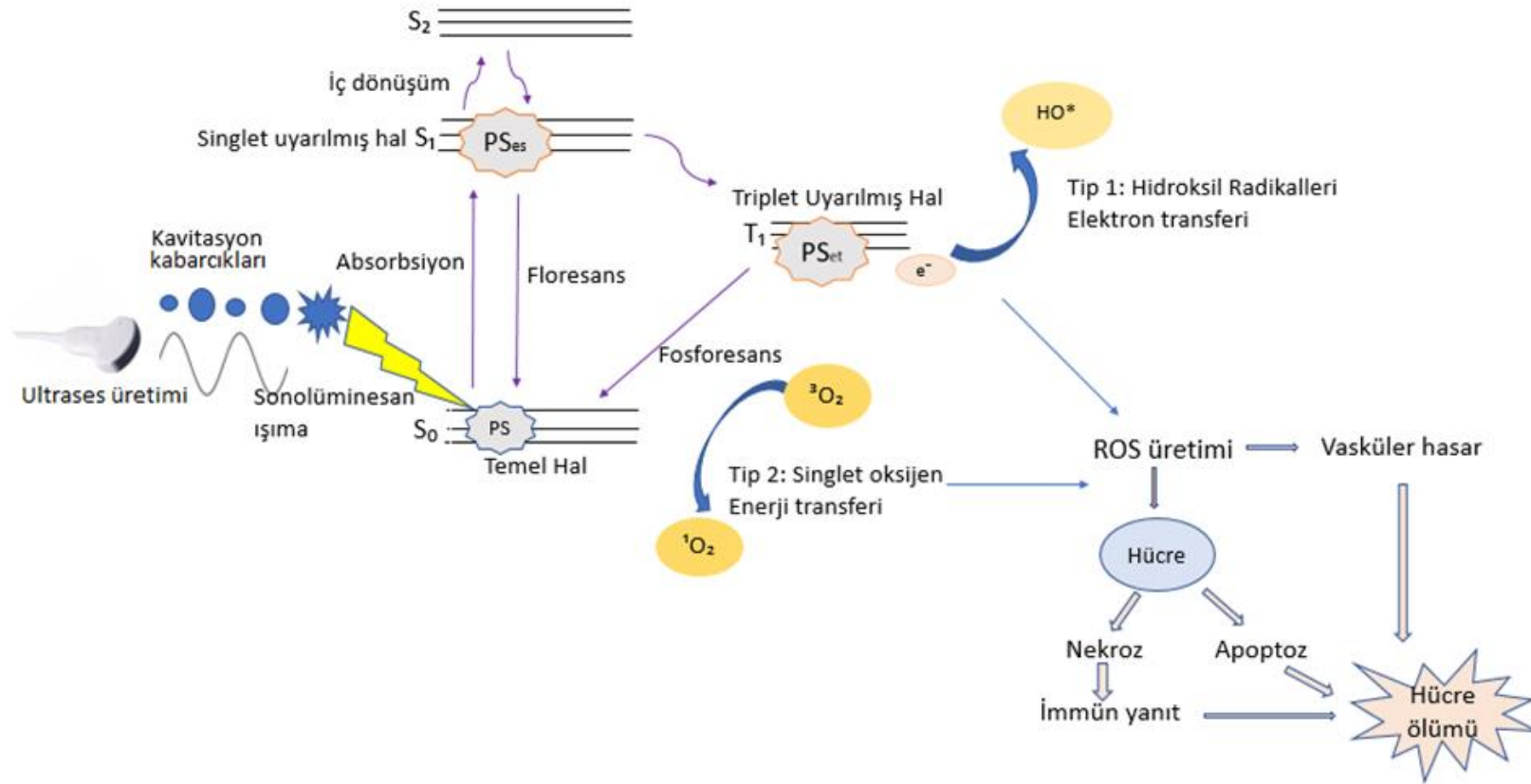
1. SDT, mitokondriyal membran potansiyelini (MMP) azaltmak için Bcl-2 ailesi proteinlerinin ekspresyon seviyesini değiştirilebilir ve aşırı ROS üretiminden kaynaklanan apoptozu indükleyebilir. Yüksek Bcl-2 ekspresyonu apoptozu inhibe edebilir, ancak her ikisi de mitokondri zarında yer almasına rağmen yüksek BAX ekspresyonunu destekleyebilir. Çalışmalar, SDT'nin Bcl-2 ifadesini aşağı regüle edebildiğini ve BAX ifadesini yukarı regüle edebildiğini göstermiştir. SDT, mitokondriyal membran üzerindeki proteinlerde değişiklikler meydana getirerek, mitokondrinin geçirgenliğini artırır ve MMP'yi azaltarak apoptozu indükler (Rengeng ve diğerleri, 2017).
2. SDT, mitokondriyal membrana aşırı kalsiyum iyonu yükleyerek apoptozu indükler. Literatürde bildirildiği gibi, SDT mitokondriyal membran üzerindeki Ca^{2+} aşırı yüklenmesini güçlendirebilir ve hedef hücrelerin apoptozunu indükleyebilir. Aşırı yüklenmiş Ca^{2+} mitokondri zarının geçirgenliğini değiştirir, apoptoz faktörünün salınımını destekler. Membran elektrik potansiyelini azaltarak ROS üretimini artırır (Yu ve diğerleri, 2022).
3. SDT, apoptozu indüklemek için hücre içi FAS/FASL ifadesini yukarı doğru düzenler. Çalışmalar, SDT'nin FAS/FASL ekspresyonunu yukarı doğru düzenleyebildiğini ve bunun hücre içi kaspaz-8 ve kaspaz-3'ün artmasına neden olduğunu göstermiştir. Eksojen apoptotik yolların aktivasyonu apoptozu indükleyebilir (Rengeng ve diğerleri, 2017).

2.5.6. Anti-tümör Bağışıklığının İyileştirilmesi

Makrofajlar, makrofaj polarizasyonunun birçok fonksiyonel durumuna göre sınıflandırılır. M1 makrofajları proinflamatuvar sitokinler salgılayarak proinflamatuvar role büyük katkı sağlar. M2 makrofajları, doku onarımında önemli bir rol oynayan inflamatuvar

yanıtı azaltmak içindir. Önceki çalışmalara göre, M1 makrofajları, tümörlerden muzdarip hastaların çoğunda popülasyonu, hastaların prognozu ile pozitif olarak ilişkili olan anti-tümör yeteneği sunar. M2 makrofajlar, popülasyonu hastalarda prognoz ile negatif ilişkili olan anti-tümör yeteneği göstermez. Birkaç çalışmada SDT'nin M2 makrofajlarının M1 makrofajlarına transferini indükleyebileceği ve anti-tümör bağışıklığını artırabileceği öne sürülmektedir (Rengeng ve diğerleri, 2017).

CD86 ve CD 80, dendritik hücre olgunlaşmasının biyolojik belirteçleridir. Dendritik hücrelerde in vivo CD86 ve CD80 ekspresyon seviyelerinin, SDT ile tedavi edilen farelerde, kontrol grubundakilerden önemli ölçüde daha yüksek olduğu belirtilmiştir. SDT'nin tümör mikroçevresindeki dendritik hücrelerin olgunlaşmasını hızlandırarak anti-tümör bağışıklığının artırabileceği öne sürülmektedir (Z.-H. Li ve diğerleri, 2022).



Şekil 10. Sonodinamik Terapi ROS Etki Mekanizması

2.6. Sonosensitif Ajanlar

SDT uygulamalarında kullanılan duyarlaştırıcıların çoğu PDT uygulamalarında kullanılan porfirin bazlı moleküllerdir. Farklı sensitif ajanların farklı etki mekanizmaları olabilir. Sağlıklı hücreler aerobik bir mekanizmaya sahiptir. Kanser hücreleri anaerobik bir metabolizmaya sahiptir ve laktat üretir. Pozitif yüklü sensitif ajan kanser hücresindeki negatif yüklü laktata bağlanır. Bu durum sağlıklı hücreler ve kanser hücreleri arasında sensitif ajanın tutulumunda farklılık oluşturmaktadır. Işık veya ses aktivasyonu, sensitif ajanın enerji seviyesini artırarak aktive edilmiş bir molekül üretir. Aktifleştirilmiş molekül serbest oksijen radikallerini oluşturmak için yakındaki oksijenle reaksiyona girer (Sadanala ve diğerleri, 2014). Üretilen ROS organik maddeyi parçalayarak ve hücre yapısını bozarak hücreyi öldürür veya hücreye zarar verir. ROS çok küçük bir etki yarıçapına sahiptir, bu nedenle sadece kanser hücrelerine zarar verir

En yaygın kullanıma sahip sensitif moleküller arasında hematoporfirin ve klinik olarak onaylanmış hematoporfirin türevi olan Photofrin® bulunmaktadır (McHale ve diğerleri, 2016) Uygulamalarında kullanılan duyarlaştırıcılar Tablo 2’de görülmektedir (Hiraoka ve diğerleri, 2006; Y.-S. Kim ve diğerleri, 2011; Y. Li ve diğerleri, 2016; P. Wang ve diğerleri, 2010; Xinna Wang ve diğerleri, 2011; Yumita ve diğerleri, 2011; Yumita ve diğerleri, 2000).

Tablo 2. SDT uygulamasında kullanılmış duyarlaştırıcı molekülleri, ROS çeşitleri ve uyarım için kullanılan ultrases frekansları (McHale ve diğerleri, 2016)

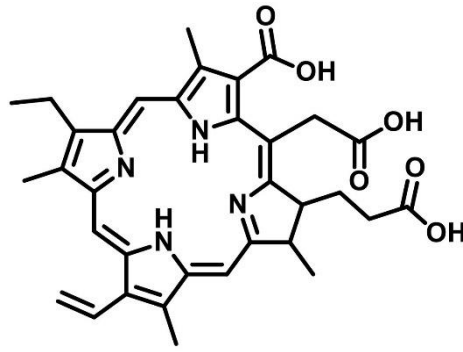
Duyarlaştırıcı	ROS	Uygulama Ultrases Frekansı
5-Aminolevulinic acid		1.04 MHz
Acridine orange	$^1\text{O}_2 + \cdot\text{OH}$	2 MHz
ATX-70	$^1\text{O}_2 + \cdot\text{OH}$	500 KHz
Chlorin-e6	$^1\text{O}_2 + \text{ROO}$	1.56 MHz
ClAl-phthalocyanine		3 MHz
DCPH-P-Na(I)	$^1\text{O}_2$	1 MHz
Hematoporphyrin	$^1\text{O}_2$	1.92 MHz
Hypocrellin SL052		1 MHz
Indocyanine green		1 MHz
Methylene blue	$\cdot\text{OH}$	2 MHz
Photofrin	$^1\text{O}_2$	1 MHz
Phthalocyanine		1 MHz
Protoporphyrin IX	$^1\text{O}_2$	1 MHz
Feoforbid a (Pa)		1-2 MHz
Sonoflora 1 TM		1 MHz
Eritrosin B		1,2 MHz
Rose Bengal (RB)		1,4 MHz
IR-780		1 MHz
Curcumin (Cur)		1,7 MHz
Hematoporfirin monometil eter (HMME)		1 MHz
Galyum-porfirin türevi (ATX-S10)		2 MHz
Porfirin türevi (DCPH-P-Na(I))		
Piroforbid-metil ester (MPPa)		1,7 MHz
Mono-L-aspartil klorin e6 (Npe6)		2 MHz
Hipokrellin (HB)		
Klorofil-metal(Chl-M)		
IR-780 + Perfloropentan(PFP)		

Hematoporfirin'in 1,27 ve 3,18 W/cm² yoğunluklarda (1,92 MHz) ultrasese maruz bırakılan 130 tümör hücresinde %90- %95 oranında etkili sonuç verdiği gösterilmiştir (Sadanala ve diğerleri, 2014).

2.6.1. Klorin e6

Klorin e6 doğal olarak oluşan bir klor türevidir. Klorin e6 Ph 7-8 de 0.65'lik yüksek bir singlet oksijen kuantum verimine sahip ikinci nesil bir ışığa duyarlılaştırıcıdır. Molekülün amfifilik yapısı hücre zarından kolay penetrasyona izin verir(Pang ve diğerleri, 2016).

Klorin e6 ile 1,6 W/cm² yoğunluğunda ultrases kombinasyonunun SPCA-1 insan akciğer adenokarsinom hücrelerinde ve SPCA-1 tümör ksenograftını taşıyan farelerde tümör büyümesini önemli ölçüde engellediği gösterilmiştir (Sadanala ve diğerleri, 2014). Çalışmalarda klorin e6 aracılı sonodinamik tedavinin hem nekroz hem apoptozu indükleyerek hücreleri ölüme götürdüğü gösterilmiştir (Q. Li ve diğerleri, 2014).



Şekil 11. Klorin e6 molekülünün yapısı (Jain ve diğerleri, 2021)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

- Su Banyosu
- Hücre Kültür Kabini
- İvert Mikroskop
- Santrifüj
- Karbondioksit İnkübatör
- Plate Reader
- BTL 5710 Ultrases Cihazı (BTL, CZ)
- Kavitasyon Ölçüm Cihazı (Opcav, Optel, Polonya)
- Floresan Mikroskop (Carl Zeiss AG, Almanya)

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

- Chlorin e6 trisodium salt (Scientyfic, Logan, UT, ABD)
- RPMI 1640
- FBS
- Penisilin Streptozosin
- Trypsin-EDTA
- L- Glutamine
- MTT
- Hoechst 33258
- Propidium Iodide

3.2. Yöntem

3.2.1 Hücre Kültürü Optimizasyonu

Çalışmada PC3 prostat kanseri hücre hattı kullanılmıştır. PC3 hücreleri insan kemik metastazından üretilen prostat kanseri hücre hattıdır (Tai ve diğerleri, 2011; van Bokhoven ve diğerleri, 2003). Bu hücreler androjenlere, glukokortikoidlere veya fibroblast büyüme faktörlerine yanıt vermemekle birlikte hücrelerin epidermal büyüme faktörlerinden etkilendiğini gösterilmiştir (Tai ve diğerleri, 2011). Hücrelerin RPMI 1640 büyüme ortamına %10 FBS, %1 penisilin/streptomisin ve %1 L-glutamine eklenmiştir. Biyofizik Anabilim Dalında mevcut olan hücreler, -80 °C' den çıkarılmış ve büyümeleri için 75 cm²'lik flasklara ekilmiştir. Hücrelerin belirtilen besiyeri içerisinde 37 °C de %5 CO₂ içeren ortam koşullarında inkübe edilmiştir. Hücre yoğunlukları %80' in üzerine ulaştığında üzerlerindeki besi yeri uzaklaştırılmış, hücreler PBS ile yıkanmış ve üzerlerine 2,5 ml Tripsin- EDTA eklenerek 5 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası kaldırılan hücrelere eklenen Tripsin-EDTA miktarının üç katı kadar besiyeri eklenmiştir. Falkon tüpe alınan hücreler 1200 RPM' de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Hücre pelletleri besiyerinde homojen edilerek altılı hücre kültür plaklarına ekilmiştir. Hücreler Tablo 3'te görüldüğü gibi rastgele gruplara ayrılmıştır. Kontrol hariç tüm gruplara 5 µM klorin e6 verilmiştir. Ultrasesin ve klorin e6'nın belirlenen dozlarda tek başına hücre canlılığı üzerinde anlamlı etkisi olmadığı gösterilmiştir (Aksel, 2019; Aksel ve diğerleri, 2020; Güzel ve diğerleri, 2022; Köken, 2020)

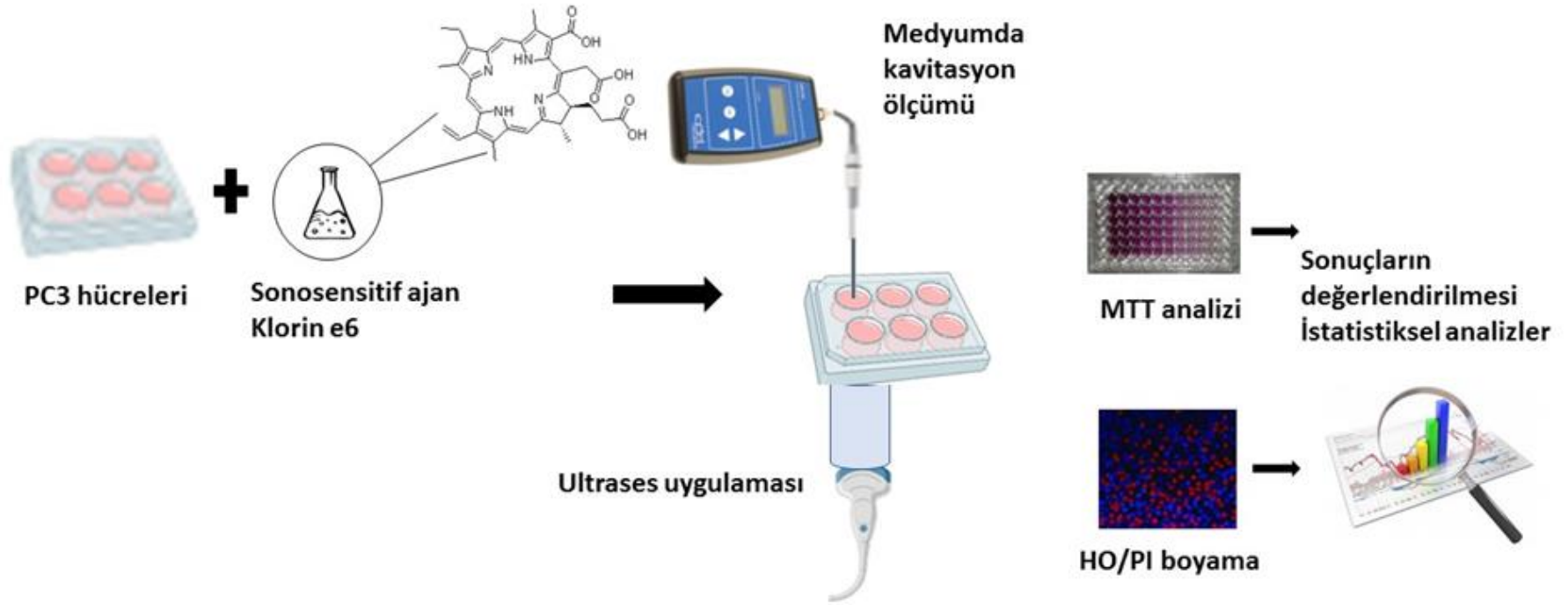
Kontrol, 5 µM Klorin e6, % 25 Görev Döngüsü (0,5 W/cm², 1 W/cm², 1,5 W/cm², 2 W/cm²), % 50 Görev Döngüsü (0,5 W/cm², 1 W/cm², 1,5 W/cm², 2 W/cm²), % 100 Görev Döngüsü (0,5 W/cm², 1 W/cm², 1,5 W/cm², 2 W/cm²) olmak üzere toplam 14 deney grubu bulunmaktadır.

3.2.2. Klorin e6 Aracılı Sonodinamik Tedavinin Gerçekleştirilmesi

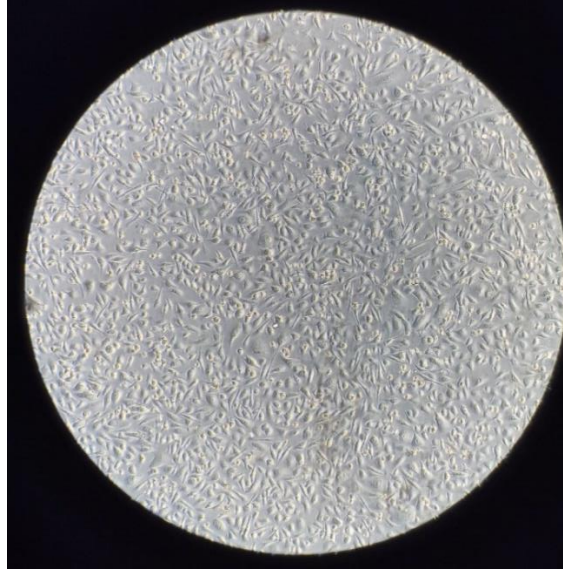
Hücreler altılı hücre kültürü platelerine ekilmiş ve çoğalmaları için 24 saat 37 °C' de %5 CO₂ içeren ortam koşullarında inkübe edilmiştir. Uygulama gruplarına 5

μM klorin e6 eklenmiş ve hücreler 4 saat sensitif ajan içeren besiyerinde bekletilmiştir. Dört saat sonunda SDT için BTL 5710 ultrason terapi cihazı kullanılmıştır. Probe ve plak arasına 8 cm distile su içeren ultrases iletim ortamı yerleştirilmiştir (Xie ve diğerleri, 2017). Belirlenen frekans ve güç yoğunluğunda SDT birer dakika sürelerle hücrelere uygulanmıştır. Uygulama şekli Şekil 12' de görülmektedir.

Uygulama sırasında Optel/OPCAV kavitasyon ölçüm cihazı kullanılmıştır. Ölçümler için kavitasyon metrenin prob besiyeri içerisine aynı mesafede ölçüm alacak şekilde konumlandırılmıştır. Uygulama süresi boyunca saniyelik ölçümler alınmış ve bilgisayar ekranında takip edilerek kaydedilmiştir.



Şekil 12. Materyal methodun grafik özeti



Resim2. Inverted mikroskop altında PC3 hücreleri

3.2.3. Kaviteasyon Seviyesinin Ölçülmesi

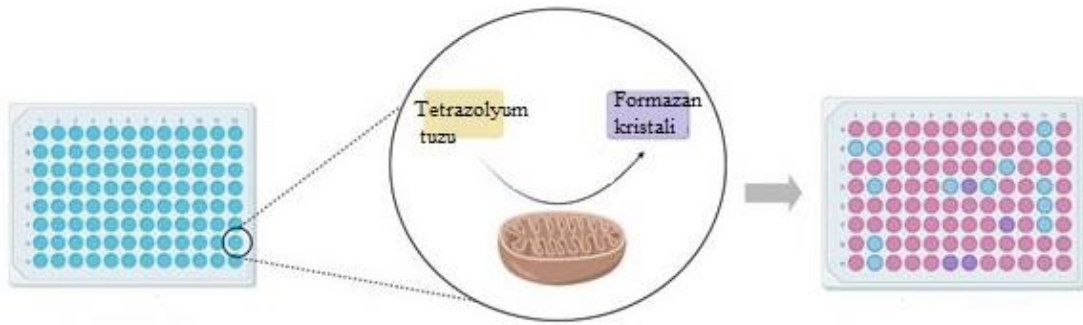
Kaviteasyon seviyesinin ölçümü için OPCAV model (OPTEL, Polonya) kaviteasyon metre tercih edilmiştir. Cihaz 400 kHz-1.2 MHz aralığında kaviteasyon ölçümü yapabilmektedir. Firma tarafından bildirilen ölçüm yöntemi: kaviteasyon patlamasının bir sonucu olarak ortaya çıkan akustik emisyon yoğunluğunun ölçülmesi olarak belirtilmiştir. Ölçüm sonuçları her saniye veri olarak cihazın bilgisayar arayüzünde görüntülenmiştir.



Resim 3. Kaviteasyon ölçüm cihazı

3.2.4. MTT Hücre Canlılık Analizi

MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) tetrazolyum tahlili, hücre canlılığını göstermek ve hücrelerin metabolik aktivitelerini belirlemek için kullanılan bir yöntemdir. Test, açık renkli tetrazolyum tuzunun , spektrofotometrik olarak ölçülebilen yoğun mor-mavi renkli formazana enzimatik olarak indirgenmesine dayanır. Uygun şekilde optimize edilmiş koşullar altında elde edilen absorbans değeri, canlı hücre sayısı ile doğru orantılıdır (Grela ve diğerleri, 2018).



Şekil 13. MTT testi çalışma prensibi

Uygulamadan 24 saat sonra hücrelerin üzerindeki besiyeri uzaklaştırılmış ve üzerlerine %10'u MTT olan yeni besiyeri eklenmiştir. Hücreler 1,5 saat 37 °C de %5 CO₂ içeren ortam koşullarında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyeri uzaklaştırılmış ve oluşan formazan kristallerinin çözünmesi için kuyulara eklenen besiyeri miktarı kadar DMSO eklenmiş ve 570 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri alınmıştır. Yüzde hücre canlılığı formül kullanılarak hesaplanmıştır (Foo ve diğerleri, 2019).

$$\% \text{ hücre canlılık} = \frac{OD_{\text{TEDAVİ}}}{OD_{\text{KONTROL}}} \times 100$$

3.2.5. HO/PI Apoptotik Hücre Canlılığı Analizi

Apoptotik ve nekrotik hücre ölümünün sayısal analizi için Hoechst 33258 (HO)/propidium iodide (PI) boyaması ile yapılmıştır. Mavi floresan HO nükleik asit boyası, apoptotik hücrelerin yoğun kromatini parlak bir şekilde boyamak için yaygın olarak kullanılan hücre geçirgen bir boyadır. Kırmızı floresan PI, yaygın bir ölü hücre boyasıdır (Tas ve diğerleri, 2019).

Uygulamadan 24 saat sonra hücrelerin bulunduğu besiyerine 2µg/ml HO ve 1 µg/ml PI floresan boyaları eklenmiştir. Hücreler 1 saat HO, 15 dakika PI floresan boyaları ile karanlıkta 37 °C de %5 CO₂ içeren ortam koşullarında inkübe edilmiştir. Görüntüler Zeiss Floresan mikroskobunda 20X büyütmede DAPI ve ROD filtrlere kullanılarak alınmıştır.

3.2.6. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler için GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) ve IBM SPSS Statistic 26.0 (IBM Corp. IBM Corp Released 2013. IBM SPSS Statistic, Armonk, NY) programları kullanılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun tespitinde Kolmogorov-Smirnov testi kullanılmıştır. Normal dağılım gösteren grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA Tukey testi) normal dağılım göstermeyen grupların analizinde Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. p değeri < 0,05 olanlar anlamlı kabul edilmiştir. *p <0,05, **p <0,01, ***p <0,001, ****p<0,0001 kabul edilerek grafikte temsil edilmiştir.

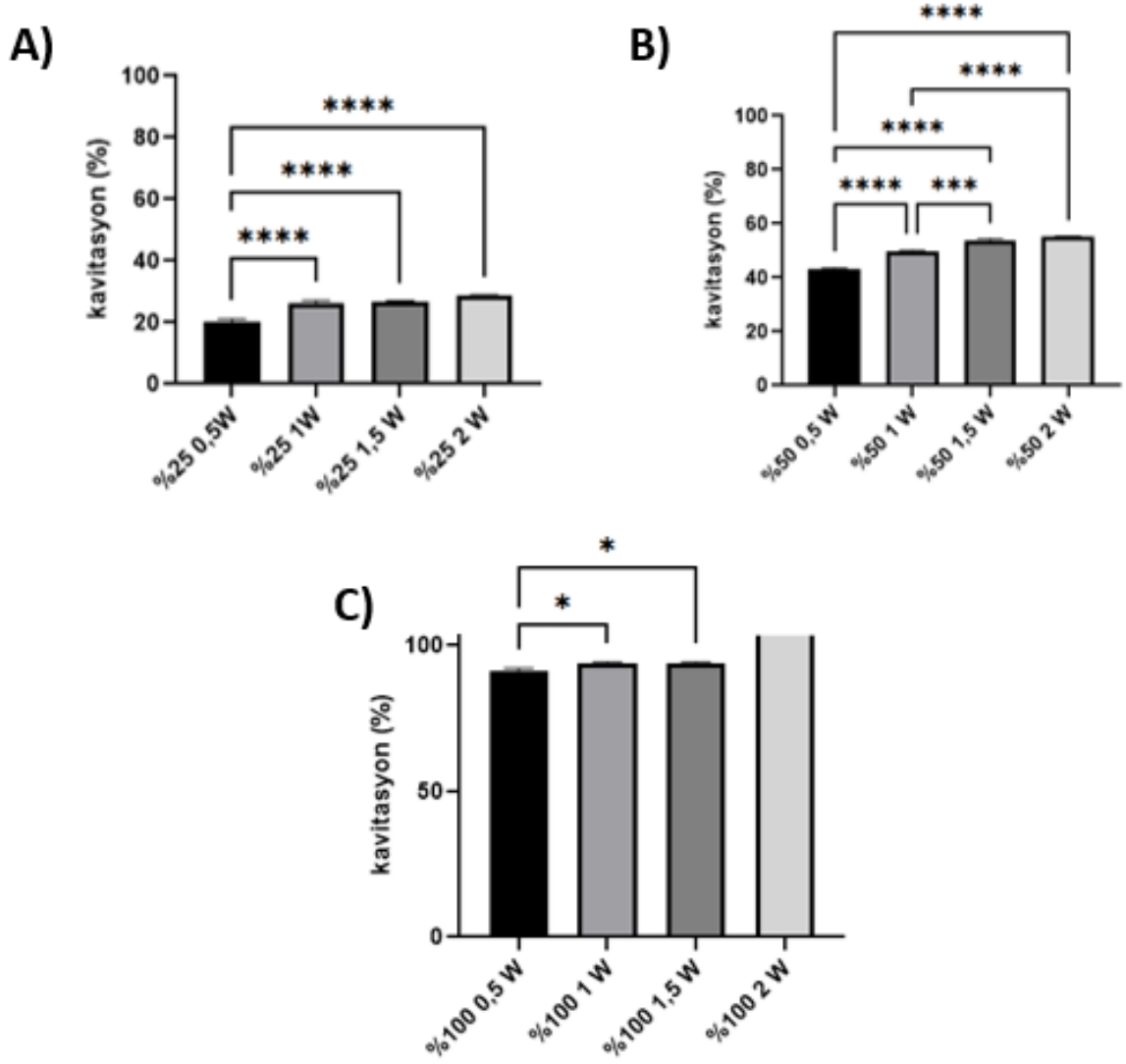
4. BULGULAR

4.1. Kaviteasyon Ölçüm Sonuçları

Çalışmada kullanılan kaviteasyon metre, ölçüm sonuçlarını her saniye bilgisayar arayüzüne göndermiştir. Elde edilen verilere ait ortalama ve standart hata sonuçları Tablo 3 te verilmiştir.

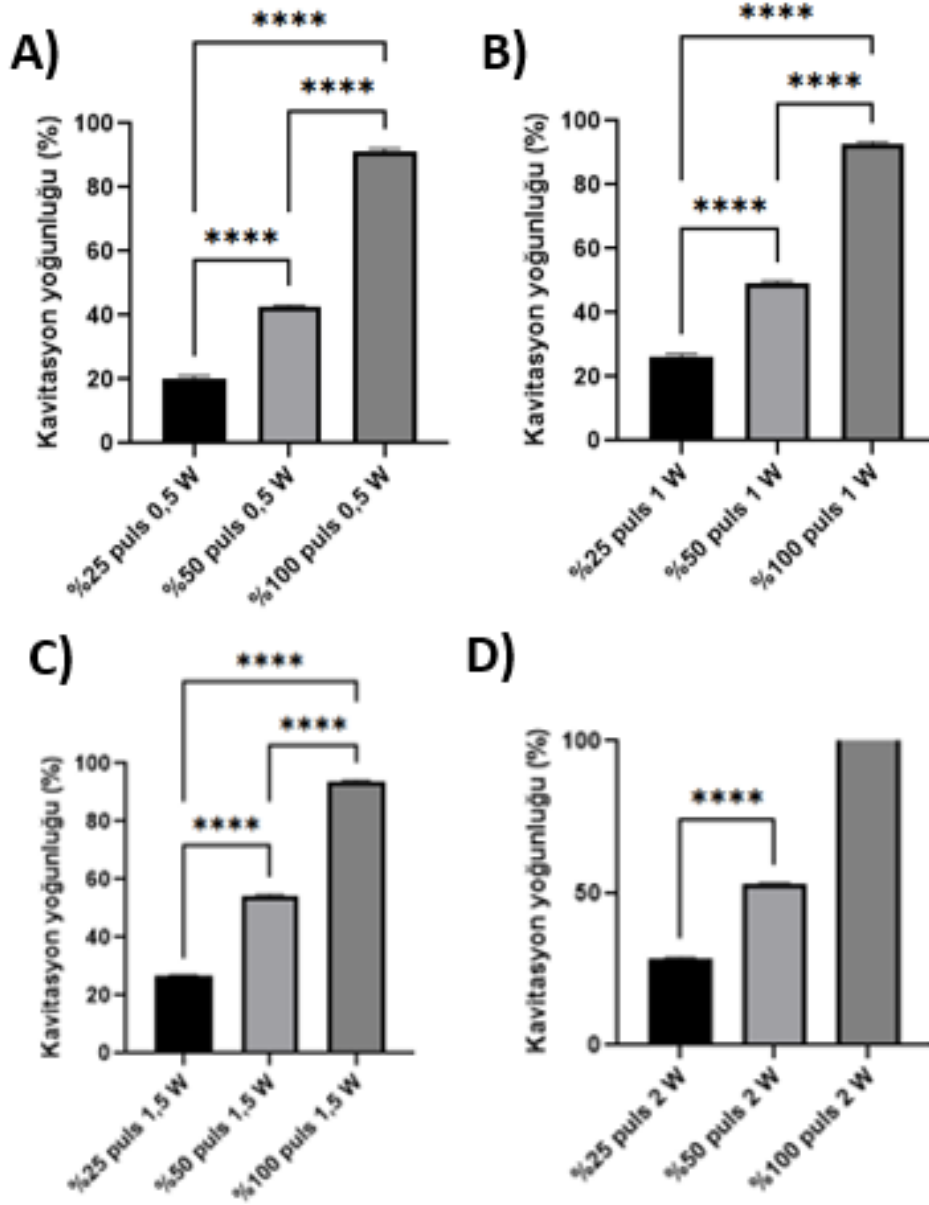
Tablo 3. Kaviteasyon ölçüm sonuçlarına ait grup ortalamaları ve standart hataları.

	0,5 W/cm ²	1 W/cm ²	1,5 W/cm ²	2 W/cm ²
%25 puls	20,37 ± 0,87 (n=41)	26,48 ± 0,71 (n=52)	26,61 ± 0,39 (n=98)	28,56 ± 0,40 (n=48)
%50 puls	42,71 ± 0,52 (n=119)	49,49 ± 0,42 (n=154)	54,22 ± 0,59 (n=108)	52,82 ± 0,38 (n=130)
%100 puls	91,31 ± 0,77 (n=108)	92,96 ± 0,39 (n=102)	93,84 ± 0,37 (n=135)	Ölçüm aralığının üzerinde



Şekil 14. Değişen güç yoğunluğuna göre % kavitasyon değerleri A) %25 görev döngüsü B) %50 görev döngüsü C) %100 görev döngüsü.

*p <0,05, **p <0,01, ***p <0,001, ****p<0,0001



Şekil 15. Değişen görev döngülerine göre % kavitasyon değerleri A) 0,5 W/cm² B) 1 W/cm² C) 1,5 W/cm² D) 2 W/cm².

*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001, ****p < 0,0001

Görev döngüsü sabit tutularak güç yoğunluğu arttırıldığında kavitasyon seviyesinde artış gözlenmiştir. Ancak görev döngüsünde gerçekleşen değişiklikler kavitasyon seviyesinde yüksek anlamlılığa sebep olurken, güç yoğunluğunda gerçekleşen değişikliklerin kavitasyon seviyelerinde anlamlı artış göstermediği durumlar görülmüştür. %100 puls 2 W/cm² güç yoğunluğuna ait kavitasyon ölçümleri cihazın ölçüm aralığının üzerinde olduğu için 'HIGH CAVITATION LEVEL' uyarısı alınmış ve belirtilen gruba ait veri elde edilemediği için istatistiksel hesaplamalara dahil edilmemiştir.

4.2. MTT Hücre Canlılık Analizi

Kontrolle klorin e6 grupları arasında hücre canlılığı bakımından anlamlı bir fark görülmemiştir. Kontrolle SDT grupları arasında hücre canlılığı bakımından yüksek anlamlılık görülmüştür.

Tablo 4. Deney gruplarının tedaviden 24 saat sonra % hücre canlılığı sonuçlarına ait grup ortalamaları ve standart hataları.

Kontrol	99,64± 1,7			
Klorin e6	91,90± 0,9			
	0,5 W/cm ²	1 W/cm ²	1,5 W/cm ²	2 W/cm ²
%25 puls	80,27± 0,7	77,10± 2,7	63,01± 3,4	49,88± 1,1
%50 puls	74,78± 0,9	70,41± 0,4	46,30± 0,6	31,07± 0,3
%100 puls	77,03± 1,5	57,55± 1,6	33,15± 0,4	23,95± 0,3

Tablo 5. %25 puls ultrases uygulanmış deney gruplarının tedaviden 24 saat sonra % hücre canlılığı sonuçlarına ait p değerleri.

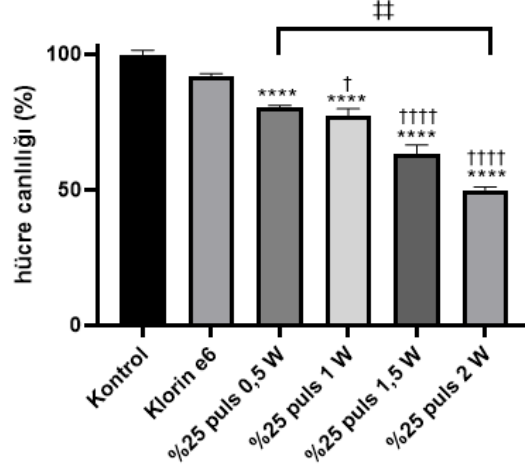
	Klorin e6	%25 puls 0,5 W/cm ²	%25 puls 1 W/cm ²	%25 puls 1,5 W/cm ²	%25 puls 2 W/cm ²
Kontrol	>0,9999	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Klorin e6		0,0724	0,0124	<0,0001	<0,0001
%25 puls 0,5 W/cm ²			>0,9999	0,0877	0,0039
%25 puls 1 W/cm ²				>0,9999	>0,9999
%25 puls 1,5 W/cm ²					>0,9999

Tablo 6. %50 puls ultrases uygulanmış deney gruplarının tedaviden 24 saat sonra % hücre canlılığı sonuçlarına ait p değerleri.

	Klorin e6	%50 puls 0,5 W/cm ²	%50 puls 1 W/cm ²	%50 puls 1,5 W/cm ²	%50 puls 2 W/cm ²
Kontrol	>0,9999	0,0002	0,0001	<0,0001	<0,0001
Klorin e6		0,0648	0,0259	<0,0001	<0,0001
%50 puls 0,5 W/cm ²			>0,9999	0,0004	<0,0001
%50 puls 1 W/cm ²				0,0973	0,0029
%50 puls 1,5 W/cm ²					0,7581

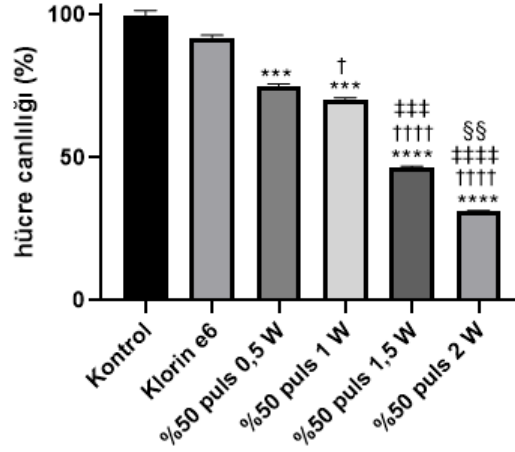
Tablo 7. %100 puls ultrases uygulanmış deney gruplarının tedaviden 24 saat sonra % hücre canlılığı sonuçlarına ait p değerleri.

	Klorin e6	%100 puls 0,5 W/cm ²	%100 puls 1 W/cm ²	%100 puls 1,5 W/cm ²	%100 puls 2 W/cm ²
Kontrol	>0,9999	0,0024	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Klorin e6		0,3000	0,0101	<0,0001	<0,0001
%100 puls 0,5 W/cm ²			>0,9999	0,0665	<0,0001
%100 puls 1 W/cm ²				>0,9999	0,0036
%100 puls 1,5 W/cm ²					0,1658



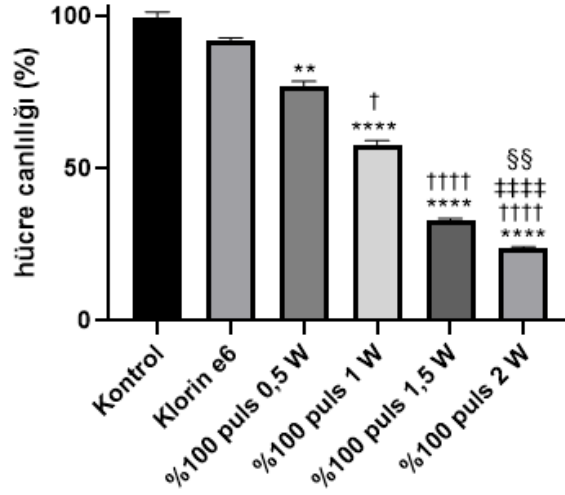
Şekil 16. Sabit tutulan %25 görev döngüsü sonrası % hücre canlılığı grafiği. Kontrole göre anlamlılık *;Klorin e6 ya göre anlamlılık †; 0,5 W/cm² grubuna göre anlamlılık ‡

% 25 görev döngüsü sabit tutularak ultrases güç yoğunluğu 0,5 W/cm² aralıklarla arttırıldığında SDT grupları ile kontrol ve klorin e6 grupları arasında hücre canlılığında anlamlı azalmalar görülmüştür. %25 görev döngüsünde ultrases güç yoğunluğu 0,5 W/cm² aralıklarla arttırıldığında SDT gruplarında güç artışına göre hücre canlılığında azalma görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir.



Şekil 17. Sabit tutulan %50 görev döngüsü sonrası % hücre canlılığı grafiği. Kontrole göre anlamlılık *; Klorin e6 ya göre anlamlılık †; 0,5 W/cm² grubuna göre anlamlılık ‡; 1 W/cm² grubuna göre anlamlılık§

%50 görev döngüsü sabit tutularak ultrases güç yoğunluğu 0,5 W/cm² aralıklarla arttırıldığında SDT grupları ile kontrol ve klorin e6 grupları arasında hücre canlılığında anlamlı azalmalar görülmüştür. %50 görev döngüsünde ultrases güç yoğunluğu 0,5 W/cm² aralıklarla arttırılan SDT grupları arasında güç artışına göre hücre canlılığında azalma görülmüş ancak her durumda istatistiksel olarak anlamlı azalma göstermemiştir.

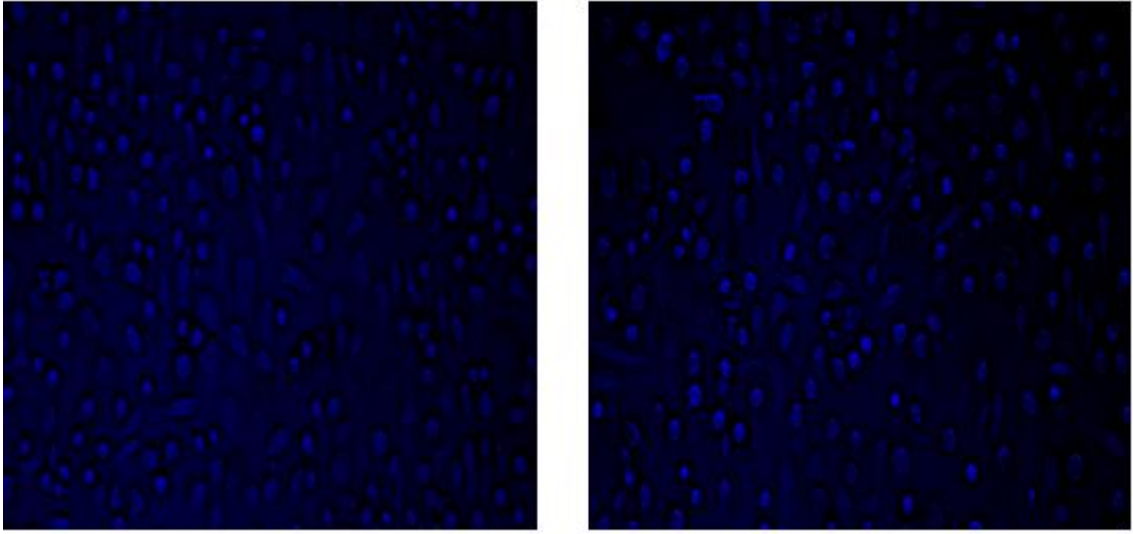


Şekil 18. Sabit tutulan %100 görev döngüsü sonrası % hücre canlılığı grafiği.

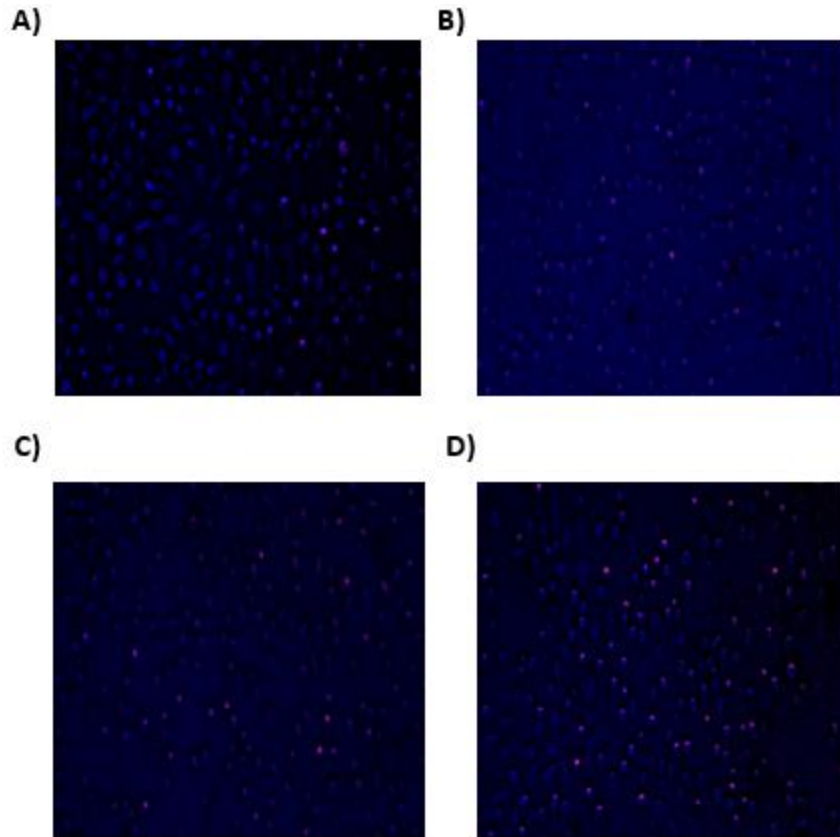
Kontrole göre anlamlılık *; Klorin e6 ya göre anlamlılık †; 0,5 W/cm² grubuna göre anlamlılık †; 1 W/cm² grubuna göre anlamlılık ††††

%100 görev döngüsü sabit tutularak ultrases güç yoğunluğu 0,5 W/cm² aralıklarla arttırıldığında SDT grupları ile kontrol ve klorin e6 grupları arasında hücre canlılığında anlamlı azalmalar görülmüştür. %100 görev döngüsünde ultrases güç yoğunluğu 0,5 W/cm² aralıklarla arttırılan SDT grupları arasında güç artışına göre hücre canlılığında azalma görülmüş ancak her durumda istatistiksel olarak anlamlı azalma göstermemiştir.

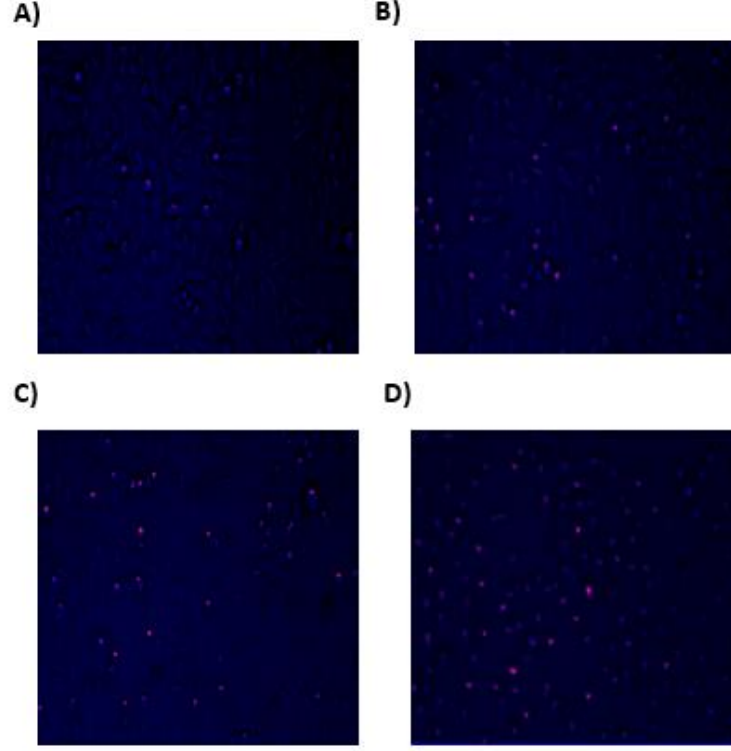
4.3. HO/PI Hücre Canlılık Analizi



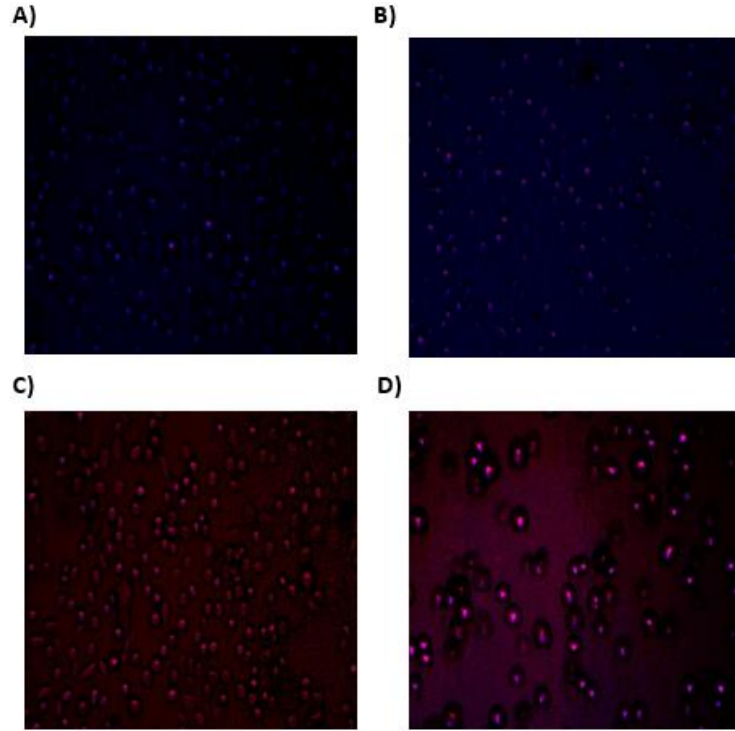
Resim 4. Kontrol (sol) ve Klorin e6 (sağ) gruplarına ait HO/PI merge görüntüleri



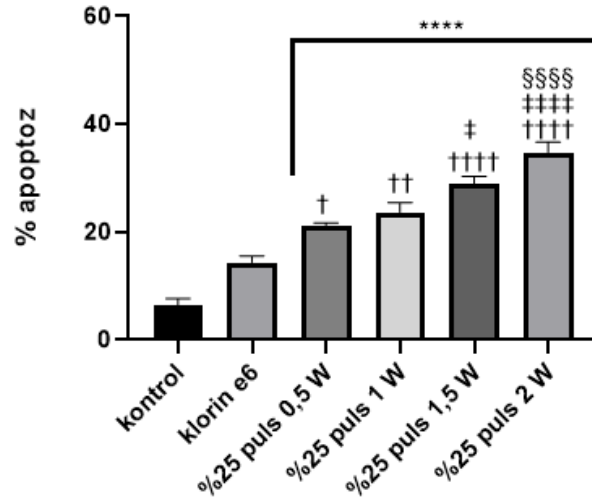
Resim 5. %25 puls görev döngüsü sabit tutularak güç yoğunluğu artırılan deney gruplarına ait HO/PI merge görüntüleri. A) 0,5 W/cm², B) 1 W/cm², C) 1,5 W/cm², D) 2 W/cm²



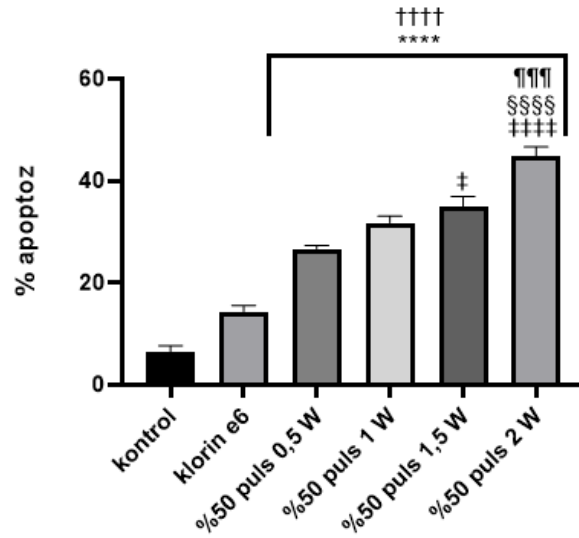
Resim 6. %50 puls görev sabit tutularak güç yoğunluğu artırılan deney grupları A) 0,5 W/cm², B) 1 W/cm², C)1,5 W/cm², D)2 W/cm²



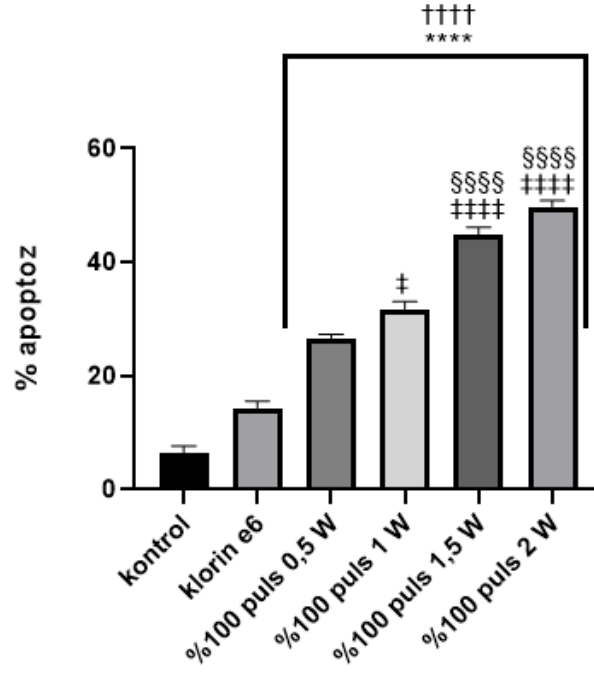
Resim 7. %100 puls görev döngüsü sabit tutularak güç yoğunluğu artırılan deney grupları A) 0,5 W/cm², B) 1 W/cm², C)1,5 W/cm², D)2 W/cm²



Şekil 19. Sabit tutulan %25 görev döngüsü ve HO/PI % apoptoz grafiği. Kontrole göre anlamlılık *; Klorin e6 ya göre anlamlılık †; 0,5 W/cm² grubuna göre anlamlılık ‡; 1 W/cm² grubuna göre anlamlılık§



Şekil 20. Sabit tutulan %50 görev döngüsü ve HO/PI % apoptoz grafiği. Kontrole göre anlamlılık *; Klorin e6 ya göre anlamlılık †; 0,5 W/cm² grubuna göre anlamlılık ‡; 1 W/cm² grubuna göre anlamlılık§, 1,5 W/cm² grubuna göre anlamlılık ¶.



Şekil 21. Sabit tutulan %100 görev döngüsü ve HO/PI % apoptoz grafiği. Kontrole göre anlamlılık *; Klorin e6 ya göre anlamlılık †; 0,5 W/cm² grubuna göre anlamlılık ‡; 1 W/cm² grubuna göre anlamlılık §

SDT grupları kontrol ve klorin e6 gruplarına göre % apoptoz oranında anlamlı artış göstermiştir ve bu durum SDT nin hücrelerin apoptoza yönlendirilmesinde etkili olduğunu göstermektedir. 2W/cm² grubu tüm deneylere göre % apoptoz oranında anlamlı artış göstermiştir. %100 görev döngüsü grubuna ait 1,5 W/cm² grubu tüm gruplara göre % apoptoz oranında anlamlı artış göstermiştir.

5. TARTIŞMA

SDT, ultrases ile uyarılan sonosensitif ajanın, nekrotik ve apoptotik hücre ölümlerine sebep olması sonucu çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan güçlü doku penetrasyon özelliğiyle umut verici, güncel bir noninvaziv tedavi yöntemidir (Guo ve diğerleri, 2021; W. Li ve diğerleri, 2021; Rengeng ve diğerleri, 2017; Sun ve diğerleri, 2015). SDT’de kullanılan ultrasesin biyolojik etkileri sesin güç yoğunluğu ve frekansına bağlıdır. Ultrasesin yoğunluğu arttıkça ısı üretiminin arttığı ve frekansı azaldıkça kavitasyon seviyesinin arttığı bildirilmiştir (Tsuru ve diğerleri, 2012).

PC3 hücreleri kemik metastazından türetilmiş prostat kanseri hücre hattıdır ve literatürde SDT’de kullanıldığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Atmaca ve diğerleri, 2021; Hadi ve diğerleri, 2021). Hücreleri 1-3 MHz frekans, %25, %50 %100 görev faktörü ve 0,5 – 3 W/cm² yoğunluklu ultrasese 30-60 sn maruz bırakmanın SDT için anlamlı sonuç verdiği bildirilmiştir (Aksel, 2019; Aksel ve diğerleri, 2020; Atmaca ve diğerleri, 2021; Hadi ve diğerleri, 2021; Köken, 2020). Biz de çalışmamızda %25, %50 ve % 100 görev faktörü ile değiştirilen 0,5; 1; 1,5 ve 2 W/ cm² güç yoğunluklarında ultrasesi 30 sn süreyle hücrelere uyguladık. Literatürde değişen görev faktörlerinin kavitasyon seviyesi üzerine etkisine dair yeterli çalışma mevcut değildir ve bu durum çalışmamızı bu alanda değerli kılmaktadır.

SDT'nin terapötik etkisini açıklamak için, oksijen radikal teorisi, kavitasyon etkisi teorisi, apoptozu indükleme , anti-tümör bağışıklığını iyileştirme, anjiyogenezi sınırlama ve hipertermi oluşturma olmak üzere altı yönlü etki mekanizması bildirilmiştir ancak bu mekanizmaların hangisinin daha baskın olduğuna yönelik yeterli çalışma bulunmamaktadır (Costley ve diğerleri, 2015; Guo ve diğerleri, 2021; Rengeng ve diğerleri, 2017). Bu çalışma, bu mekanizmalardan biri olan kavitasyon etki mekanizmasını anlamaya ve yapılacak diğer çalışmalar için kaynak teşkil etmeye yönelik bir çalışmadır.

SDT için tedavi sürecini etkileyen unsurlardan biri sonosensitif ajanın seçimidir. Sonosensitif ajanın kuantum verimi ve hedef hücrelerde birikim göstermesi ultrases ile etkileşimi açısından önemlidir (Güzel ve diğerleri, 2022; D. Li ve diğerleri, 2021). SDT’ de sonosensitif ajan olarak en yaygın kullanılan ve PDT’ de etkinliği ilk olarak gösterilen porfirin türevi sonosensitif ajanlardır (Costley ve diğerleri, 2015; Rengeng ve diğerleri, 2017). Porfirin türevi Sonosensitif ajanların doğrudan sitotoksik etki göstermediği ancak 0,3- 3 MHz frekans aralığında düşük yoğunluklu ultrasese maruz kaldığında ROS oluşumunu indüklediği çalışmalarda gösterilmiştir (Costley ve diğerleri, 2015; McHale ve diğerleri, 2016). Bir diğer

Ksanten türevi ajanlar ise, tümörlü dokular tarafından yüksek alım ve porfirin türevlerine göre daha az hidrofobik özellik göstermeleri sebebiyle SDT’de sensitif ajan olarak tercih edilmektedir(Costley ve diğerleri, 2015) .

Ce6 klorofilden bir ekstraktif olan monomer tetrapireol bileşimidir. Ce6’ nın spesifik olarak tümörlü dokularda biriktiği gösterilmiştir. Amfifilik yapısı sayesinde hücre zarından sorunsuz geçebildiği çok sayıda çalışmada bildirilmiştir. Yapılan sitotoksikite çalışmaları incelendiğinde sağlıklı dokular için toksik etki oluşturmadığı görülmektedir (Köken, 2020; Q. Li ve diğerleri, 2014; Pang ve diğerleri, 2016; Yang ve diğerleri, 2019). Ce6’ nın PBS içerisinde çözdürüldükten sonra singlet oksijen kuantum verimi 0,64 olarak ölçülmüştür ve bu değer SDT için kullanılabilir olduğunu göstermektedir (Fernandez ve diğerleri, 1997). Ce6’ nın 4 saat içerisinde hücre içerisine girebildiği ve agregasyon oluşturmadığı hem floresan görüntüleme ile hem de akış sitometri kullanılarak gösterilmiştir (Q. Li ve diğerleri, 2014). Literatürdeki çalışmalar dikkate alınarak, bu çalışmada Ce6’ nın uygulamalar için konsantrasyon yoğunluğu 5 µM ve inkübasyon süresi 4 saat seçilmiştir.

Ce6 aracılı SDT için 1-3 MHz ultrases ve 0,3-2 W/cm² güç yoğunluğunun kullanıldığı ve bu aralıktaki ultrasesin ROS üretmek için Ce6’ yı uyurabildiği önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Aynı zamanda bu güç yoğunluğu ve frekans aralığında *in vitro* ortamda ısı artışı olmadığını ve tek başına ultrasesin hücre canlılığı üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını gösteren çalışmalar mevcuttur (D. Li ve diğerleri, 2021; Q. Li ve diğerleri, 2014; McHale ve diğerleri, 2016; Rengeng ve diğerleri, 2017).

Kavitasyon teorisi SDT etki mekanizmalarından biri olarak kabul edilen ve bu çalışmanın da tedavi etkinliği ile arasındaki korelasyonu göstermeyi amaçladığı teoridir. Kavitasyonun hücre zarı permabalitisini arttırarak hücre içerisine daha fazla sensitif ajan girmesini sağladığı ve bu durumun da SDT etkinliğini arttırdığı düşünülmektedir (Xianwen Wang ve diğerleri, 2020). Kavitasyonun hücre zar yapısını bozarak SDT etkinliğini arttırdığını göstermek için lipid peroksidasyon seviyesinin bir göstergesi olan MDA ölçümünün yapılması veya hücre membran potansiyelinin ölçülmesi faydalı olacaktır.

Kavitasyonun bir diğer olası etki mekanizması, kabarcıkların çöküşü sırasında ortamda meydana gelen yüksek basınç ve sıcaklıkların hücreleri hem nekrotik ölüme götürmesi hem de tümör çevresinde oluşturduğu piroliz ile üretilen ROS aracılığıyla ölüme götürmesidir (Rengeng ve diğerleri, 2017; Xianwen Wang ve diğerleri, 2020). Oluşabilecek yüksek sıcaklığın çevre dokulara zarar vermemesi adına, tedavi sırasında sıcaklık takibinin yapılması için ultrasonik termometrelerin kullanılması SDT etkinliğini arttıracaktır (Gong ve Dai, 2021).

Kavitasyon kabarcıklarının çöküşü sırasında açığa çıkan enerji SL ışımaya oluşturmaktadır (Costley ve diğerleri, 2015; Harvey, 1939; He ve diğerleri, 2002; Matula ve diğerleri, 1995; Song ve diğerleri, 2021; K. Suslick ve diğerleri, 1999; K. S. Suslick ve diğerleri, 1990; Yusof ve diğerleri, 2022). SL ışımının, SDT’de kullanılan sensitif ajanı uyarmak için gerekli dalga boyunda emisyon üretmesi gerekmektedir. Hematoporfirini uyaran SL ışımının 400-600 nm arasında pik gösteren bir spektruma sahip olduğu bildirilmiştir (Costley ve diğerleri, 2015; Gong ve Dai, 2021). SL ışımının SDT sürecindeki etkinliğini tedavide kullanılan ultrasesin frekans ve güç yoğunluğunun yanı sıra *in vitro* çalışmalarda kullanılan besiyerinde çözünen maddeler ve sonosensitif ajanın türü de belirlemektedir (Costley ve diğerleri, 2015). Bu sebeple kullanılan sensitif ajanı uyaracak ultrases dozu önemlidir ve tedavi başarısı için iyi hesaplanmalıdır.

Ultrasesle doğrudan apoptozun indüklendiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Ultrason kaynaklı hücre ölümü, K562, U937, Nalm-6, L1210 ve HL-60 dahil olmak üzere insan lösemi hücre dizilerinde doğrulanmıştır. Ultrasesle indüklenen apoptozun mitokondriyal transmembran potansiyelindeki bozukluklar, fosfatidilserin asimetrisinin kaybı, membran hasarı gibi morfolojik değişiklikler ve DNA fragmentasyonu gibi karakteristik özellikleri barındırdığı gösterilmiştir (Honda ve diğerleri, 2004; Pang ve diğerleri, 2016; Su ve diğerleri, 2013; Xiaobing Wang ve diğerleri, 2013).

Ultrasesin biyolojik dokulardaki etkileri termal ve termal olmayan olmak üzere iki ana başlık altında toplanmıştır. SDT ultrasesin termal olmayan etkileri üzerine odaklanmış bir tedavi yöntemidir. Kavitasyon kabarcıklarının patlaması sırasında SL ışımaya oluşturmaktadır ve bu ışımının PDT etki mekanizmasındaki adımları takip ederek sensitif ajanın ROS ürettiği, SDT etki mekanizması olarak savunulan bir teoridir. SL sonucu oluşan ROS’ un hücrelerdeki proteinleri yok edebildiği, DNA’ya zarar verebildiği, hücre içi lipid peroksidasyonunu arttırabildiği ve sonuç olarak tümör hücresi apoptozunu indükleyebildiği gösterilmiştir. (Costley ve diğerleri, 2015; Luo ve diğerleri, 2015; McHale ve diğerleri, 2016; Pang ve diğerleri, 2016; Song ve diğerleri, 2021; Xianwen Wang ve diğerleri, 2020).

Biz de çalışmamızda literatürle uyumlu olarak artan kavitasyon seviyelerinde hücre ölümünün arttığını gösterdik ve bu durum kavitasyonun SDT için bir etki mekanizması olduğunu göstermektedir. Artan güç yoğunluklarında kavitasyon seviyesinde sürekli artış gerçekleşmiş ancak bazı durumlarda anlamlılık göstermemiştir. Buna karşın anlamlılık göstermeyen kavitasyon artışının olduğu durumlarda hücre canlılığında anlamlı bir düşüş oluşmuştur. Bu sonuç göstermektedir ki SDT etki mekanizmasını ortaya koyabilmek için kavitasyon seviyesinin ölçümü tek başına bir çıkarım sağlayamamaktadır. SDT etki

mekanizmalarını ortaya koyabilmek için daha önce açıkladığımız gibi literatürde bildirilen diğer olası etki mekanizmaları da aynı anda değerlendirmeye alınmalıdır.

SDT, geleneksel cerrahi ve radyoterapiye göre invaziv olmayan doğası, patolojik bölgelere yüksek seçiciliği ve düşük sistemik toksisitesi dahil olmak üzere belirgin avantajları nedeniyle hastalık tedavisi için umut verici bir alternatiftir (Pang ve diğerleri, 2016). Hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak yürütülen son araştırmalar, doğal ürünlerden türetilen sonosensitizerlerin kanser, mikrobiyal enfeksiyonlar ve iltihaplanma dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisi için güçlü sonodinamik aktivite sunduğunu göstermiştir. Güncel çalışmalarda bildirilen sensitif ajanlar çözünürlük ve erken vücuttan atılım gibi sorunlar ortaya çıkarabilmektedir. Aynı zamanda sensitif ajanların biyolojik dağılımının ayarlanamaması sorunu sonosensitizerin hücre içi konsantrasyonunun çok düşük olmasına neden olabilmektedir. Tüm bu sorunlar yüksek kuantum verimine, vücut sıvıları içerisinde agregasyon göstermeyen ve hedeflenebilir sensitif ajanların geliştirilmesine ihtiyaç olduğunu göstermektedir (Costley ve diğerleri, 2015; Pang ve diğerleri, 2016; Xianwen Wang ve diğerleri, 2020).

Tümör mikroçevresinin hipoksik ortam olması ROS oluşturmak için SDT tedavi etkinliğini sınırlamaktadır. Bu durum oksijen taşıyan nanoparçacıklarla kombine SDT çalışmalarını gündeme getirmiştir. Aynı zamanda SDT etkinliğinin artırılması için hücreleri ROS kaynaklı oksidatif hasardan koruyan GSH'ın zamanında tüketilmesi gerekmektedir. SDT etki mekanizmalarından ROS teorisini göstermek için yapılan ROS ölçümlerinin yanında GSH miktarları da ölçülmelidir. ROS ve GSH miktarlarının birlikte değerlendirilmesi SDT etkinliğinin ortaya konulmasında yapılacak yorumların doğruluğunu etkileyecektir (Xianwen Wang ve diğerleri, 2020).

SDT etkinliğini ortaya koymada ROS önemli bir bileşendir. Son yıllarda gerçek zamanlı ROS'ın noninvaziv takibine izin veren çalışmalar bildirilmiştir. SDT sırasında oluşan ROS'un *in vivo* gerçek zamanlı takibi ROS ile kimyasal reaksiyon sonucu kemilüminesans üretimine dayanmaktadır. ROS tespiti için kemilüminesans ışımaya yapabilen çeşitli kimyasallar kullanılarak problemler geliştirilmiştir. Problemlerin ROS'u tespit etmek için kullandığı lüminesans dalga boyları birçok çalışmada bildirilmiştir. Bu tarz problemlerin tasarımı ve SDT sırasında kavitasyon miktarıyla birlikte eş zamanlı ROS miktarının da değerlendirilmesi, tedavinin etki mekanizmalarının aydınlatılması için önemlidir (Gong ve Dai, 2021).

SDT etkinliğini göstermek için yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar yaygın olarak başarılı sonuçlar vermesine rağmen insan üzerindeki etkinliğini göstermeye yönelik

alışmalar halen yetersizdir (Gong ve Dai, 2021). Kanser ve aterosklerotik periferik arter hastalığının tedavisi için SDT klinik deneylerde uygulanmıştır ve sonuçlar hastalar üzerinde yüksek etkinlik ve olumlu güvenlik göstermiştir (W. Li ve diğerleri, 2021). Bu durum SDT alanında yapılan çalışmaların kanser terapilerindeki önemini devam ettirmektedir (Costley ve diğerleri, 2015). Mikro karbacıklarla tümörlü bölgelere hedeflenen, lokal birikim gösteren ve agregasyona neden olmayan, vücuttan atılma süresi tedavi sürecinden sonra oldukça kısa olan, yüksek kuantum verimine sahip, düşük ultrases yoğunluğunda uyarılabilen ve ultrases maruziyeti olmadığında toksik etki göstermeyen yeni sensitif ajan arayışı devam etmektedir. Tedavi etkinliği yüksek olduğu için bu alanda yapılacak her çalışma çok kıymetlidir ve sonraki çalışmalar için kaynak teşkil etmektedir. Bizim alışmamız SDT'nin etki mekanizmalarından biri olan kavitasyonun etkinliğini ortaya koymuş ancak diğer teorilerle desteklenmediği için yetersiz kalmıştır ve belirtilen eklemeler yapılarak çalışma zenginleştirilebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Ce6 aracılı SDT'nin PC3 hücre hattında gerçekleştirilmesini takiben, hücre canlılığı ve tedavi sırasında kaydedilen kavitasyon değerleri arasındaki korelasyon incelenmiştir.

Bulgular değerlendirildiğinde kavitasyon yoğunluğunun literatürle uyumlu olarak SDT sürecinde etkili olduğu gösterilmiştir. Tedavide kullanılan ultrasesin güç yoğunluğu 0,5 W/cm² aralıklarla artırılmış ve uygulama sırasında kavitasyon miktarları ölçülmüştür. Aynı görev faktörü kullanılan gruplarda artan güç yoğunluğuna bağlı olarak kavitasyon miktarları anlamlı artış göstermemiştir. Görev döngüsündeki değişiklik aynı güç yoğunluğuna sahip gruplarda kavitasyon miktarlarında anlamlı fark oluşturmuştur. Eşdeğer ultrases enerjisi verilen gruplarda MTT sonuçlarında tutarlılık görülmemiştir.

HO/PI görüntüleri analiz edildiğinde Klorin e6 aracılı SDT' nin ultrases yoğunluğunun artmasıyla indüklenen apoptoz miktarını arttırdığı gösterilmiştir. Bu durum literatürle uyumludur ve SDT'nin etki mekanizmaları arasında kavitasyonun mekanik hasar verici özellikleri dışında da etki mekanizmalarının mevcut olduğunu göstermektedir. Ayrıca eşdeğer ultrases enerjisi verilen (%25 2W/cm², %50 1W/cm², %100 0,5W/cm²) gruplarda %apoptoz oranlarının benzer olduğu sonucuna varılmıştır.

Çalışmada kavitasyonun termal, ROS üretimi ve SL ışına özelliklerinden hangisi veya hangilerinin tedavide daha etkili olduğu gösterilmemiştir. Çalışmanın devamı olarak, uygulama sırasında besiyerinde gerçekleşen ısı artışı ölçülebilir ve hücre canlılığıyla korelasyonu değerlendirilebilir. Ek olarak kavitasyonun indüklediği ROS' u belirleyebilmek için sonosensitif ajan eklenmeden verilen ultrasesin hücre medyumunda oluşturduğu ROS uygun kitler kullanılarak ölçülebilir. Kavitasyonun meydana getirdiği ROS oluşumuna ait piroliz ve SL teorilerinden hangisinin bu süreçte etkili olduğunun gösterilmesi etki mekanizmasının aydınlatılması için önemlidir.

Çalışmamız klorin e6 aracılı SDT' de kavitasyonun etkisini ortaya koymuştur ve SDT'nin etki mekanizmasının aydınlatılması açısından önemlidir. Çalışmanın devamı olarak önerilerde bahsedilen eklemeler yapılacak ve çalışma zenginleştirilecektir.

KAYNAKLAR

- Abate-Shen, C., Shen, M. M. (2000). Molecular genetics of prostate cancer. *Genes & development*, 14(19), 2410-2434.
- Abu-Zidan, F. M., Hefny, A. F., Corr, P. (2011). Clinical ultrasound physics. *Journal of Emergencies, Trauma and Shock*, 4(4), 501.
- Adeuwuyi, Y. G. (2001). Sonochemistry: environmental science and engineering applications. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 40(22), 4681-4715.
- Aksel, M. (2019). Prostat kanseri hücre dizininde fotodinamik ve sonodinamik tedavilerin etkisi.
- Aksel, M., Bozkurt-Girit, O., Bilgin, M. D. (2020). Pheophorbide a-mediated sonodynamic, photodynamic and sonophotodynamic therapies against prostate cancer. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 31, 101909.
- Alphandéry, E. (2022). Nanomaterials as Ultrasound Theragnostic Tools for Heart Disease Treatment/Diagnosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1683.
- Ashokkumar, M., Lee, J., Iida, Y., Yasui, K., Kozuka, T., Tuziuti, T., Towata, A. (2010). Spatial distribution of acoustic cavitation bubbles at different ultrasound frequencies. *ChemPhysChem*, 11(8), 1680-1684.
- Atmaca, G. Y., Aksel, M., Keskin, B., Bilgin, M. D., Erdoğan, A. (2021). The photo-physicochemical properties and in vitro sonophotodynamic therapy activity of Di-axially substituted silicon phthalocyanines on PC3 prostate cancer cell line. *Dyes and Pigments*, 184, 108760.
- Baker, K. G., Robertson, V. J., Duck, F. A. (2001). A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects. *Physical therapy*, 81(7), 1351-1358.
- Bertram, J. S. (2000). The molecular biology of cancer. *Molecular aspects of medicine*, 21(6), 167-223.
- Brotchie, A., Grieser, F., Ashokkumar, M. (2009). Effect of power and frequency on bubble-size distributions in acoustic cavitation. *Physical review letters*, 102(8), 084302.
- CALISKAN, S. O. PHOTODYNAMIC THERAPY STUDIES ON CUTANEOUS LEISHMANIASIS. *ACADEMIC RESEARCHES IN HEALTH SCIENCES*, 37.
- Chen, B., Zheng, R., Liu, D., Li, B., Lin, J., Zhang, W. (2013). The tumor affinity of chlorin e6 and its sonodynamic effects on non-small cell lung cancer. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(2), 667-673.

- Chowdhury, P., Viraraghavan, T. (2009). Sonochemical degradation of chlorinated organic compounds, phenolic compounds and organic dyes—a review. *Science of the total environment*, 407(8), 2474-2492.
- Collins, K., Brocken, E., Bahler, C. D., Alabd, A., Koch, M. O., Cheng, L. (2022). High-intensity focused ultrasound for the treatment of prostate cancer: assessing location of failure after focal therapy in prostate cancer and review of histological characteristics and clinicopathologic correlates after treatment—a 5-year experience. *Human Pathology*, 119, 79-84.
- Correia, J. H., Rodrigues, J. A., Pimenta, S., Dong, T., Yang, Z. (2021). Photodynamic therapy review: principles, photosensitizers, applications, and future directions. *Pharmaceutics*, 13(9), 1332.
- Costley, D., Mc Ewan, C., Fowley, C., McHale, A. P., Atchison, J., Nomikou, N., Callan, J. F. (2015). Treating cancer with sonodynamic therapy: a review. *International Journal of Hyperthermia*, 31(2), 107-117.
- Çakıcı, M. Ç., Can, B., Kazan, Ö., Efiloğlu, Ö., Şendoğan, F., Uçar, T., . . . Yıldırım, A. (2022). Effects of androgen deprivation therapy on metabolic markers and bioelectrical impedance analyze in prostate cancer patients. *Revista Internacional de Andrología*.
- Çiçekdağı, F. (2013). *Ultrasonik Ses Dalgalarının Oluşturduğu Akustik Kavitasyonu Etkileyen Değişkenler Ve Kavitasyon Enerjisi Ölçümü*. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Darrow, D. P. (2019). Focused ultrasound for neuromodulation. *Neurotherapeutics*, 16(1), 88-99.
- De Santis, P., Sette, D., Wanderlingh, F. (1967). Cavitation detection: the use of the subharmonics. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 42(2), 514-516.
- Denmeade, S. R., Isaacs, J. T. (2002). A history of prostate cancer treatment. *Nature Reviews Cancer*, 2(5), 389-396.
- dos Santos, A. F., De Almeida, D. R. Q., Terra, L. F., Baptista, M. S., Labriola, L. (2019). Photodynamic therapy in cancer treatment-an update review. *Journal of cancer metastasis and treatment*, 5, 25.
- Fernandez, J. M., Bilgin, M. D., Grossweiner, L. I. (1997). Singlet oxygen generation by photodynamic agents. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 37(1-2), 131-140.

- Foglietta, F., Panzanelli, P., Serpe, L., Canaparo, R. (2022). Exploiting Shock Waves to Trigger the Anticancer Sonodynamic Activity of 5-Aminolevulinic Acid-Derived Protoporphyrin IX on In Vitro 2D and 3D Cancer Models. *Biomedicines*, 10(3), 615.
- Foo, J. B., Ng, L. S., Lim, J. H., Tan, P. X., Lor, Y. Z., Loo, J. S. E., . . . Leong, S. W. (2019). Induction of cell cycle arrest and apoptosis by copper complex Cu (SBCM) 2 towards oestrogen-receptor positive MCF-7 breast cancer cells. *RSC advances*, 9(32), 18359-18370.
- Franc, J.-P. (2007). The Rayleigh-Plesset equation: a simple and powerful tool to understand various aspects of cavitation *Fluid dynamics of cavitation and cavitating turbopumps* (pp. 1-41): Springer.
- Freitas, M., Alves, V., Sarmiento-Ribeiro, A. B., Mota-Pinto, A. (2011). Combined effect of sodium selenite and docetaxel on PC3 metastatic prostate cancer cell line. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 408(4), 713-719.
- Gandaglia, G., Leni, R., Bray, F., Fleshner, N., Freedland, S. J., Kibel, A., . . . La Vecchia, C. (2021). Epidemiology and prevention of prostate cancer. *European urology oncology*.
- Gaschler, M. M., Stockwell, B. R. (2017). Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 482(3), 419-425.
- Gong, Z., Dai, Z. (2021). Design and challenges of sonodynamic therapy system for cancer theranostics: from equipment to sensitizers. *Advanced Science*, 8(10), 2002178.
- Grela, E., Kozłowska, J., Grabowiecka, A. (2018). Current methodology of MTT assay in bacteria—A review. *Acta histochemica*, 120(4), 303-311.
- Grönberg, H. (2003). Prostate cancer epidemiology. *The Lancet*, 361(9360), 859-864.
- Gunaydin, G., Gedik, M. E., Ayan, S. (2021). Photodynamic therapy—Current limitations and novel approaches. *Frontiers in Chemistry*, 9, 400.
- Guo, J., Pan, X., Wang, C., Liu, H. (2021). Molecular Imaging-Guided Sonodynamic Therapy. *Bioconjugate Chemistry*.
- Güzel, E., Atmaca, G. k. Y. a., Kuznetsov, A. E., Turkkol, A., Bilgin, M. D., Erdoğan, A. (2022). Ultrasound versus Light: Exploring Photophysicochemical and Sonochemical Properties of Phthalocyanine-Based Therapeutics, Theoretical Study, and In Vitro Evaluations. *ACS Applied Bio Materials*, 5(3), 1139-1150.
- Hadi, M. M., Nesbitt, H., Masood, H., Sciscione, F., Patel, S., Ramesh, B. S., . . . McHale, A. P. (2021). Investigating the performance of a novel pH and cathepsin B sensitive, stimulus-responsive nanoparticle for optimised sonodynamic therapy in prostate cancer. *Journal of Controlled Release*, 329, 76-86.

- Harvey, E. N. (1939). Sonoluminescence and sonic chemiluminescence. *Journal of the American Chemical Society*, 61(9), 2392-2398.
- Hayashi, S., Oishi, F., Sato, K., Fukuda, H., Ando, S. (2022). Sexual dysfunction associated with prostate cancer treatment in Japanese men: a qualitative research. *Supportive Care in Cancer*, 1-13.
- He, Y., Xing, D., Tan, S., Tang, Y., Ueda, K.-i. (2002). In vivo sonoluminescence imaging with the assistance of FCLA. *Physics in Medicine & Biology*, 47(9), 1535.
- Hiraoka, W., Honda, H., Feril Jr, L. B., Kudo, N., Kondo, T. (2006). Comparison between sonodynamic effect and photodynamic effect with photosensitizers on free radical formation and cell killing. *Ultrasonics sonochemistry*, 13(6), 535-542.
- Honda, H., Kondo, T., Zhao, Q.-L., Feril Jr, L. B., Kitagawa, H. (2004). Role of intracellular calcium ions and reactive oxygen species in apoptosis induced by ultrasound. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 30(5), 683-692.
- Huang, D., Zhao, C., Wen, B., Fu, X., Shang, L., Kong, W., Zhao, Y. (2022). Oxygen-carrying microfluidic microcapsules for enhancing chemo-sonodynamic therapy on patient-derived tumor organoid models. *Chemical Engineering Journal*, 134871.
- Jain, R., Pradhan, R., Hejmady, S., Singhvi, G., Dubey, S. K. (2021). Fluorescence-based method for sensitive and rapid estimation of chlorin e6 in stealth liposomes for photodynamic therapy against cancer. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 244, 118823.
- Kim, D. K., Lee, H. S., Park, J.-Y., Kim, J. W., Hah, Y. S., Ha, J. S., . . . Cho, K. S. (2022). *Risk of cardiovascular intervention after androgen deprivation therapy in prostate cancer patients with a prior history of ischemic cardiovascular and cerebrovascular disease: A nationwide population-based cohort study*. Paper presented at the Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations.
- Kim, Y.-S., Rubio, V., Qi, J., Xia, R., Shi, Z.-Z., Peterson, L., . . . O'Neill, B. E. (2011). Cancer treatment using an optically inert Rose Bengal derivative combined with pulsed focused ultrasound. *Journal of Controlled Release*, 156(3), 315-322.
- Köken, E. C. (2020). Sono-kemoterapi Amaçlı Üretilen Mikrokabarcıkların Kanser Hücreleri İle Etkileşimi.
- Krefting, D., Mettin, R., Lauterborn, W. (2004). High-speed observation of acoustic cavitation erosion in multibubble systems. *Ultrasonics sonochemistry*, 11(3-4), 119-123.

- Lawrence, J. P. (2007). Physics and instrumentation of ultrasound. *Critical care medicine*, 35(8), S314-S322.
- Leong, T., Ashokkumar, M., Kentish, S. (2011). The fundamentals of power ultrasound-a review.
- Li, D., Yang, Y., Li, D., Pan, J., Chu, C., Liu, G. (2021). Organic Sonosensitizers for Sonodynamic Therapy: From Small Molecules and Nanoparticles toward Clinical Development. *Small*, 17(42), 2101976.
- Li, Q., Wang, X., Wang, P., Zhang, K., Wang, H., Feng, X., Liu, Q. (2014). Efficacy of chlorin e6-mediated sono-photodynamic therapy on 4T1 cells. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 29(1), 42-52.
- Li, W., Song, Y., Liang, X., Zhou, Y., Xu, M., Lu, Q., . . . Li, N. (2021). Mutual-reinforcing sonodynamic therapy against Rheumatoid Arthritis based on sparfloxacin sonosensitizer doped concave-cubic rhodium nanozyme. *Biomaterials*, 276, 121063.
- Li, X., Geng, X., Chen, Z., Yuan, Z. (2022). Recent advances in glioma microenvironment-response nanoplatfoms for phototherapy and sonotherapy. *Pharmacological Research*, 106218.
- Li, Y., Zhou, Q., Deng, Z., Pan, M., Liu, X., Wu, J., . . . Zheng, H. (2016). IR-780 dye as a sonosensitizer for sonodynamic therapy of breast tumor. *Scientific reports*, 6(1), 1-10.
- Li, Z.-H., Wang, F., Zhang, P., Xue, P., Zhu, S.-J. (2022). Diagnosis and guidance of treatment of breast cancer cutaneous metastases by multiple needle biopsy: A case report. *World Journal of Clinical Cases*, 10(1), 345.
- Lin, X., Song, J., Chen, X., Yang, H. (2020). Ultrasound-activated sensitizers and applications. *Angewandte Chemie International Edition*, 59(34), 14212-14233.
- Luo, J., Fang, Z., Smith, R. L., Qi, X. (2015). Fundamentals of acoustic cavitation in sonochemistry *Production of Biofuels and Chemicals with Ultrasound* (pp. 3-33): Springer.
- Maalouf, N. M., Chhabra, A., Zafereo, J., Query, R., Towler, D. A., Thakur, U. J., . . . Xac, M. (2022). Androgen Deprivation Therapy Differentially Impacts Bone and Muscle in the Short Term in Physically Active Men With Prostate Cancer. *JBMR plus*, 6(1), e10573.
- Macedo, R., Verhaagen, B., Rivas, D. F., Gardeniers, J. G., Van der Sluis, L., Wesselink, P., Versluis, M. (2014). Sonochemical and high-speed optical characterization of cavitation generated by an ultrasonically oscillating dental file in root canal models. *Ultrasonics sonochemistry*, 21(1), 324-335.

- Maloney, E., Hwang, J. H. (2015). Emerging HIFU applications in cancer therapy. *International Journal of Hyperthermia*, 31(3), 302-309.
- Mason, T., Lorimer, J., Bates, D., Zhao, Y. (1994). Dosimetry in sonochemistry: the use of aqueous terephthalate ion as a fluorescence monitor. *Ultrasonics sonochemistry*, 1(2), S91-S95.
- Matula, T. J., Roy, R. A., Mourad, P. D., McNamara III, W. B., Suslick, K. S. (1995). Comparison of multibubble and single-bubble sonoluminescence spectra. *Physical review letters*, 75(13), 2602.
- McHale, A. P., Callan, J. F., Nomikou, N., Fowley, C., Callan, B. (2016). Sonodynamic therapy: concept, mechanism and application to cancer treatment. *Therapeutic Ultrasound*, 429-450.
- Niculescu, A.-G., Grumezescu, A. M. (2021). Photodynamic therapy—an up-to-date review. *Applied Sciences*, 11(8), 3626.
- Nugent, T. S., Low, E. Z., Fahy, M. R., Donlon, N. E., McCormick, P. H., Mehigan, B. J., . . . Kelly, M. E. (2022). Prostate radiotherapy and the risk of secondary rectal cancer—a meta-analysis. *International journal of colorectal disease*, 1-11.
- Pang, X., Xu, C., Jiang, Y., Xiao, Q., Leung, A. W. (2016). Natural products in the discovery of novel sonosensitizers. *Pharmacology & Therapeutics*, 162, 144-151.
- Peters, D. (1996). Ultrasound in materials chemistry. *Journal of materials chemistry*, 6(10), 1605-1618.
- Powles, A. E., Martin, D. J., Wells, I. T., Goodwin, C. R. (2018). Physics of ultrasound. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 19(4), 202-205.
- Rengeng, L., Qianyu, Z., Yuehong, L., Zhongzhong, P., Libo, L. (2017). Sonodynamic therapy, a treatment developing from photodynamic therapy. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 19, 159-166.
- Rinaldi, P. C., Jones, J. P., Reines, F., Price, L. R. (1991). Modification by focused ultrasound pulses of electrically evoked responses from an in vitro hippocampal preparation. *Brain research*, 558(1), 36-42.
- Robinson, T. M. (2007). Basic principles of ultrasound *Physics for Medical Imaging Applications* (pp. 101-110): Springer.
- Rooze, J., Rebrov, E. V., Schouten, J. C., Keurentjes, J. T. (2013). Dissolved gas and ultrasonic cavitation—a review. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(1), 1-11.

- Sadanala, K. C., Chaturvedi, P. K., Seo, Y. M., Kim, J. M., Jo, Y. S., Lee, Y. K., Ahn, W. S. (2014). Sono-photodynamic combination therapy: a review on sensitizers. *Anticancer research*, 34(9), 4657-4664.
- Sharifi, N., Gulley, J. L., Dahut, W. L. (2005). Androgen deprivation therapy for prostate cancer. *Jama*, 294(2), 238-244.
- Snezhkina, A. V., Kudryavtseva, A. V., Kardymon, O. L., Savvateeva, M. V., Melnikova, N. V., Krasnov, G. S., Dmitriev, A. A. (2019). ROS generation and antioxidant defense systems in normal and malignant cells. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.
- Song, D., Xu, W., Luo, M., Zhang, M., Wen, H., Cheng, X., . . . Wang, Z. (2021). Influence of carbon nano-dots in water on sonoluminescence. *Nanoscale*, 13(33), 14130-14138.
- Su, X., Wang, P., Wang, X., Cao, B., Li, L., Liu, Q. (2013). Apoptosis of U937 cells induced by hematoporphyrin monomethyl ether-mediated sonodynamic action. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 28(3), 207-217.
- Sun, X., Xu, H., Shen, J., Guo, S., Shi, S., Dan, J., . . . Tian, Y. (2015). Real-time detection of intracellular reactive oxygen species and mitochondrial membrane potential in THP-1 macrophages during ultrasonic irradiation for optimal sonodynamic therapy. *Ultrasonics sonochemistry*, 22, 7-14.
- Suslick, K., McNamara, W., Didenko, Y. (1999). Hot spot conditions during multi-bubble cavitation *Sonochemistry and sonoluminescence* (pp. 191-204): Springer.
- Suslick, K. S., Doktycz, S., Flint, E. (1990). On the origin of sonoluminescence and sonochemistry. *Ultrasonics*, 28(5), 280-290.
- Tai, S., Sun, Y., Squires, J. M., Zhang, H., Oh, W. K., Liang, C. Z., Huang, J. (2011). PC3 is a cell line characteristic of prostatic small cell carcinoma. *The Prostate*, 71(15), 1668-1679.
- Tas, A., Cakmak, N. K., Gumus, E., Atabey, M., Silig, Y. (2019). Chemotherapeutic effects of doxorubicin loaded PEG coated TiO nanocarriers on breast cancer cell lines. *Annals of Medical Research*, 26(5), 0821-0826.
- Tsuru, H., Shibaguchi, H., Kuroki, M., Yamashita, Y., Kuroki, M. (2012). Tumor growth inhibition by sonodynamic therapy using a novel sonosensitizer. *Free Radical Biology and Medicine*, 53(3), 464-472.
- Tufail, Y., Matyushov, A., Baldwin, N., Tauchmann, M. L., Georges, J., Yoshihiro, A., . . . Tyler, W. J. (2010). Transcranial pulsed ultrasound stimulates intact brain circuits. *Neuron*, 66(5), 681-694.

- Vajnhandl, S., Le Marechal, A. M. (2005). Ultrasound in textile dyeing and the decolouration/mineralization of textile dyes. *Dyes and Pigments*, 65(2), 89-101.
- van Bokhoven, A., Varella-Garcia, M., Korch, C., Johannes, W. U., Smith, E. E., Miller, H. L., . . . Lucia, M. S. (2003). Molecular characterization of human prostate carcinoma cell lines. *The Prostate*, 57(3), 205-225.
- Verhaagen, B., Rivas, D. F. (2016). Measuring cavitation and its cleaning effect. *Ultrasonics sonochemistry*, 29, 619-628.
- Wang, P., Xu, C.-s., Xu, J., Wang, X., Leung, A. W. (2010). Hypocrellin B enhances ultrasound-induced cell death of nasopharyngeal carcinoma cells. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 36(2), 336-342.
- Wang, X., Wang, P., Zhang, K., Su, X., Hou, J., Liu, Q. (2013). Initiation of autophagy and apoptosis by sonodynamic therapy in murine leukemia L1210 cells. *Toxicology In Vitro*, 27(4), 1247-1259.
- Wang, X., Xia, X., Leung, A. W., Xiang, J., Jiang, Y., Wang, P., . . . Xu, C. (2011). Ultrasound induces cellular destruction of nasopharyngeal carcinoma cells in the presence of curcumin. *Ultrasonics*, 51(2), 165-170.
- Wang, X., Zhong, X., Gong, F., Chao, Y., Cheng, L. (2020). Newly developed strategies for improving sonodynamic therapy. *Materials Horizons*, 7(8), 2028-2046.
- Wu, N., Fan, C.-H., Yeh, C.-K. (2022). Ultrasound-activated nanomaterials for sonodynamic cancer theranostics. *Drug Discovery Today*.
- Wu, T. Y., Guo, N., Teh, C. Y., Hay, J. X. W. (2013). Theory and fundamentals of ultrasound *Advances in ultrasound technology for environmental remediation* (pp. 5-12): Springer.
- Xie, R., Xu, T., Zhu, J., Wei, X., Zhu, W., Li, L., . . . Bai, Y. (2017). The combination of glycolytic inhibitor 2-deoxyglucose and microbubbles increases the effect of 5-aminolevulinic acid-sonodynamic therapy in liver cancer cells. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 43(11), 2640-2650.
- Yang, Y., Tu, J., Yang, D., Raymond, J. L., Roy, R. A., Zhang, D. (2019). Photo-and sonodynamic therapy: a review of mechanisms and considerations for pharmacological agents used in therapy incorporating light and sound. *Current pharmaceutical design*, 25(4), 401-412.

- Yu, Z., Cao, W., Han, C., Wang, Z., Qiu, Y., Wang, J., . . . Liu, S. (2022). Biomimetic Metal-Organic Framework Nanoparticles for Synergistic Combining of SDT-Chemotherapy Induce Pyroptosis in Gastric Cancer. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, *10*.
- Yumita, N., Iwase, Y., Nishi, K., Ikeda, T., Komatsu, H., Fukai, T., . . . Umemura, S.-I. (2011). Sonodynamically-induced antitumor effect of mono-l-aspartyl chlorin e6 (NPe6). *Anticancer research*, *31*(2), 501-506.
- Yumita, N., Nishigaki, R., Sakata, I., Nakajima, S., Umemura, S. i. (2000). Sonodynamically induced antitumor effect of 4-formyloximethylidene-3-hydroxy-2-vinyl-deuterio-porphynyl (IX)-6, 7-diaspartic acid (ATX-S10). *Japanese journal of cancer research*, *91*(2), 255-260.
- Yusof, N. S. M., Anandan, S., Sivashanmugam, P., Flores, E. M., Ashokkumar, M. (2022). A correlation between cavitation bubble temperature, sonoluminescence and interfacial chemistry—A minireview. *Ultrasonics sonochemistry*, 105988.
- Zaorsky, N. G., Davis, B. J., Nguyen, P. L., Showalter, T. N., Hoskin, P. J., Yoshioka, Y., . . . Horwitz, E. M. (2017). The evolution of brachytherapy for prostate cancer. *Nature Reviews Urology*, *14*(7), 415-439.
- Zijlstra, A., Rivas, D. F., Gardeniers, H. J., Versluis, M., Lohse, D. (2015). Enhancing acoustic cavitation using artificial crevice bubbles. *Ultrasonics*, *56*, 512-523.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Ultrasonik Kavitasyonun PC3 Hücre Hattı için Klorin E6 Aracılı Sonodinamik Terapi ile İndüklenen Apoptozda Etkisinin Gösterilmesi” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Ayşegül TÜRKKOL

Öğrencinin Adı ve Soyadı

03 / 08 / 2022

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : TÜRKOL Ayşegül
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : NEVŞEHİR / 21.03.1996
Telefon : 0 531 856 26 20
E-posta : aysegulturkkol@gmail.com
Yabancı dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	Devam ediyor
Lisans	Erciyes Üniversitesi	2018

BURSLAR ve ÖDÜLLER

TÜBİTAK, Suda Çözünür Yeni Ftalosiyanınların Fotofiziksel ve Fotokimyasal Özellikleri İle Biyolojik ve Fotodinamik Etkinliklerinin İn Vitro İncelenmesi, 219Z084 nolu proje, bursiyer öğrenci(2020-2022)

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

Güzel, E., Atmaca, G. k. Y. a., Kuznetsov, A. E., Turkkol, A., Bilgin, M. D., Erdoğan, A. (2022). Ultrasound versus Light: Exploring Photophysicochemical and Sonochemical Properties of Phthalocyanine-Based Therapeutics, Theoretical Study, and In Vitro Evaluations. *ACS Applied Bio Materials*, 5(3), 1139-1150.

2. PROJELER

TÜBİTAK, Suda Çözünür Yeni Ftalosiyanınların Fotofiziksel ve Fotokimyasal Özellikleri İle Biyolojik ve Fotodinamik Etkinliklerinin İn Vitro İncelenmesi, 219Z084 nolu proje, bursiyer öğrenci(2020-2022)

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Sunulan Bildiriler

B) Ulusal Kongrelerde Sunulan Bildiriler

1.Türkkol A, Taştaban E, Şair A, Bilgen M, 0244 Sinir ve İskelet Kas Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi İçin Yazılım Destekli Platform Tasarımı,17. Ulusal Türk El ve Üst Ekstremitte Kongresi, 6. Ulusal El Rehabilitasyonu Kongresi 2020

2.Serin M, Türkkol A, Dost T, Kılıç MA, Pehlivan M, Silistreli EE, Bilgin MD, (S-37) Miyokardiyal Perfüzyonun Peltier Etkisi ile Termal Görüntülenmesi 2021