

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Biyofizik Anabilim Dalı**

# **SERVİKS KANSERİNİN SPEKTROSKOPİK BİR TEKNİK İLE EX-VİVO OLARAK SAPTANMASI**

**Tuba DENKÇEKEN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Antalya, 2009**

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Biyofizik Anabilim Dalı**

**SERVİKS KANSERİNİN SPEKTROSKOPİK BİR TEKNİK İLE  
EX-VİVO OLARAK SAPTANMASI**

**Tuba DENKÇEKEN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Murat CANPOLAT**

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir ( Proje No:2007.02.0122.011 )

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir.”

**Antalya, 2009**

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Biyofizik Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

25/06/2009

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Murat CANPOLAT**  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Biyofizik Anabilim Dalı

**Üye : Prof. Dr. Piraye YARGIÇOĞLU**  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Biyofizik Anabilim Dalı

**Üye : Doç. Dr. Elif PEŞTERELİ**  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Patoloji Anabilim Dalı

**Üye : Doç. Dr. Narin DERİN**  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Biyofizik Anabilim Dalı

**Üye : Doç. Dr. Tayyup ŞİMŞEK**  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

**ONAY:**

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ....../...../2009 tarih ve ..... /..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

**Prof.Dr. İsmail ÜSTÜNEL**  
**EnstitüMüdürü**

## ÖZET

Çalışmamızda servikste normal ve premalign dokuları ayırt etmek için Esnek Işık Saçılım Spektroskopisi (EISS) sistemi kullanıldı. Bu sistem bir spektrometre, tekli fiber optik prob ve dizüstü bilgisayardan oluşmaktadır. Tekli fiber optik prob dokuya değiştirilerek beyaz ışığı dokuya gönderip tekrar toplamaktadır. Çalışmada kullandığımız prob ile dokuda dağılan fotonlardan ziyade tek bir veya iki defa saçılan fotonlar toplamaktadır. Böylelikle, alınan spektrumlar hücrede meydana gelen morfolojik değişikliklerle ilişkilidir. Çalışmamızda normal ve premalign dokudan alınan spektrumların birbirinden farklı olduğu görüldü. Normal dokudan alınan spektrumun eğimi pozitifken, premalign dokudan alınan spektrumun eğimi negatif görüldü. Akdeniz Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına başvuran 70 hastadan alınan 105 adet dokunun epitelinde ex-vivo ölçümler yapıldı. Anormal pap-yayma sonucu olan 60 hastadan kolposkopik muayene sonucu biyopsi ile çıkarılan toplam 95 adet dokunun epitelinde EISS sistemi ile ex-vivo olarak ölçümler alındı ve alınan spektrumlar histopatolojik incelemeyle karşılaştırıldı. Kontrol grubu olarak histerektomi yapılan hastaların 10 normal serviks dokusundan EISS ile ölçümler alındı. Operasyondan sonra EISS sistemi ile her serviksin transformasyon zonundan en az 24 spektrum alındı. Histopatoloji sonuçlarıyla elde ettiğimiz spektrumları karşılaştırarak normal serviks dokusunun spektral eğimini pozitif, displastik serviks dokusunun spektral eğimini ise negatif bulduk. Böylelikle spektral eğimleri parametre olarak kullanarak normal ve displastik serviks dokularını ayırt ettik. Sistemimizin pap-yayma testi ile uyumluluk gösterdiğini bulduk. Çalışmamızın sonucunda kullandığımız EISS sistemi normal ve premalign dokuyu yüksek duyarlılık ve seçicilik ile ayırt edebilmektedir. EISS sisteminin servikal displaziyi erken tespit etmede in-vivo olarak kullanılma potansiyeli bulunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler** : Elastik Işık Saçılım Spektroskopisi, Servikal displazi, Optik yöntemlerle kanser tanısı

## ABSTRACT

We have used elastic light scattering spectroscopy (ELSS) to differentiate between normal and premalign cervix lesions. The system consists of a spectrometer, a single optical fiber probe and a laptop computer. The single optical fiber probe was used for both delivery and detection of white light to tissue and from the tissue. The single optical fiber probe received singly scattered photons rather than diffused photons in tissue. Therefore, the spectra are correlated with morphological differences of the cells. It has been shown that spectra of normal cervix are different than spectra of premalign cervix lesions. While slopes of the spectra taken on normal cervix tissues were positive, slopes of the spectra taken on premalign cervix lesions tissues were negative. Ex vivo experiments were conducted on 105 lesions from 70 patients applied to Department of Obstetrics and Gynecology Akdeniz University. Ex-vivo measurements with ELSS system were taken from 95 biopsy materials which were taken from colposcopically abnormal sites from 60 patients whose pap-smear results were abnormal and the spectra were compared to the histopathologically results. As a control group, we have chosen ten patients without cervical abnormality and undergone hysterectomy. Just after the operation ELSS experiments were performed on cervix by taking at least 24 spectra from transformation zone of each cervix. We have compared the spectra with results of the histopathological examination and found that sign of the spectral slopes is positive for normal cervix and negative for the dysplastic cervix tissues. Therefore we have used sign of the spectral slopes as a parameter to discriminate between normal and dysplastic cervix tissues. We have found that our system shows compatibility with pap-smear test. Our results show that ELSS system can differentiate normal and premalign tissue with a high sensitivity and specificity. Therefore ELSS system has potential be used as an in-vivo diagnostic tool for early detection of cervical dysplasia.

**Key words:** Elastic Light Scattering Spectroscopy, cervical dysplasia, cancer diagnosis with optical method

## TEŞEKKÜR

Eğitici ve öğretici olma konusundaki gayretlerini esirgemededen, alışmam boyunca bana destek olan, bu alışmayı yapmama olanak sağlayan ve çok önemli katkıları ile çalışmamda beni yönlendiren değerli hocam Doç.Dr. Murat CANPOLAT' a,

Her konuda destek olarak bana her aşamada yardımcı olan hocam Prof.Dr. Piraye YARGIÇOĞLU 'na,

Klinik olanakları ile bu çalışmanın gerçekleşmesini sağlayan Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D alışanları ile Doç.Dr. Tayyup şİMŞEK, Arş.Gör.Dr. Zelal SARUHAN ve Arş.Gör.Dr. Özgül YILDIRIM MAMAKLI'ya,

Patoloji A.D alışanları ile Prof.Dr. şeyda KARAVELİ, Doç.Dr. Elif PEŞTERELİ ve Yrd.Doç.Dr. Glgn Erdoğan' a,

İstatistiksel analizleri yapmamda bana yardımcı olan Yrd.Doç.Dr. Uğur BİLGE ve Arş.Gör. Deniz ÖZEL' e,

Sorularımla ilgilenip destek verdiği için Dr. Esra KUŐ' a,

Ve ğrenim hayatım boyunca desteğini, ilgisini ve fedakarlıklarını hep hissettiğim aileme,

sonsuz teşekkür ederim. Mayıs, 2009

Tuba DENKÇEKEN

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>vii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>	<b>ix</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>x</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	<b>xii</b>
<b>GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b>	<b>4</b>
2.1. Serviks Kanseri	4
2.1.1. Kanser	4
2.1.2. Serviks Anatomisi	7
2.1.3. Serviks Embriyolojisi ve Histolojisi	8
2.1.4. Serviks Patolojileri	10
2.1.4.1. Serviksin Selim Lezyonları	10
2.1.4.2. Serviksin Premalign Lezyonları	11
2.1.4.3. Serviksin Malign Lezyonları	13
2.2. Işık Doku Etkileşmesi	15
2.3. Biyolojik Ortamın Optiksel Özellikleri	16
2.3.1. Işığın doku içinde absorpsiyonu	16
2.3.2. Işığın Dokudan Saçılımı	17
2.3.2.1. Elastik (Esnek) Saçılım	18
2.3.2.2. İnelastik (Esnek olmayan) Saçılım	21
2.3.2.3. Saçılım Faz Fonksiyonu (SFF) ve Anizotropi Faktörü	23
2.4. Spektroskopi	25
2.5. Esnek Işık Saçılım Spektroskopisi (EISS)	25

<b>GEREÇLER VE YÖNTEMLER</b>	<b>27</b>
<b>3.1. Gruplandırma</b>	<b>27</b>
<b>3.2. Esnek Işık Saçılım Spektroskopisi (EISS) Donanımı</b>	<b>27</b>
<b>3.3. Deney Protokolü</b>	<b>28</b>
<b>3.4. Değerlendirme</b>	<b>30</b>
<b>BULGULAR</b>	<b>31</b>
<b>4.1. Grupların Karşılaştırılması</b>	<b>33</b>
<b>TARTIŞMA</b>	<b>41</b>
<b>SONUÇLAR</b>	<b>45</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>46</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>54</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>AUC</b>	:	Area Under Curve
<b>CCD</b>	:	Yüklenme İliştirilmiş Araç
<b>CIN</b>	:	Servikal İntraepitelyal Neoplazi
<b>CIS</b>	:	Carsinoma In Situ
<b>DNA</b>	:	Deoksiribo Nükleik Asit
<b>EISS</b>	:	Elastik Işık Saçılım Spektroskopisi
<b>Hb</b>	:	Deoksihemoglobin
<b>HbO<sub>2</sub></b>	:	Oksijene hemoglobin
<b>HPV</b>	:	Human Papilloma Virüs
<b>HSIL</b>	:	High Grade Squamöz İntraepitelyal Lezyon
<b>LOO</b>	:	Leave-One-Out
<b>LSIL</b>	:	Low Grade Squamöz İntraepitelyal Lezyon
<b>NIR</b>	:	Near İnfrared
<b>OKS</b>	:	Oral Kontraseptif
<b>ROC</b>	:	Receiver Operating Curve
<b>SCJ</b>	:	Squamo Columnar Junction
<b>SFF</b>	:	Saçılım Faz Fonksiyonu
<b>T- ZONE</b>	:	Transformasyon Bölgesi
<b>USB</b>	:	Evrensel seri yol
<b>WHO</b>	:	Dünya Sağlık Örgütü

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
2.1.a	Normal Hücre Bölünmesi	4
2.1.b	Kanserli Hücre Bölünmesi	4
2.2.	Kanserin Aşamaları	5
2.3.	Kanserin Başlangıcı	5
2.4.	Kanserin yayılımı	6
2.5.	Serviks Anatomisi	7
2.6.	Skuamo-kolumnar bileşke, transformasyon zonu	9
2.7.	CIN’de kullanılan sınıflandırmaların karşılaştırılması	13
2.8.	Elektromanyetik spektrum	16
2.9.	Dalga boyuna bağlı olarak insan dokusundaki bazı önemli kromoforların absorpsiyon spektrumları	17
2.10.	Dağınık parçacıklarda saçılım	18
2.11.	Organellerden saçılım	19
2.12.	Mie teorisinde saçılım katsayısının dalga boyuna göre değişimi	20
2.13.	Hücrenin moleküler yapısında bazı uzunluk ölçeklemeleri	20
2.14.	Diatomik moleküller için şematik moleküler enerji seviyeleri	21
2.15.	Elastik ve inelastik saçılım	22
2.16.	Ortalama serbest yol	23
2.17.	Işığın parçacığa çarptıktan sonra ( $\theta$ ) açısıyla sapması	23
2.18.	Farklı anisotropi değerlerine denk gelen saçılım olasılıkları	24
2.19.	Çalışmada kullandığımız spektrometrenin iç yapısı	26
3.1.	EISS Sistemi	28
3.2.	Su dolu siyah kaptan alınan EISS ölçümü	29
3.3.	Spektralondan alınan EISS ölçümü	29
3.4.	2 $\mu$ m çapındaki polistiren parçacıkların EISS spektrumu	30
4.1.	IGOR programında EISS verilerinin grafiklerin elde edilmesi	31
4.2.	Histerektomi yapılan hastaların normal serviks epitelinden alınan EISS spektrumları	32
4.3.	Anormal pap-yaymalı olan dokunun epitelinden alınan EISS Spektrumları	32
4.4.	Displastik dokudan alınan spektrumlar (LSIL)	33
4.5.	Grup1(normal) ile grup2 (LSIL+HSIL)’ nin displastik yüzde sonuçlarının karşılaştırılması ile elde edilen ROC eğrisi	35
4.6.	Grup1*(normal+ameliyat-normal) ile grup2 (LSIL+HSIL)’ nin displastik yüzde sonuçlarının karşılaştırılması ile elde edilen ROC eğrisi	36
4.7.	Grup1*(normal+ameliyat-normal) ile grup2 (LSIL+HSIL)’ nin 0.44 kesim değeri ile displastik yüzde değişimi	38

<b>4. 8.</b>	<b>Grupların displastik değişim yüzdelerinin box-whisker çizimi</b>	<b>38</b>
<b>4. 9.</b>	<b>Akut yangısal ataklı kronik servisit ve yassı epitel hücre metaplazisi</b>	<b>39</b>
<b>4.10.</b>	<b>Yassı epitel hücre metaplazisi</b>	<b>39</b>
<b>4.11.</b>	<b>HSIL ve CIS</b>	<b>40</b>

## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
<b>4.1.</b>	Grupların doku sayısına göre dağılımı	<b>34</b>
<b>4.2.</b>	Displastik yüzde değişimine göre ROC analizi ve Mann-Whitney U İstatistiksel Analiz Sonuçları	<b>37</b>
<b>4.3.</b>	Spektroskopik verilerin istatistiği	<b>37</b>

## GİRİŞ

Son yıllarda ışığı kullanarak kanser teşhisi konusunda yapılan çalışmalar önem kazanmıştır. Hastalıkların tanı ve tedavisinde optik yöntemlerin kullanılması ile hastaya acı vermeyen, müdahalede zaman kazandıran ve enfeksiyon riski yaratmayan yeni yöntemler geliştirilmektedir. Optik sistemler kullanılarak dokuya herhangi bir cerrahi müdahalede bulunulmadan doku hakkında morfolojik ve patolojik bilgi elde edilebilmektedir (1). Optik sistemlerin diğer radyolojik sistemlere göre daha güvenli, ucuz ve genelde taşınabilir olması nedeni ile bu konuda yapılan çalışmalar son yıllarda büyük artış göstermiştir (2).

Kanser günümüzde hızla artan, tanı ve tedavisinde çeşitli yöntemler denenilen bir hastalıktır. Serviks kanseri dünya genelinde kadınlarda meme kanserinden sonra en yaygın ikinci kanserdir. Jinekolojik kanserlerde ise birinci sıradadır. Dünya genelinde kanser ölümlerinde meme kanserinden sonra gelir (3). Yaklaşık olarak kanser ölümlerinin %85'i gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir ve bu ülkelerde kadınlarda kanserden ölüm nedenlerinin başında serviks kanseri gelmektedir (4). İnvaziv serviks kanseri kadın genital organ kanserleri içinde en çok görüleni olma özelliğini birçok ülkede uzun yıllar korumuştur. Ülkemizde, 1980 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) desteği ile yapılan bir toplantıda bildirilen toplam 7433 kadın genital kanser olgusu arasında serviks kanserinin 4013 olgu ile ilk sırada yer aldığı saptanmış ve daha sonra yapılan çalışmalar da bu bilgiyi doğrulamıştır. Günümüzde birçok gelişmiş ülkede bu sıralama değişmiş, serviks kanseri kadın genital kanserleri arasında görülme sıklığı bakımından ikinci hatta üçüncü sıraya düşmüştür (5). Bunun da başlıca nedeni servikal dokunun ulaşımındaki kolaylık ve bundan yararlanılarak tarama yöntemlerinin geliştirilmiş olmasıdır.

Kanserin tanısında hücre boyanması ile hücre çekirdeği ve stoplazma oranına aynı zamanda çekirdeğin görünüşüne bakılmaktadır. Geleneksel olarak servikal premalign lezyonlarının tanısında ilk aşamada servikal sitolojik araştırma kullanılmaktadır (6). Ancak araştırma yöntemine bağlı olarak %5 oranında yanlış pozitifliği ve %5-20 arasında yanlış negatifliği bulunmaktadır. Bu nedenle, hemen tanı imkanı olan, yanılma payı az, aynı zamanda kullanımı kolay ve ucuz olan bir sisteme gerek duyulmaktadır. Böyle bir sistemin premalign lezyonları tanınmasıyla servikal kanser mortalitesi düşecektir. İkinci aşamada kolposkopi ile serviks üzerinde patolojik değişimlerin olduğu bölgeler belirlenmekte ve biyopsi yapılmaktadır. Biyopsi ile alınan parçaya histopatolojik inceleme yapılmaktadır.

Işık doku ile etkileştiğinde hücre zarında, çekirdek zarında ve hücre içinde bulunan diğer organeller tarafından saçılır. Yaklaşık olarak büyüklüğü ışığın dalga boyu

mertebesinde olan parçacıklarda saçılan ışığın açığa bağlı olarak dağılımı ışığı saçan parçacıkların büyüklüğüne ve şekline, ışığın dalga boyuna, parçacıkların ışığı kırma indisine ve parçacıkların içinde bulunduğu ortamın ışığı kırma indisine bağlıdır. Malign ve premalign hücrelerde çekirdeğin daha büyük ve daha yoğun olması nedeniyle, kanserli dokuda geri saçılan ışığın açığa bağlı olarak dağılımı normal dokuda saçılan ışıktan farklı olmaktadır. Bu fark kullanılarak doku yüzeyindeki anormal hücreleri tespit etmek için çalışmalar yapılmaktadır. Tabii beklendiği gibi çekirdeğin büyümüş olması nedeniyle anormal doku için hesaplanan ortalama parçacık çapı daha büyük olmaktadır ve buda teşhis parametresi olarak kullanılmaktadır. Bu konudaki en fazla çalışma “Massachusetts Institute of Technology” de Feld ve grubu tarafından son sekiz yıl içinde yapılmıştır (7,8). Onlar ışığın polarizasyonunu kullanarak doku yüzeyinde geri yansıyan ışıktan difüzyona uğrayan bileşeni elimine etmekte ve sadece tek bir defa saçılmaya uğrayan fotonlardan gelen sinyali kullanarak ışığı saçan parçacıkların ortalama büyüklüklerini hesaplamaktadırlar. Bu tekniği “elastic light scattering spectroscopy, elastik ışık saçılma spektroskopisi (EISS)” olarak adlandırmaktadırlar. Bu konuda yapılan deneylerde EISS epitelyal dokulardaki preinvaziv neoplaziyi erken tespit etmek için (1,9) birçok araştırma grubu tarafından kullanılmaktadır. Ancak serviks epiteli üzerindeki araştırmalar son derece azdır ve devam etmektedir.

Spektroskopik teknikler ile kanser teşhisi için yapılan çalışmalarda temel olarak iki yöntem kullanılmıştır. Bunlardan ilki ışığın doku içinde difüzyonu, ikincisi ise hücre morfolojisindeki değişimin incelenmesidir (10). İncelenen dokuda eğer tümör varsa ışığın hemoglobin tarafından absorpsiyonu artmaktadır dolayısı ile spektrumun şekli değişmektedir. Bunun nedeni tümör bölgesinde oluşan yeni kılcal damarlar nedeni ile daha fazla kan bulunmasıdır. Absorpsiyon ile beraber ışık doku içinde saçılmaya da uğramaktadır. Ortalama olarak bir foton doku içinde 0.1 mm ilerledikten sonra saçılır. Dolayısı ile ışığın doku içindeki saçılması da spektrumun şeklini belirlemektedir. Feld ve grubunun yaptığı yayınlarda sonuçların doğruluk oranlarının çok yüksek çıkmasına rağmen geliştirdikleri sistem henüz pratikte kullanılmamaktadır. Bununla beraber son zamanlarda yaptıkları yayınlarda EISS tekniğini floresans tekniği ile beraber kullanmaya başladıkları görülmektedir (11). Bu da kullandıkları EISS tekniğinin beklendiği gibi çalışmadığı kanısını uyandırmaktadır. Feld ve grubu geri saçılan ışıktan difüzyona uğrayan bileşeni dokunun ışığı saçma ve absorblama katsayılarını kullanarak modellemekte ve tek bir defa saçılan fotonlardan ayırt etmektedir. Pratik uygulamada hasta dokusuna ait bu katsayıları hastadan doku almadan doğru olarak tahmin etmek mümkün değildir ve bu nedenle ortalama bir değer kullanılmaktadırlar. Bu katsayıların hastadan hastaya değişmesinden dolayı ölçüm sonuçları istenilen duyarlılıkta olmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı hastadan parça almadan, anında sonuç verebilen, hasta açısından güvenli olan, tarama amaçlı kullanılacak, kullanımı ucuz ve kolay olan spektroskopik bir teknik geliştirmek ve ex-vivo olarak test etmektir. Çalışmamızda dokunun optik özelliklerinin ölçümü için EISS yöntemi kullanılarak optik probu M. Canpolat tarafından tasarlanan sistem kullanılmıştır (12,13). Kullanılan prob ile tek bir optik lif üzerinden dokuya hem ışık gönderilmekte hem de dokudan geri saçılan ışık

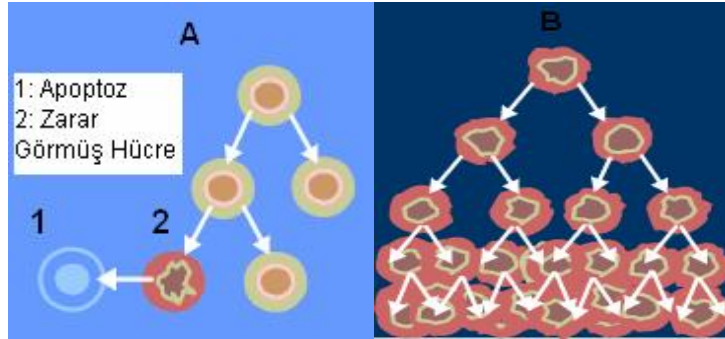
toplanmaktadır. Dokuya görünür ışık gönderilmiş, dokudan saçılan ışık tekrar toplanmış ve 450 ile 750 nm dalga boyu arasındaki saçılan ışığın spektroskopik verileri sınıflandırılmıştır. Geliştirilen sistem ile serviks epitelinde displastik değişime uğramış hücreler bulunduran dokuyu normal dokudan ayırt etmek için dokular üzerinde ex-vivo deneyler yapılmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### 2.1. Serviks Kanseri

#### 2.1.1. Kanser

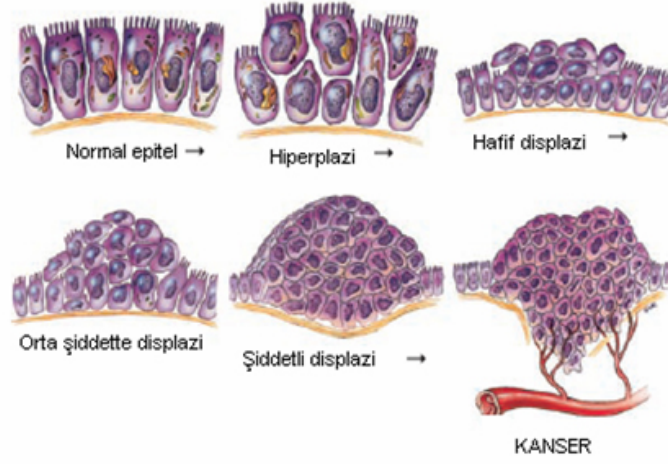
Hücre, tüm yaşayan organizmalar için yapısal, işlevsel bir birimdir ve yaşamın temel yapıtaşı olarak düşünülebilir. Hücreler normalde belli bir kontrol altında, ihtiyaca göre bölünerek çoğalırlar. Hücreler bir taraftan programlı ölüm (apoptoz) denen olay ile yok olurken, diğer taraftan da büyüme faktörlerinin etkisiyle çoğalır. Büyüme faktörleri normalde DNA'daki çeşitli genlerin (onkojen) etkisiyle oluşan proteinlerdir. Şekil 2.1'de görüldüğü gibi bu genler değişime uğradığında hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalmalarına sebep olurlar. Çoğalıp büyüyen bu hücrelerin oluşturduğu yapılara tümör denir. Tümörler, iyi huylu (benign-selim) ve kötü huylu (malign-habis) tümörler olarak iki gruba ayrılır (14). Kanser, bazı etkilerle değişime uğramış hücrelerin, gerek yerel ve gerek uzak noktalarda kontrolsüz olarak çoğalıp büyümelerinin sonucu oluşan habis hastalıklar grubudur (15). Başka bir deyişle, vücutta meydana gelen kötü huylu tümörlere kanser denir.



Şekil 2.1. a-Normal hücre bölünmesi, b-Kanserli hücre bölünmesi

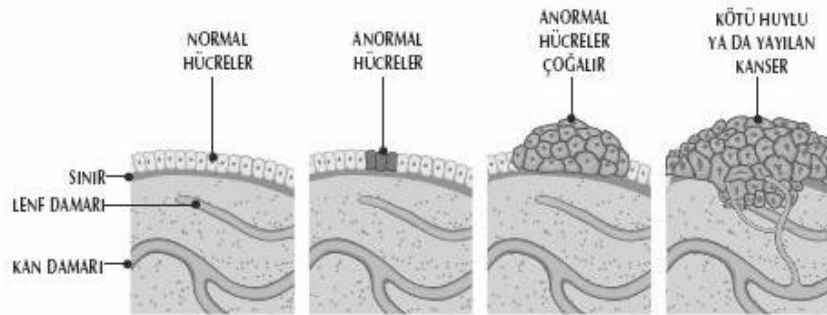
Şekil 2.2'de görüldüğü gibi kanserli dokulara bakıldığında normal dokulardan farklı özelliklere sahip olduğu görülür. Kanserli dokulardaki bu farklılıklar, hücrelerin sayıca normalden fazla olması, çekirdeğin şekli ve boyutunun farklılığı, hücre yapısının normal dağılım ve dizilimini kaybetmesi olarak sıralanabilir. İmmünohistokimya ve diğer moleküler yöntemler kullanılarak, tümör hücreleri belirteçler ile tanımlanır ve kanserli dokular normal dokulardan ayırt edilebilmektedir.



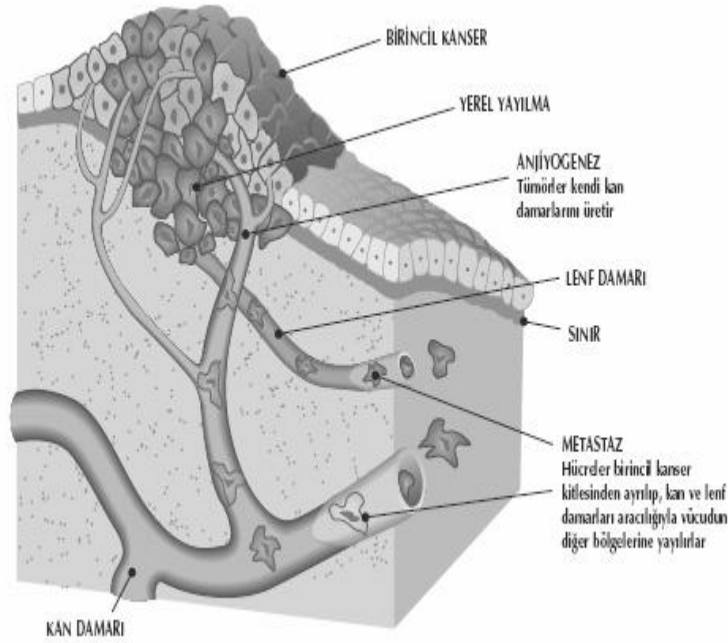


Şekil 2.2. Kanserin aşamaları

Biyopsi materyalinin mikroskopik incelemesinde, malignite ile hiperplazi birbirinden ayırt edilebilir. Hiperplazi, hücrenin gereğinden fazla sayıda bölünmesinden dolayı dokunun hücre sayısını artırarak büyümesidir. Bu aşamada, dokudaki hücre sayısı artar ancak hücrelerin dokudaki dizilimi normal dokudaki ile aynı kalır. Hiperplazi, geri dönüşümü olan bir aşamadır (16). Kanser hastalığına giden süreçlerden bir diğeri displazidir. Displazi, normal dokuların sahip olduğu hücre yapısı ve diziliminin kaybedildiği ve hücrelerin aşırı şekilde bölünerek çoğaldığı bir aşamadır. Displastik değişiklikler gösteren serviks tedavi ile eski sağlıklı haline dönebilir ancak nadiren de olsa bu dönüşüm gerçekleşmez ve malign tümörler oluşur. Kanserde ise kontrolsüz şekilde bölünen hücreler büyüyüp çoğalırlar. Kanser hücreleri şekil 2.3’de görüldüğü gibi ya etraftaki dokuları istila ederek ya da lenf veya kan akışı ile vücudun diğer taraflarına yayılırlar. Buna metastaz denir ve şekil 2.4’deki gibi yayılım göstermektedir (16).



Şekil 2.3. Kanserin Başlangıcı



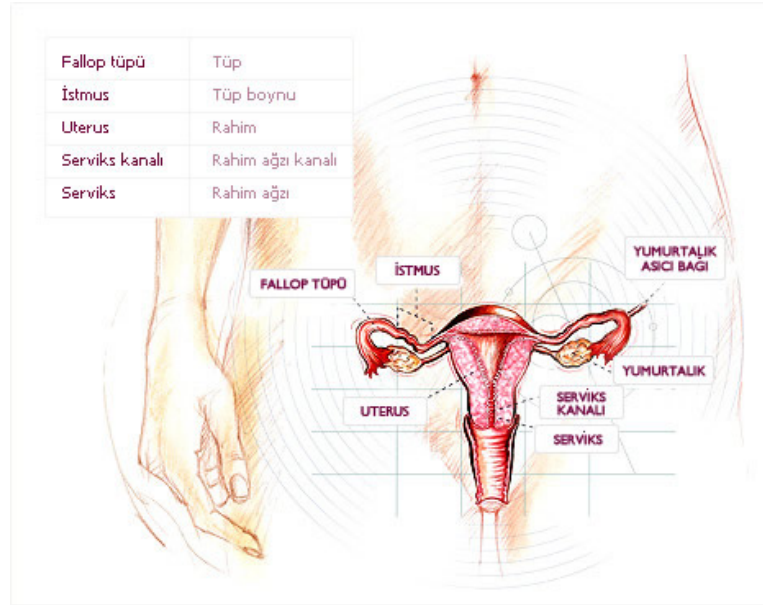
Şekil 2.4. Kanserin yayılımı

Kanserin sebepleri eksojen ve endojen olmak üzere ikiye ayrılabilir. Kimyasal maddeler, radyasyon, virüsler gibi eksojen nedenler ile hormonal, bağışıklık bozuklukları, kalıtsal mutasyonlar ve diğer genetik nedenler gibi endojen nedenler, birlikte veya ardışık olarak hücreleri etkileyerek uzun yıllar içinde kansere yol açabilirler. Serviks kanseri kadın genital kanserleri arasında tarama programı olan ve bu nedenle teorik olarak önlenabilir bir kanser olmasına rağmen özellikle gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerde önemli bir ölüm nedenidir (17,18). Serviksın eksternal bir genital organ olması özellikle karsinogenezi hakkında önemli bilgiler edinilebilmesini sağlamıştır. Karsinojenik sürecin uzun olması, preinvaziv bir evresinin olması, bu dönemde hastaların yakalanabilmesi ve etkin olarak tedavi edilebilmesi bu hastalığa özgü önemli bir karakteristik olup tarama, erken tanı ve tedaviye imkan vermektedir. Serviks kanseri risk faktörleri arasında ilk ilişki yaşının küçük olması, seksüel partner sayısı, yüksek parite, ırk, düşük sosyoekonomik düzey ve sigara içimi önemli bir yer tutmaktadır (19-21) Özellikle paritenin önemi yaklaşık 150 yıldır bilinmekte olup cinsel temas ve buna bağlı faktörler araştırmacıların dikkatini çekmiştir (22,23). Bu nedenle birçok cinsel yolla bulaşan hastalık ve virüsler araştırılmıştır. 1970’li yıllarla beraber Human Papilloma Virüs (HPV) üzerinde çalışmalar başlamış ve pozitif bulgularla beraber günümüzde önemli bir bilgi birikimi elde edilmiştir. Bugün serviks kanseri gelişimi için HPV’nin mutlaka var olması gerektiği, diğer risk faktörlerinin ya virüsle

karşılaşma oranlarını arttırdığı ya da karsinojenik süreci hızlandığı için önemli olduğu üzerinde durulmaktadır (24,25).

### 2.1.2. Serviks Anatomisi

Şekil 2.5'te gösterildiği gibi serviks uterusun dar, silindirik bir segmentidir. Vajene ön vajinal duvardan geçerek girer ve sıklıkla vajene dik olarak yerleşmiştir. Normal kadında 2-4 cm uzunluğunda olup uterus korpusunun iç tarafı ile devamlılık gösterir. Uterus ve serviks birleşim noktası isthmus olarak bilinir. Bu alanda lümen hafif daralmıştır. Önde serviks mesaneden yağ dokusu ile ayrılmıştır. Serviksin alt intravajinal kısmı, vajen kubbesine doğru uzanan serbest bir segment olup müköz membranla döşelidir. Serviks vajinal kaviteye external os aracılığı ile açılır. Servikal kanal anatomik external ostan internal oşa uzanarak uterus kavitesine bağlanır (26).



Şekil 2.5. Serviks Anatomisi

Histolojik internal os, endoservikal bezlerden endometrial bezlere değişimin olduğu yerdir. Servikal lenfatik drenaj primer ve sekonder grup lenf bezleri ile olur. Lenfatik drenajın bu özelliği serviks kanserinin yayılmasında ve tedavisinde önemlidir (27).

### 2.1.3. Serviks Embriyolojisi ve Histolojisi

Kadında genital kanal, başlıca iki embriyolojik oluşumdan kaynaklanır (28);

- Çölemik mezodermden kaynaklanan Müller Kanalları (Paramezonefrik kanal)
- Ürogenital Sinüs

Müller kanalları orta hatta birleşerek uterovajinal taslağı meydana getirirler. Tuba, uterus ve vagina 1/3 üst kısmı bu taslaktan gelişmiştir. Serviks epiteli, uterovajinal taslağın alt kısmından oluşmuştur. Serviksin intravajinal kısmı (portio vajinalis, ektoserviks) çok katlı skuamöz epitelle döşeli olup temelde vajen epiteli ile özdeştir. Portio vajinalisin çok katlı skuamöz epiteli, geleneksel olarak bazal, parabazal, intermediate ve süperfisiyal olarak adlandırılan çeşitli katlardan oluşmuştur. Bazal kat tek sıralı küçük veya alçak silindirik, iri çekirdekli hücrelerden oluşup ince bir bazal membran üzerine oturur ve aktif mitozun olduğu kat burasıdır. İri çekirdekli polihedral hücrelerden oluşan çok sıralı parabazal hücre tabakası ve stoplazmaları glikojenden zengin, vakuolizasyon içeren, yassılaşılmaya başlamış hücre sıralarından oluşan intermediate katlar birlikte delikli hücre katını oluştururlar ki; bu epidermis ile aynı katmandadır. Yassılaştırmış, bol stoplazmalı, küçük piknotik çekirdekli, keratinizasyon gösteren hücrelerden oluşmuş süperfisiyal hücre tabakasının kalınlığı östrojen stimülasyonunun derecesine bağlı olarak değişir (29,30).

Endoservikal mukoza dallanan katmanlar şeklinde düzenlenmiş olup silindirik epitelle döşelidir. Tek sıralı olarak endoserviksi döşeyen bu epitelin ince, uzun, uniform yapıdaki hücreleri hem apokrin hem de merokrin sekresyonu yaparlar (31). Silindirik hücreler arasında yer yer salgı yapmayan titretilmiş (silyalı) hücreler görülür. Bunların başlıca görevi endoservikal mukusun yayılması ve mobilizasyonu olarak gözükmektedir. Endoservikal yüzey epiteli ile döşeli olan yarıklar metaplastik olay ile tıkanıp, kör tüneller oluşturabilirler. Lokalize mukus birikimi ile epitelyal kistik bir yapı ortaya çıkar. Bu yapıya "Naboth Folikülü" denir (31). Serviksin stroması çok katlı kas lifleri ve elastik doku olan bağ dokusundan oluşur.

### Skuamo-Kolumnar Bileşke (SCJ)

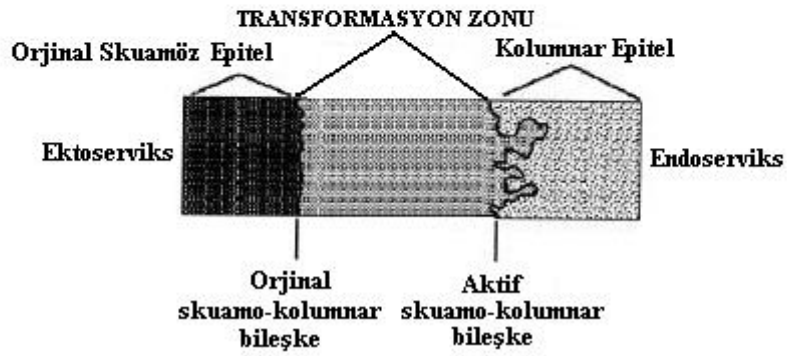
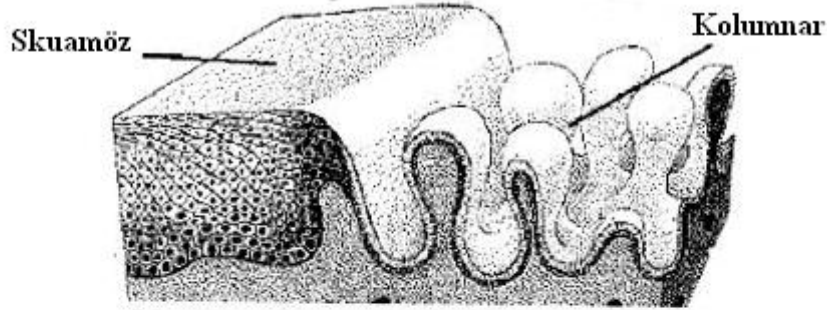
Endoservikse ait silindirik epitelin bitip ektoserviksin çok katlı yassı epitelinin başladığı yerdir. Genellikle neoplastik değişiklikler skuamokolumnar bileşkeden (junction) başlar. Serviks kanseri gelişmesinde serviks epitelinde birbiri ardısıra gelen değişiklikler olur, bu da serviks kanserinin erken tanısında önem taşır (31).

Bu değişiklikler:

Normal endoservikal kolumnar epitel ---> Skuamöz metaplazi ---> Hafif-orta-ağır displazi ---> Karsinoma in situ ---> Mikroinvaziv karsinom ---> Belirgin invaziv karsinom biçimindedir.

Dolayısıyla birinci durumda keskin bir sınır söz konusuysen, ikinci durumda silindirik epitel ile yassı epitel arasında metaplastik değişime uğramış bir geçiş alanı

ayırdelebilir. Bu metaplastik değişikliklerin gerekleştėđi geçiş alanı Transformasyon Bölgesi (T-ZONE) olarak adlandırılır. Bu bölge şekil 2.6’da gösterildiği gibi orijinal yassı-silindirik epitel sınırı ile metaplazi tamamlandıktan sonra ortaya çıkan yeni yassı-silindirik epitel sınırı arasında kalan alan şeklinde tarif edilir (32).



Şekil 2.6. Skuamo-kolumnar bileşke, transformasyon zonu

Bu bölge mitotik aktivitesi çok fazla olduğu için mutajenik ve karsinojenik etkilere çok hassastır (32). Serviksin premalign ve malign yassı epitel lezyonlarının %80-85’i T-ZONE denilen yerden köken alır. T-ZONE silindirik epitelden yassı epitele geçişin olduğu yerdir ve metaplastik epitelin varlığı ile karakteristiktir. Silindirik epitelden yassı epitele geçiş olayına skuamöz metaplazi denir ve genellikle silindirik epitel vajen asidik ortama maruz kaldığında ortaya çıkar.

## **Servikal Metaplazinin Tanımı ve Önemi**

Metaplazi teriminin karşılığı, patoloji sözlüğünde "bir tip matür dokunun yerini, eşit derecede matür diğer bir tip dokunun alması" şeklinde geçer. Metaplaziyi başlatan olayların temelinde endoserviks epitelinin eversiyonu yatar. Burada söz konusu olan olay hormonal veya çeşitli fiziki etkenlerle normalde endoservikal kanalda yer alması gereken silindirik epitelin ektoservikste bulunması ve yassı-silindirik epitel sınırının dışa kaymasıdır. Sözü edilen olayın başlıca özelliği makroskopik olarak çıplak gözle ektoservikse bakıldığında dış orifisin etrafını çevreleyen kırmızı bir plak halinde gözükmesidir. Bu kırmızı görünümün nedeni ektoserviks epiteline göre çok daha ince ve şeffaf olan tek sıralı endoservikal epitelle döşeli bir bölge olması ve epitelin hemen altında damardan oldukça zengin serviks stromasının bulunmasıdır. Bu, normal bir fizyolojik bulgudur ve patolojik bir sapma olarak ele alınmamaktadır (32). Uterus serviksinde metaplaziden söz edildiği zaman ise yassı epitel metaplazisi yani silindirik müsinoz epitelin yerini çok katlı yassı epitelin alması anlaşılır. Bu olay fiziksel, kimyasal veya inflamatuvar olayların yol açtığı bir kronik irritasyona veya hormonal fonksiyon değişmelerine bağlı olarak ortaya çıkan iyi huylu bir reaksiyondur (32).

### **2.1.4. Serviks Patolojileri**

#### **2.1.4.1. Serviksin Selim Lezyonları**

##### **Servikal Enfeksiyonlar**

Akut ve kronik servikal enfeksiyonlar erişkin yaştaki kadınların %50'den daha fazlasını etkileyen en yaygın jinekolojik hastalıktır (33). Akut servisit, gonokoklar, çeşitli piyojenik organizmalar, bir çok aerob ve anaerob organizmalar tarafından oluşur. Son yıllarda klamidya enfeksiyonu üzerinde de önemle durulmaktadır. Histolojik olarak stromada yaygın ödem, lökosit infiltrasyonu ve sıklıkla odaklar halinde mukoza kayıpları görülür (34). Kronik servisit genellikle bir histolojik tanı olup, hemen bütün multiparlarda ve birçok nulliparda görülür. Servikal enfeksiyonlar T-ZONE'da sık görülür ve tanısında pürülan, kokulu akıntı, kırmızı ödemli serviks, kanama, servikal yayma bulguları ve kolposkopi önemlidir.

##### **Servikal Polipler ve Kistler**

Endoservikal polipler serviksin en sık rastlanan tümoral gelişmeleridir. Gerçek neoplazm değildir. Kronik inflamasyon sonucu olması muhtemeldir. Mikroskopik olarak; ödem, inflamasyon, dilate endoservikal glandlar ve fibrozis vardır. Malignite riski yoktur. Servikal kistlerden en sık görüleni Naboth Kistleridir. Bu kistler, servikal kripta ağızlarının travma, fibrozis ve dökülmüş bir epitel kümesi ile tıkanmasıyla ortaya çıkan küçük retansiyon kistleridir. İnflamasyona bağlı endoservikal glandların blokajı sonucu gelişir. Kistik dilate mukoid materyalle dolu alanlar vardır. Mikroskopik olarak yassılaştırmış epitelle döşeli kistik dilate glandlar vardır. Malign olaylarla ilgisi yoktur. Multiparlarda çoğunda görülür. Silindirik epitelle döşeli olup, mukus içerirler (34).

## **Servikal Papillomlar**

Serviksin portio vajinalisinde bulunan lezyonlar olup, iki tipi vardır. Bunlardan birincisi, tipik olarak ektoservikte skuamöz epitelle çevrili olan gerçek bir neoplazmdir ve nedeni bilinmez. Papillomların ikinci tipi ise, ektoservikte hafifçe yükseklik yapan "kondilomata akuminata" olup, etyolojisinde HPV rol oynar ve insidansı %1-2'dir. Papillomların tanısı, rutin pelvik muayene, servikal yayma, kolposkopi ve en önemlisi virüsün izolasyonu ile konur. Servikal yaymada büyük ve hiperkromatik çekirdeğe sahip skuamöz hücrelerin çevresinde parlak bir halkanın bulunması HPV enfeksiyonu için tipiktir. Bu tipik hücrelere "Koilosit" adı verilir. Servikte kondiloma aküminata bulunması serviksin skuamöz hücreli kanser riskini önemli ölçüde artırır (33-35).

### **2.1.4.2. Serviksin Premalign Lezyonları**

#### **Servikal İntraepitelyal Neoplazi (CIN) Terminolojisi**

İnvaziv kansere progresyon gösterecek lezyonları belirlemek için "displazi" terimi kullanılmaktadır. İnvaziv kansere dönüşme potansiyeli olmayan lezyonlar; bazal hücre hiperplazisi, rezerv hücre hiperplazisi, immatür skuamöz metaplazi ve matür skuamöz metaplazi gibi benign fizyolojik durumlardan oluşur. Malign potansiyel taşıyan grupta displazi ve karsinoma in situ (CIS) yer alır.

Displazi hafif, orta ve ağır derecede sınıflandırılır. 1968 yılında Barron ve Richart tarafından displazi sınıflaması modifiye edilerek, invaziv karsinom ile ilişkili lezyonların hepsi "Servikal İntraepitelyal Neoplazi" (CIN) olarak tek ortak kategoriye alınmıştır (36). Servikal İntraepitelyal Neoplazi serviksin epitelyal değişiklikleri için kullanılan bir terimdir. Serviksin çok katlı yassı epiteli 25-30 kat hücreden oluşur ve tabakalar düzgün sıralanırlar. Tabakalanma düzeninde anormalliklerle hücresel düzeyde patolojik değişiklikler olursa CIN'den bahsedilir.

Servikal İntraepitelyal Neoplazi tanısı için histolojik kriterler:

- 1- Nükleer anoplidi
- 2- Anormal mitotik şekiller
- 3 -Epitelde normal maturasyon kaybıdır.

Epitelin tüm katlarında yoğun olarak atipik hücrelerin saptandığı ve hücre polaritesinin tümü ile kayıp olduğu durumlarda insitu kanser veya intraepitelyal kanser terimi kullanılır. Bunlarda bazal membran sağlamdır (37). Servikal İntraepitelyal Neoplazi hafif displazi olarak klasifiye edilen iyi diferansiye bir neoplaziden başlayıp, invaziv karsinomla sonlanan intraepitelyal değişikliklerin bir spektrumudur. Dünya sağlık örgütü, displaziyi "epitelin kalınlığının değişen oranlarında, atipi gösteren hücrelerle yer değiştirdiği bir lezyon " olarak tanımlar.

Yapılan moleküler çalışmalarda, displastik hücrelerin CIS'deki hücrelerle gerçekte aynı yapıda olduğu ve benzer derecede kromozomal anormallikler gösterdiği

belirtilmiştir. Yaklaşık CIS olgularının %50 oranında invaziv karsinoma progresyon gösterdiği ve %25 displazi vakasının sonuçta invaziv karsinoma dönüştüğü belirtilmiştir. Dolayısıyla displazi zararsız görülüp bırakılmamalıdır. Displazik lezyonlar CIS'e dönüşmeden de invaziv karsinom geliştirebilmektedir (25,38).

### **CIN Histolojisi**

Servikal İntraepitelyal Neoplazi lezyonlarında dereceleme neoplastik hücrelerle yer değiştiren epitelin oranına ve sellüler atipi derecesine göre yapılır ve şekil 2.7'deki gibi gösterilmektedir. Grade'leme progresyon riski ile sıklıkla ilişkilidir (39).

Servikal İntraepitelyal Neoplaziyi değerlendirmede önemli olan histolojik özellikler şunlardır:

#### **1 - Diferansiasyon (Matürasyon, Stratifikasyon)**

**a-** Varlığı veya yokluğu

**b-** Diferansiasyon gösteren epitelin oranı

#### **2- Nükleer anormallikler**

**a-** Nükleus stoplazma oranı

**b-** Hiperkromazi

**c-** Nükleer pleomorfizm ve anizokaryozis

#### **3- Mitotik aktivite**

**a-** Mitoz sayısı

**b-** Epiteldeki seviyesi

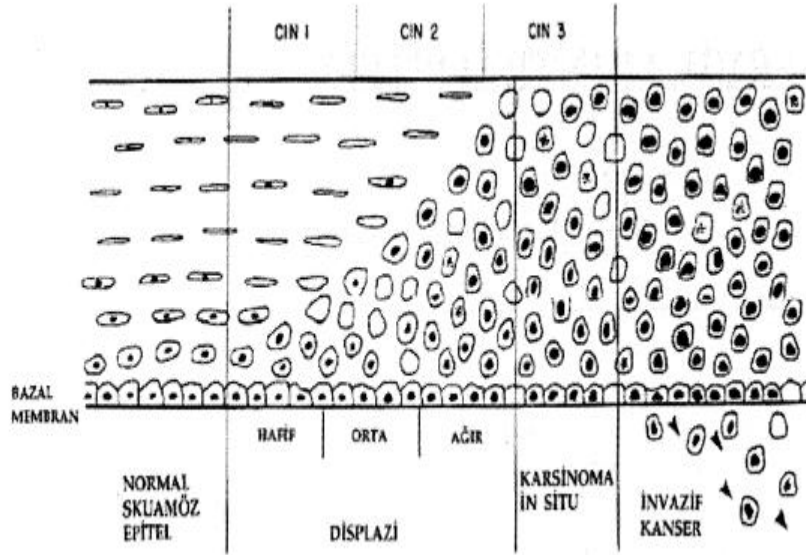
**c-** Anormal konfigürasyon

**CIN I:** Low Grade Squamöz İntraepitelyal Lezyon (LSIL): Hafif displazidir. Hafif nükleer atipi olabilmesine rağmen çok katlı yassı epitelin üst 2/3'lük kısmının hücreleri normal matürasyon gösterir. Bazal 1/3'lük kısımda ise nükleer anormallikler daha belirgin olup hafif derecededir. Mitoz bulunur fakat çok sayıda değildir. Epitelin 1/3 alt kısmında hücre dizilişi yapı ve bozukluğu vardır. Anormal mitoz yapıları nadirdir.

**CIN II:** High Grade Squamöz İntraepitelyal Lezyon (HSIL): Orta displazidir ve epitelin 2/3 kısmında hücre dizilişi ve yapı bozukluğu vardır. Nükleer atipi yüzeye kadar izlenebilmesine rağmen epitelin üst yarısı matürdür. Nükleer anormallikler CIN I den daha belirgindir. Mitozlar bazal 2/3'te mevcuttur ve anormal formları görülebilir.

**CIN III:** High Grade Squamöz İntraepitelyal Lezyon (HSIL): Servikal İntraepitelyal Neoplazi II'deki gibi ileri dereceli intraepitelyal lezyondur fakat displazi daha yoğunur ve CIS'e eşdeğer kabul edilmektedir. Epitelin tam katında hücre dizilişi ve yapı bozukluğu vardır. Matürasyon yoktur veya sadece üst 1/3'te sınırlıdır. Nükleer anormallikler epitelin tamamına yakınında izlenir. Mitozlar çok sayıdadır ve epitelin tüm tabakalarında mitozlar sıktır.





Şekil 2.7. CIN’de kullanılan sınıflandırmaların karşılaştırılması

### 2.1.4.3. Serviksin Malign Lezyonları

#### İnvaziv Serviks Kanseri

İnvaziv serviks kanseri, uzun preinvaziv dönemi, servikal sitoloji tarama programlarının varlığı ve preinvaziv lezyonların etkin tedavisinin mümkün olması nedeniyle önlenabilir bir kanser olarak kabul edilir (39). Serviks kanseri görülme yaşı genel olarak 20-80 yaş gibi geniş bir yelpazeye yayılır. En sık 50-59 yaşları arasında görülmektedir. Ülkemiz koşullarında invaziv serviks kanserlerinin %65’i 40-60 yaş grubunda görülmektedir.

Erken serviks kanserinin olası ilk semptomu, sıklıkla hasta tarafından farkına varılmayan ince, su gibi, kanla bulaşık vaginal akıntıdır. Klasik semptomu, en sık rastlanan belirti olmamasına rağmen ara ara olan, ağrısız metroraji veya postkoital lekelenmelerdir. Geç semptomlar veya daha fazla ilerlemiş hastalık belirtileri, sekonder olarak üreterler, pelvik duvar veya siyatik sinirlerin tutulumuna bağlı yana veya bacağına vuran ağrı gelişmesidir. Hastaların çoğu, dizüri, hematüri, rektal kanama veya konstipasyondan şikayetçidir.

## **Servikal Displazi ve Kanserdeki Risk Faktörleri**

- HPV
- Erken yaşta koitus
- Erken yaşta gebelik
- Artmış parite
- Çok sayıda seksüel partner
- İnfeksiyöz partner
- Sigara
- Düşük sosyoekonomik düzey
- Oral kontraseptif (OKS)

1970'li yılların ortalarında Zur Hausen HPV'nin genital sistem neoplazilerinde rolü olduğunu ileri sürmüştür (40). HPV, sebep olduğu uzun süredir bilinen tipik karnabahar görünümlü kondilomların yanı sıra, servikal neoplazinin öncüsü olduğu düşünülen ve kolposkopide saptanabilen düz beyaz lezyonlara da sebep olur (41). Günümüze dek 70'ten fazla HPV tipi bulunmuştur. HPV'nin 6., 11., 42., 43. ve 44. tipleri nadiren maligniteye ilerleyen kondülom gibi benign lezyonlarla ilişkili olup düşük riskli tipler olarak değerlendirilirler. HPV'nin 16., 18., 31., 33., 35., 39., 45., 51., 52., 56. ve 58. tipleri ise intraepitelyal ve invaziv kanserlerde saptanmış olup yüksek riskli tipler olarak tanımlanırlar. Servikal kanserlerin %85' ten fazlası yüksek riskli HPV sekanslarını içermektedir. HPV 6. ve 11. genital kondülom ve hafif CIN olgularıyla ilişkiliyken, HPV 16. ve 18. servikal kanser ve ciddi CIN olgularıyla ilişkilidir. HPV'nin malign ve selim tipleri arasındaki bu ayrım sonucunda servikal neoplazisi olmayan bir hastada malign tiplerin (özellikle 16. ve 18.) saptanması hastayı yüksek risk grubuna sokar. Eğer bu tipler hafif CIN olgusunda mevcutsa bu olgunun ciddi CIN ve hatta invaziv kansere ilerleme riski artmaktadır (24,25).

Bir kadının seksüel aktivitesi onun CIN riskini etkileyebilir. Gittikçe artan veriler göstermektedir ki bir kadın erken ilişki ve çok sayıda partner şartlarına uymasa da partneri tarafından artmış risk grubuna dahil edilebilir (42).

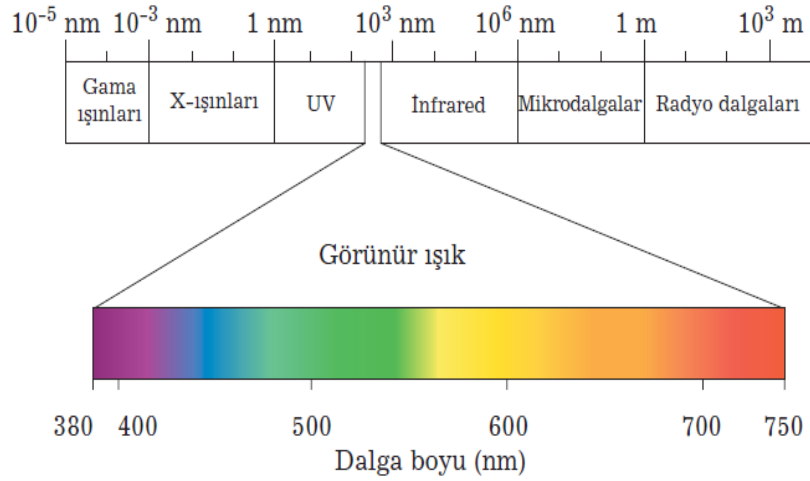
Sigara içimi, serviks kanseri için yüksek bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir ve bu gözlem diğer sigarayla ilişkili kanserlerin dağılımıyla koreledir. Sigara içenlerde preinvaziv ve invaziv hastalık riski artmıştır, özellikle şu anda sigara kullanan, uzun süredir sigara kullanan, yoğun sigara içen ve filtresiz sigara içenlerde bu risk fazladır. Seksüel faktörler sabit tutulsa bile sigara içimi bağımsız bir risk faktörüdür. Bir vaka kontrol çalışmasına göre HSIL riski, sigara paketi sayısı ve içim süresi ile artmaktadır. Sigara ile olan ilişki yassı hücreli kanserler için söz konusudur, adeno kanserler için söz konusu değildir. Yapılan çalışmalarda, sigaranın servikal epitelde DNA modifikasyonu yapıp yapmadığı değerlendirilmiş ve bunun sigara içenlerde daha fazla olduğu saptanmıştır. Anormal pap-yayma sonucuna sahip olan hastalarda normal hastalara kıyasla DNA modifikasyon sayısının fazla olduğu bulunmuştur. Bu modifikasyonun söz konusu olduğu kadınlarda serviks kanseri riski artmıştır. Bu da sigaranın serviks kanserindeki biyokimyasal rolünü göstermektedir (22,43,44).

Oral kontraseptif kullananlarda serviks kanserinin daha sık görüldüğüne dair bazı çalışmalar vardır. Hormonal etkilere serviksin hassasiyetinden dolayı OKS'lerin servikal karsinomayı arttırdığı veya indüklediği biyolojik olarak kabul edilebilmektedir. Oral kontraseptiflerin özellikle servikal adeno kanser oluşumunda risk faktörü olabileceği iddia edilmektedir (45). Oral kontraseptiflerin uzun süre kullanılması halinde servikal silindirik epitelin adenomatöz hiperplaziye uğradığı ve bu değişikliğin aynı endometrial hiperplazi kadar riskli olduğu bildirilmektedir. Ursin ve arkadaşları özellikle 12 yıldan daha fazla OKS kullananlarda serviks adenokarsinomu riskinin 2 kat arttığını bildirmişlerdir (46). Buna karşılık OKS'lerin koruyucu olduğunu ileri süren çalışmalarda vardır. OKS kullananlarda serviks kanserinin artmadığını, sadece kullanıldığı için sıkça yapılan kontroller sayesinde yakalanma oranının arttığını savunanlar da vardır (47).

Vitamin eksikliğinin servikal kanseri de içine alan bazı malignitelere rolü olduğu düşünülmektedir. Vitamin A bazı kanserleri önleyebilir. Vitamin A deriveleri, özellikle de retinoidler in vitro ve in vivo olarak normal epitel hücrelerinin büyümesini modüle ederler, bunu yaparken de proliferasyonu önleyip hücrelerin diferansiyasyon ve matürasyonunu sağlarlar (48). Meyskens' in yaptığı bir çalışmada CIN II ve CIN III'lü hastalara transretinoik asit ya da bir plasebo ile tedavi vermiştir. Retinoik asit verilen CIN II'li hastaların %43'ünde histolojik gerileme görülürken plasebo grubunda bu oran %27'dir (p=0.41). CIN III'lü hastalarda tedaviler arasında bir fark saptanmamıştır. Bu çalışmanın sonucu da servikal neoplazinin önlenmesinde vitamin A'nın rolünü göstermektedir (49).

## **2.2. Işık Doku Etkileşmesi**

Şekil 2.8'de gama ışınlarından radyo dalgalarına kadar elektromanyetik spektrum görülmektedir, ayrıca görünür bölgenin spektrumu da verilmiştir. Foton, radyasyon dalga enerjisi taşıyan bir parçacıktır ve boşlukta saniyede 300.000 kilometre yol alır. Görünür ışık elektromanyetik spektrumun insan gözü tarafından saptanabilen aralığıdır. Bu dalga boyu aralığına kısaca görünür ışık veya sadece ışık da denmektedir. Bu dalga boyu aralığı 380 ile 750 nm arasındadır. Bu çalışmada kullandığımız ışıkta görünür bölgededir.



Şekil 2.8. Elektromanyetik spektrum

### 2.3. Biyolojik Ortamın Optiksel Özellikleri

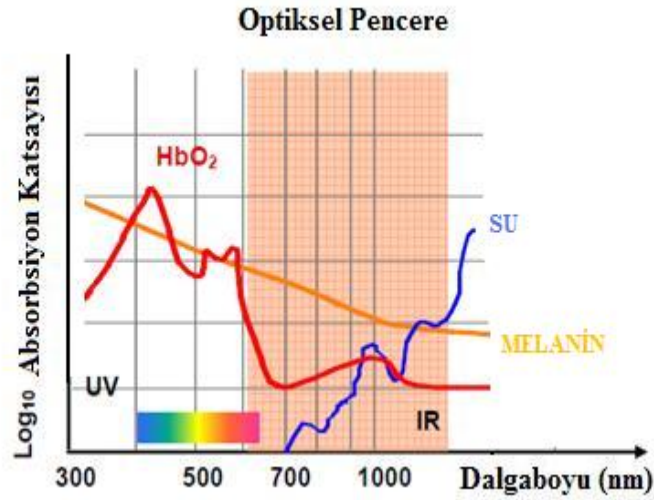
Işığın biyolojik dokularda yayılımını belirleyen dokunun optiksel özellikleridir (50). Bu optiksel özellikleri belirleyen parametreler, ışığın doku içindeki kırılma indisi ( $n$ ), saçılım katsayısı ( $\mu_s$ ) ve absorpsiyon katsayısı ( $\mu_a$ )'dır. Absorpsiyon ve saçılım katsayıları biyolojik optikte parmak izi gibi kullanılmaktadır. Absorpsiyon katsayısı ( $\mu_a$ ) farklı kromoforların konsantrasyonu hakkında bilgi verirken, saçılım katsayısı ( $\mu_s$ ) ortamın saçıcı bileşenlerinin konsantrasyonu ve büyüklüğü hakkında bilgi vermektedir (51-53).

#### 2.3.2. Işığın doku içinde absorpsiyonu

Işığın doku tarafından absorpsiyonu teşhis amaçlı kullanılmaktadır ve dokunun kimyasal bileşimi hakkında bilgi vermektedir. Aynı zamanda görüntü oluşturma için optiksel kontrast oluşmasını sağlamaktadır. Biyolojik dokularda ışığı absorblayan su, deoksihemoglobin (Hb), oksihemoglobin ( $HbO_2$ ) ve melanin gibi moleküllere kromofor denir (54). Dokunun %75'i sudur ve bu yüzden su dokudaki en önemli soğurucu moleküldür. Işığın kan tarafından absorblanması kandaki  $HbO_2$  ve deoksi-Hb'e bağlıdır. Kanda bulunan Hb'nin hem kısmında bulunan porfirin fotonun absorblanmasındaki en etkili kromofordur. 700 ve 900 nm dalga boyu aralığındaki en az absorpsiyon olan bölgeye optiksel pencere adı verilir. Bu aralıkta ışığın biyolojik dokuya penetrasyonu en fazladır. Dokunun absorpsiyon katsayısı, dokuda absorpsiyona katkıda bulunan tüm kromoforların absorpsiyonunun toplamıdır ve aşağıdaki gibi ifade edilir;

$$\mu_a^\lambda = \sum \ln(10) \cdot \epsilon_x^\lambda \cdot C_x \quad (1)$$

(1) denkleminde  $\epsilon_x^\lambda$  ve  $C_x$ , x kromoforunun molar etkileşme katsayısı ve konsantrasyonudur.  $\epsilon_x^\lambda \cdot C_x$  çarpımının birimi [ $\text{cm}^{-1}$ ]’ dir. Denklemde de görüldüğü gibi absorpsiyon katsayısı dalga boyuna bağlı olarak değişir, burada  $\lambda$  dalga boyudur. . Çünkü, farklı kromoforlar farklı absorpsiyon spektrumuna sahiptirler. Şekil 2.9’da dokudaki bazı önemli kromoforların absorpsiyon spektrumları verilmiştir (54).



Şekil 2.9. Dalga boyuna bağlı olarak insan dokusundaki bazı önemli kromoforların absorpsiyon spektrumları

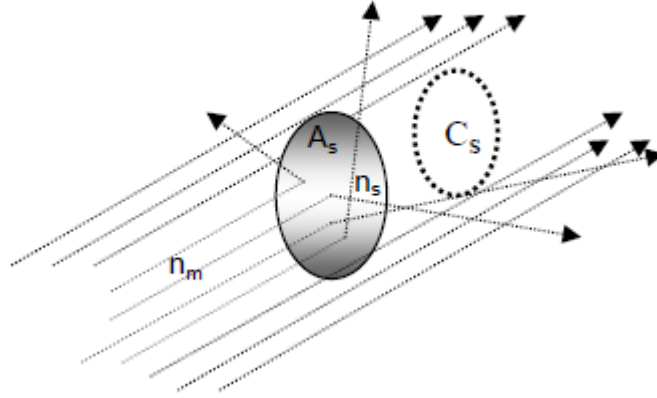
### 2.3.3. Işığın Dokudan Saçılması

Işık bir ortamdan diğer bir ortama geçerken enerjisinin bir kısmı ortamın yüzeyinden geri yansıtılırken bir kısmı da ortama geçer. Dokuya giren ışık kırılıma uğramaktadır. Kırılma açısı iki ortamın ışığı kırma indislerinin değerine bağlıdır. Saçılım olayı ışığın kırılma indisi farklı olan bir ara yüzeyi kesmesi ile gerçekleşir. Hücreler arası sıvının ışığı kırma indisi yaklaşık olarak 1.36 iken hücre zarının ışığı kırma indisi 1.42 civarındadır (55,56). Bu farktan dolayı ışık dokuya girdiğinde hücre zarından saçılmaya uğrar. Saçılım dokunun yapısına bağlıdır. Hücredeki lipid membranın yoğunluğu, hücrelerin yoğunluğu, şekli ve büyüklüğü, çekirdek boyutu, dokudaki su miktarı, kollajen fiberler gibi dokuyu meydana getiren birçok yapı saçılımı etkilemektedir. Benzer şekilde hücre içindeki organellerin ışığı kırma indisi stoplazmanın ışığı kırma indisinden büyük olduğundan hücre içine giren ışık çekirdek, mitokondri ve diğer organeller tarafından da saçılıma uğramaktadır. Bunun için relatif

kırılma indisi tanımlanmaktadır. Ortamın ışığı kırılma indisi  $n_m$  ve parçacıkların kırılma indisi  $n_s$  ise relatif kırılma indisi ( $m$ ) aşağıdaki gibi ifade edilir;

$$m = \frac{n_s}{n_m} \neq 1 \quad (2)$$

Bazı önemli biyolojik dokuların ortalama kırılma indisi 1.38–1.46 arasında değişmektedir (55-57). Şekil 2.10'da ışığın bir parçacıktan saçılımı şematik olarak gösterilmektedir.



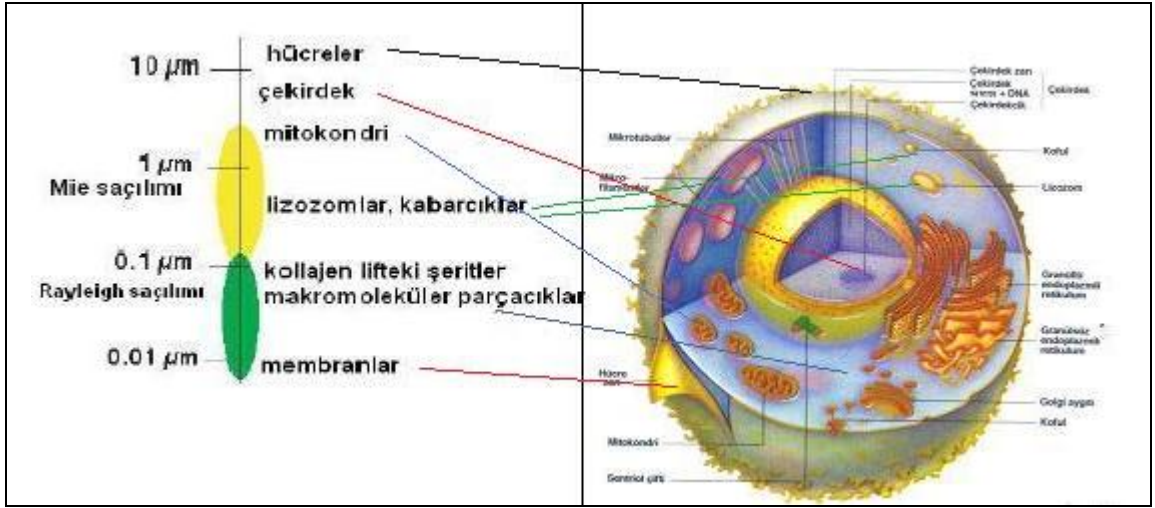
Şekil 2.10. Dağınık parçacıklarda saçılım

Dokudaki ışığın zayıflaması gelen ışığın dalga boyuna ve dokunun optiksel özelliklerine bağlıdır. Dokuya gönderilen ışık doku içinde elastik ve elastik olmayan saçılımlara uğramaktadır.

**2.3.2.1. Elastik (Esnek) Saçılım:** Eğer saçılan ışığın frekansı gelen ışığın frekansına eşitse bu elastik saçılımdır. Elastik saçılımda ise dokuya gönderilen ve dokudan ayrılan fotonların enerjileri aynıdır. Elastik saçılımın önemli üç türü Rayleigh, Mie ve geometrik saçılımdır. Bu saçılımlar, parçacığın boyutunun gelen ışığın dalga boyuna oranı ile belirlenmektedir.

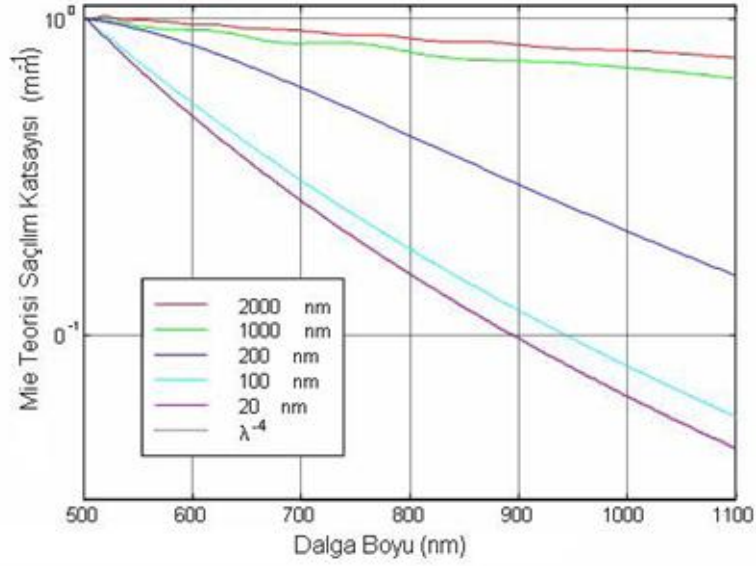
**A) Rayleigh saçılımı:** Saçıcıların boyutu gelen ışığın dalga boyundan çok küçüktür. Rayleigh teorisi, ışığın kendi dalga boyundan çok daha küçük boyuttaki doku yapıları tarafından saçıldığı durumlarda geçerlidir. Bu yapılar şekil 2.11'de görüldüğü gibi membranlar ve hücre bölümleri gibi hücresel öğeler ile şeritli kollajen lifcik gibi hücre dışındaki öğeleri de içerir. Parçacığın boyutunun dalga boyuna oranla küçük olmasının en önemli sonucu, parçacık etrafında eşit dağılımlı elektrik alanının oluşmasıdır. Rayleigh saçılımı izotropik bir saçılımdır.

**B) Mie saçılımı:** Saçıcıların boyutu gelen ışığın dalga boyuna yakındır. Şekil 2.11’de görüldüğü gibi Mie teorisi, ışığın dalga boyu ile parçacığın boyutunun birbirine yakın olduğu durumlarda geçerlidir. Bu teoride de Rayleigh teorisindeki gibi parçacığın küresel olduğu varsayımı geçerlidir ve Mie teorisi daha büyük boyuttaki biyolojik dokular için geçerlidir. Mie teorisi Maxwell elektromanyetik denklemlerinin dalga boyu ile aynı büyüklük mertebesinde olan küresel parçacıklardan saçılımının analitik çözümüdür. “Mie teorisi” aslında fiziksel bağımsız bir teori değildir, bu sadece bir yanlış kullanım olmakla beraber literatürde yer almıştır.



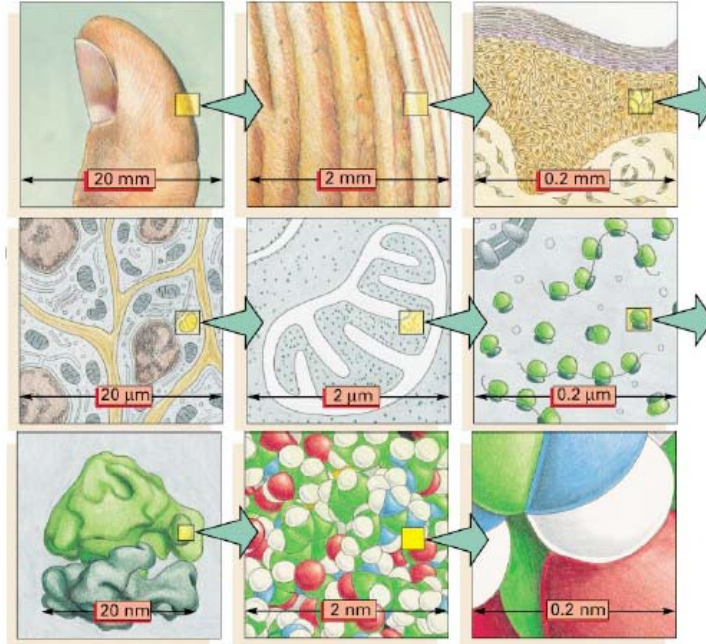
Şekil 2.11. Organellerden saçılım

Şekil 2.12’de görüldüğü gibi Mie teorisi ile hesaplanan saçılma katsayısı dalga boyu arttıkça azalmaktadır. Yine aynı şekilde görüldüğü gibi parçacık boyutu dalga boyundan çok küçük ise saçılma katsayısının dalga doyunu bağımlılığı daha zayıftır. Parçacık boyutu dalga boyu mertebesinde ise saçılma katsayısının dalga boyuna bağlı olarak değişimi büyük olmaktadır.



Şekil 2.12. Mie teorisinde saçılım katsayısının dalga boyuna göre değişimi

Şekil 2.13'te görüldüğü gibi hücredeki tüm organellerin boyutları birbirinden farklıdır. Mitokondri intrasellüler bir organel olup yaklaşık 1 µm uzunluğundadır. Krista adı verilen iç lipid membranların birleşiminden oluşmuş bir yapıdır. Membranın lipid tabakası yaklaşık olarak 9 nm kalınlığındadır. Lipid ve çevresindeki sulu ortamın kırılma indisleri farklı olduğu için ışık buralarda çok fazla saçılıma uğramaktadır. Mitokondride lipid/su yoğunluğu fazla olduğundan bu yapı da saçıcı özellik gösterir.

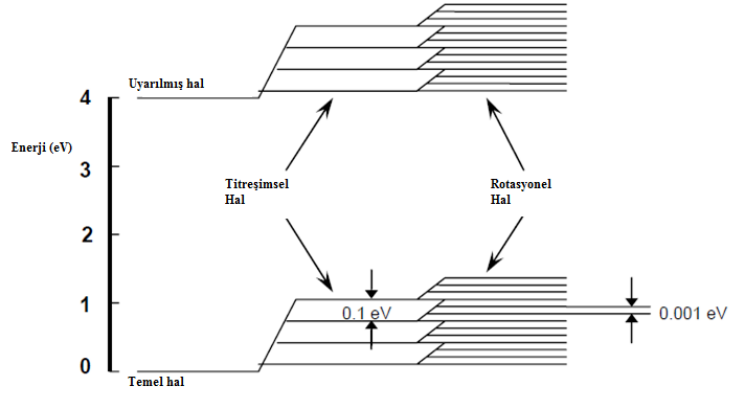


Şekil 2.13. Hücrenin moleküler yapısında bazı uzunluk ölçümleri



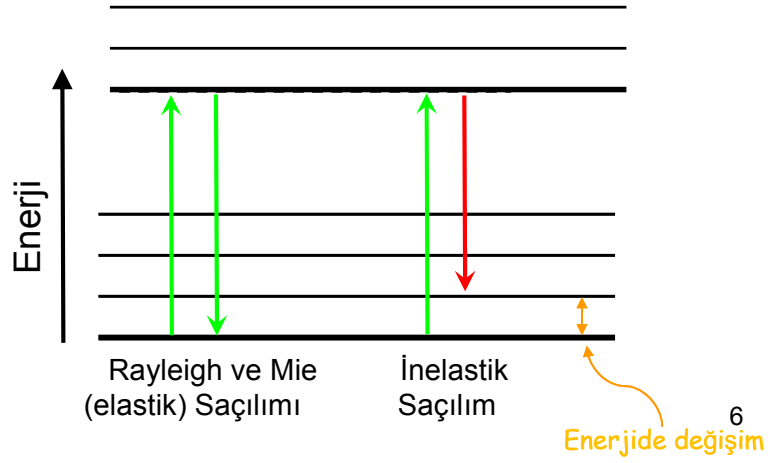
**C) Geometrik saçılım:** Saçılıma neden olan parçacığın boyu ışığın dalga boyundan çok büyüktür.

**2.3.2.2. İnelastik (Esnek Olmayan) Saçılım:** Elastik olmayan saçılımlarda saçılan ve dokudan ayrılan fotonların enerjileri dokuya gönderilen fotonların enerjilerinden daha düşüktür. Gelen ve saçılan ışığın frekansı farklı ise bu inelastik bir saçılımdır. Esnek olmayan saçılımı anlayabilmek için moleküler yapıyı anlamak gerekmektedir. Bir molekül iki veya daha fazla atomun bir araya gelmesiyle oluşmaktadır. Moleküler yapının anlaşılması izole atomlara göre daha zordur (58). Çünkü, enerji seviyeleri farklı elektronik seviyelere denk gelmektedir. Ayrıca, moleküler yapıların farklı titreşimsel ve rotasyonel halleri de vardır (59). Diatomik moleküllerin iç enerji seviyeleri şekil 2.14'teki gibi gösterilmektedir.



Şekil 2.14. Diatomik moleküller için şematik moleküler enerji seviyeleri

Gelen ışık sahip olduğu enerjiye bağlı olarak molekülün elektronik, titreşimsel ve rotasyonel enerji seviyelerinden biri ile etkileşime girebilir. Böylelikle saçılan ışığın enerjisi (dalga boyu) değişir. Şekil 2.15'te görüldüğü gibi eğer gelen ışığın enerjisi iki elektronik seviye arasındaki enerji farkına eşit ise elektronik geçiş olur. Daha sonra taban enerji seviyesine dönen elektron bir foton yayar. Bu geçişler sırasında farklı dönme enerji seviyeleri üzerinde olursa Raman spektrumu gözlenir. Bu saçılmalarada Raman saçılması denilir. Bu geçişlerde ilk ve son durumlarına bağlı olarak fotonun enerjisi korunmakta (Rayleigh saçılımı), artmakta (Raman Anti-Stokes) veya azalmaktadır (Raman Stokes) (60).



Şekil 2.15. Elastik(Rayleigh) ve inelastik (Raman) saçılım

### Saçılımı Tanımlayan Parametreler

Şekil 2.10 göz önüne alındığında etkin saçılım kesit alanı ( $C_s$ ) saçılım yüzey kesiti ( $A_s$ ) ve saçılım veriminin ( $\delta_s$ ) çarpımına eşittir. Yani;

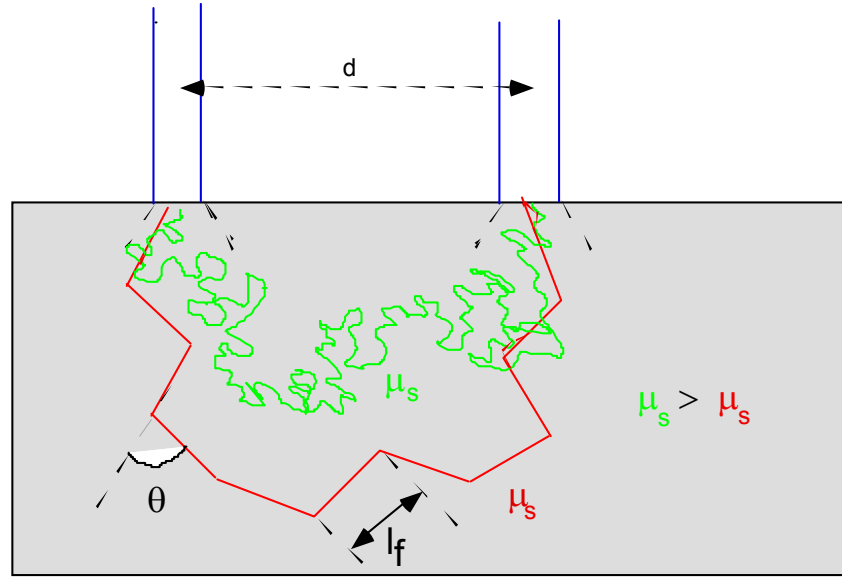
$$C_s = \delta_s A_s \quad (3)$$

Aşağıdaki denklemde gösterildiği gibi saçılım katsayısı ( $\mu_s$ ), etkin saçılım kesit alanı ( $C_s$ ) ve saçılım elementlerinin hacim yoğunluğunun ( $\rho_s$ ) çarpımına eşittir.

$$\mu_s = C_s \rho_s \quad (4)$$

Şekil 2.16'da saçılma katsayısı farklı olan iki fotonun saçılımı gösterilmektedir. Saçılma katsayısı büyük ise fotonların saçılmada aldığı yol küçüktür. Saçılma katsayısı küçüldüğünde ise fotonların saçılmadan turbid ortamda aldığı yol artmaktadır. Fotonun ardışık saçılımlar arasında kat ettiği mesafeye ortalama serbest yol (OSY) denir ve aşağıdaki formülle ifade edilir;

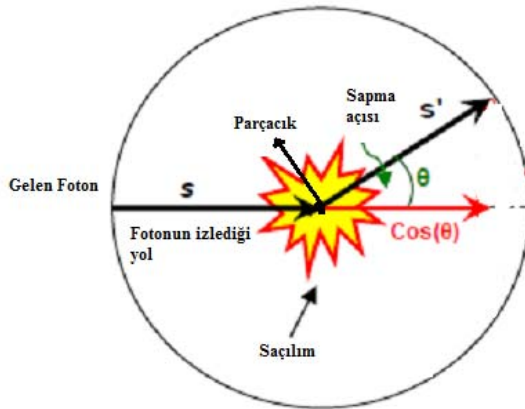
$$OSY_s = \frac{1}{\mu_s} \quad (5)$$



Şekil 2.16. Ortalama serbest yol

### 2.3.2.3. Saçılım Faz Fonksiyonu (SFF) ve Anizotropi Faktörü

Işığı her yönde eşit oranda kıran veya soğuran parçacıklara izotropik parçacık denilir. Biyolojik dokularda ışığın saçılımı izotropik değildir. Her zaman ileriye doğru bir saçılım vardır (61,62). Bu yüzden bir  $\theta$  açısıyla saçılan fotonun olasılık fonksiyonunu tanımlamak gerekmektedir. Olasılık fonksiyonunu deneysel datalarla sabitlenmiştir (63). Buna ek olarak; dokunun kırılma indisi ya da yoğunluğu gibi bir takım fiziksel özellikleri açısından izotropik olduğunu farz edersek (64) şekil 2.17’de gösterildiği gibi saçılımın sadece ışığın geldiği yönü belirleyen  $\hat{s}$  vektörü ve saçıldığı yönü belirleyen  $\hat{s}'$  birim vektörleri arasındaki  $\theta$  açısına bağlı olduğu ortaya çıkar. Saçılımın açıya bağlı olması olasılık dağılım fonksiyonu ya da saçılım faz fonksiyonu (SFF) olarak adlandırılır  $p(\hat{s}, \hat{s}') = p(\theta)$ .



Şekil 2.17. Işığın parçacığa çarptıktan sonra  $(\theta)$  açısıyla sapması

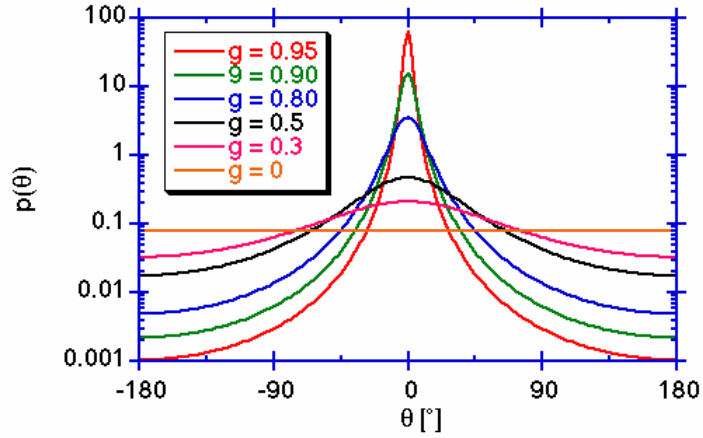
Biyolojik dokulardaki ışığın saçılımında Henyey-Greenstein faz fonksiyonu kullanılır (51,65);

$$p(\theta) = \frac{1}{4\pi} \frac{1-g^2}{(1+g^2-2g \cos \theta)^{3/2}} \quad (6)$$

Bu model ışığın küçük parçacıklardan saçılarak açısız olarak dağılımını ifade eder. Anizotropi faktörü açısız olarak saçılan fotonun ortalama cosinüs değerine eşittir;

$$g = \langle \cos \theta \rangle \quad (7)$$

Henyey-Greenstein fonksiyonun farklı g değerlerine bağlı olarak değişimi şekil 2.18'de gösterilmektedir;



Şekil 2.18. Farklı anizotropi değerlerine denk gelen saçılım olasılıkları

Anizotropi faktörü -1 ve 1 arasında değerler alır;

$$-1 \leq g \leq 1 \quad (8)$$

Eğer anizotropi faktörü değeri -1 ise tamamen geri, 1 ise tamamen ileri ve 0 ise izotropik saçılım vardır denir. Biyolojik dokularda anizotropi değeri 476-633 nm dalga boyu aralığında 0.8 ile 0.95 arasında değişmektedir (66).

## 2.4. Spektroskopi

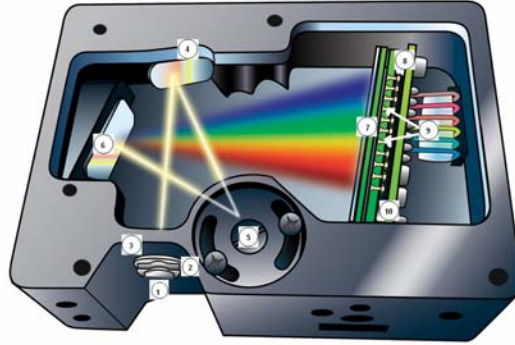
Elektromanyetik ışınının madde ile etkileşmesini inceleyen bilim dalına spektroskopi denir. Söz konusu madde atom, molekül veya iyon olabilir. Spektroskopiden elde edilen veriye ise spektrum denir. Spektrum, her bir dalga boyu için enerji yoğunluğunu gösteren bir grafikdir. Spektroskopik yöntem ile maddenin yapısını, fiziksel ve kimyasal özelliklerini incelemek ve nitel veya nicel analizler yapmak mümkündür. Spektroskopik yöntemlerde maddenin elektromanyetik radyasyonu yayması, absorblaması, saçması, saptırması, genel olarak maddenin elektromanyetik radyasyonla etkileşimi ve bu etkileşimin sonuçları analitik amaçlara dönük olarak incelenir. Spektrometrelerde ışığın geçmesi için bir açıklık, ışığı yönlendirici ayna, ışığı spektrumuna ayırmada kullanılan ızgaralar (grating) ve yüklenme iliştilmiş araçtan (CCD) oluşmaktadır. Foton enerjilerine göre farklı spektroskopik yöntemler kullanılmaktadır. Saçılım spektroskopisinde maddenin belli dalga boyu ve açılarda saçtığı ışığın miktarı ölçülerek maddenin bazı fiziksel özellikleri öğrenilir.

## 2.5. Esnek Işık Saçılım Spektroskopisi (EISS)

EISS ile yapılan çalışmalarda üç farklı metod kullanılmaktadır (67). Bunlardan birincisinde zamana bağlı ölçüm yapılmaktadır. Dokuya pikosaniye mertebesinde çok kısa süreli bir lazer gönderilmekte ve zamana bağlı olarak dokudan geçen veya geri yansıyan ışığın şiddeti ölçülmektedir. Ölçüm sonucu difüzyon denkleminin zamana bağlı çözümüne bağlı olarak, dokunun ışığı saçma ve absorblama katsayıları belirlenmektedir (67). İkinci yöntemde ise dokuya gönderilen lazer ışığı bir sinüs dalgası gibi modüle edilmektedir. Bu durumda hem ışık şiddeti hemde dokudan çıkan ışıktaki faz kayması ölçülmektedir. Bu yöntemle de dokunun ışığı saçma ve absorblama katsayıları hesaplanmaktadır (67). Üçüncü yöntemde ise dokuya sabit şiddette lazer gönderilmekte ve dokudan çıkan ışık şiddeti ölçülmektedir. Bu yöntemle dokunun ayrı ayrı absorbrsiyon ve saçılma katsayıları hesaplanamamaktadır Bu yöntem diğer ikisine göre doku hakkında daha az bilgi vermek ile beraber en ucuz ve kullanımı kolay olan sistem olduğu için tercih edilmektedir (67). Bu üç yöntemi kullanmak için kaynak ve dedektörün birbirlerinden en az 3-4 mm uzak olması gerekmektedir, çünkü bu mesafede ışık kaynak dedektör arasında difüzyona uğramaktadır. Kaynak dedektör mesafesi 3-4 mm' den daha küçük ise daha kısa mesafelerde difüzyon yaklaşımı geçerli olmadığı için dokunun optik parametrelerini belirlemek için bir yöntem bulunmamaktadır. Bu gibi durumlarda kullanılan yöntem önce normal dokunun ve daha sonra patolojik dokunun spektrumunu alarak bunların kütüphanesini oluşturmaktır. Çalışma esnasında alınan spektrumlar normal ve patolojik dokunun spektrumları ile karşılaştırılarak üzerinde çalışılan dokunun normal veya patolojik olduğu belirlenmektedir (68).

EISS yöntemi kullanılarak dokudaki anormaliteleri bulma ve tanımlama için çalışmalar yapılmaktadır (67-69). Dokuda esnek saçılım yapan ışığın spektrumu hücre boyutu, şekli ve hücre çekirdeğinin stoplazmaya oranına bağlı olarak değişmektedir.

Şekil 3.1’de bu çalışmada kullanılan EISS ölçüm düzeneği gösterilmiştir. Işık dokunun üzerine 0.1 mm’lik çapa sahip optik lif probtan gönderilmektedir. Işık dokuya girince soğurulur veya saçılır. Dokuda soğurulmadan saçılan ışığın küçük bir miktarı ışığın dokuya gönderildiği noktadaki optik prob ile tekrar toplanır. Probon sayısal açıklığının (NA=0.22) küçük olması nedeniyle dokuya gönderilen ışığın çoğunlukla dokudan bir veya iki defa saçılan fotonlar toplanmaktadır. Dokuda difüzyona uğrayan fotonlar probdan uzaklaştığı için optik proba geri dönme ihtimali küçüktür. Bu nedenle tek bir optik liften oluşan prob ile toplanan fotonlar dokunun yüzeyinden bir ya da iki kez saçılarak geldiği için epitel doku hakkında hakkında bilgi verir. Bu da ışığı saçan parçacıkların büyüklüğü hakkında bilgi vermektedir. Böylelikle çalışma konumuz olan serviks kanseri gelişiminde serviks epitelinde birbiri ardısıra meydana gelen değişiklikler sistemimiz tarafından algılanabilmektedir. Ölçümler genellikle bir saniyeden daha kısa sürmekte ve dokuya gönderilen ışık 0.5 mw’tan daha az olduğu için bu ışık dokuya hiçbir zarar vermemektedir. Bu çalışmada kullanılan spektrometre şematik olarak şekil 2.19’da görülmektedir.



Şekil 2.19. Çalışmada kullandığımız spektrometrenin iç yapısı

Herhangi bir spektrometrenin temel bileşenleri ışığı spektrumuna ayırmada kullanılan ızgaralar, ışık kaynağı, CCD detektöre yön verici aynalar, zayıflatıcı, bütünleyici kürelerdir. Spektrometreye gelen ışık, özel aynalar (grating) aracılığı ile CCD detektör dizisi üzerine dağıtılır. Bu aynalar, optik özellikleri periyodik olarak ayarlanabilir yansıtıcı veya saydam elemanlardır. Bunlar spektrometrede, ışığı spektrumuna ayırır. Spektrumuna ayrılan ışık aynalar ile bir boyutlu CCD üzerinde düşürüldüğünde, CCD bunu elektrik sinyaline çevirir. Dalgı boyuna bağılı ışığın şiddeti yazılım aracılığı ile bilgisayarına iletilir (70).

## GEREÇLER VE YÖNTEMLER

### 3.1. Gruplandırma

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik, Kadın Hastalıkları ve Doğum ve Patoloji Anabilim Dallarında gerçekleştirilen çalışmamızda toplam 70 hasta çalışmaya dahil edilip hastalardan alınan toplam 105 adet dokunun epitelinde ex-vivo spektroskopik ölçümler alındı. İki çeşit gruplandırma yapıldı;

**A)** Kontrol grubu olarak (Ameliyat-normal grubu) histerektomi yapılan 10 hastadan alınan rahimlerin 10 normal serviks dokusundan EISS ile ölçümler alındı ve spektrumlar incelendi.

**B)** Anormal pap-yayma sonucu (Anormal pap-yayma grubu) bulunan toplam 60 hastadan 3,6,9 ve 12 saat kadranı yönlerinde kolposkopik biyopsi ile çıkarılan 95 adet dokunun epitelinde EISS sistemi ile alınan spektrumlar incelendi. Bir hastadan alınan en az 1, en çok 4 parçadan spektroskopik ölçümler alındı. Biyopsi dokuları yüzeyinde 5 dakika içerisinde rastgele farklı noktalarda spektroskopik ölçüm alındı. Ölçüm alınan parçalar histopatolojik incelemeye gönderildi. Bu şekilde displastik değişime uğramış dokularda alınan spektrumlara ait veriler hazırlandı. Alınan spektrumlarla patoloji sonuçları arasındaki korelasyon incelendi. Histopatolojik sınıflandırma grubu yani anormal pap-yayma sonuçları olan hastaların biyopsi sonuçları normal, LSIL ve HSIL olarak üç grupta incelendi.

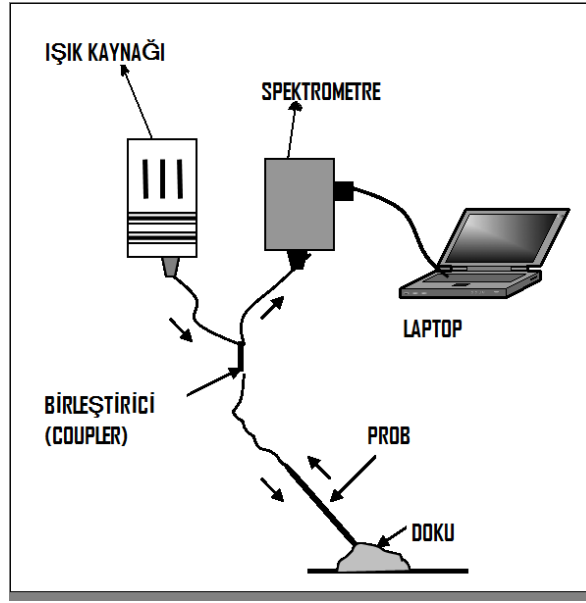
**grup1:** normal

**grup2:** LSIL+HSIL

**grup1\*:** normal + ameliyat\_normal

### 3.2. Esnek Işık Saçılım Spektroskopisi (EISS) Donanımı

Sistemde ışık kaynağı olarak bir tungsten lamba (Ocean Optics, Inc. Florida, ABD) kullanılmıştır. Kullanılan optik probun şekil 3.1’de görüldüğü gibi bir yönünde tek bir optik lif diğer yönünde ise iki tane optik lif çıkışı bulunmaktadır (1x2, %50 optical fiber coupler). Her iki yöndeki optik liflerin çapı 100 µm olup sayısal açıklığı 0.22 ve yaklaşık uzunlukları 100 cm’dir. Dokudan spektrometre (USB2000, Ocean Optics, Inc. Florida, ABD) ile toplanan esnek saçılım ışık bilgisayardaki yazılım (OOIBase32 Platinum, Ocean Optics, Inc, Florida, ABD) ile işlenmiştir.



Şekil 3.1. EISS Sistemi

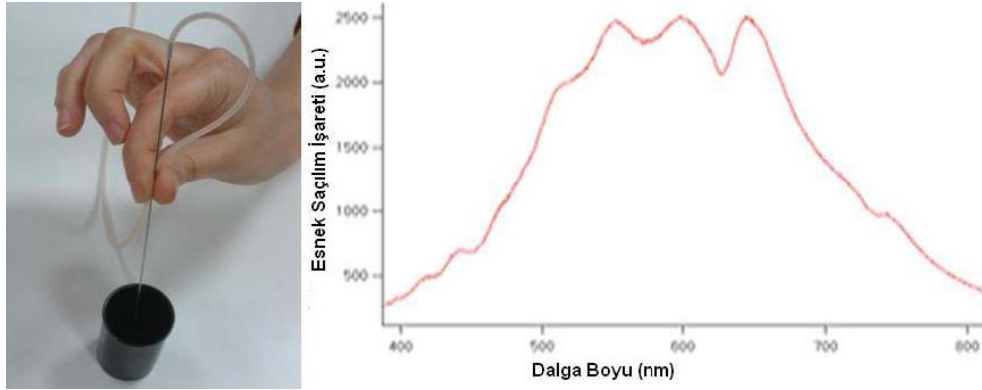
Spektroskopik verileri almak için kullanılan spektrometrenin modeli USB2000'dir. Kullandığımız spektrometre 400 ile 800 nm arasındaki dalga boyuna duyarlı, 2048 elemanlı CCD detektör dizisine sahiptir. M. Canpolat'ın (12,13) geliştirdiği tek optik liften oluşan prob ile dokudan geri saçılan ışık toplanmaktadır. In-vitro olarak yapılan deneylerde tek bir fiber liften oluşan prob ile alınan spektrumların ışığı saçan parçacıkların büyüklüğüne bağlı olarak değiştiği gösterilmiştir. Displastik değişimin olduğu hücrelerde hücre çekirdeği normal hücre çekirdeğinden daha büyük olmaktadır. Normal serviks ve displastik değişimin olduğu serviks dokusunun spektrumlarının farklı olması beklendiği için normal ve displastik değişimlerin olduğu serviks dokularında alınan spektrumlar karşılaştırılmıştır.

### 3.3. Deney Protokolü

Tek bir optik liften oluşan prob serviks dokusuna değiştirilerek ışık dokuya gönderilmektedir. Geri saçılan ışık yine aynı optik lif tarafından toplanmakta ve optik birleştiriciden (optical coupler) geçen ışığın %50'si spektrometreye gitmektedir. Saçılan ışık bilgisi, spektrometre ve bilgisayar yazılımı ile spektroskopik veri olarak kaydedilmektedir. Ancak prob kullanılmadan önce, optik liflerin bağlantı yerleri ile optik lif doku ara yüzeyinde oluşan yansımaları hesaba katmak ve ışık kaynağının spektral dağılımını elimine etmek için kalibrasyon ölçümleri yapılmaktadır (71). Sonuç olarak, su dolu düz siyah bir kaptaki sistemden dolayı oluşan geri yansımalar (optik liflerin bağlantı yerleri ile optik lif doku ara yüzeyinde oluşan yansımalar),  $I_b$ , ölçülür. Bu ölçüm sonucu elde edilen spektrum Şekil 3.2'de görülmektedir. Siyah renk, ışığın üzerine düştüğü madde tarafından tamamen soğurulması için kullanılmaktadır. Yalnızca

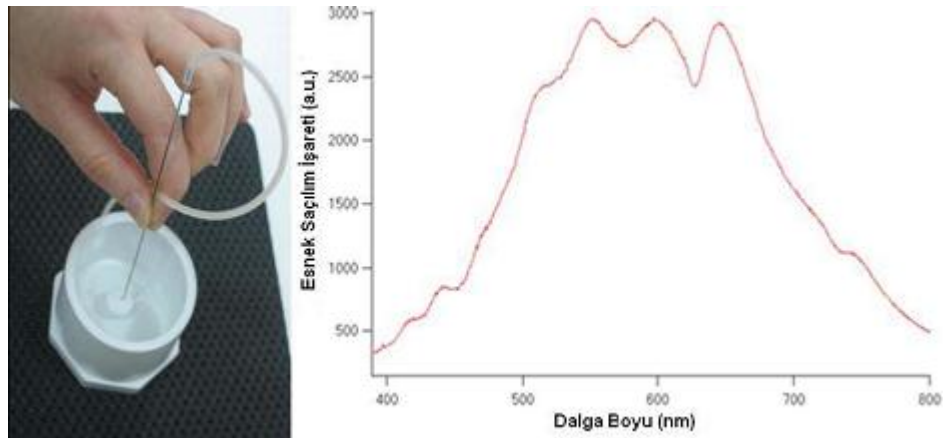


yansımalar ölçüleceği için, ölçüm alınan ortamda saçılımın olmaması istenir. Absorbsiyonun olması da ortamın siyah olması ile sağlanır. Kabın siyah olmasının sebebi budur. Işık, optik lif probun ucundan çıkıp suya girerken, lif ile suyun kırılma indisi farkından dolayı geri yansımalar olur.  $I_b$  ölçümü ile sistemdeki iç yansımadan kaynaklanan yansımanın spektrumu elde edilmektedir (71).



Şekil 3.2. Su dolu siyah kaptan alınan EISS ölçümü

Daha sonra, ışığı bütün dalga boylarında %98 oranında yansıtan beyaz bir madde (spectralon, Lab-sphere, Inc., North Sutton, N.H.) üzerinde ( $I_s$ ) geri yansıyan ışığın yoğunluğu ölçülmektedir. Bu ölçümün spektrumu da şekil 3.3'de görülmektedir. Alınan spektrum,  $I_s$  ışık kaynağı lambanın spektral dağılımını yok etmek için kullanılmaktadır. Bu ölçüm alınırken prob, su içindeki spektralondan 1-2 mm yukarıda tutulur. Ölçüm sonucunda elde edilen değer, tamamen lambadan kaynaklanan yansıma değeridir (71).



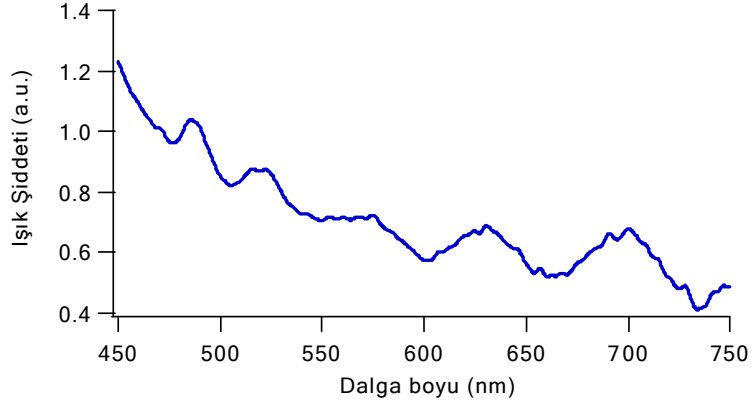
Şekil 3.3. Spektralondan alınan EISS ölçümü

Dokudan ölçüm ( $I_t$ ) alındıktan sonra doğrulanmış spektrum ( $I_c$ ) aşağıdaki formül ile elde edilir:

$$I_c = \frac{I_t - I_b}{I_s - I_b} \quad (9)$$

Ölçülen spektrum, sistem bileşenlerinin dalga boyuna bağımlılığı ve aynaya özgü yansımaların bir kısmı için bu formül ile düzeltilmiş olur.

Doku eşdeğeri olarak kullanılabilir 2  $\mu\text{m}$  çapında polistiren parçacıkların (Duke Scientific Corp. Kaliforniya, ABD) yoğun süspansiyonundan alınan spektrum şekil 3.4'deki gibi görülmektedir. Bu spektrum ile kalibrasyon kontrol edilir. Burada, salınımların görülmesi optik prob ile yapılan ölçümde sadece bir ya da iki defa saçılan fotonların toplandığını göstermektedir. Bu da ışığı saçan parçacıkların büyüklüğü hakkında bilgi vermektedir.



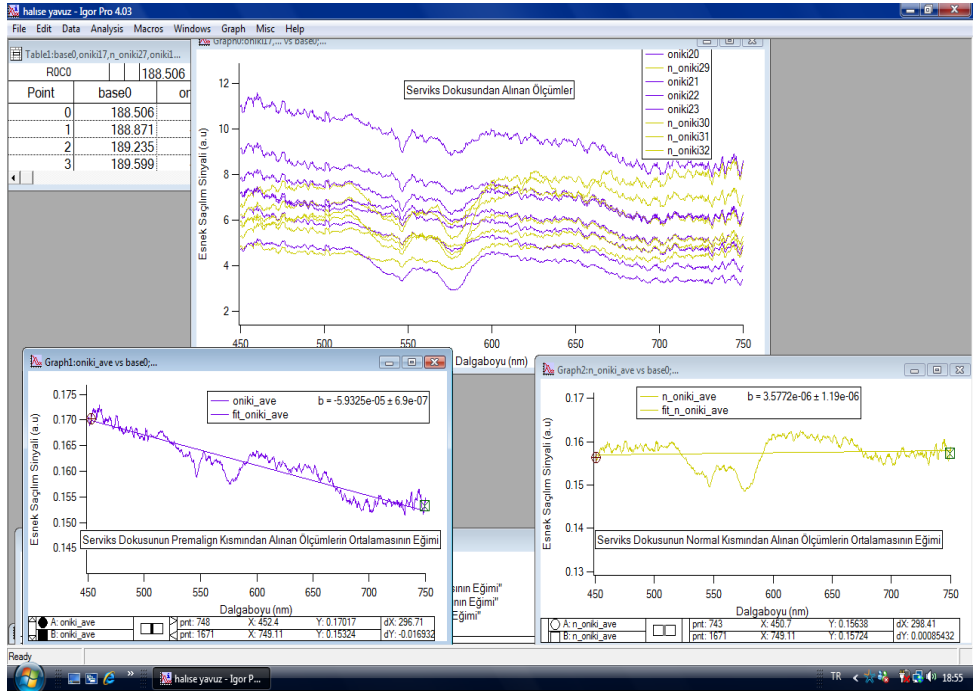
Şekil 3.4. 2  $\mu\text{m}$  çapındaki polistiren parçacıkların EISS spektrumu

### 3.4. Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme SPSS paket programı kullanılarak yapılmıştır. EISS sistemini kullanarak elde ettiğimiz spektrumların displastik alan yüzde sonuçlarını kullanarak ROC analizi ile duyarlılık ve seçicilik yüzdeleri elde edilmiş ve displastik alan yüzde kesim noktası belirlendi. ROC eğrisi altında kalan alan hesaplandı. Çapraz tablo gösterimi ile verilerin yüzdelerine göre dağılımı gösterildi. İki grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney U Testi kullanıldı.  $p < 0.05$ 'i sağlayan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

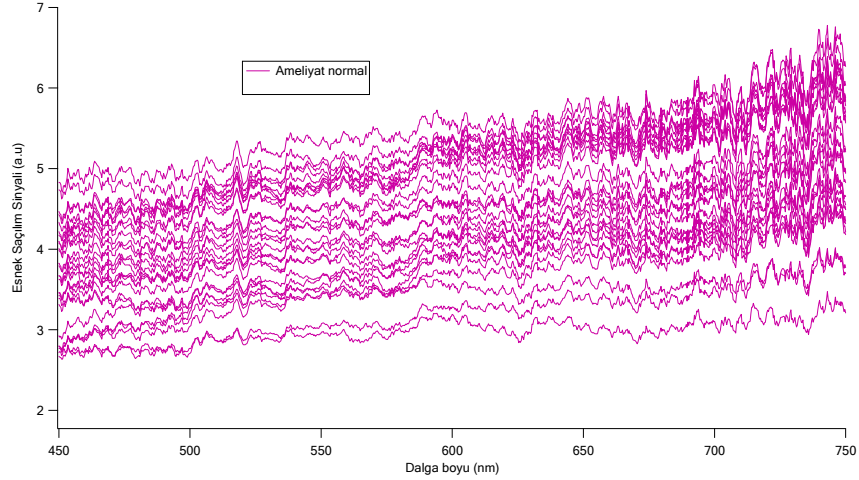
Kalibrasyondan sonra, hastalardan alınan premalign doku ya da kontrol amaçlı olarak histerektomi yapılan hastalardan alınan sağlam serviks dokuları üzerinde optik tanı sistemi EISS ile alınan veriler, Igor Pro 4.03 (72) teknik grafik ve veri analizi programı ile işlendi ve sonuçta şekil 4.1'deki gibi grafikler elde edildi.



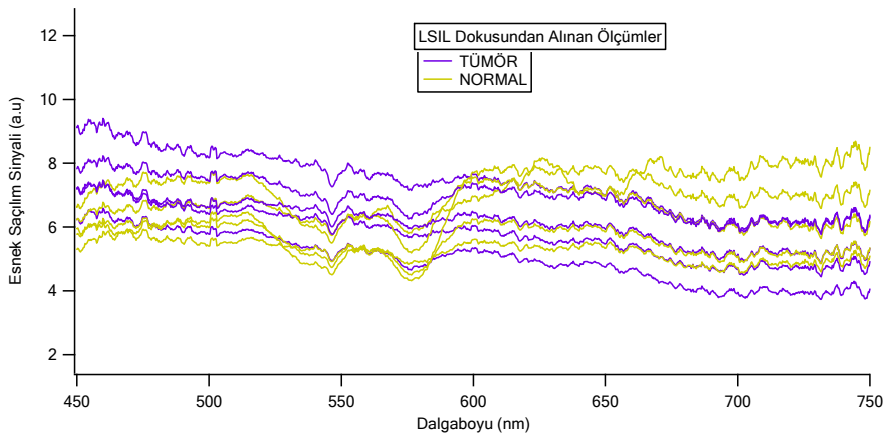
Şekil 4.1. IGOR programında EISS verilerinin grafiklerinin elde edilmesi

Serviks epitelinde geri saçılan ışığın spektrumu hücredeki çekirdek boyutuna bağlı olarak değişmektedir. Çalışmamızda displastik serviks dokusunun epitelinden alınan spektrumla normal serviks dokusundan alınan spektrumun farklı olduğunu gördük. Histerektomi yapılan 10 hastanın sağlam serviks dokuları transformasyon bölgesinde spektroskopik ölçüm yapıldı. Şekil 4.2'de görüldüğü gibi bu ölçümler sonucunda elde edilen spektrumların hepsinin pozitif eğim verdiği görüldü ve bu durum bizim çalışmamızda referans olarak alındı. Anormal pap-yaıma sonucu olan 60 hastadan alınan toplam 95 adet dokuda ex-vivo ölçümler alındı. Ex-vivo deneyler doku hastadan alındıktan sonra histopatolojik incelemeye gönderilmeden hemen önce yapıldı. Kurumayı engellemek amacıyla serum fizyolojik ile ıslatılan dokudan alınan ölçümler yaklaşık 5 dakika sürdü. Daha önce hayvanlar üzerinde yaptığımız deneylerde in-vivo olarak alınan spektrumlar ile bu süre içinde ex-vivo olarak alınan spektrumlar arasında bir fark oluşmadığı görüldü. Bu durum parça alındıktan sonraki ilk 10 ya da 15 dakikada

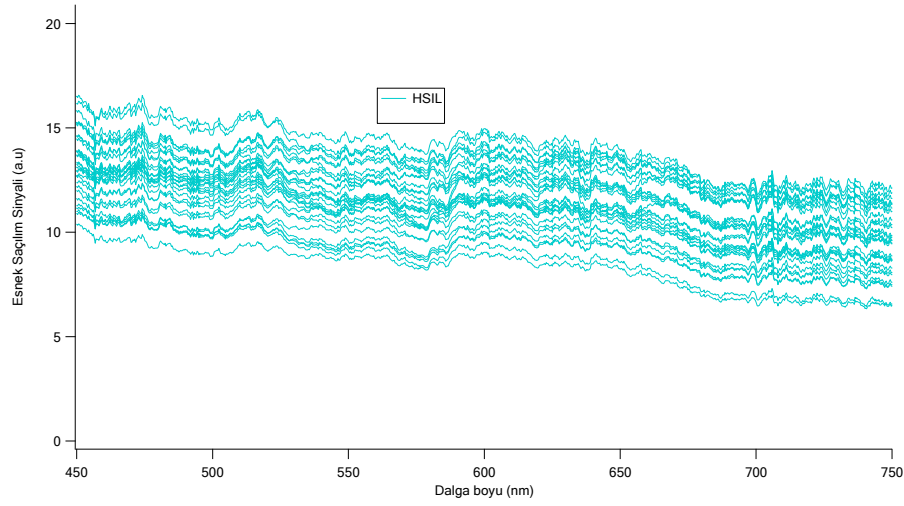
hücrelerde EISS sisteminin duyarlılığını bozacak şekilde morfolojik değişimlerin olmadığını göstermektedir. Şekil 4.3 ve 4.4'te görüldüğü gibi alınan spektrumlar incelendiğinde aynı dokuda hem negatif eğim hem de pozitif eğim ya da tamamen negatif eğim olduğu görüldü. Böylelikle herhangi bir dokudan alınan ölçümler sonucunda hiç negatif eğim yoksa o doku bizim için normal doku olarak kabul edildi. Spektral eğimin işareti teşhis parametresi olarak kullanıldı.



Şekil 4.2. Histerektomi yapılan hastaların normal serviks epitelinden alınan EISS spektrumları



Şekil 4.3. Anormal pap-yaymalı olan dokunun epitelinden alınan EISS spektrumları



**Şekil 4.4.** Displastik dokudan alınan spektrumlar (HSIL)

#### 4.1. Grupların Karşılaştırılması

Daha öncede belirttiğimiz gibi patoloji sonuçları ile alınan spektrumların karşılaştırılmasında normal dokularda alınan spektrumların eğimlerinin pozitif, displastik dokularda alınan spektrumların eğimlerinin ise negatif olduğunu belirledik. Çalışmamızda spektrumların eğimlerinin işaretini kullanarak normal ve displastik dokuyu ayırt ettik. Sonuçlarımızı da iki şekilde değerlendirdik:

**A) Pap-yayma ile spektroskopi sonuçlarımızı karşılaştırdık.**

**B) Histopatoloji sonuçları ile spektroskopi sonuçlarımızı karşılaştırdık.**

##### **A) Hastaların pap-yayma ve spektroskopi sonuçlarının karşılaştırılması**

- Yapılan spektroskopik ölçümler sonucunda anormal pap-yayma sonucu olan 60 hastanın 95 adet dokusunun 89 tanesinde spektral eğimlerin işaretini negatif bulduk.
- Kalan 6 dokudan alınan spektrumların eğimini ise pozitif bulduk.
- Bu 6 dokunun 5 tanesinin patoloji sonucunu incelediğimizde bu dokuların kronik servisit olduğunu gördük.
- Bu 5 dokuya sahip olan hastalardan alınan diğer dokularında alınan spektrumların eğiminin işaretini negatif bulduk.
- Bir hastadan alınan dokulardan en az bir tanesinde alınan spektrumun eğiminin işareti negatif ise bu hasta patolojik olarak pozitifdir.

- Sonuç olarak bu durum çalışmada kullandığımız sistemimizin pap- yayma testi ile uyumluluk içerisinde çalıştığını göstermektedir.
- Çünkü, normal dokuda hiç negatif eğim yokken anormal pap-yayma sonucu olan dokularda negatif eğim bulduk.

### B) Histopatoloji ve spektroskopi sonuçlarının karşılaştırılması

- Patolojik olarak normal dokulardan LSIL (CIN1) ve HSIL (CIN2+CIN3+CIS)' i spektroskopik olarak ayırt etmek amacıyla karşılaştırma yaptık.

Anormal pap-yayma sonucu olan dokudan alınan negatif eğimlerin sayısının toplam eğim sayısına oranı ile displastik alan yüzdesini aşağıdaki formülle hesapladık:

P: alınan negatif eğim spektrumlarının sayısı  
 N: alınan toplam spektrum sayısı  
 DY: Displastik alan yüzdesi

$$DY = \frac{P}{N} \times 100 \quad (10)$$

Tablo 4.1'de grupların doku sayısına göre dağılımı gösterilmektedir.

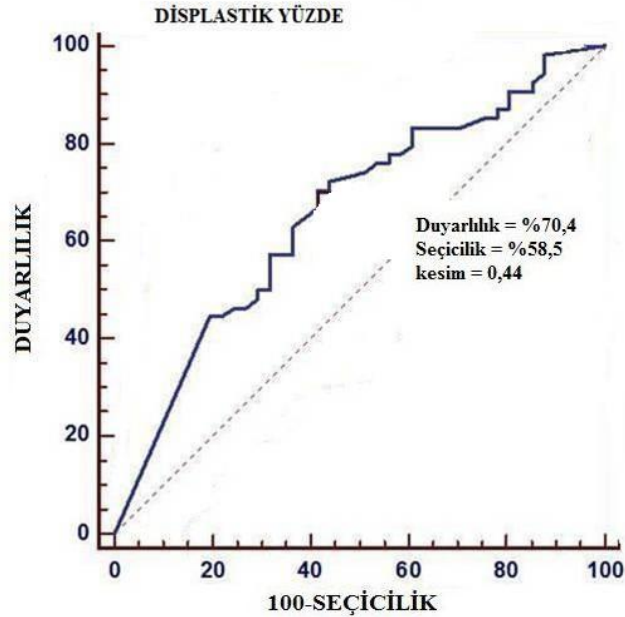
**Tablo 4.1** Grupların doku sayısına göre dağılımı

DOKU TİPİ	SAYI	YÜZDE
Patoloji normal	41	39
LSIL	36	34.3
HSIL	18	17.1
Ameliyat_normal	10	9.5
Toplam	105	100

## Normal , LSIL(CIN1) ve HSIL(CIN2+CIN3+CIS) Dokularının EISS ile Sınıflandırılması

Anormal pap-yayma sonucu olan (anormal pap-yayma grubu) 60 hastadan kolposkopik biyopsi ile çıkarılan toplam 95 adet dokunun epitelinde EISS sistemi ile ex-vivo olarak ölçümler aldık. Dokuların epitelinden alınan spektrumların negatif eğimlerine bakarak displastik yüzde hesapladık ve alınan spektrumları histopatoloji sonuçlarıyla karşılaştırdık. Histopatolojik sınıflandırmada biyopsi sonuçlarını normal, LSIL ve HSIL olarak üç grupta inceledik. Bu grupta bulunan dokulardan alınan EISS sistemi ölçümleri sonucu elde edilen displastik yüzdeler ile dokular arasında karşılaştırma yaptık. Anormal pap-yayma grubuna ameliyat-normal grubunu da dahil ederek dokular arasındaki karşılaştırmayı istatistiksel olarak analiz ettik.

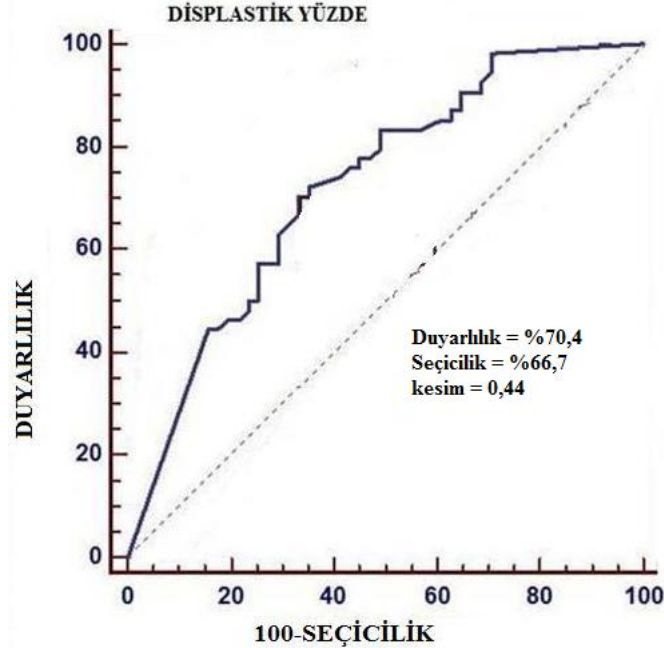
Öncelikli olarak anormal pap-yayma grubunda bulunan grup1 ile grup2'yi karşılaştırdık. Bu gruptaki dokuların displastik yüzdelerine göre ayrımı yapılarak kesim değerini 0.44 bulduk. Bu karşılaştırma sonucunda şekil 4.5'te görüldüğü gibi duyarlılığı %70.4 ve seçiciliği ise %58.5 olarak bulduk. ROC eğrisinin altında kalan alan da (AUC) 0.658 (AUC=0.5; p=0.007) olarak bulduk.



Şekil 4.5. Grup1 ile grup2' nin displastik yüzde sonuçlarının karşılaştırılması ile elde edilen ROC eğrisi

Daha sonra grup1\* ile grup2'yi karşılaştırarak analizi tekrarladık. Bu analiz sonucunda da bu gruplarda bulunan dokuların displastik yüzdelerine göre ayrımını yaparak aynı kesim değeri ve aynı duyarlılığı elde ettik, ancak seçiciliğin değerini %66.7 olarak bulduk. Ameliyat normal grubunun anormal pap-yayma grubundaki normallere dahil edilmesiyle sistemin seçiciliği %8.2 artış gösterdi. Şekil 4.6'da

görüldüğü gibi aynı kesim ve duyarlılık değerinde seçicilik artış gösterdi. ROC eğrisinin altında kalan alanı da (AUC) 0.723 (AUC=0.5; p=0.0001) olarak bulduk.



Şekil 4.6. Grup1\* ile grup2' nin displastik yüzde sonuçlarının karşılaştırılması ile elde edilen ROC eğrisi

Çalışmamızda displastik yüzdeye göre ROC analizi ve iki grup arasındaki ortalamalar arası fark testi (Mann-Whitney U) kullanarak elde ettiğimiz istatistiksel analiz sonuçlarını tablo 4.2'de gösterdik. Bu analizlerin sonucunda da en anlamlı sonuç grup1\* ve grup2 arasında bulunmuştur (p=0.0001). Tablo 4.2'de de görüldüğü gibi bu iki grubun ortalamalarını birbirinden yaklaşık olarak iki katı farklı değerde bulduk (grup1\*=0.38, grup2=0.67). Bu durum displastik dokuya ilerleme süresince displastik yüzde değerinin arttığını göstermektedir. Böylelikle sistemimizin tutarlılığı kanıtlanmaktadır. Tablo 4.3'te elde ettiğimiz spektroskopik verilerin istatistiği gösterilmektedir. Sonuç olarak yapmış olduğumuz çalışmada normalden intraepitelyal neoplaziye ilerleme süresince displastik değişimin EISS sistemi ile tespit edilebileceğini gösterdik.



**Tablo 4.2.** Displastik yüzde değişimine göre ROC analizi ve Mann-Whitney U İstatistiksel Analiz Sonuçları

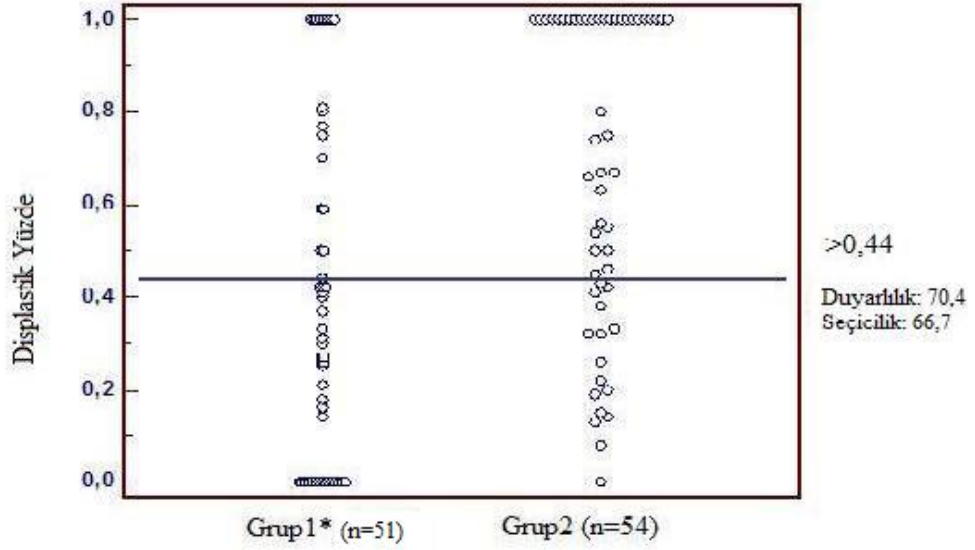
GRUPLAR	DOKU SAYISI	PATOLOJİ	p-DEĞERİ	KESİM	%DUYARLILIK	%SEÇİCİLİK	AUC	ORTALAMA	STANDART SAPMA
Grup1- Grup2	Grup1:41 Grup2:54	(Normal)- (LSIL+HSIL)	0.007 <sup>††</sup>	0.44	70.4	58.5	0.658	Grup1:0.48 Grup2:0.67	Grup1:0.33 Grup2:0.33
Grup1* Grup2	Grup1*:51 Grup2:54	(Normal+Ameliyat normal)- (LSIL+HSIL)	0.0001 <sup>††</sup>	0.44	70.4	66.7	0.723	Grup1*:0.38 Grup2:0.67	Grup1*:0.35 Grup2:0.33

**Tablo 4.3.** Spektroskopik verilerin istatistiği

		NORMAL+ AMELİYAT NORMAL	LSIL+HSIL
SPEKTROSKOPİK NORMAL	DOKU SAYISI	34 (TN)	16 (FN)
	%	%66.7	%29.6
SPEKTROSKOPİK TÜMÖR	DOKU SAYISI	17 (FP)	38 (TP)
	%	%33.3	%70.4
TOPLAM	DOKU SAYISI	51	54
	%	%100	%100

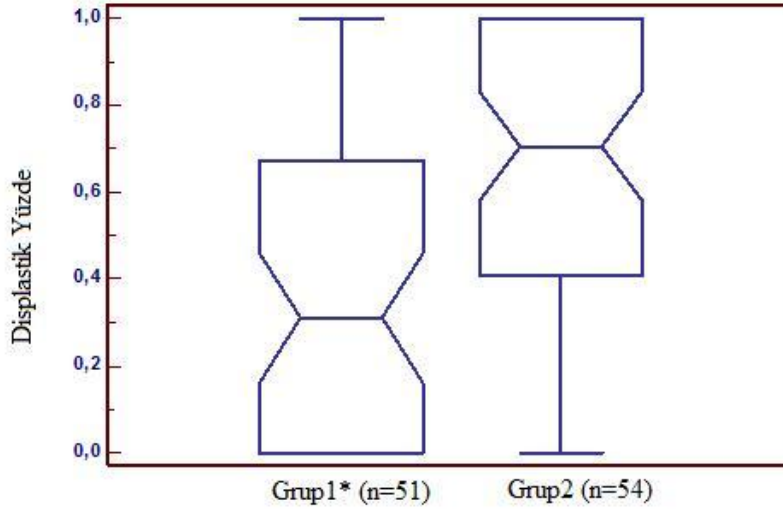
TP: True Pozitif  
 TN: True Negatif  
 FN: False Negatif  
 FP: False Pozitif

Şekil 4.7’de görüldüğü gibi yapmış olduğumuz çalışmada sistemimiz dokunun normalden displastik değişime ilerleme süresince meydana gelen farklılıkları 0.44 kesim değeri ile %70.4 duyarlılık ve %66.7 seçicilik ile ayırt edebilmektedir (p=0.0001).



Şekil 4.7. Grup1\*(normal+ameliyat-normal) ile grup2 (LSIL+HSIL)' nin 0.44 kesim değeri ile displastik yüzde değişimi

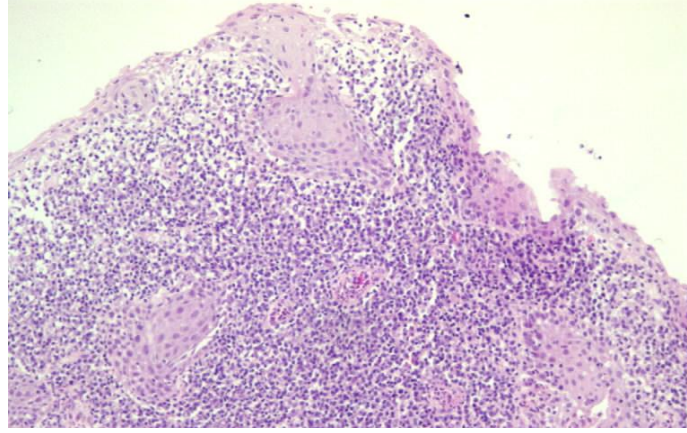
Şekil 4.8'de box-whisker çiziminde de görüldüğü gibi normalden displastik değişime ilerleme süresince displastik yüzde oranı artmaktadır.



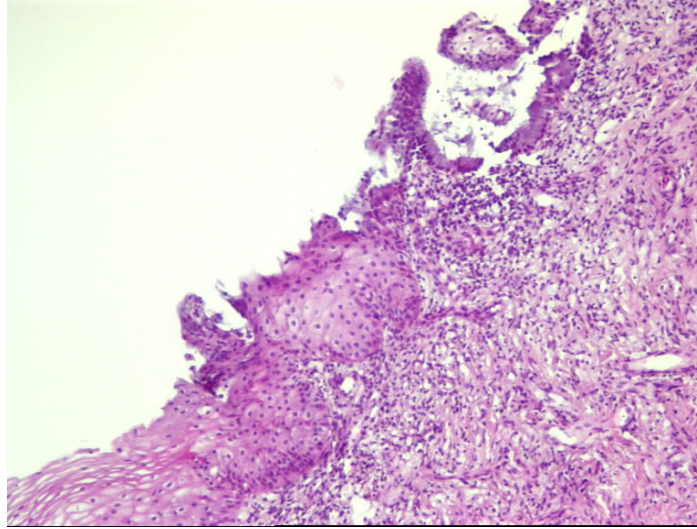
Şekil 4.8. Grupların displastik değişim yüzdelерinin box-whisker çizimi

Displastik yüzdeye göre sistemimizin seçiciliğinin düşük çıkmasındaki sebep şekil 4.9'da 100 kez büyütülmüş haliyle görüldüğü gibi çok yoğun yangı ve metaplazi

sonucu toplanan çekirdeklerin sistem tarafından tümör gibi algılanmış olmasından kaynaklanmaktadır. Sistemimizin seçiciliğinin düşük çıkmasındaki diğer bir sebep ise şekil 4.10'da 100 kez büyütülmüş haliyle gösterildiği gibi metaplaziye uğrayan hücrelerin polaritesini ve çok katlı oryantasyonunu yitirerek yassılaştırılması sonucu çekirdeklerde şekil ve boyut değişikliği sonucu sistem tarafından tümör gibi algılanmış olmasından kaynaklanmaktadır. Bu durum yanlış pozitifliği arttırmakta böylelikle sistemimizin seçiciliğinde azalmaya neden olmaktadır.



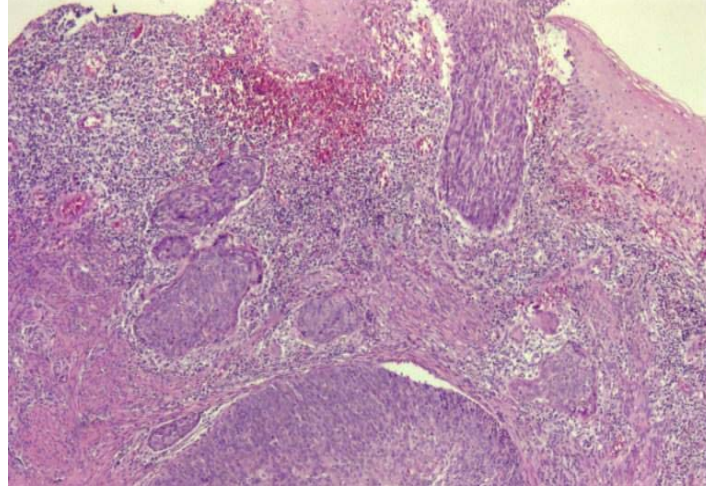
**Şekil 4.9.** Akut yangısal ataklı kronik servisit ve yassı epitel hücre metaplazisi



**Şekil 4.10.** Yassı epitel hücre metaplazisi

Displastik yüzdeye göre sistemimizin duyarlılığının düşük çıkmasındaki sebep şekil 4.11'de 50 kez büyütülmüş haliyle görüldüğü gibi dokunun HSIL ve CIS olduğu

halde bazı bölümlerinde normallikte göstermesinden kaynaklanmaktadır. Probun yapısının çok küçük olmasından dolayı ve dokudan rastgele ölçümler alındığından sistem tarafından normalmiş gibi algılanarak displazi yüzdesi az bulunmuştur. Bu durum yanlış negativiteyi arttırarak sistemimizin duyarlılığında azalmaya neden olmaktadır.



**Şekil 4.11.** HSIL ve CIS

## TARTIŞMA

Son dönemlerde yapılan optiksel metodlarla gerçek zamanda ve dokuya zarar vermeden teşhis amaçlı çalışmalar yapılmaktadır (72-75). Fiber optik prob ile dokuya gönderilen ışık tekrar toplanarak incelenmektedir. Bu tür çalışmalarda kontrol grubu olarak sağlam serviks dokularında da spektroskopik ölçümler alınmakta ve daha sonrada patolojik dokularda alınan sonuçlarla karşılaştırma yapılmaktadır. Normal ve displastik değişime uğramış olan dokularda alınan spektrumların ortalamaları alınarak bu dokular için spektrum standartları belirlenmektedir. Teşhis amacı ile alınan spektrumlar bu standart spektrumlar ile karşılaştırılarak dokunun normal veya patolojik olduğu belirlenmektedir. Bizim çalışmamızda ise bir dokudan alınan ölçümlerin eğimlerine bakarak displastik yüzdeleri hesapladık.

Displastik değişime uğramış olan dokuların morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal yapısı değiştiği için ışığı saçma ( $\mu_s$ ) ve absorblama ( $\mu_a$ ) özelliği de değişmektedir. Bu nedenle bu tür dokulardan alınan spektrumlar normal dokulardan alınan spektrumlardan farklı olmaktadır. Dokunun ışığı saçma özelliği ve absorpsiyonu kişiden kişiye ve vücutta bölgeden bölgeye değişiklik gösterdiği için normal ve displastik değişime uğramış olan doku spektrumları için genel bir standart belirlemek oldukça zor olmaktadır. Bu nedenle bu tür optik sistemler henüz pratikte kullanılamamaktadır.

Yapılan çalışmalarda normal ve displastik değişime uğramış olan serviks dokularının spektral farklılıklarına bakılarak ayırım yapılmaya çalışılmakta ve böylelikle displastik gelişimde rol oynayan morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal değişimler incelenmektedir (76-79). Bu değişimleri belirlemek ileri dereceli prekanseröz değişiklikleri diğer doku tiplerinden ayırmada önderlik etmektedir. Dokuda bu tür değişiklikler esas alınarak, farklı geometrilerdeki optik problemlerle ve farklı spektroskopik analiz yöntemleri ile yapılan çalışmalarda dokudaki bu tür değişimlere duyarlı sistemler geliştirilerek hastaya zarar vermeden ve gerçek zamanda teşhis amaçlanmaktadır.

Patologlar hücre morfolojisindeki değişikliklere bakarak teşhis yapmaktadırlar. EISS sisteminde de doku morfolojisi hakkında bilgi elde etme potansiyeli mevcuttur. Spektroskopik tekniklerle hücre morfolojisi hakkında bilgi elde etmenin tek yolu doku yüzeyinden bir veya iki kez saçılan fotonları incelemektir. EISS spektrumları dokuda çok az yol aldıklarından dolayı absorpsiyon katsayılarındaki değişimlere duyarlı değildir. Bu yüzden yapılan diğer çalışmalara kıyasla bizim çalışmamızda kullandığımız tekli fiber optik probun hastadan hastaya ve bölgeden bölgeye değişiklik gösteren saçılım ve absorpsiyon katsayılarını elimine etme potansiyeli vardır.

Servikste kanser gelişimi sürecinde, normal epitel önce metaplaziye daha sonra da displazi ve karsinomaya dönüşmektedir. Epitelyal hücrelerin displastik süreçte spektrumlarının normal epitel spektrumundan farklı olması olağan bir durumdur. Çünkü, normal epitelden displaziye ilerleme süresince dokuda hücrelerin kendi aralarında çekirdek, şekil, büyüklük ve kromozom içeriği ile epitel farklılaşma göstermektedir. Çalışmada kullandığımız proba aldığımız ölçümlerde ışık dokudaki organellerden bir veya iki defa saçılıp tekrar toplanmakta bu sayede dokunun epitelinden aldığımız ölçümlerle doku hakkında bilgi elde edilmektedir.

Canpolat ve arkadaşlarının 2001 yılında yaptıkları çalışmada EISS sistemi ile doku fantomundan alınan spektrumların saçıcıların boyutu ile değişiklik gösterdiği fakat doku fantomunun saçılım veya absorpsiyon katsayılarının değişmesiyle herhangi bir değişiklik göstermediği bulunmuştur (12). Bu durumda EISS sistemi ile geri toplanan ışık spektrumunun dokudaki biyokimyasal veya fizyolojik değişimlerden çok saçıcının boyutu ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır. Böylelikle, elde edilen spektrumların hücre morfolojisi ile özellikle çekirdek boyutu ile ilişkili olduğu söylenebilmektedir.

Chang ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınladığı çalışmasında Difüz Reflektans Spektroskopisi kullanarak servikste normal ve displastik dokuda meydana gelen değişiklikleri inceleyerek bu dokuları ayırt etmişlerdir (80). Bunu displastik süreç boyunca dokuda meydana gelen fizyolojik ve morfolojik değişiklikleri inceleyerek yapmışlardır. Bu çalışmada HbO<sub>2</sub> ve toplam Hb konsantrasyonunun normal ve LSIL grubuna göre HSIL’de artış gösterdiğini bulmuşlardır. Çalışma grubu HSIL’de normal ve LSIL grubuna kıyasla toplam Hb’de artışı fazla bulmuş (p<0.002) ve toplam Hb’ nin CIN’de normal dokuya göre istatistiksel olarak artış gösterdiğini belirlemişlerdir (p<0.023). Bu durumu HSIL’de vaskülaritenin artması yani intraepitelyal neoplazide yeni kan damarları oluşumu ya da anjiogenezisten kaynaklanan Hb’in artmasıyla açıklamaktadırlar. Ortalama indirgenmiş saçılım katsayısının da (<math>\mu\_s</math>’>) normal dokudan CIN’e ilerleme süresince azalma gösterdiğini belirlemişlerdir (p<0.002). Chang ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada ne HbO<sub>2</sub> nede toplam Hb her ikisinde normal ve LSIL için önemli bir fark göstermemektedir. Vaskülaritenin artmasının HSIL’de anlamlı bir fark gösterdiği bulunmuştur (80).

Hb konsantrasyonu doku vaskülaritesinin direkt göstergesidir ve anjiogenez sonucuda olabilmektedir. Over ya da endometriyuma kıyasla servikste neoplastik süreçte anjiogenezis çok önemli rol oynamaktadır. Abulafia ve Dellas’ın imminohistokimyasal boyama kullanılarak yaptıkları çalışmalarda vaskülar endotelyal hücrelerde mikrodamar yoğunluğu yani toplam Hb artmış olduğunu bununda servikal prekanser dereceleme ile pozitif olarak uyum gösterdiği bulmuşlardır (81,82). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda prekanseröz lezyonların altındaki bazal membran boyunca neovaskülarizasyon görülmüştür. Bu durum anjiogenezisin önceden oluştuğunu ya da invaziv karsinoma ilerleme sürecini göstermektedir. Bu da klinik olarak kolposkopide servikse asetik asit uygulamasından sonra görünen mozaik mikrovasküler örgü olarak görülmektedir.

Kollajen görünür dalga boyundaki en önemli saçıcı olduğu için normal dokuya kıyasla intraepitelyal neoplazilerde stromal saçılımın daha az olması beklenmektedir. Epitelyal hücrelerin displastik süreçte saçılımının artması beklendiği halde (83), stromal saçılım kollajenin bozulmasından dolayı azalma göstermektedir. Bizim çalışmamızda ise probun yapısından dolayı epitelden ölçüm alındığı için displastik dokularda normal dokuya kıyasla saçılım artış göstermektedir. Bu yüzden LSIL ve HSIL'deki gibi displastik değişime uğramış olan dokuların epitelinde alınan EISS sinyalinin displastik yüzdesi normal dokuya göre artış göstermektedir.

Feld ve arkadaşlarının Difüz Reflektans Spektroskopisi kullanarak yapmış olduğu çalışmalarında metaplastik süreçten HSIL'e ilerleme sürecinde saçılımda azalma gözlemlemişlerdir (84). Toplam 44 hasta üzerinde 97 dokuda çalışma yapılmış ve kolposkopik olarak normal alanları dahil etmeden yaptıkları analizde %92 duyarlılık ve %71 seçicilik ile HSIL'i displastik olmayan dokudan ayırt etmişlerdir. Ancak kolposkopik olarak normal olan alanları da analize dahil ettiklerinde seçiciliğin %90'a çıktığını bulmuşlardır (84). Bunun nedeni kullanmış oldukları probun yapısından kaynaklanmaktadır. Stromaya kadar inen ışık kollajen fiberlerin yapısının bozulmasından dolayı az saçılmaktadır. Bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak dokunun saçılım özelliklerinden çok absorpsiyon özelliklerinden faydalanarak analiz yapılmıştır.

Hornung ve Pham'ın yapmış oldukları çalışmada normal ve HSIL'de Hb saturasyonunda anlamlı bir fark bulamamışlardır (85). Mourant ve arkadaşlarının 2007 yılında 500-1000 nm dalga boyu aralığında polarize elastik ışık saçılımı kullanarak yaptıkları çalışmada HSIL ile normal, LSIL, servisit dokuları arasında toplam Hb'de anlamlı bir fark bulamamışlardır. İstatistiksel olarak anlamlı p değerleri buldukları spektrometrik parametrelerin dokunun saçılım özelliklerindeki değişimlere duyarlı olduklarını bulmuşlardır (86). Polarizasyon tekniği ile yapılan bu tür çalışmalarda turbid ortamdan gelen ve yansıyan ışığın polarizasyon durumları birbirleri ile aynıdır. Böylelikle geri toplanan ışığın büyük bir kısmı tek bir defa saçılıma uğramış olan fotonlardan oluşmaktadır. Bu teknik ile yapılan çalışmalarda da bizim çalışmamızda olduğu gibi geri toplanan ışık dokunun biyokimyasal değişimlerinden çok morfolojik değişimlerine duyarlılık göstermektedir. Mourant ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma sonucunda da bizim çalışmamızdaki gibi doku epitelinin HSIL'de daha çok artmış saçılım gösterdiğini bulmuşlardır (86).

Mourant ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınladıkları çalışmalarında HSIL'i ışık saçılma spektroskopisi ile in-vivo olarak teşhis etmeye çalışmışlar ve toplam 362 biyopsi üzerinde ölçüm almışlardır (87). 181 tanesi kolposkopik olarak normal ve biyopsi yapılmamış alan, geri kalan 181 doku ise biyopsi yapılmış dokulardır. Histopatolojik inceleme sonucu bu biyopsiler normal, LSIL, HSIL ve kanser olarak gruplandırılmıştır. Yaptıkları prob ile dokuya ışık göndermekte ve geri toplanan polarize ve unpolarize ışığı ölçerek dokunun biyokimyasal ve morfolojik yapısı hakkında bilgi elde etmektedirler. İstatistiksel analizlerini eğim ve geri topladıkları ışık şiddetine göre yapmışlar ve çalışmada kolposkopik olarak normal alanı içererek sınıflandırma yaptıklarında HSIL ve

kanseri displastik değişim olmayan gruba göre %77 duyarlılık ve %68 seçicilik ile tespit etmişlerdir. Kolposkopik olarak normal alanı dahil etmeden analiz yaptıklarında HSIL ve kanseri %77 duyarlılık ve %44 seçicilik ile tespit etmişlerdir. Çalışma sonucunda negatif eğimin HSIL'de displastik değişim olmayan gruba göre daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir (87). Bu değişiminde displastik değişime uğrayan dokuların ekirdeklerindeki DNA'da meydana gelen değişimden kaynaklandığını yani hiperkromazi sonucu olduğunu söylemektedirler (88). Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda kullandığımız EISS sisteminin daha önceki benzer yöntemlerle yapılan araştırmalarla uygunluk içersinde olduğunu söyleyebiliriz.

Daha önce yapılan floresans spektroskopisi çalışmalarında normal dokuya kıyasla intraepitelyal neoplazilerde kollajenin azaldığı gözlenmiştir (89-91). 1996 yılında Kortum ve arkadaşlarının yapmış olduğu floresans çalışmasında 95 hasta üzerinde 381 dokuda çalışma yapılmıştır. 381 dokunun %59'u normal epitel dokusu olup çalıştıkları sistem ile Leave-One-Out (LOO) geçerlilik metodu kullanarak HSIL'i LSIL ve displastik olmayan grubtan %79±2 duyarlılık ve %78±6 seçicilik ile ayırt etmeyi başarmışlardır (92). Bizim çalışmamızdan farklı olarak seçiciliğin bu kadar başarılı ıkımasındaki sebep yüksek yüzdeli normal serviks dokusu ile çalıştıklarından kaynaklanmaktadır. Yine Kortum ve arkadaşlarının 2005 yılında yapmış oldukları başka bir çalışmada ise floresans ve reflektans spektroskopisi metodunu kullanarak HSIL'i displastik olmayan dokudan ayırt etmeye çalışmışlardır. Toplam 161 hastada 324 doku üzerinde çalışılmış ve LOO geçerlilik metodu kullanılarak floresans yöntemi ile %83 duyarlılık ve %80 seçicilik, reflektans yöntemiyle ise %72 duyarlılık ve %81 seçicilik ile HSIL'i displastik olmayan dokudan ayırt etmeyi başarmışlardır (93). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada kullandığımız probun çok küçük yapıda olmasından ve kontrol grubundaki hasta ve doku sayısının az olmasından dolayı displastik yüzdeye göre sistemimizin intraepitelyal neoplazileri normal dokudan ayırt etmede duyarlılığı ve seçiciliği bu çalışmaya göre daha az bulunmuştur.

Tüm bu yapılan araştırmalara kıyasla yapmış olduğumuz çalışmada kullandığımız EISS sistemiyle anormal pap-yayma sonucu olan hastaların dokularından alınan ölçümlerle histerektomi yapılan hastaların sağlam serviks dokularından alınan ölçümler karşılaştırıldı. Normal dokuda hiç negatif eğim yokken anormal pap-yayma sonucu olan hastalarda negatif eğim bulundu. Bunun sonucunda sistemimizin pap-yayma testi ile uyumluluk içerinde çalıştığı belirlendi. Bu zamana kadar yapılan çalışmalarda farklı geometrilere sahip problemlerle ve farklı spektroskopik yöntemlerle servikte meydana gelen intraepitelyal neoplaziler normal dokudan ayırt edilmeye çalışılmaktadır. Bu çalışmada kullandığımız EISS sistemi ile paralellik gösteren farklı spektroskopik sistemlerle yapılan çalışmalar incelenmiş ve sistemimizin normalden displastik değişime ilerleme süresince dokuda meydana gelen değişiklere duyarlı olduğu bulunmuştur.



## SONUÇLAR

Kanser, günümüzde önemli sağlık sorunlarından birisidir. Bu hastalığın öncü lezyonlarının tanısında, hastanın sağlığına kavuşma olasılığı yüksektir. Bu öncü lezyonların daha yüksek olasılık ve doğrulukla kolay tanımlanmaları önem arz etmektedir. Dokularda kanser öncesi aşamada gözlenen hücresel düzeydeki değişimleri belirlemede başarımlı açısından büyük umutlar veren EISS yönteminin patolojiyi önceden tanınması belkide cerrahi yöntemle gerek kalmadan yapabilmesi bu yöntemi ilgi çekici kılmaktadır. Akdeniz Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına başvuran toplam 70 hasta çalışmaya dahil edilip bu hastalardan alınan toplam 105 adet doku üzerinde çalışma yapılmıştır. Anormal pap-yayma sonucu olan 60 hastadan kolposkopik muayene sonucu biyopsi ile çıkarılan toplam 95 adet dokunun epitelinde ex-vivo spektroskopik ölçümler alınmıştır. Alınan spektrumlar histopatolojik incelemeyle karşılaştırılmış ve sonuçta EISS sisteminin normal ve premalign dokuyu ayırt etme potansiyeli olduğu gösterilmiştir. Kontrol grubu olarak servikal patolojisi olmayan ve histerektomi yapılan toplam 10 hastanın 10 serviksinde alınan spektrumlar kullanılarak anormal pap-yayma sonucu olan hastalardan alınan spektrumlarla karşılaştırma yapılmıştır. Geliştirilen EISS sistemi ile serviks epitelinde displastik değişime uğramış hücreler bulduran dokuyu normal dokudan ayırt etmek için dokular üzerinde ex-vivo deneyler yapılmıştır. Çalışmamızda anormal pap-yayma sonucu olan hastaların dokularından alınan ölçümlerle histerektomi yapılan hastaların sağlam serviks dokularından alınan ölçümlerin karşılaştırılması sonucu sistemimizin pap- yayma testi ile uyumluluk gösterdiğini bulduk. Böylelikle çalışmada kullandığımız EISS sisteminin in-vivo olarak kullanılma ve pap-yayma testinin yerine geçme potansiyeli bulunmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız probun çok küçük yapıda olmasından ve kontrol grubundaki hasta ve doku sayısının az olmasından dolayı displastik yüzdeye göre sistemimizin intraepitelyal neoplazileri normal dokudan ayırt etmede duyarlılığı %70.4 ve seçiciliği ise %66.7 olarak bulunmuştur (p=0.0001). Hastadan herhangi bir sürüntü almadan, hastaya herhangi bir girişimsel müdahalede bulunulmadan, enfeksiyon riski oluşturmayan, patoloji sonucu bekleme süresi olmadan gerçek zamanlı, ucuz, kolay taşınabilir bir sistem olan EISS sistemi ile servikste displastik gelişim gösteren doku normal dokudan rahatlıkla ayırt edilebilmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Feld M. S., Backman V., Wallace M., Zonios G., Manoharan R., Nusrat A., Shields S., Seiler M., Lima C., Hamano T., Itzkan I., Van Dam J., Crawford J. M. and Perelman L. T., "Observation of periodic Fine Structure in Reflectance from Biological Tissue: A New Technique for Measuring Nuclear size distribution". *Phys. Rev. Lett.* 80;3 : 627-630, 1998.
2. Bigio I. J. and Mourant J. R., "Ultraviolet and visible spectroscopies for tissue diagnostics: fluorescence spectroscopy and elastic-scattering spectroscopy". *Phy. Med. Biol.* 42;5 : 803-814, 1997.
3. Jin XW, Cash J. and Kennedy AW. "Human papillomavirus typing and the reduction of cervical cancer risk". *Cleveland Clin. J. Med.* 66;9 : 533-539, 1999.
4. Boyle P and Ferlay J. "Cancer Incidence and Mortality in Europe, 2004". *Annals of Oncology.* 16;3 : 481-488, 2005.
5. Atasü T. and Şahmay Ş. "Serviksin malign hastalıkları". *Jinekoloji Logos.* 257-264, 2001.
6. Kortum R.R., Sokolov K., Aaron, J., Hsu B., Nida D., Gillenwater A., MacAulay C., Adler-Storthz K., Korgel B., Descour M., Pasqualini R., Arap W., Lam W. and Follen M., "Optical Systems for In Vivo Molecular Imaging of Cancer". *Technology in Cancer Research & Treatment.* 2;6 : 491-504, 2003.
7. Feld M.S., Backman V., Perelman L. T., Georgakoudi I., Badizadegan K., Dasari R., Itzkan I. and Gurjar R., "Imaging of Human Epithelial Properties with Polarized Light Scattering Spectroscopy". *Nature Medicine.* 7;11 : 1245-1248, 2001.
8. Feld M.S., Backman V., Gopal V., Kalashnikov M., Badizadegan K., Wax A., Georgakoudi I., Mueller M., Boone C.W., Dasari R.R., and Gurjar R., "Measuring Cellular Structure at Submicron Scale with Light Scattering Spectroscopy". *IEEE J. Sel. Top. Quant. Elect.* 7;6 : 887-894, 2001.
9. Feld M.S., Backman V., Perelman L.T., Arendt J.T., Muller M.G., Zhang Q., Zonios G., Kline E., McGillican T., Valdez T., Van Dam J., Wallace M., Badizadegan K., Crawford J.M., Fitzmaurice M., Kabani S., Levin H.S., Seiler M., Dasari R.R., Itzkan I. and Gurjar R., "Light Scattering Spectroscopy: A New Technique for Clinical Diagnosis of Precancerous And Cancerous Changes in Human Epithelia". *Lasers in Life Sciences.* 9;11 : 255-263, 2001.

10. Feld M. S., Backman V., Perelman L.T., Arendt J.T., Gurjar R., Muller M.G., Zhang Q., Zonios G., Kline E., McGillican T., Valdez T., Van Dam J., Wallace M., Badizadegan K., Crawford J.M., Fitzmaurice M., Kabani S., Seiler M., Dasari R.R., Itzkan I. and Levin H.S., "Detection of Preinvasive Cancer Cells In Situ". *Nature*. 406;6791 : 35-36, 2000.
11. Feld M.S., Georgakoudi I., Jacobson B., Van Dam J., Backman V., Muller M., Zhang Q., Badizadegan K., Sun D., Thomas G., Perelman L.T. and Wallace M., "Fluorescence, Reflectance and Light-Scattering Spectroscopy for Evaluating Dysplasia in Patients With Barrett's Esophagus". *Gastroenterology*. 120;7 : 1620-1629, 2001.
12. Canpolat M. and Mourant J. R. "Particle Size Analysis of Turbid Media with a Single Optical Fiber in Contact with the Medium to Deliver and Detect White Light". *Applied Optics*. 40;22 : 3792-3799, 2001.
13. Canpolat M. and Demir U. "Estimation of the average size of white light scatterers in normal and cancerous tissue using light scattering spectrum". United States Patent Application Publication. 0165456 A1, 2002.
14. <http://www.kanser.org/>
15. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Kanser>
16. Cotran S.R., Kumar V. and Robbins S.L., "Pathologic Basis of Disease". W.B. Saunders Company, Ivan Damjanov MD (University of Kansas Medical Center). 6 : 239-306; 1989.
17. Miller A.B., Nazeer S., Fonn S., Brandup L.A., Rehman R., Cronje H., Sankaranarayanan R., Koroltchouk V., Syrjänen K., Singer A. and Onsrud M., "Report on consensus conference on cervical cancer screening and management". *Int Cancer*, 86;3 : 440-447, 2000.
18. WHO Cytological screening in the control of cervical cancer: Technical guideline. Geneva, 1988.
19. Rotkin I.D. "Adolescent coitus and cervical cancer: associations of related events with increased risk". *Cancer Res*. 27;4 : 603-617, 1967.
20. Franco E.L., Filho N.C., Villa L.L. And Torloni H. "Correlation patterns of cancer relative frequencies with some socioeconomic and demographic indicators in Brazil: an ecologic study". *Int J Cancer*. 41;1 : 24-29, 1988.
21. Winkelstein W.Jr. "Smoking and cervical cancer current status:a review". *Am J Epidemiol*. 131;6 : 945-957, 1990.
22. Bosch F.X., Munox N., Sanjose S., Izarzugaza I., Gili M., Viladiu P., Tormo M.J., Moreo P., Ascunce N. and Gonzalez L.C. "Risk factors of cervical cancer in Colombia and Spain". *Int J Cancer*. 52;5 : 750-758, 1992.

23. Brinton L.A., Hamman R.F., Huggins G.R., Lehman H.F., Levine R.S., Mallin K. and Fraumeni J.F. "Sexual and reproductive risk factors for invasive squamous cell cervical cancer". J Natl Cancer Inst. 79;1 : 23-30, 1987.
24. Wright T.C. and Richart R.M. "Role of Human Papilloma Virüs in the pathogenesis of genital tract warts and cancer". Gynecologic oncology. 37;2 : 151-164, 1990.
25. Schiffmon M.H., Bover H.M., Heover R.N., Glass A.G. and Codell D.M. "Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia". Articles Journal of the National Cancer institute. 85;12 : 958-964, 1993.
26. Çiçek M.N., Akyürrek C., Çelik Ç. and Haberal A. "Kadın Hastalıkları Ve Doğum Bilgisi". Güneş. 557-566, 2004.
27. Dısaia J.P. and Creasman T.W. "Invasive cervical cancer". Klinik Jinekolojik Onkoloji. Elsevier Science. 71-111, 2002.
28. Patnick J. "Cervical screening: quality assurance developments in Europe". CME Journal of Gynecologic Oncology. 21;5 : 437-438, 2000.
29. Solomon D., Daveg D., Karman R., Moriarty A., O'Connor D., Prey M., Raab S., Sherman M., Wilbur D., Wright T.Jr. and Young N. "The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology". JAMA. 287;16 : 2114 – 2119, 2002.
30. APGO Objectives. "Cervical neoplasia and carcinoma". Beckman CRB editors. Obstetrics and Gynecology. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 547-565, 2002.
31. Atasü T. and Aydınlı K. "Serviks embriyolojisi ve histolojisi". Jinekolojik Onkoloji. İstanbul:Logos, 178-259, 1999.
32. Burger R.A., Creasman W.T., Disaia P.J., Monk B.J. and Mutch D.G. "Serviksin preinvaziv hastalığı". DiSaia P.J. and Creasman W.T. editors. Klinik Jinekolojik Onkoloji. Ankara: Güneş, 1-30, 2003.
33. Burke L., Antonioli D.A. and Ducatman B.S. "Colposcopy, Pregnancy&Colposcopy and HPV Colposcopy". Text Appletion&Lange. 153-175, 1991.
34. Hill E.C. and Pernoll M.L. "Benign disorders of the uterine cervix". Current Obstetric &Gynecologic Diagnosis & Treatment.Eds. Appelton&Lange. 731-743, 1994.
35. Atasü T. and Şahmay S. "Serviksin selim lezyonları". Jinekolojik Onkoloji. İstanbul:Logos, 249-254, 2001.
36. Barron B.A. and Richart R.M. "A statistical model of the natural history of cervical carcinoma based on a prospective study of 557 cases". J Natl Cancer Inst. 41;6 : 1343-1353, 1968.

37. Wright T.C. and Kurman R.J. "A critical review of the morphologic classification systems of preinvasive lesions of the cervix: the scientific basis of the paradigm". *Palliomavirus Rep.* 6;5 : 175-182, 1994.
38. Buckley C.H., Butler E.B. and Fox H. "Cervical intraepithelial neoplasia", *Journal of Clinical Pathology.* 35;1 : 1-13, 1982.
39. Beek S.J., Adashi E.Y. and Hillard A.P. "Novak Jinekoloji". *Nobel Tıp, Erk A. Komisyon.* 435-458, 1998.
40. Zur Hausen J., Schulte H.H., Wolf H., Dörries K. and Egger H. "Attempts to detect virus-specific DNA in human tumors. II. Nucleic acid hybridizations with complementary RNA of human herpes group viruses". *Int J Cancer.* 13;5 : 657-664, 1974.
41. Meisels A., Roy M., Fortier M. and Morin C. "Condylomatous lesions of the cervix: morphologic and colposcopic diagnosis". *Am J Diag Gynecol Obstet.* 13;1 : 109-116, 1979.
42. La Vecchia C., Franceschi S., Decarli A., Fasoli M., Gentile A., Parazzini F. and Regallo M. "Sexual factor, venereal diseases, and the risk of intraepithelial and invasive cervical neoplasia". *Cancer.* 58;4 : 935-941, 1986.
43. Trimble CL, Genkinger JM, Burke AE, Hoffman S.C., Helzlsouer K.J., Diener-West M., Comstock G.W. and Alberg A.J. "Active and passive cigarette smoking and the risk of cervical neoplasia". *Obstet Gynecol.* 105;1 : 174-181, 2005.
44. Steckley S.L., Pickworth W.B. and Haverkos H.W. "Cigarette smoking and cervical cancer: Part II: a geographic variability study". *Biomed Pharmacother.* 57;2 : 78-83, 2003.
45. Brinton L.A. "Oral contraceptives and cervical neoplasia". *Contraception.* 43;6 : 581-595, 1991.
46. Ursin G., Henderson B.E., Haile R.W., Pike M.C., Zhou N., Diep A. and Bernstein L. "Does oral contraceptive use increase the risk of breast cancer in women with BRCA1/BRCA2 mutations more than in other women?". *Cancer Research.* 57;17 : 3678-3681, 1997.
47. Brinton L.A., Huggins G.R., Lehman H.F., Malin K., Savitz D., Trapido E., Rosenthal J. and Hoover R. "Long-term use of oral contraceptives and risk of invasive cervical cancer". *Int J Cancer.* 38;3 : 339-344, 1986.
48. Slattery M.L., Abbott T.M., Overall J.C., Robison L.M., French T.K., Jolles C., Gardner J.W. and West D.W. "Dietary vitamin A,C, and E and selenium as risk factors for cervical cancer". *Epidemiology.* 1;1 : 8-15, 1990.
49. Meyskens F.L., Surwit E.A., Graham V., Droegemueller W., Alberts D., Chvapil M., Dorr R.T. and Davis J.R. "Evaluation of topically applied trans-retinoic acid in the treatment of cervical intraepithelial lesions". *Am J Obstet Gynecol.* 143;7 : 821-823, 1982.

50. Mobley J. and Vo-Dinh T., "Optical properties of tissue". Biomedical photonics handbook, 2-1-2-74, 2005.
51. Shangguan H., Prahl S. A., Jacques S. L., Casperson L. W. and Gregory K. W., "Pressure Effects on Soft Tissues Monitored by Changes in Tissue Optical Properties". SPIE Proceedings of Laser-Tissue Interaction IX. 3254;50 : 366–371, 1998.
52. Mourant J.R., Freyer J.P., Hielscher A.H., Eick A.A., Shen D. and Johnson T.M., "Mechanisms of light scattering from biological cells relevant to noninvasive optical-tissue diagnostics". Appl. Opt. 37;16 : 3586-3593, 1998.
53. Jacques S. "Origins of tissue optical properties in the UVA, visible, and NIR Regions", OSA TOPS on Advances in Optical Imaging and Photon Migration, 2 : 364-369, 1996.
54. Boulnois J.L., "Photophysical processes in recent medical laser developments". Lasers Med. Sci. 1;1 : 47-66, 1986.
55. Bolin F.P., Preuss L.E., Taylor R.C. and Ference R.J., "Refractive index of some mammalian tissue using a fiber optic cladding method". Appl. Opt. 28;12 : 2297-2303, 1989.
56. Tearney G.J., Brezinski M.E., Southern J.F., Bouma B.E., Hee M.R. and Fujimoto J.G., "Determination of the refractive index of highly scattering human tissue by optical coherence tomography". Opt. Lett. 20;21 : 2258-2260, 1995.
57. Dam J.S., "Optical analysis of biological media - continuous wave diffuse spectroscopy", Dissertation thesis, Lund Institute of Technology, 2000.
58. Bransden B.H. and Joachain C.J., "Physics of atoms and molecules". 1983.
59. Svanberg S., "Atomic and molecular spectroscopy – Basic aspects and practical applications". Springer Verlag, 2004.
60. Palsson S., "Methods, instrumentation and mechanisms for optical characterization of tissue and treatment of malignant tumours", Dissertation thesis, Lund Institute of Technology, 2003.
61. Jacques S.L., Alter C.A. and Prahl S.A., "Angular dependence of HeNe laser light scattering by human dermis", Lasers Life Sci. 1;4 : 309-333, 1987.
62. Arnfield M.R., Tulip J. and McPhee M.S., "Optical propagation in tissue with anisotropic scattering", IEEE Trans. Biomed. Eng. 35;5 : 372-381, 1988.
63. Niemz M.H., "Laser- tissue interactions: Fundamentals and Applications". Springer Verlag. 111-114, 1996.
64. Welch A.J. and Gemert M.J.C., "Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue", Phys. Med. Biol. 42;2 : 441- 442, 1997.
65. Henyey L.G. and Greenstein J.L., "Diffuse radiation in the galaxy", Astrophys. J. 93;1 : 70-83, 1941.

66. Cheong W.F., Prahl S.A. and Welch A.J., "A review of the optical properties of biological tissues", *IEEE J. Quant. Electr.* 26;12 : 2166-2185, 1990.
67. Wriedt T. "A review of elastic light scattering theories". *Particle & Particle Systems Characterization*. 15;22 : 67-74, 1998.
68. Bigio I.J. and Bown S.G., "Spectroscopic Sensing of Cancer and Cancer Therapy", *Cancer Biology & Therapy*. 3;3 : 259-267, 2004.
69. Mourant J.R. and Bigio I.J., "Elastic-Scattering Spectroscopy and Diffuse Reflectance", *Biomedical Photonics Handbook*, 2003.
70. <http://www.oceanoptics.com/Products/usb2000.asp>.
71. Ateş, F., "Cancer Diagnosis Via Elastic Scattering Spectroscopy" Yüksek Lisans Tezi, Boğaziçi Üniversitesi, 2005.
72. <http://www.wavemetrics.com>
73. Ramanujam N., Mitchell M.F., Mahadevan A., Warren S., Thomsen S., Silva E., and Kortum R.R. "In vivo diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia using 337-nm-excited laser-induced fluorescence". *Medical Sciences*. 91;21 : 10193-10197, 1994.
74. Schomacker K.T., Meese T.M., Jiang C., Abele C.C., Dickson K., Sum S.T. and Flewelling R.F. "Novel optical detection system for in vivo identification and localization of cervical intraepithelial neoplasia". *Journal of Biomedical Optics*. 11;3 : 34009-34021, 2006.
75. Rodero A.B., Silveira L.Jr., Rodero D.A., Racanicchi R and Pacheco M.T. "Fluorescence Spectroscopy for Diagnostic Differentiation in Uteri's Cervix Biopsies with Cervical/Vaginal Atypical Cytology". *J Fluoresc.* 18;5 : 979-985, 2008.
76. Kortum R.R., Follen M., Marin N. and Chang S.K. "Model-based analysis of clinical fluorescence spectroscopy for in vivo detection of cervical intraepithelial dysplasia". *Journal of Biomedical Optics*. 11;2 24008-24020, 2006.
77. Drezek R.A., Kortum R.R, Brewer M.A., Feld M.S., Pitris C., Ferenczy A., Faupel M.L. and Follen M. "Optical imaging of the cervix". *Cancer Suppl.* 98;9 : 2015-2027, 2003.
78. Chang S.K., Follen M., Malpica A., Utzinger U., Staerkel G., Cox D., Atkinson E.N., MacAulay C. and Kortum R.R. "Optimal excitation wavelengths for discrimination of cervical neoplasia". *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 49;10 : 1102-1111, 2002.
79. Huh W.K., Cestero R.M., Garcia F.A., Gold M.A., Guido R.S., McIntyr S.K., Harper D.M., Burke L., Sum S.T., Flewelling R.F. and Alvarez R.D. "Optical detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia in vivo: results of a 604-patient study". *Am. J. Obstet. Gynecol.* 190;5 : 1249-1257, 2004.

80. Chang V.T., Cartwright P.S., Bean S.M., Palmer G.M., Bentley R.C and Ramanujam N., “Quantitative Physiology of the Precancerous Cervix In Vivo through Optical Spectroscopy” *Neoplasia* 11;4 : 325-332, 2009.
81. Dellas A., Moch H., Schultheiss E., Feichter G., Almendral A.C, Gudat F., and Torhorst J., “Angiogenesis in cervical neoplasia: microvessel quantitation in precancerous lesions and invasive carcinomas with clinicopathological correlations”. *Gynecol Oncol*, 67;1 : 27–33, 1997.
82. Abulafia O. and Sherer D. “Angiogenesis in the uterine cervix”. *Int J Gynecol Cancer*. 10;5 : 349-357 , 2000.
83. Collier T. “Sources of scattering in cervical tissue: determination of the scattering coefficient by confocal microscopy”. *Appl Opt*. 44;11 : 2072- 2332, 2005.
84. Feld M.S., Georgakoudi I., Sheets E.E., Müller M.G., Backman V., Badizadegan K., Dasari R.R. and Crum C.P., “Trimodal spectroscopy for the detection and characterization of cervical precancers in vivo”. *J. Obstet Gynecol* 186;3 : 374–382, 2002.
85. Hornung R., Pham T.H., Keefe K.A., Berns M.W., Tadir Y. and Tromberg B.J. “Quantitative near-infrared spectroscopy of cervical dysplasia in vivo”. *Hum Reprod* 14;11 : 2908–2916, 1999.
86. Mourant J.R., Bocklage T.J., Powers T.M., Greene H.M., Bullock K.L., Marr-Lyon L.R., Dorin M.H., Waxman A.G., Zsemlye M.M. and Smith H.O. “In vivo light scattering measurements for detection of precancerous conditions of the cervix”. *Gynecol Oncol*. 105 ; 2 : 439–445, 2007.
87. Mourant J.R., Powers T.M., Bocklage T.J., Greene H.M., Dorin M.H., Waxman A.G., Zsemlye M.M. and Smith H.O. “In vivo light scattering for the detection of cancerous and precancerous lesions of the cervix”. *Applied optics*. 48;10 : 26-35, 2009.
88. Kortum R.R., Drezek R., Collier T., Boiko I., Malpica A., Macaulay C., Follen M. and Guillard M., “Light scattering from cervical cells throughout neoplastic progression: influence of nuclear morphology, DNA content, and chromatin texture”. *J. Biomed. Opt*. 8;1 : 7–16, 2003.
89. Ramanujam N., Mitchell M.F., Mahadevan A., Warren S., Thomsen S., Silva E. and Kortum R.R. “In vivo diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia using 337-nm-excited laser-induced fluorescence”. *Proc Natl Acad Sci*. 91;21 : 10193–10197, 1994.
90. Drezek R., Sokolov K., Utzinger U., Boiko I., Malpica A., Follen M. and Kortum R.R. “Understanding the contributions of NADH and collagen to cervical tissue fluorescence spectra: modeling, measurements, and implications”. *J Biomed Opt*. 6;4 : 385–396, 2001.



- 91.** Pavlova I., Sokolov K., Drezek R., Malpica A., Follen M., and Kortum R.R. "Microanatomical and biochemical origins of normal and precancerous cervical autofluorescence using laser-scanning fluorescence confocal microscopy". *Photochem Photobiol.* 77;5 : 550–555, 2003.
- 92.** Kortum R.R., Ramanujam N., Jansen A.M., Thomsen S.L., Staerckel G., Malpica A., Wright T., Atkinson N. and Mitchell M.F., "Cervical precancer detection using a multivariate statistical algorithm based on laser-induced fluorescence spectra at multiple excitation wavelengths". *Photochem. Photobiol.* 64;4 : 720–735, 1996.
- 93.** Kortum R.R., Chang S. K., Atkinson E. N., Cox D., Malpica A., Follen M. and Mirabal Y. N., "Combined reflectance and fluorescence spectroscopy for in vivo detection of cervical pre-cancer". *J. Biomed. Opt.* 10;2 : 24-31, 2005.

## ÖZGEÇMİŞ

Tuba DENKÇEKEN, 1983 yılında Gaziantep’ te doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Gaziantep’ te tamamladı. 2001 yılında Gaziantep Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fizik Mühendisliği Bölümü’nde üniversite eğitimine başladı. Lisans diplomasını 2006 yılında aldı ve aynı yıl Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. Halen Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır. Yabancı dili İngilizce’dir.

