

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

**ELASTİK IŞIK SAÇILMA SPEKTROSKOPİSİ
SİSTEMİNİ (EISS) KULLANARAK PROSTAT
TÜMÖR DOKUSU POZİTİF CERRAHİ SINIRLARIN
BELİRLENMESİ**

Tuba DENKÇEKEN

Doktora Tezi

Antalya, 2014

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

**ELASTİK IŞIK SAÇILMA SPEKTROSKOPİSİ
SİSTEMİNİ (EISSS) KULLANARAK PROSTAT
TÜMÖR DOKUSU POZİTİF CERRAHİ SINIRLARIN
BELİRLENMESİ**

Tuba DENKÇEKEN

Doktora Tezi

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Murat CANPOLAT**

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No:2013.03.0122.012)

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir.”

Antalya, 2014

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kurulu ve Akdeniz Üniversitesi Senato Kararı

Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 22/06/2000 tarih ve 02/09 sayılı enstitü kurul kararı ve 23/05/2003 tarih ve 04/44 sayılı senato kararı gereğince "Sağlık Bilimleri Enstitülerinde lisansüstü eğitim gören doktora öğrencilerinin tez savunma sınavına girebilmeleri için, doktora bilim dalında SCI tarafından taranan dergilerde en az bir yurtdışı yayın yapması gerektiği" ilkesi gereğince yapılan yayın ve diğer yayınlar aşağıdadır.

1. Baykara M, Denkceken T, Bassorgun I, Akin Y, Yucel S, and Canpolat M. Detecting Positive Surgical Margins Using Single Optical Fiber Probe During Radical Prostatectomy: A Pilot Study. Urology, Technology and Engineering, Article In Press.
2. Denkceken T, Simşek T, Erdoğan G, Peştereli E, Karaveli S, Ozel D, Bilge U, Canpolat M. Elastic Light Single-Scattering Spectroscopy for the Detection of Cervical Precancerous Ex vivo. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, Vol. 60, No. 1, January 2013
3. Canpolat M, Yucel S, Sircan-Kucuksayan A, Kol A, Kazanci HO, Denkceken T. Diagnosis of testicular torsion by measuring attenuation of dual wavelengths in transmission geometry across the testis: an experimental study in a rat model. Urology. 2012 Apr;79(4):966.e9-12. doi: 10.1016/j.urology.2011.12.005. Epub 2012 Feb 7.
4. Karagöl C, Aydın AT, Gür S, Denkceken T, Canpolat M. An optical method for investigation of thickness of damaged articular cartilage. Eklem Hastalık Cerrahisi. 2010 Aug;21(2):104-9.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü M¼d¼rl¼ę¼ne;

Bu alışma j¼rimiz tarafından Biyofizik Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir. .../.../2014

- Tez Danışmanı** : Prof. Dr. Murat CANPOLAT
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fak¼ltesi
Biyofizik Anabilim Dalı
- ye : Prof. Dr. Narin DERİN
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fak¼ltesi
Biyofizik Anabilim Dalı
- ye : Prof. Dr. Mehmet BAYKARA
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fak¼ltesi
Üroloji Anabilim Dalı
- ye : Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fak¼ltesi
Biyofizik Anabilim Dalı
- ye : Yrd. Doç. Dr. C. İbrahim BAŞSORGUN
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fak¼ltesi
Patoloji Anabilim Dalı

Onay:

Bu tez, Enstit¼ Y¼netim Kurulunca belirlenen yukarıdaki j¼ri yeleri tarafından uygun g¼r¼lm¼ř ve Enstit¼ Y¼netim Kurulu'nun /..... /..... tarih ve /..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof Dr. İsmail ÜST¼NEL

Enstit¼ M¼d¼r¼

ÖZET

Tekli optik fiber probtan oluşan Elastik Işık Saçılım Spektroskopisi (EISS) sistemi kullanarak prostat dokusu pozitif cerrahi sınırları Temel Bileşenler Analizi (TBA) ve Doğrusal Ayırım Analizi (DAA) ile tespit edildi. Toplam 27 hastadan alınan 299 adet doku üzerinde alınan EISS spektrumları 450-750 nm dalga boyu aralığında değerlendirildi. EISS spektral datası altın standart olan histopatoloji sonuçları ile karşılaştırıldı. Data analizi Temel Bileşenler Analizi (TBA) ve ardından Doğrusal Ayırım Analizi (DAA) ile yapıldı. Teşhis performansı için Receiver Operating Characteristic (ROC) eğimi hesaplandı. Diskriminant skoruna bağlı olarak elde edilen sınıflandırma sonucunda prostat dokusu cerrahi sınırlarında malign dokuyu benign dokudan ayırt etmedeki duyarlılık 100%, seçicilik 95.2% ve ROC eğrisi altında kalan alan 0.98 olarak bulundu. EISS sisteminin prostat dokusu cerrahi sınırlarında malign dokuyu benign dokudan yüksek duyarlılık ve seçicilik ile ayırt ettiği gösterildi. Bu çalışmadaki teşhis doğruluğu *in-vivo* fiber optik doku ayırımı uygulanabilirliğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Tekli Fiber Optik Prob, Prostat, Cerrahi Sınırlar, Temel Bileşenler Analizi, Spektral Analiz

ABSTRACT

Elastic light scattering spectroscopy (ELSS) system with a single optical fiber probe was employed to detect positive surgical margins of prostate cancer in combination with principal components analysis and linear discriminant analysis. ELSSS spectra in the 450-750 nm wavelength regions were obtained from the total of 299 tissue samples of 27 patients. The ELSSS spectral data were compared against the gold standard histopathology results. Data analysis was done using principal components analysis, followed by linear discriminant analysis. Receiver operating characteristic curve analysis was employed for differentiating performance. While the classification based on discriminant score provided sensitivity of 100% and specificity of 95.2%, in differentiating benign from malign surgical margins of prostate tissue and the area under the receiver operating characteristic curve 0.98, respectively. ELSSS system can accurately distinguish benign and malign surgical margins of prostate tissues with high sensitivity and specificity. Diagnostic accuracies show in this study the general viability of *in-vivo* fiber optical tissue differentiation.

Key Words: Single Optical Fiber Probe, Prostate, Surgical Margins, Principle Component Analysis, Spectral Analysis

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanması ve yürütülmesini sağlayan danışmanım Sayın Prof. Dr. Murat CANPOLAT' a,

Klinik olanakları ile bu çalışmanın gerçekleşmesine olanak sağlayan Üroloji A.D. öğretim üyesi Prof. Dr. Mehmet BAYKARA' ya,

Patoloji A.D çalışanları ile benden yardımlarını esirgemeyen öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. C. İbrahim BAŞSORGUN' a,

Sağlık Bilimleri Enstitüsü personeline,

arkadaşlarım, dostum ve aileme teşekkür ederim.

Mayıs, 2014

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kanser	4
2.2. Prostat Kanseri	4
2.2.1. Prostat Anatomisi	5
2.2.2. Prostat Bölgesel Anatomisi	5
2.2.3. Prostat Patolojileri ve Gleason Derecelendirmesi	6
2.2.3.1. Adenokarsinom	7
2.2.3.2. Prekanseroz Lezyonlar	7
2.2.4. Prostat Kanseri Evrelemesi	7
2.2.5. Prostat Kanseri Tedavisi	9
2.2.6. Prostat Dokusu Cerrahi Sınırı	9
2.3. Işık Doku Etkileşimi ve Işığın Dokudan Saçılımı	10
2.3.1. Elastik (Esnek) Saçılım	12
2.3.1.1. Rayleigh Saçılımı	12
2.3.1.2. Mie Saçılımı	12
2.3.1.3. Geometrik Saçılım	13
2.3.2. Saçılım Faz Fonksiyonu (SFF) ve Anizotropi Faktörü	13
2.4. Optik Teşhis ve Spektroskopi	14

GEREÇLER VE YÖNTEMLER	16
3.1. Elastik Işık Saçılım Spektroskopisi (EISS) Sistemi	16
3.2. Spektrometre	17
3.3. Sistemin Kalibrasyonu	18
3.4. Prostat Cerrahi Sınır Dokuları ve Gruplandırma	20
3.5. Data Prosesi ve İstatiksel Değerlendirme	22
3.5.1. Temel Bileşenler Analizi ve Arkaplan Matematiği	22
3.5.1.1. Standart Sapma	22
3.5.1.2. Varyans ve Kovaryans	22
3.5.1.3. Kovaryans Matrisi	23
3.5.1.4. Özdeğer	23
3.5.1.5. Özvektör	27
3.5.2. TBA Uygulama Basamakları	28
3.5.2.1. Deney sonucu elde edilen datanın standartlaştırılması	28
3.5.2.2. Kovaryans matrisi hesaplama	29
3.5.2.3. Skor Hesaplama	32
3.5.3. Doğrusal Ayırma Analizi	38
3.5.4. Birini Dışarıda-Bırak (Çapraz Sağlama) Metodu	44
BULGULAR	46
4.1. Deney Prosedürü	46
4.2. Morfometrik Analiz Sonuçları	47
4.3. Doku Sınıflandırma	48
TARTIŞMA	58
SONUÇLAR	64
KAYNAKLAR	65
ÖZGEÇMİŞ	72

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFM	:	Anterior Fibromusküler Bölge
AUC	:	Area Under Curve
BPH	:	Benign Prostat Hiperplazisi
CCD	:	Yüklenme İliştirilmiş Araç
CZ	:	Central Zone
DAA	:	Doğrusal Ayırım Analizi
EISS	:	Elastik Işık Saçılım Spektroskopisi
H&E	:	Hematoksilen Eosin
HPIN	:	High Grade Prostat İntraepitelyal Neoplazi
LD	:	Doğrusal Ayırım
LOO	:	Leave-One-Out
LPIN	:	Low Grade Prostat İntraepitelyal Neoplazi
PCa	:	Prostat Kanseri
PIN	:	Prostat İntraepitelyal Neoplazi
PSA	:	Prostat Spesifik Antijen
PZ	:	Periferal Zone
ROC	:	Receiver Operating Characteristic
RP	:	Radikal Prostatektomi
SFF	:	Saçılım Faz Fonksiyonu
TBA	:	Temel Bileşenler Analizi
TZ	:	Transizyonel Zone

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>	
2.1.	Prostat Anatomisi	5
2.2.	Prostat lenfatik dağılımı	5
2.3.	Prostat Bölgeleri	6
2.4.a.	T1: Klinik olarak parmakla ve görüntü ile tespit edilemeyen tümör	8
2.4.b.	T2: Tümör prostat içinde sınırlı ve fizik muayenede hissedilebiliyor	8
2.4.c.	T3: Tümör prostat kapsülünü aşmış	8
2.4.d.	T4: Tümör komşu organları tutmuş	8
2.5.	Prostat Dokusu intrakapsüler (intraprostatik) ve ektrakapsüler (ekstraprostatik) yayılım	10
2.6.	Elektromanyetik Spektrum	10
2.7.	Mie ve Rayleigh Saçılımı	11
2.8.	Rayleigh Saçılımı	12
2.9.a.	Büyük parçacıktan Mie Saçılımı	13
2.9.b.	Küçük parçacıktan Mie Saçılımı	13
2.10.	Işığın parçacığa çarptıktan sonra (θ) açısıyla sapması	13
3.1.	EISS Sistemi	16
3.2.	Çalışmada kullandığımız spektrometrenin iç yapısı	18
3.3.	Su dolu siyah kaptan alınan EISS ölçümü	19
3.4.	Spektralondan alınan EISS ölçümü	19
3.5.	2 μm çapındaki polistiren parçacıkların EISS spektrumu	20
3.6.	Örnek A matrisinin koordinat düzleminde gösterimi	25
3.7.	Örnek A matrisinin özdeğer aksisleri	26
3.8.	Özdeğer aksislerinin merkezinin A matrisi merkezine yerleştirilmesi	26
3.9.	A matrisi datalarını kapsayacak şekilde elde edilen elipsin döndürülmesi	27
3.10.a.	Orjinal spektrum	29
3.10.b.	Ortalama spektrum	29
3.10.c.	Standardize spektrum	29
3.11.	Özdeğerlerin TB aksisi ile gösterimi	31
3.12.	TBA' nin şematik olarak gösterimi	34
3.13.	TB1 ve TB2 skor çizimi	34
3.14.	TBA ile data boyutu azaltmanın grafiksel gösterimi	35
3.15.	26 tane temel bileşen ve ~99% varyans ile orjinal data setinin elde edilmesi	36
3.16.	Temel bileşen - varyans grafiği	37

3.17.	Temel bileşen analiz uygulama adımları	37
3.18.	4 farklı grup için varyans ve ortalamaların gösterimi	40
3.19.	Gruplar arası varyans ve grup içi varyans	42
3.20.	% 95 güven aralıklı elips çizimi ile 2 boyutlu ayırım fonksiyon grafiği	43
3.21.	Benign, Lenf, Malign ve Yağ dokularının 3 boyutlu ayırım fonksiyon grafiği	44
3.22.	Çapraz Sağlama Yöntemi şeması	45
4.1.	IGOR programında EISS verilerinin grafiklerin elde edilmesi	47
4.2. a.	Benign prostat dokusu histolojik görünümü H&E X400	48
4.2. b.	Malign prostat dokusu histolojik görünümü H&E X400	48
4.3.	Lenf dokusu histolojik görünümü H&E X200	48
4.4.	4 Farklı prostat dokusu cerrahi sınır doku tipi için doğrultulmuş EISS spektrumları	48
4.5.	4 Farklı prostat dokusu cerrahi sınır doku tipi için Standartlaştırılmış EISS spektrumları	49
4.6.	TB1-TB6 skor grafiği	50
4.7.	TB7-TB12skor grafiği	50
4.8.	TB13-TB18skor grafiği	51
4.9.	TB19-TB26 skor grafiği	51
4.10.	Birinci ayırım fonksiyonu için grup-ayırım fonksiyon değeri Histogram grafiği	53
4.11.	İkinci ayırım fonksiyonu için grup-ayırım fonksiyon değeri Histogram grafiği	54
4.12.	Üçüncü ayırım fonksiyonu için grup-ayırım fonksiyon değeri Histogram grafiği	55
4.13.	LD1, LD2 ve LD3 ayırım fonksiyonlarının4 doku tipi için grafiği	56
4.14.a.	Benign ve Malign dokularının karşılaştırılması ile elde edilen ROC Eğrisi	57
4.14.b.	0.89 Ayırım skoru kesim değerinde Malign ve Benign dokularının grafiği	57

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Gleason skoru (Skor toplamı 2-10 arasındır)	7
2.2. Prostat kanserinin evrelemesi	8
3.1. RP yapılan hastaların klinik özellikleri	20
3.2. 4 farklı grup ve sayıları	21
3.3. Temel Bileşenlerin tüm dokular için dağılım tablosu	36
3.4. Grup içi varyans hesaplama için 4 grubun temel bileşen değerlerinin Dağılımı	39
3.5. Doku ayırım tablosu	45
4.1. Çalışmada kullanılan 4 farklı doku tipi, sayısı ve bu dokulardan EISS sistemi ile alınan spektrum sayıları	46
4.2. Kruskal-Wallis H testi sonucu TB ve p-değer tablosu	52
4.3. Doğrusal Ayırım Fonksiyonlarının katsayı (özvektör) değerleri	52
4.4. EISS sistemi ile doku ayırımı seçicilik değerleri	57
4.5. EISS sistemi ile doku ayırımı duyarlılık değerleri	57

GİRİŞ

Türü fark etmeksizin kanser günümüzün en yaygın hastalığı olmakta ve görülme sıklığı gün geçtikçe artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü' nün 2008' de yayınladığı rapora göre dünya çapında 12.4 milyon kanser vakası kaydedilmiş ve bunlardan 7.6 milyonu ölümle sonuçlanmıştır. 2030 yılında kanser vaka sayısının 26.4 milyona ulaşacağı ve bu vakalardan 17 milyonunun ölümle sonuçlanacağı tahmin edilmektedir (1). Günümüzde klinik kanser tanısı için kullanılan geçerli metodlar arasında fiziksel muayene, X-ışınları görüntülemesi, manyetik rezonans görüntüleme, ultrason, endoskopi, kan veya idrar testleri şeklinde olmaktadır. Bu tekniklerle hastada tümör olup olmadığı, büyüklüğünün ne kadar olduğu, organa sınırlı bir tümör mü olduğu, lenfatik sisteme metastaz yapıp yapmadığı araştırılmaktadır (2). Ancak gelişmiş hastaneleri olmayan yerlerde bu yöntemlerin çoğu bulunmamaktadır. Bu metodları değerlendirme için uzman gerektiren ve kullanımı kolay olmayan yöntemlerdir. Hastalardan çıkarılan dokuların teşhislerinde altın standart olarak kullanılan en doğru teşhis metodu patolojidir. Patolojik olarak dokunun normal ya da kanser olup olmadığının belirlenebilmesi için parçanın hastadan alınması gerekmektedir. Biyopsi yapılarak hastadan parça alınırken ağrı veya enfeksiyon gibi bir takım komplikasyonlar gelişmektedir ve biyopsi materyallerinin patoloji sonucunun beklenmesi için uzman patolog değerlendirmesi gerekmekte ve sonucun çıkması birkaç gün almaktadır (3). Kanser ameliyatlarında başarı kriteri kanserli dokunun tamamen çıkarılmasıdır. Cerrahlar operasyon esnasında çıkarılan dokunun çevresinde kanserli alan kalma olasılığını ve böylelikle kanserin tekrarlama riskini en aza indirmek için bu dokuların çevresinde geniş kesi yapmak durumunda kalmaktadırlar. Bu işlem sürecinde çevre dokularda zarar görmekte ve hastaların operasyon sonrası yaşam kalitelerini bozacak istenmeyen durumlar gelişebilmektedir. Ameliyat esnasında alınan dokular ise frozen-section'a gönderilmekte ve burada patolojik değerlendirme 20-30 dakika sürmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda frozen tekniğinin kanserli dokuyu belirlemedeki duyarlılığının düşük olduğu gösterilmiş, operasyon esnasında doku teşhisi için süre gerektirdiğinden, sınırlı sayıda örnekle çalışıldığından ve analizi için uygun personel bulundurulması gerektiğinden bazı limitlerinin olduğu belirtilmiştir (4-7).

Rutinde hastalardan teşhis amacıyla alınan doku örnekleri patoloji bölümüne gönderilir. Alınan doku örneklerinin önce dış görünüşleri (makroskopi) değerlendirilir ve patolojik açıdan mikroskop ile incelenmesi gerekli görülen kısımlar seçilir. Daha sonra dokular çok ince (4-5 µm) olacak şekilde kesilir ve hazırlanan kesitler hematoksil-eosin (H&E) yöntemiyle boyanır. Bu boyama ile hücre çekirdekleri mavi, stoplazmalar ise kırmızı boyanır. Daha sonra, bu boyanmış kesitlerin ışık mikroskopunda incelenmesiyle morfolojik değerlendirme yapılır. Patologlar doku teşhisi yaparken morfolojik kriterleri arasında öncelikli yapılar hücre çekirdeği

büyüklüğü, şekli, çekirdek stoplazma oranı, çekirdekçik ve bez yapıları şeklinde ifade edilebilir (8). Bu yapılar kanserli dokularda normal dokulara kıyasla farklılık göstermektedir. Sunulan tez çalışmasında doku ayırımı için Elastik Işık Saçılım Spektroskopisi (EISS) tekniği kullanıldı. Bu teknik kullanılarak daha önce yapılan çalışmalarda sistemin parçacık büyüklüğüne duyarlı olduğu gösterildi (9-14).

Son zamanlarda birçok çalışma grubu tarafından doku teşhisinde kullanılmak üzere spektroskopik teknikler kullanılmakta ve böylelikle kanser ve kanser öncüsü lezyonların tespiti hızla gelişen bir alan olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu tekniklere örnek olarak yakın kızılötesi spektroskopisi metodu ile dokunun kan akımı, oksijen tüketimi ve yapısı gibi fizyolojik özellikleri incelenebilmekte (15-20), floresans görüntüleme yöntemleri ile tümör proteaz aktivitesi (21), anjiogenez (22), apoptozis (23, 24) gibi moleküler yapılar görüntülenebilmekte, Raman Spektroskopisi sinyallerinin absorpsiyon ölçümü ile dokunun biyokimyasal yapısı hakkında bilgi edinilmekte (protein, lipid, nükleik asit gibi) (25, 26) ve dokunun yapısal ya da morfolojik bilgisi elastik ışık saçılım özellikleri kullanılarak elde edilmektedir (27, 28). Biyolojik dokularda ışık saçılımı farklı yapıların kırılma indislerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Örneğin hücreler arası sıvının kırılma indisi 1.36 iken hücre zarının ışığı kırma indisi 1.42' dir. Bundan dolayı hücreler arası sıvıdan hücre zarına ulaşan ışığın yönü değişir, bu durum saçılım olarak adlandırılır. Benzer şekilde hücre içine giren ışıkta stoplazmada çekirdek veya diğer organellerde saçılır. Burada ışık saçılımının nedeni çekirdek ve organellerin zarlarının ışığı kırma indislerinin stoplazmadan büyük olmasıdır (29, 30). Bu nedenle optik prob kullanılarak dokuya belirli dalga boylarında ışık gönderildiğinde ışık doku içerisinde ilerlerken bu yapılardan saçılır. Saçılan ışık bilgisi spektroskopik veri (spektrum) olarak toplanır ve böylelikle doku hakkında teşhis bilgisi sağlanır. Deneyler sonucunda normal ve kanserli dokulardan elde edilen spektrumlar çeşitli istatistiksel metodlarla analiz edilir ve histopatolojik doku ayırımı yapılır. Biyomedikal optik araştırma alanlarında ışığın dokudan saçılımı en önemli parametrelerden biridir ve saçılım bilgisinin dokunun yapısı hakkında bilgi vermektedir. Dokuya optik prob ile ışık gönderildiğinde ışık dokunun bileşenleri ile etkileşime girer. Bu bileşenler hücre membranı ve çekirdeği, kollajen fiberler ve diğer hücresel yapılardır. Elastik saçılımda herhangi bir enerji transferi söz konusu değildir. Dokuya gönderilen ışık ile dokudan geri saçılan ışığın dalga boyunda değişim olmamakta sadece ışığın dokuda uzaysal (spatial) dağılımı olmaktadır (31).

Sunulan tez çalışmasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalına başvuran ve prostat malign neoplazm ön tanısı olan ve açık prostat ameliyatı (Radikal Prostatektomi) yapılan 27 hasta çalışmaya dahil edildi. Radikal Prostatektomi operasyonu esnasında prostat dokusu cerrahi sınırında tamamen normal doku kalana kadar hastadan parça alınır. Bu dokuların kesimi sırasında prostat çevresinde bulunan nörovasküler ağ ve sfinkterlerin hasarlanma ihtimali artmakta ve operasyon sonrasında hastalarda erektil disfonksiyon ve üriner inkontinans (idrara tutamama) gelişmesi olasılığı da artmaktadır (32, 33). Üriner inkontinans ve erektil disfonksiyon açık prostat ameliyatlarının en önemli uzun dönem komplikasyonlarıdır (33). Çalışmamızda

ürologlar tarafından operasyon esnasında prostat dokusu bazal, posterior, posterolateral, lateral, apeks, mesane boynu, endlateral ve üretra cerrahi sınırlarından küçük parçalar halinde dokular kesilip çıkarıldı ve bu dokular üzerinde EISS sistemi ile *ex-vivo* olarak 5 dakika içerisinde rastgele olacak şekilde ölçümler alındı. Çalışmanın diğer kısmında metastaz olup olmadığını belirlemek amacıyla hastalardan çıkarılan lenf düğümlerinden de EISS sistemi ile ölçümler alındı. Toplam 27 hastadan çıkarılan 299 tane doku üzerinde EISS sistemi ile ve her dokudan en az 16 tane olacak şekilde spektrumlar alındı. EISS sistemi ile 4 doku tipinden alınan 7089 adet spektrum analiz edilerek doku ayrımı yapıldı. Bu tez çalışmasında patolojik değerlendirme, EISS sistemi ile doku teşhisi için standart referans olarak kullanıldı. Fiber optik prob ile dokuya gönderilen ve geriye saçılarak aynı fiber tarafından toplanan ışık spektrumunun şekli ise teşhis parametresi olarak kullanıldı. Sunulan tez çalışmasında EISS sisteminin prostat dokusu cerrahi sınırlarında, farklı biyolojik ve fiziksel özelliklere sahip olduklarından dolayı malign ve benign dokuları Temel Bileşenler Analizi (TBA) ve Doğrusal Ayırım Analizi (DAA) ile 100% duyarlılık ve 95.2% seçicilik ile ayırt ettiği bulundu. Sistemin kanserli dokuyu cerrahi sınırlarda ayırt etmedeki duyarlılığının yüksek ve yanlış pozitiflik oranının düşük olması ile operasyon esnasında hastadan gereksiz yere doku alınmasının önüne geçilebilme ve kanser odaklı teşhis yapabilme potansiyeli bulunmaktadır.

Bu sistemin prostat dokusu cerrahi sınırında ekstra-kapsül tümörlerini *in-vivo* olarak tespit edebilme potansiyeli bulunmaktadır. Operasyon sırasında fiber optik prob prostat dokusu cerrahi sınırlarına değdirilerek dokunun kanserli olup olmadığı gerçek zamanda anlaşılabilir. Böylelikle ameliyat sırasında prostat kapsülü etrafındaki nörovasküler sinir ağları ve üreter sfinkterler gibi çevre yapılara zarar vermeden hastadan gereksiz yere parça alınmasının önüne geçilebilir ve hastaların operasyon sonrası erektil disfonksiyon ve idrar kaçırma gibi yaşam kalitelerini bozan unsurlar minimuma indirilmiş olur. Spektroskopik teknikler niceliksel yöntemlerdir ve bu yönüyle geleneksel yaklaşımlardan daha objektif sonuçlar vermektedir. Spektroskopik sistem kullanarak prostat dokusu cerrahi sınırlarında kanserli dokuyu tespit etmek için literatürde henüz bir çalışma bulunmamaktadır. EISS tekniği doku hakkında detaylı bilgi vermemekte ve histopatolojinin yerine geçmemektedir. Ancak prostat cerrahi sınırlarında yüksek duyarlılık ve seçiciliğe sahip olması, taşınabilir bir sistem olması, anında sonuç verebilmesi, kullanımının kolay ve maliyetinin de az olması operasyon esnasında hekimlere yardımcı ek bir sistem olarak kullanılabilme olasılığını arttırmaktadır.

GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

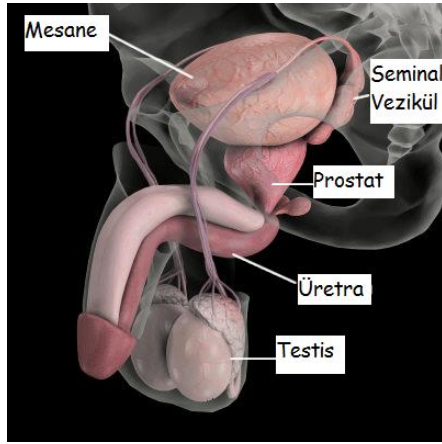
İnsan vücudundaki zedelenen dokuların onarılması veya ölen hücrelerin yenilenip düzenlenmesi için bütün sağlıklı hücreler bölünerek çoğalma yeteneğine sahiptirler. Bazı kalıtsal durumlar veya çevresel faktörlerden ötürü yeni hücelere gerek olmadan hücreler kontrolsüz olarak bölünür ve anormal olarak çoğalırlar. Bu çoğalan hücreler tümör oluşumuna neden olurlar (34). Tümörler benign (iyi huylu) veya malign (kötü huylu) olarak adlandırılırlar. Benign tümörler vücudun başka bölümlerine metastaz (yayılma) yapmazlar ve bu tümörler operasyonla alındıktan sonra nadiren tekrarlarlar. Malign tümörler ise sürekli olarak bölünüp çoğalma eğiliminde olup kan ya da lenf dğümleri aracılığı ile çevre dokulara veya uzak organlara yayılma özelliğine sahiptirler ve bu durum metastaz olarak adlandırılır (34).

2.2. Prostat Kanseri

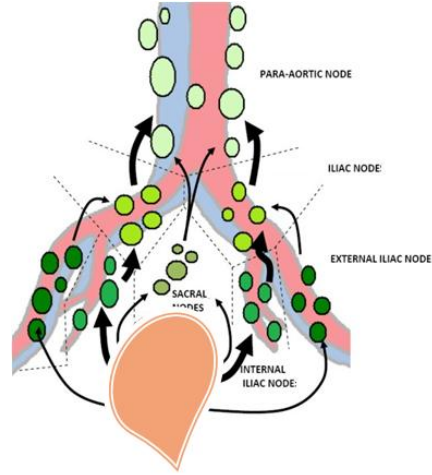
Sağlık Bakanlığı verilerine göre ülkemizde Prostat Kanseri (PCa) insidansı yüzbinde 37.6 olarak verilmiş ve akciğer kanserinden sonra erkeklerde en sık görülen ikinci kanser durumundadır (35). PCa Amerika'da 2013 yılı boyunca erkekler arasında görülen en sık kanser türüdür ve 854.790 kanser vakasının %28' ini oluşturmaktadır. Prostat kanseri tanısı konulan hastaların tahmini ölüm sayısı yaklaşık olarak 30.692 civarındadır (36). Prostat kanserinde genelde erken evrede belirti yoktur. Yıllar içerisinde yavaş ilerleyen bir hastalık olduğundan geç semptom verir. Tümör boyutunun ikiye katlanma zamanı 4 yıl civarındadır. Prostat kanserinin belirtileri arasında sık idrara çıkma, kesikli ve ağrılı idrar yapma ve idrarda kan görülmesi olarak sayılmaktadır. Ancak bu göstergeler sadece prostat kanseri için geçerli olmayıp aynı zamanda Benign Prostat Hiperplazisine de (BPH) bağlı olabilir. BPH prostat bezinin büyümesi durumudur. Bu şikayetlerin tam olarak neden kaynaklandığını belirlemek için 50 yaş ve üzeri erkeklerin yılda bir defa muayene yaptırması gerekmektedir. Yaş ilerledikçe aile öyküsüne bağlı olarak prostat kanseri riski artar. Prostat kanserlerinin %60'ı 65 yaş ve üzeri, %97' si ise 50 yaş ve üzeri erkeklerde görülmüştür (36). 1980 ve 1990 yılları ortalarında Prostat Spesifik Antijenin (PSA) kullanıma girmesi ile birlikte prostat kanserini (PCa) yakalama oranlarında belirgin bir artış olmuştur (37). Prostat kanseri en sık olarak kemiklere metastaz yapar. Kemik metastazlarından sonra akciğer, karaciğer ve pelvik organlar gelir. Hastalığın kemiklere metastazı kemik ağrılarına neden olabilir. Ancak kemik metastazı olan hastaların %25' inden fazlasında kemik ağrıları gözlenmez (38). Hastalarda büyüyen kanserli doku sinirlere invazyon yaparsa hastalarda erektil disfonksiyon, rektuma invazyon yaparsa rektal kanama veya tıkanma ve seminal veziküle invazyon yaparsa da hematospermi (meniden kan gelmesi) oluşabilir.

2.2.1. Prostat Anatomisi

Prostat bezi erkekte idrar kesesinin altında bulunan ceviz büyüklüğünde bir salgı bezidir ve şekil 2.1’ de görüldüğü gibi tepesi aşağıda üretra ile, tabanı yukarıda mesane boynu ile bağlantılı, idrar yolunu çevreleyen koni şeklinde bir organdır. Prostatın anterior, posterior ve iki tane altta ve yanda (inferolateral) olmak üzere dört tane yüzü vardır. Prostat kollajen, elastin ve yoğun düz kas yapısından oluşmuş bir kapsül ile çevrilidir. Bu kapsül ayrı bir anatomik yapı olmayıp 2–3 mm kalınlığındadır ve kapsülün dokusu prostatı etraftaki bağ dokusundan ayırıyor gibi görünsede mikroskobik olarak prostat bezinin bir parçasıdır. Ayrıca kapsülün dış yüzeyi prostat çevresinde bulunan bağ dokusuna uzanan lifler verdiği için, belirgin bir sınıra sahip değildir. İlerleyen yaşla birlikte prostatın içinde bulunan transizyon bölgesine ait hücreler hiperplaziye uğrar. Böylelikle iç kısım hacimce genişlemeye başlar ve çevre dokuları sıkıştırır. Prostatın dış kısmındaki sıkışmış olan bu yapıya cerrahi kapsül denir (39). Prostat bezinin etrafında çok fazla sinir dağılımı mevcuttur ve bu otonom sinir lifleri (sempatik ve parasempatik) kavernoöz sinirini oluştururlar. Sempatik sinirlerin çoğu salgı ile ilgilidir. Bazı sempatik sinirler prostatik üretrayı tümü ile saran düz kas sfinkterleri inerve ederler (40). Parasempatikler ise prostatın müköler stromasına dağılır ve direk olarak mesane kasları ile devam ederler. Böylece üriner sfinkterik fonksiyon sağlarlar. Lenfatik dağılım birincil olarak obturator ve internal iliak nodlardır. Dağılımın küçük bir kısmı ise eksternal iliak nodlara olabilmektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.1. Prostat Anatomisi (41)

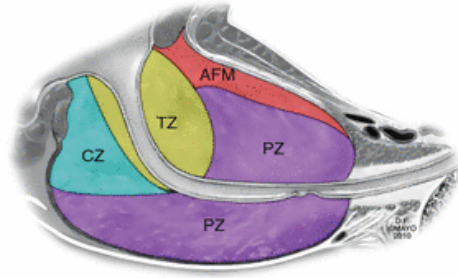


Şekil 2.2. Prostat lenfatik dağılımı (40)

2.2.2. Prostat Bölgesel Anatomisi

Şekil 2.3’ te görüldüğü gibi prostat, anterior fibromuskuler stroma, transizyonel bölge, santral bölge ve periferal bölgeden oluşmaktadır (42). BPH transizyonel bölgede ve prostat kanseri ise çoğunlukla periferal bölgede gelişmektedir (39). Transizyonel

bölge, komşuluğundaki periferik ve santral bölgeden cerrahi kapsül adı verilen fibromusküler bir doku ile ayrılır. Santral bölge prostat içerisindeki kanser dokusunun prostat dışına yayılması için uygun potansiyel bir anatomik yoldur. Periferik bölgeyi santral bölgeden yalnızca ince bir bağ dokusu ayırır ve periferik bölgedeki bir kanser rahatlıkla burayı geçerek santral bölgeye yayılım gösterebilir (43).



Şekil 2.3. Prostat Bölgeleri (PZ=Periferik Bölge, TZ=Transizyonel Bölge, CZ=Central Bölge, AFM=Anterior Fibromusküler Bölge(42)).

2.2.3. Prostat Patolojileri ve Gleason Derecelendirmesi

Prostat kanserleri %98 oranında adenokanserdir ve %70' i periferik bölgeden, %10-15 oranı santral bölgeden, geri kalanı ise transizyonel bölgeden köken alır (39). Prostat kanseri %85 vakada multifokaldır ve 40 yaşındaki her 100 erkeğin 30'unda mikroskopik prostat kanseri vardır. Çok yavaş geliştikleri için birçoğu klinik önemli hale gelmezler. Gleason derecelendirilmesi ve skorlaması prostat adenokarsinom derecelendirmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu skorlamada farklılaşma değerlendirilir ve 5 patern altında toplanır (44, 45);

Patern 1: Benign bezlere benzeyen oval-yuvarlak ve orta boy bezlerin oluşturduğu iyi sınırlı nodül şeklinde.

Patern 2: İyi sınırlı, orta boy neoplazik bezlerin etrafa uzandığı çeşitli şekil ve boyutta, benign bezlere benzer orta boy bezler şeklinde.

Patern 3: İnvaziv, çeşitli boyut ve şekillerde bezler. Bu bezler arasında belirgin stromal alan bulunur.

Patern 4: İnvaziv, kötü sınırlı, iç içe geçmiş bezler şeklinde.

Patern 5: Ortalarında nekroz olan katı yapılar şeklinde.

Gleason skoru, en fazla görülen patern ile ikincil görülen paternin toplanmasıyla elde edilir (Gleason skor 4+3=7 gibi). Sadece tek patern görüldüğünde skor paternin kendisiyle toplanması ile elde edilir (Gleason skor 3+3= 6 gibi). Gleason skoru ve karşılığındaki patolojik durum tablo 2.1' de verilmiştir.

Tablo2.1.Gleason skoru (Skor toplamı 2-10 arasındır)

Gleason Skoru	Patolojik Durum
2-4	Farklılaşma az
5-6	Orta derecede farklılaşma
7	Orta-Kötü derecede farklılaşma
8-10	Kötü derecede farklılaşma

2.2.3.1. Adenokarsinom

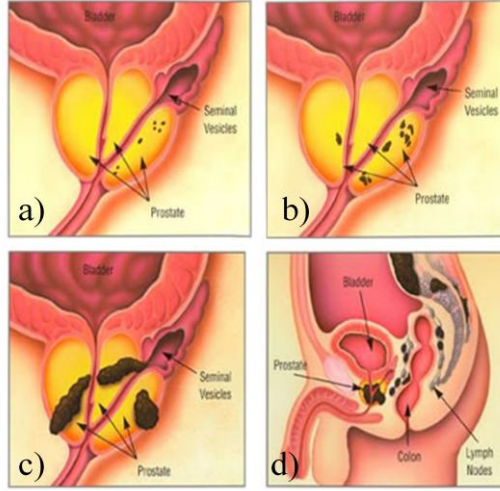
Prostat adenokarsinomu benign bezlerle ayırımı zor olabilen iyi diferansiye bez yapılarından, kötü diferansiye tümörlere kadar değişen geniş bir spekturumu içerir. Prostat adenokarsinomunun morfolojik kriterleri çekirdeklerde büyüme, şekil ve boyut farklılığı, büyük belirgin çekirdekçik ve düzensiz bez yapıları şeklinde ifade edilir (46, 47).

2.2.3.2. Prekanseroz Lezyonlar

Atipik Adenomatöz Hiperplazi (Adenozis) malign potansiyeli olmayan ve hücre bölünmesi yoluyla çoğalan (proliferatif) bir lezyon olarak kabul edilir. BPH nodüllerine benzeyen bu lezyon, BPH' den yapısal olarak farklıdır. Bez yapıları sıklıkla çok küçük ve sıkışık yerleşimli olup düzgün yuvarlak-oval şekillidir. Prostat İntraepitelyal Neoplazi (PIN), kanserin öncü lezyonu olarak kabul görmektedir (48). Başlangıçta PIN1, PIN2 ve PIN3 olmak üzere 3 alt kategoride tanımlanan PIN, daha sonra düşük dereceli (L-PIN) ve yüksek dereceli (H-PIN) olarak gruplandırılmıştır (44). H-PIN epitelde tabakalaşma, iri hiperkromatik çekirdek ve belirgin çekirdekçik ile kendini göstermektedir (49, 50).

2.2.4. Prostat Kanseri Evrelemesi

Prostat kanserinin evresi tümörün yayılımına, farklılaşmasına ve ilerleme derecelerine bağlıdır (Şekil 2.4). Hastada kanserin hangi boyutlarda ve nerede olduğunu belirlemek amacı ile ilk olarak klinik tarama yapılmaktadır. Bu taramalar fizik muayene, abdominal (karın) ultrasonografi, kemik sintigrafisi ve Bilgisayarlı Tomografi (BT) / Manyetik Rezonans İnceleme (MRI) gibi görüntüleme yöntemleri ile yapılır. Böylelikle tümörün büyüklüğü ve yeri (T kategorisi), lenf nodlarının tutulumu (N kategorisi) veya kanserli dokunun vücuda yayılımı (M kategorisi) hakkında bilgi sahibi olunur (Tablo 2.2). Tümörün hangi evrede olduğunu kesin sonucu cerrahi olarak ya da biyopsi ile çıkarılan dokunun incelenmesiyle belirlenir ve böylelikle bu son evrede patolojik evre olarak adlandırılır.



Şekil 2.4. Prostat kanser evreleri **a)** T1: Klinik olarak parmakla ve görüntü ile tespit edilemeyen tümör **b)** T2: Tümör prostat içinde sınırlı ve fizik muayenede hissedilebiliyor **c)** T3: Tümör prostat kapsülünü aşmış **d)** T4: Tümör komşu organları tutmuş (42)

Tablo2.2. Prostat kanserinin evrelemesi (T: tümör, N: Lenf Nodülü, M: Metastazı temsil eden TNM sistemi) (42)

<u>T : Primer tümör</u>
Tis : Primer tümörün kanıtı yok
T1a: TUR(Transuretral Prostat Rezeksiyonu) materyalinde %5'den az tümör, parmakla rektal muayene normal(PRM), gleason toplamı 7'den az
T1b: TUR materyalinde %5'den fazla tümör, PRM normal, gleason 7'den fazla
T1c: PSA yüksekliği sonucu iğne biyopsisi ile tanı konan tümör, PRM normal
T2a: Tümör bir lobun yarısını ya da yarısından azını tutmuş
T2b: Tümör bir lobun yarısından fazlasını tutmuş
T2c: Tümör her iki lobu tutmuş
T3a: Tek veya çift taraflı ekstra kapsüler yayılım
T3b: Seminal vezikül tutulumu
T4a: Mesane boynu, eksternal sfinkter ya da rektum tutulumu
T4b: Pelvik duvara yayılmış tümör
<u>N: Bölgesel lenf düğümleri</u>
N0: yayılım yok
N1: 2cm tek lenf nodu metastazı
N2: 2-5 cm arası tek yada 5cm'den az metastaz
N3: 5cm'den büyük lenf nodu metastazı
<u>M: Uzak metastaz</u>
M0: Metastaz yok
M1a: Bölgesel olamayan lenf nodlarına metastaz

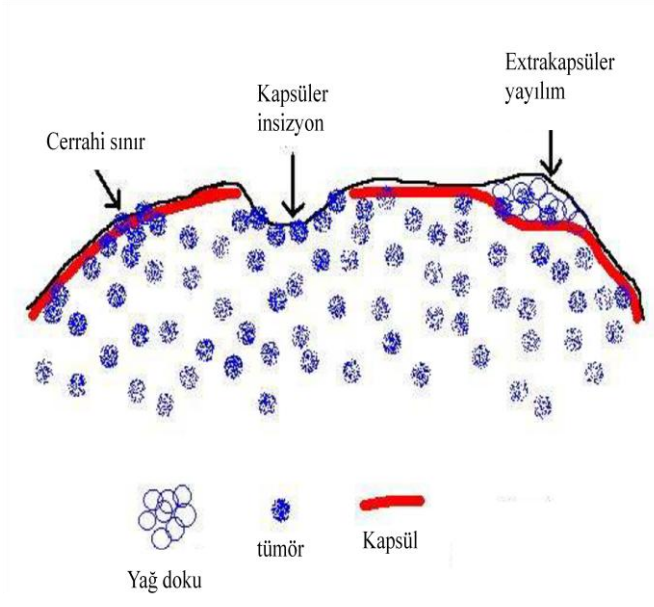
M1b: Kemik metastazı
M1c: Uzak organ metastazı

2.2.5. Prostat Kanseri Tedavisi

Prostat kanserinin tedavisi hastalığın evresi, hastanın yaşı ve hastada var olan diğer hastalıklara bağlıdır. Tedavi, cerrahi ve medikal tedavi olarak ikiye ayrılmaktadır. Hastalık erken evrede saptandığında hastanın cerrahi tedavi ile kurtulma şansı vardır. Cerrahi tedavi Retropubik, Laparoskopik ve Robotik (Robot yardımcı) Radikal Prostatektomi (RP) yöntemleri ile yapılmaktadır (51, 52). Sunulan tez çalışmasında Retropubik Radikal Prostatektomi (RRP) yapılan hastalar çalışmaya dahil edildi. RP prostat kapsülü ile birlikte, seminal veziküllerin ve çevre yağ dokularının birlikte çıkarılması işlemidir. Bu işlem genel anestezi altında yapılır ve göbük altından yapılan insizyon (kesi) ile gerçekleşir. Erken evrede lokal tümör saptanan, ciddi kardiyovasküler veya solunumsal hastalığı bulunmayan, en az 10 yıllık yaşam beklentisi olan hastalar bu ameliyata alınırlar. Bu ameliyatın bazı komplikasyonları vardır. Bunlar arasında empotans (iktidarsızlık), idrar kaçırma ve idrar yollunda darlık olabilmektedir (53). Yapmış olduğumuz tez çalışmasında RP yapılan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.

2.2.6. Prostat Dokusu Cerrahi Sınırı

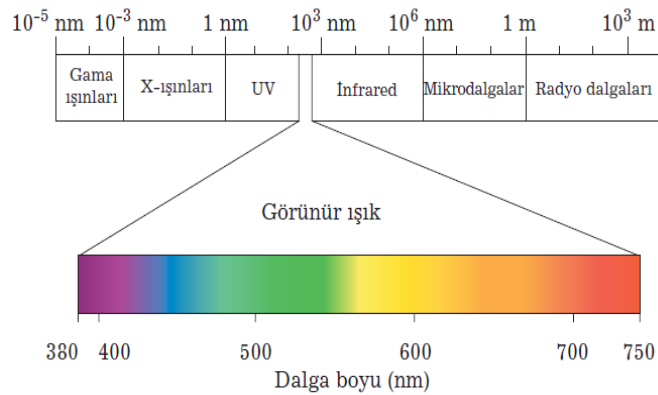
RP ameliyatı sonrasında çıkarılan prostat dokusunun çevresi cerrahi sınır olarak adlandırılır. Çıkarılan bütün halindeki prostat dokusu mürekkep boya ile boyandıktan sonra 3 mm halinde ince kesitler şeklinde kesilir ve değerlendirme yapılır. Eğer mürekkep boya ile boyanan sınırdaki kanser dokusuna rastlanırsa bu duruma “Pozitif Cerrahi Sınır” denir. Bu durumda prostat dokusunun çıkarıldığı cerrahi alanda kanserli dokunun kalmış olma ihtimali oluşur. RP materyalinde kapsül ve cerrahi sınır değerlendirmesi yapılırken “kapsüler insizyon” veya “intraprostatik insizyon” terimi kullanılır. Şekil 2.5’te görüldüğü gibi intraprostatik insizyon RP esnasında benign ya da malign prostat doku kapsülünün yanlışlıkla yırtılması ya da kesilmesi durumudur. Bu durumda azda olsa prostat dokusu hastada kalır. Eğer intraprostatik insizyon tümörlü doku tarafında yapıldıysa pozitif cerrahi sınır verir. Tümör hücrelerinin prostat kapsülü dışına uzanması ise ekstrakapsüler veya ekstraprostatik yayılım olarak adlandırılır. Prostat dokusunun içerisinde yağ dokusu çok nadir bulunmaktadır (54). Patolojik değerlendirme sırasında görülen kanser hücreleri eğer dış taraftaki yağ hücreleri ile birleşmişse bu durum ekstraprostatik yayılım olarak belirtilir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Prostat dokusu intrakapsüler (intraprostatik) ve ekstrakapsüler (ekstraprostatik) yayılım (54)

2.3. Işık Doku Etkileşimi ve Işığın Dokudan Saçılımı

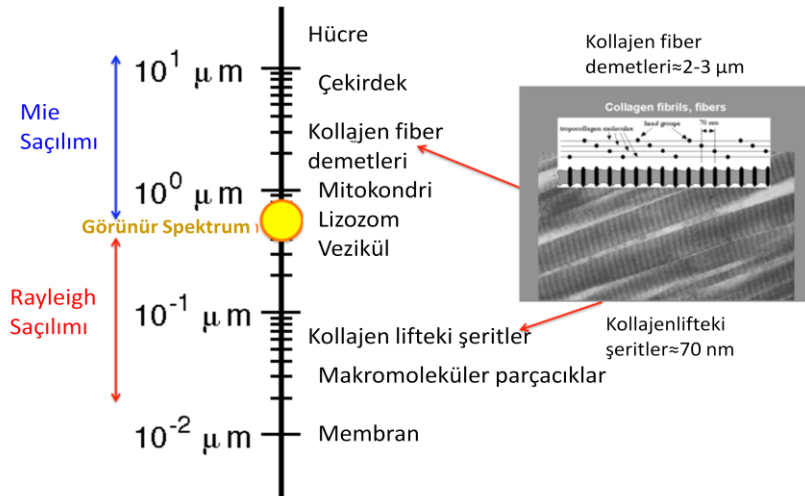
Şekil 2.6' da görünür bölge spektrumu ve gama ışınlarından radyo dalgalarına kadar elektromanyetik spektrum verilmiştir. Foton, radyasyon dalga enerjisi taşıyan bir parçacıktır ve boşlukta saniyede 300.000 kilometre yol alır. Görünür ışık elektromanyetik spektrumun insan gözü tarafından saptanabilen aralığıdır. Bu dalga boyu aralığı 380 ile 750 nm arasındadır (55). Sunulan tez çalışmasında kullandığımız ışık görünür bölgededir.



Şekil 2.6. Elektromanyetik spektrum (55)

Işık bir ortamdan diğer bir ortama geçerken enerjisinin bir kısmı ortam yüzeyinden geri yansırken bir kısmı da ortama geçer. Dokuya giren ışık kırılıma uğramaktadır. Kırılma açısı iki ortamın ışığı kırma indislerinin değerlerine bağlıdır. Saçılım olayı ışığın kırılma indisi farklı olan bir ara yüzeyi kesmesi ile gerçekleşir. Işığın yayıldığı ortamda, kırılma indisi ortamdaki farklı olan bir parçacık varsa, ışık bu parçacık ile etkileştiğinde ilerleme yönü değişir (saçılır). Biyolojik dokuda ışığın saçılımı saçıcı parçacıkların büyüklüğüne, dokuya gönderilen ışığın dalga boyuna, hücre zarı ve hücredeki organeller gibi doku bileşenlerinin kırılma indisi farklılıklarına bağlıdır. Hücresel organeller ile bunları çevreleyen stoplazmanın kırılma indislerinin farklı olması, ışığın doku içinde ilerlerken saçılmasına neden olur. Hücreler arası sıvının ışığı kırma indisi yaklaşık olarak 1.36 iken hücre zarının ışığı kırma indisi 1.42 civarındadır, bundan dolayı hücreler arası sıvıda ilerleyen ışık çekirdek, mitokondri ve diğer organeller tarafından saçılıma uğrar (29, 30, 56).

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. Doku içerisinde bulunan bu yapılar biyolojik saçıcılar olarak görev alırlar ve bu yapıların yaklaşık olarak büyüklükleri şekil 2.7' de verilmiştir. İntraselüler bir organel olan mitokondrinin uzunluğu yaklaşık olarak 1 μm civarındadır. Hücre membranı lipid bilayer tabakası yaklaşık olarak 9 nm genişliğindedir. Kollajen fiberlerin çapı yaklaşık olarak 2-3 μm civarındadır ve 0.3 μm çapındaki küçük kollajen fibril demetlerinin bir araya gelmesi ile oluşurlar (57).



Şekil 2.7. Mie teorisi daha büyük boyuttaki biyolojik dokular için geçerli iken Rayleigh Saçılımı daha küçük parçacık boyutları için geçerlidir (57)

Patolojik bir durumda dokudaki bu yapıların boyutları değiştiği için bu dokulardan ışığın saçılımı tanı amaçlı olarak spektroskopi ve görüntüleme alanlarında kullanılabilir. Dokudaki ışığın zayıflaması gelen ışığın dalga boyuna ve dokunun optik özelliklerine bağlıdır. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada dokuya gönderilen ışık doku içinde elastik saçılıma uğramaktadır.

2.3.1. Elastik (Esnek) Saçılım

Eğer saçılan ışığın frekansı gelen ışığın frekansına eşitse bu elastik saçılımdır. Bu saçılımda dokuya gönderilen ve doku bileşenlerinden geri saçılan fotonların enerjileri aynıdır ve herhangi bir enerji kaybı olmamaktadır. Elastik saçılımın önemli üç türü Rayleigh, Mie ve Geometrik saçılımdır. Bu saçılımlar, parçacık boyutu ile gelen ışığın dalga boyuna bağlıdır (58).

2.3.1.1 . Rayleigh saçılımı

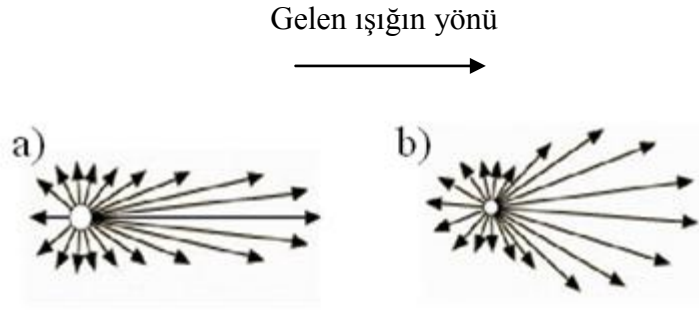
Rayleigh saçılımı, ışığın kendi dalga boyundan çok daha küçük boyuttaki doku yapıları tarafından saçıldığı durumlarda geçerlidir (Şekil 2.7). Parçacık boyutunun gelen ışığın dalga boyuna oranla küçük olmasının en önemli sonucu, parçacık etrafında eşit dağılımlı elektrik alanının oluşmasıdır. Rayleigh Saçılımı izotropik bir saçılımdır yani saçılım her yöne eşittir (59) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Rayleigh Saçılımı

2.3.1.2 . Mie saçılımı

Mie teorisi, gelen ışığın dalga boyu ile parçacığın boyutunun birbirine yakın olduğu durumlarda geçerlidir (Şekil 2.7). Bu teori Maxwell elektromanyetik denklemlerinin dalga boyu ile aynı büyüklük mertebesinde olan parçacıklardan saçılımının analitik çözümüdür. Şekil 2.9.a' da görüldüğü gibi Mie teorisinde parçacık boyutu arttıkça saçılma ileri yöne doğru olmaktadır. Saçılan parçacıkların boyutunun küçülmesi ile saçılma daha izotropik olmaktadır (59) (Şekil 2.9.b).



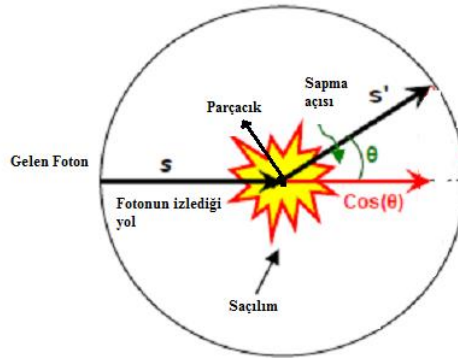
Şekil 2.9. a) Büyük parçacıktan Mie Saçılımı b) Küçük parçacıktan Mie Saçılımı

2.3.1.3 . Geometrik saçılım

Saçılıma neden olan parçacığın boyu ışığın dalga boyundan çok büyüktür.

2.3.2. 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 (60). Bu yüzden bir (θ) açısıyla saçılan fotonun açıya bağlı olarak dağılım olasılık fonksiyonunu tanımlamak gerekmektedir. Biyolojik dokularda bu fonksiyon deneysel olarak ölçülmüştür (61). Şekil 2.10' da şematik olarak dokudaki saçılma için ışığın geldiği yön, saçılma yönü ve saçılım açısı gösterilmektedir. Şekilde, \hat{s} vektörü ışığın geldiği yönü, \hat{s}' ise saçıldığı yönü göstermekte olup, aralarındaki açı (θ) ile gösterilmektedir. Saçılımın açıya bağlı olması, olasılık dağılım fonksiyonu ya da saçılım faz fonksiyonu (SFF) olarak adlandırılır ve $p(\hat{s}, \hat{s}') = p(\theta)$ ile gösterilir.



Şekil 2.10. Işığın parçacığa çarptıktan sonra (θ) açısıyla sapması(60)

Biyolojik dokulardaki ışığın saçılma açısını tanımlamak için Henyey-Greenstein faz fonksiyonu kullanılır ve eşitlik (1)' deki gibi ifade edilir (53);

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

Bu model küçük parçacıklardan saçılan ışığın açısal olarak dağılımını ifade eder. Anizotropi faktörü (g), açısal olarak saçılan fotonun ortalama cosinüs değerine eşittir ve eşitlik (2)'deki gibi gösterilir;

$$g = \langle \cos \theta \rangle \quad (2)$$

Bu faktör ışığın saçıldıktan sonra yönünden ne kadar saptığı hakkında bilgi verir. Rayleigh saçılımı için (g) değeri sıfıra eşittir. Bunun nedeni, ışığın saçılımının her yöne eşit dağılmasıdır (izotropik). Eğer (g)>0 ise saçılım ileri yönde ve (g)<0 ise saçılım geri yönde gerçekleşmiş demektir. Genel olarak (g) eşitlik (3)' teki gibi değişim gösterir;

$$-1 \leq g \leq 1 \quad (3)$$

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 değişmekte olup saçılım ileri yöndedir(56).

2.4. Optik Teşhis ve Spektroskopisi

Son yıllarda doku teşhisinde optik teknolojinin kullanılması hızla gelişen bir alan olarak karşımıza çıkmaktadır. Spektroskopik teknikler kullanılarak kanser ve kanser öncüsü lezyonların tespiti birçok çalışma grubu tarafından yapılmaktadır. Normal bir doku kansere doğru ilerlediği zaman dokunun morfolojik ve moleküler yapısı değişmekte ve böylelikle bu tip dokularda ışık doku etkileşimi normal dokulara göre farklılık göstermektedir. Optik sistemlerle kanserli lezyonların normal dokulardan ayrımının nedeni bu değişimlerin olmasıdır. Dağınık Yansıma, Floresans, Raman ve Elastik Saçılım Spektroskopisi gibi farklı spektroskopik teknikler kullanılarak hücresel ya da moleküler değişimler tespit edilebilmektedir (15, 16). Optik prob kullanılarak dokuya belirli bir dalga boyu aralığında ışık gönderildiğinde saçılan ışık bilgisi spektrum olarak toplanmakta ve spektrumlar arasındaki farklar teşhis bilgisi sağlamaktadır. Raman, floresans ve absorpsiyon spektrumları dokunun biyokimyasal yapısı hakkında

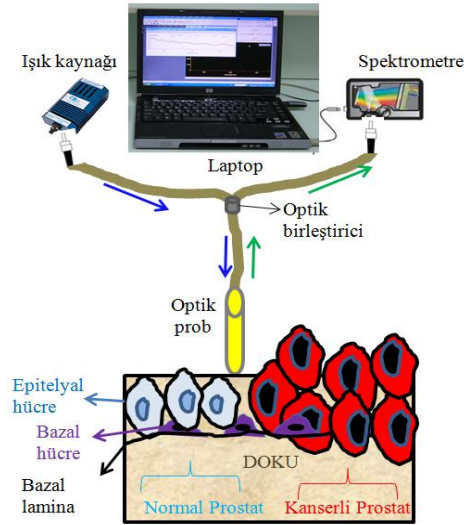
bilgi verirken (triptofan, kollajen, NADH gibi), yapısal ya da morfolojik bilgi dokunun elastik saçılım özellikleri kullanılarak elde edilmektedir (9, 14, 17, 18). Deneyler sonucunda elde edilen spektrumlar çeşitli istatistiksel metodlarla analiz edilmekte ve histopatolojik doku ayırımı yapılmaktadır. Sunulan tez çalışmasında doku ayırımı için Elastik Işık Saçılım Spektroskopisi (EISS) tekniği kullanıldı. Çalışmamızda kullandığımız bu sistem ile kanserli ve normal dokuya gönderilen ışık dokudaki çekirdek ve organellerden geri saçılmakta ve bunun sonucunda spektroskopik veri elde edilmektedir. Farklı doku tiplerinden elde edilen bu veriler birbirleriyle karşılaştırılmakta böylelikle doku ayırımı yapılmaktadır. Dokuya gönderilen ışığın saçılımının sebebi, hücredeki çekirdek, mitokondri ve diğer organellerin yapılarının, bileşim ve yoğunluk farkından dolayı kırılma indisinin değişmesidir. Hücre morfolojisindeki değişiklikler incelenerek özellikle çekirdek stoplazma oranına bakılmak suretiyle dokuda kanserli hücre olup olmadığı anlaşılabilir. Kanser başta olmak üzere çeşitli anormal yapıya sahip dokularda, hücresel düzeyde yapısal değişiklikler gözlenir ve bu değişiklikler spektral ölçümler ile belirlenebilir (62). Dokuda esnek saçılım yapan ışığın saçılımı hücre boyutu, şekli ve hücre çekirdeği hacmi gibi yapısal özelliklere duyarlıdır. Çalışmalarda kullanılan fiber optik probun dizaynı spektroskopik çalışmalarda önemli rol oynamaktadır. Sunulan tez çalışmasında kullanılan EISS sisteminde kullandığımız optik probun geometrik yapısından dolayı dokuda tekli saçılım yapan fotonlar prob tarafından toplanmakta ve bu durum dokunun en üst tabakası olan epitel dokuda gerçekleşmektedir. Bunun nedeni kullandığımız optik probun çapının çok küçük olması nedeniyle (100 µm) dokuya gönderilen fotonlardan derine ilerleyenlerin tekrar aynı proba gelme olasılıklarının düşük olması, bununla beraber dokudan tek bir defa saçılan fotonların aynı prob tarafından toplanma olasılıklarının daha yüksek olmasıdır. Kanserlerin 85%'inin kökeni epitel doku olduğundan ve EISS sistemi de epitel dokudaki morfolojik değişikliklere duyarlılık gösterdiğinden alınan spektrumlar kanserli hücrelerde normal hücrelere göre farklılık göstermektedir. EISS sistemi ile alınan spektrumlarda toplanan fotonların doku içindeki optik yollarının kısa olmasından (0.1-0.2 mm) dolayı alınan spektrumlar doku absorpsiyon katsayılarındaki değişimlere duyarlı değildir. Bu yüzden çalışmamızda kullandığımız tekli fiber optik prob hastadan hastaya ve bölgeden bölgeye değişiklik gösteren saçılım ve absorpsiyon katsayılarına bağlı olmamakta sadece dokunun morfolojisine yani çekirdek büyüklüğüne duyarlılık göstermektedir. Böylece doku morfolojisinin değişimi çalışmada kullandığımız tekli optik fiber ölçümlerini etkilemektedir.

Bu zamana kadar EISS sistemi farklı dokularda kullanılarak birçok çalışma yapılmış (10-14, 63, 64) ve sistemin çalışılan dokuya göre değişen teşhis potansiyeli belirlenmiştir. Sunulan tez çalışmasında kullandığımız sistemin radikal prostatektomi operasyonu esnasında hastalardan çıkarılan prostat dokusu cerrahi sınırlarında normal dokuyu kanserli dokudan ayırımı incelendi.

GEREÇLER VE YÖNTEMLER

3.1. Elastik Işık Saçılım Spektroskopisi (EISS) Sistemi

Sunulan tez çalışmasında EISS sistemi ile prostat dokusu parçalarından *ex-vivo* olarak ölçüm alındı. Şekil 3.1’ de bu çalışmada kullanılan EISS sistemi ölçüm düzeneği gösterildi. Sistem bir adet tungsten ışık kaynağı (Ocean Optics, Inc. Florida, ABD), spektrometre (USB2000, Ocean Optics, Inc. Florida, ABD), laptop ve 100 μm çapında fiber optik probtan oluşmaktadır. Kullanılan optik probun şekil 3.1’de görüldüğü gibi bir yönünde tek bir optik lif diğer yönünde ise iki tane çıkışı bulunmaktadır (1x2, %50 optik fiber birleştirici). Her iki yöndeki optik liflerin çapı 100 μm , yaklaşık uzunlukları 100 cm ve probun sayısal açıklığı 0.22’ dir. Optik prob doku üzerinde rastgele gezdirilerek dokuya ışık gönderilmekte ve dokudan geri saçılan foton bilgisi spektrometre ve bilgisayardaki yazılım (OOIBase32 Platinum, Ocean Optics, Inc, Florida, ABD) aracılığı ile spektroskopik veri olarak kaydedilmektedir.



Şekil 3.1.EISS Sistemi

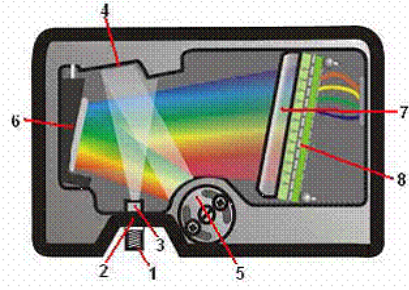
Çalışmamızda Canpolat’ ın (65, 66) geliştirdiği ve 0.1 mm’ lik çapa sahip tek optik liften oluşan prob kullanıldı. Probuun çapının küçük olması nedeniyle ışık dokuda derine ilerlemeyip doku yüzeyinden bir ya da iki kez saçılarak geldiği için saçılan ışığın spektrumu ışığı saçan parçacıkların boyutuna duyarlıdır. Bu durum bize doku morfolojisi hakkında bilgi vermektedir. Işık dokuya girince soğurulur veya saçılır. Dokuda soğurulmadan saçılan ışığın küçük bir miktarı ışığın dokuya gönderildiği

noktadaki optik prob ile tekrar toplanır. Dokuda difüzyona uğrayan fotonlar probdan uzaklaştığı için optik proba geri dönme ihtimali düşüktür. Böylelikle çalışma konumuz olan prostat kanseri gelişiminde prostat epitelinde birbiri ardı sıra meydana gelen değişiklikler sistemimiz tarafından algılanabilmektedir. EISS sistemi için en temel hücresel saçıcı çekirdektir. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda çekirdek yoğunluğunun elastik saçılım spektrumlarını değiştirdiği (67), çekirdek kromatin içeriğinin ışığın saçılım spektrumunu etkilediği (68, 69), çekirdek stoplazma oranı değişiminin saçılım üzerinde istatistiksel olarak anlamlı değişimler yaptığı Monte Carlo modelleme ile gösterilmiştir (70). Yapılan *in-vitro* deneylerde 100 µm' lik optik prob ile alınan spektrumların ışığı saçan parçacıkların büyüklüğüne bağlı olarak değiştiği, sistemin dokudaki morfolojik değişimlere ve çekirdek yapısına duyarlı olduğu böylelikle kanserli dokuyu normal dokudan ayırt ettiği gösterilmiştir (10-14, 63, 64).

Çalışmamız esnasında patolojik olarak normal ve kanserli dokulardan alınan spektrumlar karşılaştırıldı ve üzerinde çalışılan dokunun normal mi yoksa kanser mi olduğu belirlendi. Bir dokudan alınan ölçüm genellikle 3-5 dakika kadar sürdü ve dokuya gönderilen ışık 0.5 mW' tan daha az olduğu için dokuya hiçbir zarar vermedi. EISS yöntemi kullanılarak daha önce yapılan çalışmalarda dokudaki anomalileri bulma ve tanımlama için araştırmalar yapılmıştır (9-14, 58).

3.2. Spektrometre

Elektromanyetik ışınımı inceleyen bilim dalına spektroskopi denir. Madde ile etkileşen elektromanyetik dalgaların spektrumu değişir. Söz konusu madde atom, molekül veya iyon olabilir. Spektroskopiden elde edilen ve her bir dalga boyundaki şiddeti belirleyen veriye ise spektrum denilir. 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 yöntemler ile maddenin elektromanyetik radyasyonu yayması, soğurması, saçması, saptırması, genel olarak maddenin elektromanyetik radyasyonla etkileşimi ve bu etkileşimin sonuçları analitik amaçlara dönük olarak incelenir. Foton enerjilerine göre farklı spektroskopik yöntemler kullanılmaktadır. Saçılım spektroskopisinde maddenin belirli dalga boyu ve açılarda saçtığı ışığın miktarı ölçülerek maddenin bazı fiziksel özellikleri belirlenir. Çalışmamızda 400 ile 800 nm arasındaki dalga boyuna duyarlı ve 2048 elemanlı CCD detektör dizisine sahip olan bir spektrometre kullanıldı (Şekil 3.2).



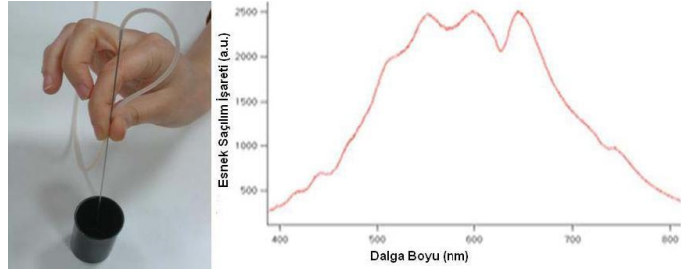
Şekil 3.2. Çalışmada kullandığımız spektrometrenin iç yapısı

- 1- SMA konektör
- 2- Slit
- 3- Filtre
- 4- Yönlendirici ayna
- 5- Grating
- 6- Odaklayıcı ayna
- 7- Dedektör lensi
- 8- CCD Detektör

Spektrometrelerde ışığın geçmesi için bir açıklık, ışığı yönlendirici ayna, ışığı spektrumuna ayırmada kullanılan ızgaralar (grating) ve yüklenme iliştilirilmiş araç (CCD) bulunur. Spektrometreye gelen ışık, özel aynalar aracılığı ile CCD detektör dizisi üzerine dağıtılır. CCD bunu elektrik sinyaline çevirir. Dalga boyuna bağlı ışık şiddeti yazılım aracılığı ile bilgisayara iletilir.

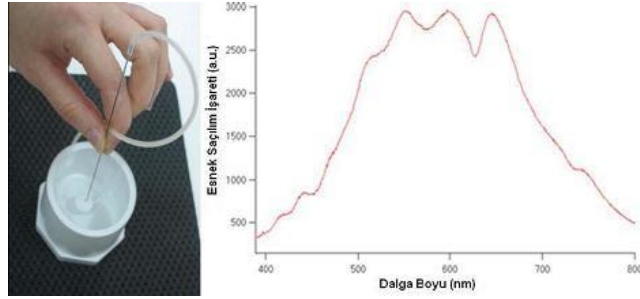
3.3. Sistemin Kalibrasyonu

Radikal Prostatektomi ameliyatı sırasında ürologlar tarafından hastaların cerrahi sınırlarından dokular çıkarıldı. Bu dokuların üzerinde optik prob ile *ex-vivo* olarak ölçüm yapmadan 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 yapıldı. Kalibrasyon yapılırken öncelikli olarak, su dolu düz siyah bir kaptaki sistemden dolayı oluşan geri yansımalar, $R(\lambda)_{bg}$, ölçüldü. Bu ölçüm sonucu elde edilen spektrum şekil 3.3' te gösterildi. Siyah renk absorpsiyon olması yani ışığın üzerine düştüğü madde tarafından tamamen soğurulması için kullanıldı. Yalnızca yansımalar ölçüleceği için ölçüm alınan ortamda saçılımın olmaması istenir. Işık, optik lif probun ucundan çıkıp suya girerken, lif ile suyun kırılma indisi farkından dolayı geri yansıma olur. Bu ölçüm ile sistemdeki iç yansımadan kaynaklanan yansıma spektrumu elde edildi (71).



Şekil 3.3. 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 $R(\lambda)_c$ geri yansıma ölçüldü. Bu ölçümün spektrumu şekil 3.4’ te görülmektedir. Alınan spektrum, ışık kaynağının spektral dağılımını yok etmek için kullanıldı. Bu ölçüm alınırken prob, su içerisindeki spektralondan 1-2 mm yukarıda tutuldu. Ölçüm sonucunda elde edilen değer, tamamen ışık kaynağından oluşan yansıma değeridir.

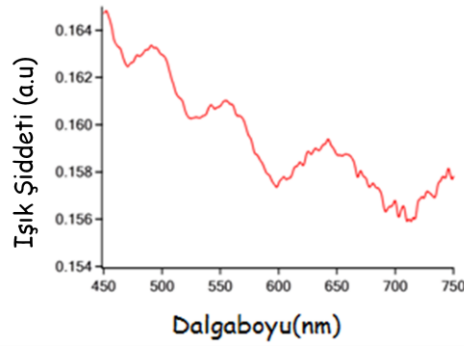


Şekil 3.4. Spektralondan alınan EISS ölçümü

Son olarak doku üzerinde ölçüm alındıktan sonra $(R(\lambda)_s)$ düzeltilmiş spektrum $(R(\lambda))$ eşitlik (4)’ teki gibi yazıldı:

$$R(\lambda) = \frac{R(\lambda)_s - R(\lambda)_{bg}}{R(\lambda)_c - R(\lambda)_{bg}} \quad (4)$$

Yapılan kalibrasyonun kontrolü için doku eşdeğeri olarak kullanılabilen 2 µm çapında polistiren parçacıkların (Duke Scientific Corp. Kaliforniya, ABD) yoğun süspansiyonundan spektrum alındı (Şekil 3.5). Bu spektrumda görünen salınımlar optik prob ile yapılan ölçümlerde sadece bir ya da iki defa saçılan fotonların toplandığını göstermektedir. Bu da ışığı saçan parçacıkların büyüklüğü hakkında bilgi vermektedir.



Şekil 3.5. 2 μm çapındaki polistiren parçacıkların EISS spektrumu

3.4. Prostat Cerrahi Sınır Dokuları ve Gruplandırma

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik, Üroloji ve Patoloji Anabilim Dallarında gerçekleştirilen çalışmamızda toplam 27 hasta çalışmaya dahil edilip hastalardan alınan toplam 299 adet prostat dokusu cerrahi sınırlarında EISS sistemi ile *ex-vivo* olarak ölçümler alındı. Çalışma öncesinde Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar etik kurulu onayı alındı. Tablo 3.1’de Radikal Prostatektomi yapılan bu 27 hastanın klinik özellikleri verildi;

Tablo 3.1. RP yapılan hastaların klinik özellikleri (PMN: Prostat Malign Neoplazmı)

Hasta #	Yaş	Gleason Skoru	Klinik ön tanı	Hasta #	Yaş	Gleason Skoru	Klinik ön tanı
1	53	4+3=7	PMN	15	62	3+3=6	PMN
2	71	3+3=6	PMN	16	68	3+3=6	PMN
3	71	3+3=6	PMN	17	73	3+3=6	PMN
4	61	3+4=7	PMN	18	71	3+3=6	PMN
5	70	3+4=7	PMN	19	71	3+3=6	PMN
6	65	3+3=6	PMN	20	73	3+3=6	PMN
7	74	3+3=6	PMN	21	65	3+3=6	PMN
8	70	3+3=6	PMN	22	33	3+3=6	PMN
9	61	3+3=6	PMN	23	68	4+3=7	PMN
10	63	3+3=6	PMN	24	60	3+3=6	PMN
11	60	3+3=6	PMN	25	72	3+4=7	PMN
12	72	3+4=7	PMN	26	69	3+3=6	PMN
13	67	3+4=7	PMN	27	65	3+3=6	PMN
14	69	3+3=6	PMN				

Ürologlar tarafından operasyon esnasında prostatın bazal, posterior, posterolateral, lateral, apex, mesane boynu, endlateral ve üretra cerrahi sınırlarından kanserli doku olup olmadığını belirlemek amacıyla doku çıkarıldı. Çıkarılan bu

dokuların yüzeyinde EISS sistemi ile 5 dakika içerisinde rastgele farklı noktalarda, doku büyüklüğüne bağlı olarak değişecek şekilde en az 16 tane olmak üzere *ex-vivo* olarak ölçüm alındı. Spektroskopik ölçüm alınan parçalar ölçüm alındıktan hemen sonra (10%) formaldehit tamponunda histopatolojik değerlendirme için Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına gönderildi. Yine operasyon esnasında metastaz olup olmadığını belirlemek amacıyla hastalardan çıkarılan lenf düğümleri patolojik inceleme sırasında patologlar tarafından çevre yağ dokularından temizlendi ve EISS sistemi ile çıkarılan bu lenf düğümleri üzerinden de ölçümler alındı. Lenf düğümünün etrafından çıkarılan ve tamamen yağ olan parçalar üzerinde de sistem ile ölçümler alındı. Patolojik değerlendirme için dokular hematoksilin ve eosin stain (H&E stain) boyası ile boyanıp doku tipleri belirlendi. Histopatolojik değerlendirme sonrasında dokular 4 farklı gruba ayrılıp sayıları tablo 3.2' de verildi;

Tablo 3.2. 4 Farklı grup ve sayıları

GRUP	PATOLOJİK DEĞERLENDİRME	DOKU SAYISI
0	Benign	166
1	Lenf	83
2	Malign	14
3	Yağ	36

EISS optik tanı sistemi ile yapılan *ex-vivo* deneylerde dokudaki süperfisyal kontaminasyonları temizlemek, dokunun kurumasını engellemek ve dokuda pıhtılaşmış kan parçacıklarının spektral datayı olumsuz yönde etkilemesini engellemek amacı ile tüm dokular ölçüm alınmadan önce steril salin solüsyon ile nemlendirildi. Dokunun optik özelliklerini değiştirmemek için deneyin bu adımı dikkatlice yapıldı. Spektral data toplama süresince kaplardan geri yansımayı engellemek amacıyla dokular siyah bir zemin üzerine konulduktan sonra ölçümler alındı. Tek bir dokudan alınan ölçümler yaklaşık 5 dakika sürdü. Deneyler yapılırken tek bir spektrum için kısa süreli (< 2 sn.) olacak şekilde ve dokunun fizyolojik özelliklerini değiştirmemek amacıyla optik probun basınç etkisini en az düzeyde tutarak ölçümler alındı. Böylelikle spektrum ölçümlerini ve sistemin teşhis performansını negatif olarak etkilemekten kaçınıldı.

Daha sonra dokular üzerinde EISS sistemi ile alınan spektrumlar incelendi. Bu şekilde farklı gruplara ait dokularda alınan spektrumlara ait veriler hazırlandı. Alınan spektrumlarla patoloji sonuçları arasındaki ilişki incelendi. Çalışmamızda patolojik değerlendirme altın standart olarak kullanılıp dokulardan alınan spektrumlar patoloji sonuçları ile karşılaştırıldı ve teşhis doğrulukları belirlendi. Çalışmadaki dokularda çekirdek alanı analizi yapılırken en az 30 tane çekirdeğin ortalaması ve standart sapması hesaplandı. Bu işlem Microsoft Windows 98 işletim sistemi olan bir bilgisayar, ışık mikroskopu (Lecia DMLB, Wetzlar, Almanya), görüntü yakalama kartı (Matrox Meteor, MatroxInc., Kanada), mikroskopa bağlı dijital kamera (Sony XC003P 3 CCD, Sony, Inc., Japonya) ve görüntü analiz yazılımı SAMBA 2000 (SAMBA Inc, Grenoble, Fransa) kullanılarak yapıldı.

3.5. Data Prosesi ve İstatistiksel Değerlendirme

3.5.1. Temel Bileşenler Analizi ve Arkaplan Matematiği

Temel Bileşenler Analizi (TBA) çok değişkenli matematiksel analiz tekniğidir. Bu teknik spektroskopik data'lara uygulandığı zaman spektrumlarla doku tiplerini karakterize etmek için kullanılan bir veri analiz metodudur. Temel Bileşenler (TB) çeşitli dokulardan alınan spektrumlardan oluşan data setinin dik ve doğrusal transformasyonu sonucu elde edilir. TBA metodunun çalışmamızda kullandığımız data'lara uygulamasını anlayabilmek için bu metodu data'lara uygulamadan önce başlıca bir takım matematiksel ve istatistiksel kavramlar tanımlandı. Çalışmamızda kullandığımız data'larla bu kavramaları örneklendirerek açıklayıp konu daha anlaşılır hale getirildi.

3.5.1.1. Standart Sapma

Standart Sapma data verilerinin (spektrumların) dağılımını ve ortalamadan uzaklıklarını ifade eder. Standart sapma değeri (σ) küçük ise verilerin ortalama etrafında yoğunlaştığını (birleştiğini), büyük ise verilerin ortalamadan uzaklaştığını (dağıldığını) ifade eder ve eşitlik (5)' teki gibi gösterilir;

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{m-1}} \quad (5)$$

\bar{x} : Belirli doku kümesinin ortalama değerini verir ve eşitlik (6)' daki gibi ifade edilir;

$$\bar{x} = \frac{1}{m-1} \sum_{i=1}^k x_i \quad (6)$$

m : Veri kümesindeki doku sayısı

\bar{x} : x kümesinin ortalaması

3.5.1.2. Varyans ve Kovaryans

Varyans data seti içerisinde data dağılımının bir diğer ölçümüdür. Standart sapmanın karesidir. Standart sapma ya da varyans tek boyutta yapılan bir işlemdir ve data setindeki her bir boyut diğer boyutlardan bağımsız bir biçimde hesaplanır. Fakat çoklu data setinin birbirlerine göre ortalamadan ne kadar değiştiğini belirlemek ise

kovaryans ile hesaplanır. Kovaryans genelde 2 boyutta hesaplanır. Eğer kovaryans tek boyutta hesaplanırsa varyans elde edilir. Kovaryans formülü varyans formülüne benzerdir ve varyans eşitlik (7)' deki gibi ve kovaryansta eşitlik (8)' deki gibi ifade edilir;

$$\text{var}(x) = \frac{\sum_{i=1}^m (x_i - \bar{x})(x_i - \bar{x})}{m-1} \quad (7)$$

$$\text{cov}(x, y) = \frac{\sum_{i=1}^m (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{m-1} \quad (8)$$

\bar{y} : y kümesinin ortalaması

3.5.1.3. Kovaryans Matrisi

Eğer data seti 2 boyuttan fazla ise birden fazla kovaryans değeri elde edilir. Eğer 3 boyutlu data seti varsa (x, y, z) x ve y boyutları arasındaki (cov(x,y)), y ve z boyutları arasındaki (cov(y,z)) ve x ve z boyutları arasındaki (cov(x,z)) kovaryans hesaplanabilir ve kovaryans matrisi 3 satır ve 3 sütuna sahip olur ve değerler eşitlik (9)' daki gibi gösterilebilir. x ve x, y ve y, z ve z arasındaki kovaryans hesabında da x,y ve z boyutlarının varyansı elde edilmiş olunur. Eğer n tane data seti varsa $\frac{n!}{(n-2)!*2}$ tane

kovaryans değeri hesaplanır. Tüm farklı boyutlar arasındaki olası kovaryans değerlerini elde etmenin en iyi yolu tüm kovaryans değerlerini hesaplayıp matris biçiminde yazmaktır. n boyutlu data setinde kovaryans matrisi n tane satır ve n tane sütuna (kare) sahip olur ve matristeki her değer 2 farklı boyut arasındaki kovaryansı verir.

$$C = \begin{pmatrix} \text{cov}(x, x) & \text{cov}(x, y) & \text{cov}(x, z) \\ \text{cov}(y, x) & \text{cov}(y, y) & \text{cov}(y, z) \\ \text{cov}(z, x) & \text{cov}(z, y) & \text{cov}(z, z) \end{pmatrix} \quad (9)$$

3.5.1.4. Özdeğer

Özdeğerin ne anlama geldiğini açıklamadan önce doğrusal dönüşüm kavramını bilmekte fayda vardır. Doğrusal dönüşüm matris ve vektör çarpımına eşit olan bir fonksiyon türüdür. Yani aynı vektörün farklı koordinat sistemlerinde tanımlanması ya da aynı vektörün farklı yollarla ifade edilme şeklidir. Herhangi bir vektörün dönüşümünün o vektörün farklı uzunluğa veya büyüklüğe sahip başka bir versiyonuna eşit olması durumudur ve formülü eşitlik (10)' daki gibi gösterilebilir;

$$T(\vec{v}) = A\vec{v} = \lambda\vec{v} \quad (10)$$

A : Herhangi bir data matrisi

\vec{v} : A matrisinin özvektörü

λ : A matrisinin özdeğeri olarak adlandırılır.

Burada \vec{v} vektörü 0' dan farklı herhangi bir değer olacak şekilde eşitlik (10) koşulunu sağlayan herhangi bir λ değeri varsa bu değere özdeğer denir. Burada \vec{v} vektörü eşitlik (11)' deki gibi ifade edilir;

$$\vec{v} = I\vec{v} \quad (11)$$

I: birim matris yani köşegen üzerindeki öğelerin 1, geri kalan yerlerdeki öğelerin 0 olduğu matristir ve eşitlik (12)' deki gibi gösterilir;

$$I = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (12)$$

Eşitlik (10) aşağıdaki eşitlik (13)' teki gibi ifade edilecek olursa;

$$T(\vec{v}) = A\vec{v} = \lambda\vec{v} \Rightarrow \lambda\vec{v} - A\vec{v} = 0 \quad (13)$$

ve eşitlik (11) eşitlik (13)' teki yerine yazılırsa eşitlik (14) elde edilir;

$$\lambda I\vec{v} - A\vec{v} = 0 \quad (14)$$

Eğer \vec{v} ortak parantezine alınırsa eşitlik (15) elde edilir;

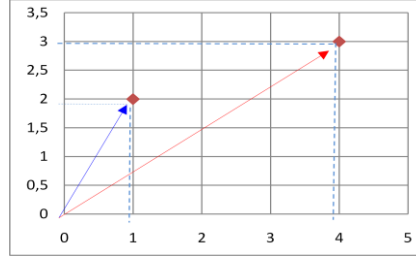
$$\vec{v}(\lambda I - A) = 0 \quad (15)$$

0 olmayan bir \bar{v} değeri için eşitlik (15)' in 0 değerini sağlaması için determinant alınır ve 0' a eşitlenir ve eşitlik (16)' daki gibi gösterilir;

$$\det(\lambda I - A) = 0 \quad (16)$$

Eğer eşitlik (16) sağlanırsa elde edilen λ değeri A' nın özdeğeridir denir.

Örnek 1: Bu konunun daha net anlaşılabilmesi için örnek olarak basit bir $A = \begin{bmatrix} 1 & 2 \\ 4 & 3 \end{bmatrix}$ matrisinin (Şekil 3.6) özdeğerlerini (λ) bulacak olursak;



Şekil 3.6. Örnek A matrisinin koordinat düzleminde gösterimi

$$\det \left(\lambda \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} 1 & 2 \\ 4 & 3 \end{bmatrix} \right) = 0$$

$$\det \left(\begin{bmatrix} \lambda & 0 \\ 0 & \lambda \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} 1 & 2 \\ 4 & 3 \end{bmatrix} \right) = 0$$

$$\det \left(\begin{bmatrix} \lambda - 1 & -2 \\ -4 & \lambda - 3 \end{bmatrix} \right) = 0 \Rightarrow (\lambda - 1)(\lambda - 3) - 8 = 0$$

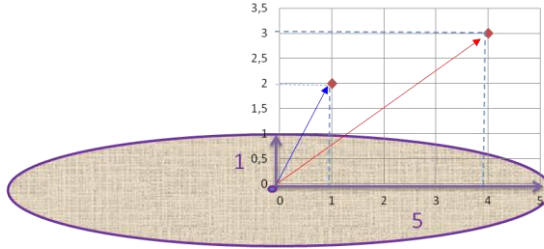
$$\lambda^2 - 4\lambda - 5 = 0$$

$\lambda = 5$ ve $\lambda = -1$ özdeğerleri örnekteki A matrisinin özdeğerleri olarak bulunur. A matrisi 2 tane değişkene sahip olduğu için 2 tane özdeğer elde edilir. Elde edilen bu iki özdeğer en büyük ve en küçük aksis değerlerini ifade eder ve şekil 3.7’deki gibi gösterilebilir. Bu özdeğerler elde edilen şeklin merkezini oluşturur. Yani özdeğerler pozitif ve negatif ekseninde olabilir.



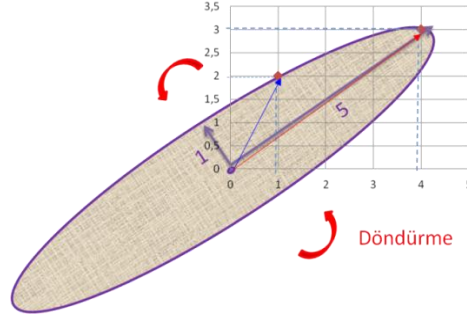
Şekil 3.7. Örnek A matrisinin özdeğer aksisleri

Elde edilen elipsin merkezi A matrisinin merkezine yerleştirildiğinde şekil 3.8’deki gibi bir gösterim ortaya çıkar.



Şekil 3.8. Özdeğer aksislerinin merkezinin A matrisi merkezine yerleştirilmesi

Bu elipsi A matrisinin datalarını kapsayacak şekilde döndürdüğümüzde şekil 3.9 elde edilir.



Şekil 3.9. A matrisi datalarını kapsayacak şekilde elde edilen elipsin döndürülmesi

A matrisinden elde edilen özdeğerlerin toplamı ($\lambda = 5$ ve $\lambda = -1$, $5-1=4$) her zaman matrisin köşegen elemanlarının toplamına eşittir ($1+3=4$).

3.5.1.5. Özvektör

Yukarıda A matrisi örneğinde elde ettiğimiz özdeğerler ($\lambda = 5$ ve $\lambda = -1$) için özvektör tanımlayacak olursak en büyük özdeğerin ($\lambda = 5$) özvektörü elde edilen elipsin en büyük aksisini gösterir ve bu major axisin eğimi elde edilen özvektörlerinin oranı ile belirlenir.

$\lambda = 5$ için özuzay (E_5)= $(\lambda I - A)$ olacak şekilde;

$$E_5 = \left(5 \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} 1 & 2 \\ 4 & 3 \end{bmatrix} \right) = \left(\begin{bmatrix} 5 & 0 \\ 0 & 5 \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} 1 & 2 \\ 4 & 3 \end{bmatrix} \right) = \begin{bmatrix} 4 & -2 \\ -4 & 2 \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} 4 & -2 \\ -4 & 2 \end{bmatrix} \vec{v} = 0 \Rightarrow \begin{bmatrix} 4 & -2 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} v_1 \\ v_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix} \Rightarrow \begin{bmatrix} 1 & -1/2 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} v_1 \\ v_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

$$v_1 - \frac{v_2}{2} = 0 \Rightarrow v_1 = \frac{v_2}{2} \text{ eğer } v_2 = t \text{ ise;}$$

$$E_5 = \begin{bmatrix} v_1 \\ v_2 \end{bmatrix} = t \begin{bmatrix} 1/2 \\ 1 \end{bmatrix} \Rightarrow E_5 = \begin{bmatrix} 1/2 \\ 1 \end{bmatrix}$$

özvektörleri bulunur ve $\lambda=5$ için bu özvektörlerin oranı eğimi verir $((1/2)/1=1/2$, pozitif eğim).

Elde edilen ikinci en büyük özdeğerin ($\lambda = -1$) özvektörü ise elde edilen elipsin en küçük aksisini gösterir.

$\lambda = -1$ için özuzay $(E_{-1}) = (\lambda I - A)$;

$$\left(\begin{bmatrix} -1 & 0 \\ 0 & -1 \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} 1 & 2 \\ 4 & 3 \end{bmatrix} \right) = \begin{bmatrix} -2 & -2 \\ -4 & -4 \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} 2 & 2 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \vec{v} = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} v_1 \\ v_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

$v_1 + v_2 = 0 \implies v_1 = -v_2$ eğer $v_2=t$ ise;

$$E_{-1} = \begin{bmatrix} v_1 \\ v_2 \end{bmatrix} = t \begin{bmatrix} -1 \\ 1 \end{bmatrix} \implies E_{-1} = \begin{bmatrix} -1 \\ 1 \end{bmatrix}$$

özvektörleri bulunur ve $\lambda = -1$ için bu özvektörlerin oranı eğimi verir $(-1/1=\text{negatif eğim})$.

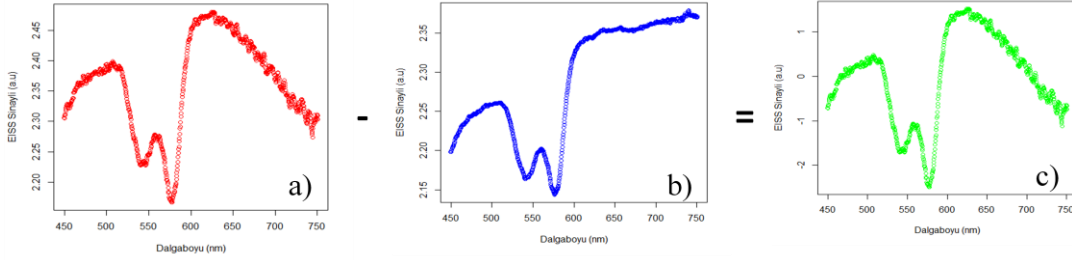
$A\vec{v}=\lambda\vec{v}$ bağıntısından hesaplan λ özdeğeri ve \vec{v} özvektöründe A matrisi \vec{v} vektörünü λ kadar büyütme veya küçültmektedir. \vec{v} vektörünün doğrultusu değişmemekte fakat yönü değişebilmektedir. λ pozitif ise \vec{v} ve $\lambda\vec{v}$ aynı yönde, negatif ise ters yöndedir denir. Bu bilgiler ışığında deney datalarımıza TBA uygulamak için gerekli olan basamaklar aşağıdaki bölümde anlatılmaktadır.

3.5.2. TBA Uygulama Basamakları

3.5.2.1. Deney sonucu elde edilen datanın standartlaştırılması

EISS sistemi ile 450-750 nm dalga boyu aralığında alınan spektrumlar istatistiksel analiz için kullanıldı. Kullandığımız sistem ile dokulardan alınan spektrumların teşhis potansiyelini belirlemek amacıyla data prosesinin öncesinde bu spektrumlar standardize edilir ve data matrisi haline getirilir. Standardizasyon yapılırken her bir doku tipine ait spektrumların ortalaması alınır ve bu ortalama spektrum orjinal spektrumlardan çıkarılır. Elde edilen fark spektrumu standart sapma değerine bölünerek tüm spektrum seti standartlaştırılmış olur. Böylelikle ham spektrum verileri standart verilere dönüştürülerek ölçü birimi farklılığı ortadan kaldırılmış olur. Çalışmamızdaki

herhangi bir doku tipi için standartlaştırma Şekil 3.10' da gösterilmiştir. Bu standardize edilmiş geniş data setine TBA uygulanarak minimum bilgi kaybı ile data boyut sayısı azaltıldı. 450-750 nm dalga boyu aralığında 0.34 nm aralıklarla 937 data noktası incelendi ve böylelikle TBA 27 hastada 937 değişkenli ve 299 adet standardize edilmiş data setine uygulandı.



Şekil 3.10. a) Orjinal spektrum, b) Ortalama spektrum, c) Standardize spektrum

3.5.2.2 . Kovaryans matrisi hesaplama

Yapılan deney sonucunda spektrumların her bir gözlem değişkeni (m) ve dalga boyu data noktası sayısı (n) olmak üzere toplamda (mxn) boyutunda bir data matrisi (A) elde edilir. Bizim yapmış olduğumuz tez çalışmasında bu matris (299x937)'dir. Bu (m=299) tane spektrum gözlem değişkeni seti içerisinde (doku) herhangi bir korelasyon varsa bu korele değişken kümeleri bir araya gelir ancak (n=937) boyutlu uzayda (dalga boyu data noktası) bu korelasyonu görmek imkansızdır. TBA ile data kümesine dik olacak şekilde yeni koordinat seti belirlenir. Bunun için öncelikli olarak kovaryans matrisi hesaplanır. Eğer A data matrisinde m satır sayısını ve n ise sütun sayısını gösterecek olursa bu matris eşitlik (17)' deki gibi gösterilebilir;

$$A_{mxn} = \begin{pmatrix} a_{11} & a_{12}.... &a_{1n} \\ a_{21} & a_{22}.... &a_{2n} \\ & & \\ & & \\ a_{m1} & a_{m2}.... &a_{mn} \end{pmatrix} \quad (17)$$

Bu data matrisinin kovaryans matrisi eşitlik (18) gibi gösterilir;

$$K = \text{cov}(A) = \frac{A^T A}{m-1} \quad (18)$$

Bölüm 3.5.1.3' te açıkladığımız gibi eğer elimizde n tane data varsa kovaryans matrisi (K) n tane satır ve sütuna (kare) sahip olur ve matristeki her değer 2 farklı data arasındaki kovaryansı verir. Elde edilen kovaryans matrisinde köşegenler varyansları gösterir ve n tane özdeğer ile n tane özvektör hesaplanır. Hesaplanan n tane özdeğer ile oluşturulan özdeğer matrisi (Λ) (skor) elde edilir ve eşitlik (19) ile ifade edilebilir;

$$\Lambda = \begin{bmatrix} \lambda_1 & & & \\ & \lambda_2 & & \\ & & \cdot & \\ & & & \lambda_n \end{bmatrix} \quad (19)$$

Daha sonra elde edilen bu özdeğerler ile bölüm 3.5.1.5' te anlatılan şekilde özvektörler hesaplanır. TBA' nın temel amacı minimum data kaybı ile veri indirgemesi yapmaktır. Bunuda data setini skora yani özdeğer matrisine çevirerek yapar. Bu kısmın daha net anlaşılması için örnek 2' deki gibi elimizde 2 boyutlu (A_1 ve A_2 orjinal dataları için) bir kovaryans matrisi (K) olmuş olsun;

Örnek 2: $K = \begin{bmatrix} 0.721 & 0.425 \\ 0.425 & 0.536 \end{bmatrix}$

Kovaryans matrisindeki köşegenlerin toplamı toplam varyansı verir ve herbir değişkenin toplam varyansa etkisi kovaryans matrisindeki köşegen değerlerinin toplam varyansa oranı ile hesaplanır. Bu matristeki A_1 ve A_2 arasındaki kovaryans değeri 0.425' tir. Bu matrisin özdeğerlerini hesaplayacak olursak;

$$\det \begin{bmatrix} \lambda - 0.721 & 0.425 \\ 0.425 & \lambda - 0.536 \end{bmatrix} = 0$$

Özdeğerler $\lambda_1 = 1.06$ ve $\lambda_2 = 0.188$ olarak elde edilir. Özvektörleri (F) hesaplayacak olursak;

$\lambda_1 = 1.06$ için;

$$\begin{bmatrix} 0.721-1.06 & 0.425 \\ 0.425 & 0.536-1.06 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} = 0 \Rightarrow \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -0.778 \\ -0.627 \end{bmatrix} \text{pozitif eğim}$$

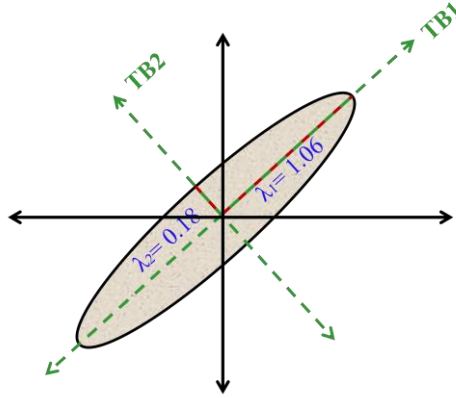
$\lambda_2 = 0.188$ için;

$$\begin{bmatrix} 0.721-0.188 & 0.425 \\ 0.425 & 0.536-0.188 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} = 0 \Rightarrow \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.627 \\ -0.778 \end{bmatrix} \text{negatif eğim}$$

$$F = \begin{bmatrix} 0.627 & -0.778 \\ -0.778 & -0.627 \end{bmatrix} \text{özvektörleri ve } \Lambda = \begin{bmatrix} 0.188 & 0 \\ 0 & 1.06 \end{bmatrix} \text{özdeğer}$$

matrisi elde edilmiş olur.

Elde edilen bu özdeğerler şekil 3.11' de olduğu gibi grafiksel olarak gösterilebilir ve TB' ler birbirine diktir.



Şekil 3.11. Özdeğerlerin TB aksisi ile gösterimi

TBA' nın avantajını verdiğimiz örnek 2 üzerinden açıklayacak olursak;

$$K = \begin{bmatrix} 0.721 & 0.425 \\ 0.425 & 0.536 \end{bmatrix}$$

K kovaryans matrisinin toplam varyansı= A_1 ' in varyansı (0.721)+ A_2 ' nin varyansı (0.536)=1.25' tir. Bu kovaryans matrisinde birinci değişkenin toplam varyansa katkısı=0.721/1.257=0.573 (57.3%) iken ikinci değişkenin toplam varyansa katkısı=0.536/1.257=0.426 (42.6%) olarak hesaplanır. Eğer bu data setimizi sadece bir değişkenle açıklayacak olursak değişkenlerden birini çıkarmamız gerekmektedir ve bunu yaparak toplam varyansın 57.3% ya da 42.6%' lık bir kısmını atmak durumunda kalırız ve çok büyük bilgi kaybı meydana gelir. Ancak data setimizi özdeğer matrisine (Λ :skor) çevirirsek;

$$\Lambda = \begin{bmatrix} 0.188 & 0 \\ 0 & 1.06 \end{bmatrix} \text{ elde edilir ve toplam özdeğer} = 0.188 + 1.06 = 1.25 \text{ olarak}$$

bulunur. Elde edilen bu değer toplam varyans ile aynı değerdedir.

Özdeğerler bölüm 3.5.1.4' te anlatıldığı gibi elipsin aksis uzunluklarını ifade eder ve özdeğerlerin toplamı yani aksisler data setinin toplam varyansını verir. Burada birinci temel aksis varyansın (TB1)=1.06/1.25=0.848' lük kısmını (84.8%) ve ikinci temel aksiste varyansın (TB2)=0.188/1.25=0.15' lik (15%) kısmını içerir. Böylelikle data setimizi birinci temel aksisteki skora dönüştürürsek toplam data setimizden sadece varyasyonun 15%' lik bir kısmını kaybetmiş oluruz ve böylelikle minimum bilgi kaybıyla avantaj sağlanmış olur.

3.5.2.3 . Skor Hesaplama

Elimizde bulunan 2 boyutlu orjinal data setinin (A_1 - A_2) TB aksisine (TB1-TB2) dönüşümünü matematiksel olarak ifade edecek olursak;

$$\lambda_1 = 1.06 \text{ için bulunan özvektörler} \Rightarrow \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -0.778 \\ -0.627 \end{bmatrix} \text{ ve}$$

$$\lambda_2 = 0.188 \text{ için bulunan özvektörler} \Rightarrow \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.627 \\ -0.778 \end{bmatrix} \text{ olarak bulunmuştu.}$$

Bu durumda birinci temel aksis: $TB1 = \alpha_1 A_1 + \alpha_2 A_2$ ve ikinci temel aksis: $TB2 = \beta_1 A_1 + \beta_2 A_2$ olacak şekilde gösterilir. Burada A_1 ve A_2 orijinal standartlaştırılmış datalar, α ' lar birinci özvektörün elemanlarını (-0.778 ve -0.627) ve β ' larda ikinci özvektörün elemanlarını (0.627 ve -0.778) göstermektedir;

$$\begin{array}{l}
 \text{TB1} = -0.778X_1 - 0.627X_2 \\
 \text{TB2} = 0.627X_1 + 0.778X_2
 \end{array}$$

Skor
Loading (Yük)

Sonuç olarak TBA ile elimizdeki orjinal datayı farklı koordinat sistemlerinde tanımlamış oluruz ve bunu yaparken orijinal datalarda minimum bilgi kaybı olur. Böylelikle standartlaştırılmış data matrisi özdeğer (skor) ve özvektör bileşenlerine ayrıştırılır. Elde edilen sonuç tüm spektrumların özvektörlerinin ağırlık toplamı olarak ifade edilir. Eğer genelleştirilmiş şekilde yazacak olursak eşitlik (20)' deki gibi yazılır;

$$S = A.F \Rightarrow A = S.F' + E = s_1f'_1 + s_2f'_2 + s_3f'_3 + \dots + s_nf'_n + E \quad (20)$$

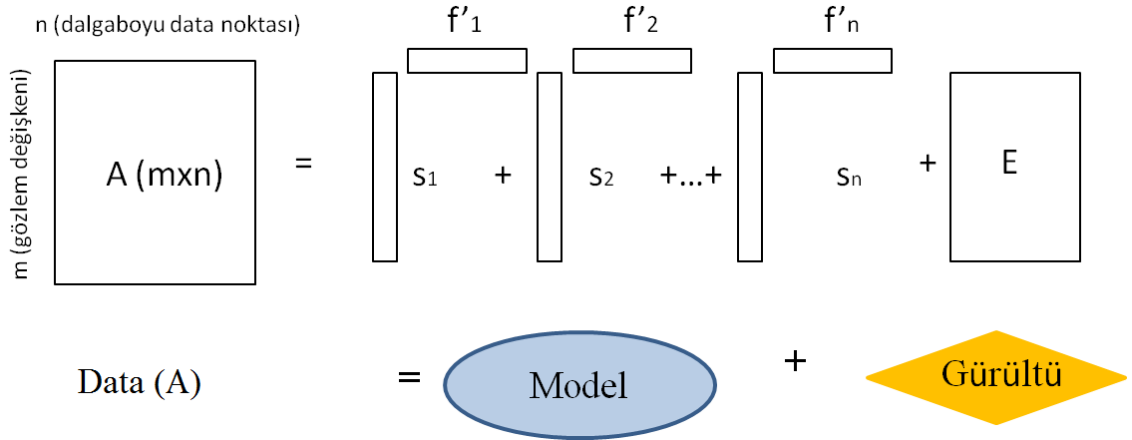
A : (mxn) data matrisi

S : ağırlık matrisi, özdeğer, skor; $[s_1, s_2, s_3, \dots, s_n]$

F' : özvektör matrisi, temel bileşen faktörü, spektrum varyansı; $[f'_1, f'_2, f'_3, \dots, f'_n]$

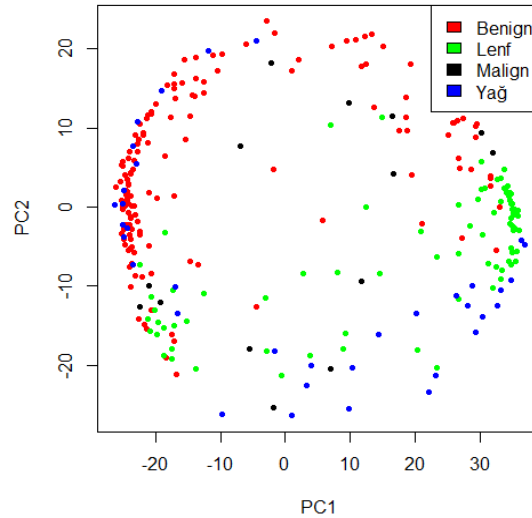
E : gürültü

Özvektörler (F') temel bileşen faktörü veya esas olarak “spektrum varyansı” diye adlandırılır ve tüm spektrum data matrisindeki değişimi (varyansı) ifade eder ve değişkenler ile TB' ler arasındaki korelasyon katsayılarıdır (72). Birinci temel bileşen (TB1), toplam varyansa katkısı maksimum olacak şekilde en büyük varyans değerine sahip olur ve ikinci temel bileşen (TB2), birinci temel bileşenden bağımsız olarak, birinci temel bileşenin açıkladığı varyanstan sonra geriye kalan toplam varyansa katkısı maksimum olacak şekilde ikinci büyük varyans değerine sahip olur, aynı biçimde üçüncü ve daha sonraki temel bileşenler her birinin toplam varyansa katkısı maksimum olacak şekilde ve birbirinden bağımsız olarak belirlenir. Ağırlıklar ise özdeğer veya TB skoru (S) olarak adlandırılır ve spektrumların birbiri ile nasıl ilişki içinde olduğu hakkında bilgi verir. Skorlar ve temel bileşenler doku patolojisi gibi fiziksel faktörler ile ilgilidir. Tüm temel bileşenler için genel ifade eşitlik (20)' deki gibi olur ve şekil 3.12' daki gibi şematize edilebilir;



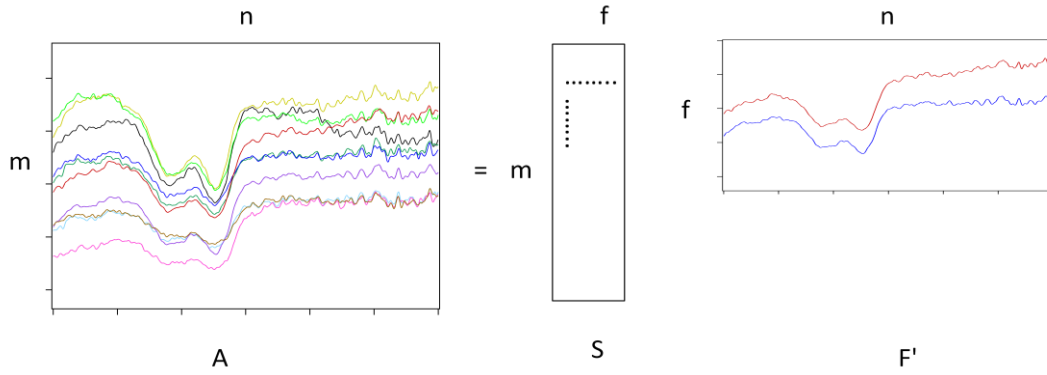
Şekil 3.12. TBA' nin şematik olarak gösterimi

Data kümelerinin elde edilen yeni koordinata maksimum varyansı bulunarak ilk temel bileşen elde edilir ve her bir data noktasının koordinatları dik projeksiyon uygulanarak elde edilen yeni aksise haritalanır ve böylelikle özdeğer yani “skor” çizimi elde edilir (72). “Skor” temel bileşen uzayında ($m \times n$) matrisinin koordinatlarını tanımlar. Daha sonra bir önceki bileşene dik olacak ve maksimum varyansları içinde bulunduracak şekilde tüm temel bileşenler hesaplanır. Çalışmada ölçüm aldığımız 4 farklı doku tipi için (Benign, malign, lenf ve yağ) bizim bulmuş olduğumuz skorların çizimi ilk iki TB için şekil 3.13’ de gösterilmiştir.



Şekil 3.13. TB1 ve TB2 skor çizimi

Burada (m) tane spektrum değişkeni için hesaplanan ve maksimum varyansı veren temel bileşenler birbirleri ile ilişkili değildir. Hesaplanan ikinci temel bileşen ve dik aksisi ile koordinatlar tekrar haritalanır fakat bu defa 2 boyutlu koordinat elde edilmiş olur. Her yeni hesaplanan temel bileşen değerleri bütün data setinin az da olsa varyansını içerir ve tüm temel bileşenlerin varyanslarının toplamı her zaman 1'e eşittir. Böylelikle temel bileşen sayısı hiçbir zaman elde bulunan data sayısından fazla olamaz. Genelde ilk 15-20 tane temel bileşen bütün spektral data setinin varyansının çoğunluğunu ($\approx 99\%$) açıklamaktadır. Bu durumdan dolayı çok fazla data seti bulunan çalışmalarda TBA ile boyut indirgeme yapıp datalarda minimum bilgi kaybı ve daha az bir veri seti ile analiz yapılabilmektedir. Şekil 3.14'te TBA ile data sayısını azaltmanın grafiksel olarak şekli verilmiştir.



A = Orijinal Spektral Data ($m \times n$)

S = Temel Bileşen Skorları

F' = Temel Bileşen Faktörleri (Özvektör

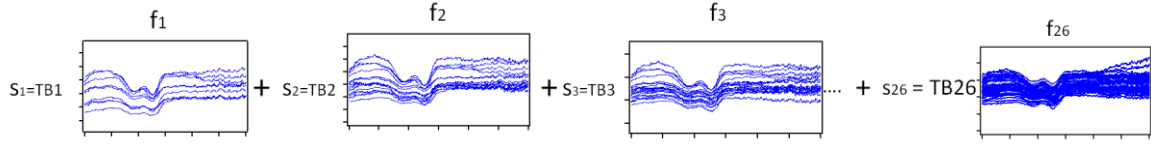
m = Spektrum Değişkeni Sayısı

n = Data noktası sayısı

f = Temel Bileşen Sayısı

Şekil 3.14. TBA ile data boyutu azaltmanın grafiksel gösterimi

Eşitlik (20)'nin analizinden elde edilen temel bileşen sayısı A matrisindeki data sayısından çok küçük olacaktır. Data setinde varyansın 99%'unu içeren ve 5-20 temel bileşen ile açıklanan veri yapısı orijinalde yüzlerce dalga boyu ve ışık şiddeti spektrum datasıdır. Elde edilen temel bileşenlerde spektrum dataları ile ilgili herhangi bir bilgi kaybı olmaksızın veri indirgemesi yapılmış olur (52, 73). Çalışmamızdaki data setimizde 299 tane doku kullanıldı ve bu analiz uygulanırken örnekler arasındaki varyasyonun çoğunluğu ($\sim 99\%$) 26 tane temel bileşen ile açıklandı (Şekil 3.15).



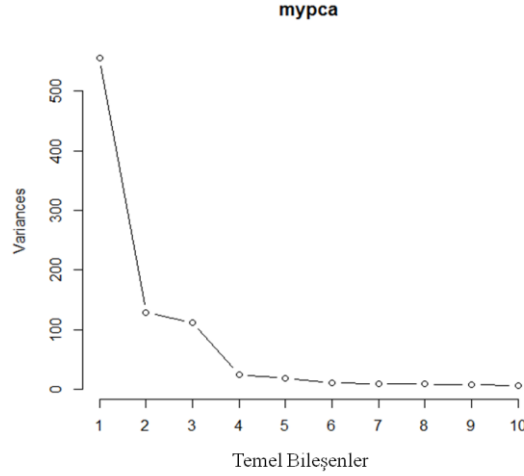
Şekil 3.15. 26 tane temel bileşen ve ~99% varyans ile orjinal data setinin elde edilmesi

Temel Bileşen, değişkenlerin lineer kombinasyonu olarak ifade edilir ve her bir temel bileşenin “yük” değeri ile değişkenlerin standardize edilmiş halinin çarpımlarının toplamı ile elde edilir. Çalışmamızda bulduğumuz birinci temel bileşen için özvektörler ve standardize datalarla lineer olarak kombinasyonu $TB1=0.036*Z1 + 0.025*Z2 - 0.031*Z3 + \dots + 0.0259*Z299$ şeklinde gösterilir. Burada $Z1, Z2, Z3 \dots Z299$ orjinal değişkenlerin (Benign, Malign, Yağ ve Lenf) standardize edilmiş halidir. İkinci Temel Bileşen için 2. özvektörler ve standardize datalarla lineer olarak kombinasyonu ve diğer tüm bileşenler için aynı işlem tekrarlanır. TBA'nın esas hedefi çoklu data setinde varyasyonun çoğunluğunu içerinde barındıracak şekilde boyut azaltmaktır. Çalışmamızda elde edilen her bir temel bileşenin standart sapması ve her bileşen tarafından açıklanan varyansı tablo 3.3' te gösterilmektedir.

Tablo 3.3. Temel Bileşenlerin tüm dokular için dağılım tablosu

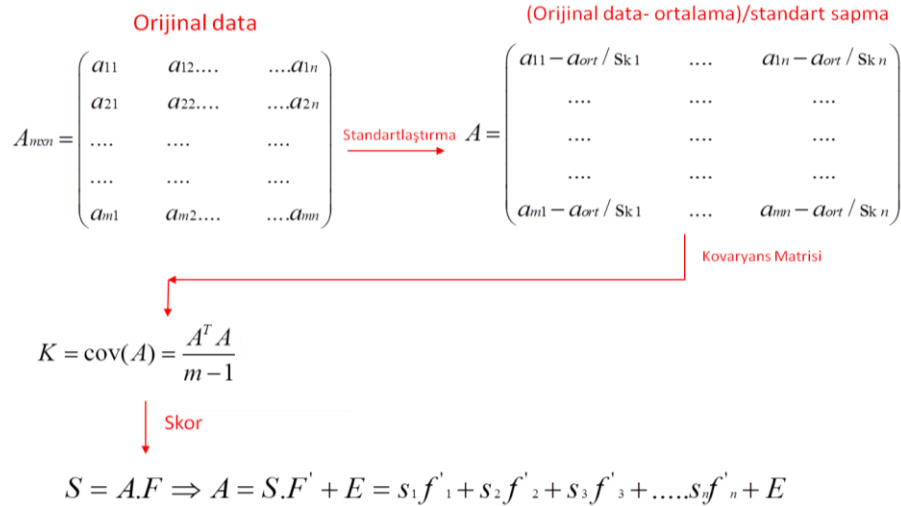
	TB1	TB2	TB3	TB4	TB5	TB6	TB7
Standart Sapma	23.5784	11.3266	10.5580	4.97429	4.31716	3.2686	2.95463
Varyans	0.5933	0.1369	0.1190	0.02641	0.01989	0.0114	0.00932
Kümülatif	0.5933	0.7302	0.8492	0.87561	0.89550	0.9069	0.91622
	TB8	TB9	TB10	TB11	TB12	TB13	TB14
Standart Sapma	2.87489	2.75678	2.38084	2.13502	2.0299	1.89403	1.82479
Varyans	0.00882	0.00811	0.00605	0.00486	0.0044	0.00383	0.00355
Kümülatif	0.92504	0.93315	0.93920	0.94407	0.9485	0.95229	0.95585
	TB15	TB16	TB17	TB18	TB19	TB20	TB21
Standart Sapma	1.72164	1.67848	1.53452	1.43920	1.38705	1.37465	1.22180
Varyans	0.00316	0.00301	0.00251	0.00221	0.00205	0.00202	0.00159
Kümülatif	0.95901	0.96202	0.96453	0.96674	0.96879	0.97081	0.97240
	TB22	TB23	TB24	TB25	TB26		
Standart Sapma	1.20346	1.12446	1.07150	1.05230	1.01944		
Varyans	0.00155	0.00135	0.00123	0.00118	0.00111		
Kümülatif	0.97395	0.97530	0.97652	0.97770	0.97881		

Varyansın çoğunluğunu kaç tane temel bileşenin içerdiğini belirlemek için temel bileşen - varyans grafiğinde eğim değişiminin en çok olduğu bileşen sayısına bakılır. Şekil 3.16' da görüldüğü gibi ilk 4 temel bileşende varyansın %88' i açıklanmaktadır.



Şekil 3.16. Temel bileşen - varyans grafiği

Sonuç olarak deney sonucu elde edilen ham dataya TBA uygulamak için izlenecek basamaklar şekil 3.17' de verilmiştir.



Şekil 3.17. Temel Bileşen Analizi uygulama adımları

Sunulan tez çalışmasında, TB 1'den 26'ya kadar olan temel bileşenler (TB) spektrumların yaklaşık 98% üzerinde varyansını içerdiği bulundu (Tablo 3.3). TB1 varyansın 59%'unu, TB2 13%'ünü, TB3 11%'ini, TB4 2%'sini, TB5-26'ya kadar olan temel bileşenlerde %1 ya da daha az varyansı sağladı. Elde edilen bu 26 tane TB skorlarına parametrik olmayan Kruskal-wallis H testi uygulandı ve istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) olan 17 tane temel bileşen (TB1, TB2, TB3, TB4, TB5, TB6, TB7, TB9, TB12, TB14, TB15, TB17, TB18, TB19, TB20, TB21 ve TB24) bir sonraki analiz olan Doğrusal Ayırma Analizi (DAA) için kullanıldı.

3.5.3. Doğrusal Ayırma Analizi

Doğrusal Ayırma Analizinin (DAA) amacı çalışmamızdaki 299 tane doku değişkeninin doğrusal kombinasyonunu bulmak ve böylelikle gruplar (benign, malign, yağ, lenf) arasında en iyi ayrımı yapmaktır. TBA data setindeki değişkenlerin varyansının maksimum olduğu vektörleri belirlerken, DAA bu vektörler için data grupları arasında ayrımı en iyi belirleyen tekniktir. TBA ile data sayısı indirgenip doğrusal projeksiyonlarla yeni eksen elde edilmekte ve skor hesaplanmaktadır. Hesaplanan bu TB skorları DAA için girdi olarak kullanılır. Daha sonra data setinde gruplar arası ve grup içi varyans hesaplanır ve DAA ile hesaplanan doğrusal ayırma fonksiyonu ile grup ayrımı yapılır. DAA algoritmasına doğrusal olmayan değişkenler ve çok fazla değişken sayısı girilemediğinden DAA ham spektral data setine uygulanamaz. Bu sebepten dolayı bu tekniğin öncesinde data setimize TBA tekniği uygulandı.

Çalışmamızdaki data seti 4 farklı doku grubundan oluştuğu için ($c=4$) maksimum ayrımı fonksiyon sayısı 3 ($c-1$) olmalıdır. Bulunan 3 tane fonksiyon ile bu 4 farklı doku türünün ayrımı yapıldı. Bu 3 tane (LD1, LD2 ve LD3) ayırma fonksiyonları ve elde edilen istatistiksel olarak anlamlı Temel Bileşenler kullanılarak (17 tane) her bir ayırma fonksiyonunun lineer kombinasyonu hesaplandı. Fisher Ayırma Analizi olarak adlandırılan bu yöntemde aynı grupta bulunan dokuları bir araya toplayan ve farklı gruptakileri de birbirinden ayırt edecek olan (w) yansıma vektörleri bulunmak istenmektedir. TBA ile bulunan 17 tane anlamlı temel bileşen dataları (17×299 boyutlu) 17 boyuttan 3 boyuta ($G-1$) projekte (yansıtılır) edilir. Yansıma vektörleri (w) tüm datayı 3 tane (y) ayırma doğruları ile gösterir ve ayırma fonksiyonu eşitlik (21)' deki gibi hesaplanır:

$$y = w'x \quad (21)$$

Grup ayrımı yapılırken grup içi varyans ve gruplar arası varyans hesapları kullanılır. Grup içi varyans, tüm grupların kendi ortalamaları etrafındaki dağılımını göstermektedir. Eğer c ($c=4$) grup sayısını gösterecek olursa grup içi varyans eşitlik (22)' deki gibi hesaplanır ve tablo 3.4' teki gibi ifade edilebilir:

$$S_w = \sum_{j=1}^c \sum_{i=1}^{N_j} (x_{ij} - \mu_j)(x_{ij} - \mu_j)' \quad (22)$$

X_{ij} = j. gruptaki i. temel bileşen değeri

N_j = j. gruptaki doku sayısı (Benign=166, Malign=14, Lenf=83, Yağ=36)

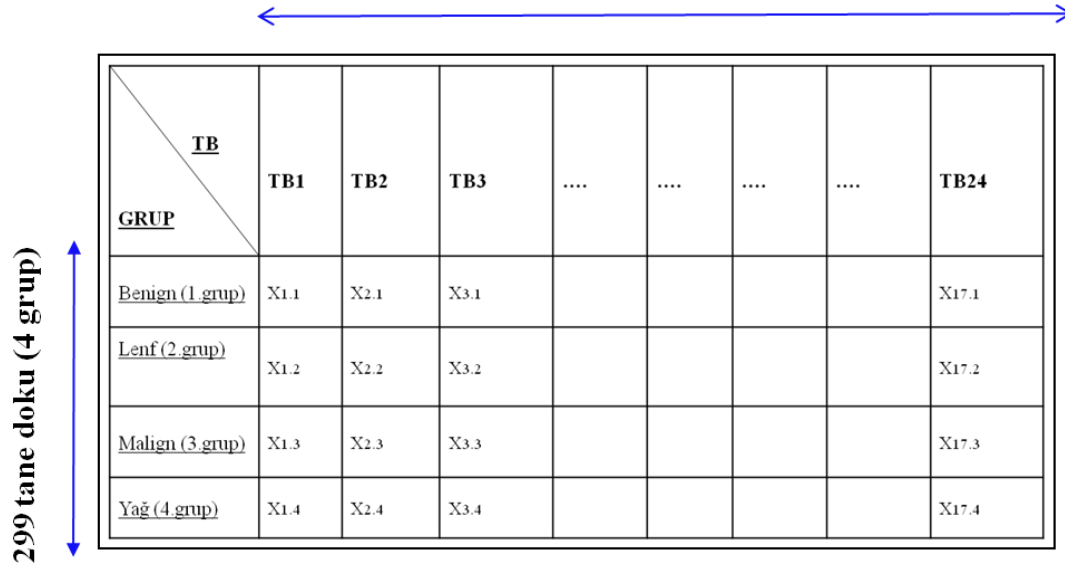
μ_j = j. grubun ortalaması eşitlik (23)' teki gibi ifade edilir:

$$\mu_j = \frac{1}{N_j} \sum_{x \in w_j} x \quad (23)$$

w_j = j. doku kümesi

Tablo 3.4. Grup içi varyans hesaplama için 4 grubun temel bileşen değerlerinin dağılımı

17 tane anlamlı temel bileşen



GRUP	TB1	TB2	TB3	TB24
<u>Benign (1.grup)</u>	X1.1	X2.1	X3.1					X17.1
<u>Lenf (2.grup)</u>	X1.2	X2.2	X3.2					X17.2
<u>Malign (3.grup)</u>	X1.3	X2.3	X3.3					X17.3
<u>Yağ (4.grup)</u>	X1.4	X2.4	X3.4					X17.4

Gruplar arası varyans ise eşitlik (24)' teki gibi hesaplanmaktadır;

$$S_B = \sum_{j=1}^c N_j (\mu_j - \mu)(\mu_j - \mu)' \quad (24)$$

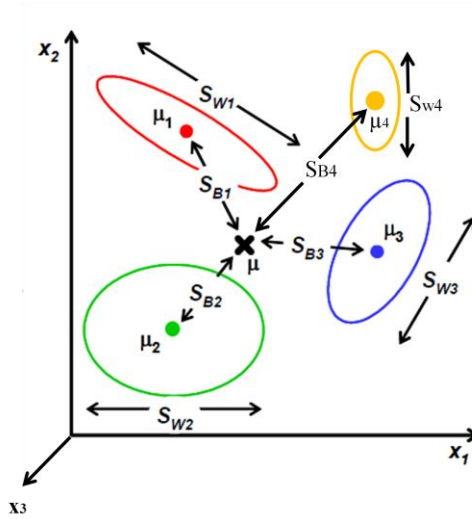
$N_j = j.$ gruptaki doku sayısı (Benign=166, Malign=14, Lenf=83, Yağ=36)

$\mu_j = j.$ grubun ortalaması

$\mu =$ genel ortalama eşitlik (25)' teki gibi hesaplanır:

$$\mu = \frac{1}{N} \sum_{x \in w_j} N_j \mu_j \quad (25)$$

4 farklı doku grubu için grup içi varyans (eşitlik 21), grup ortalamaları (eşitlik 22), gruplar arası varyans (eşitlik 23) ve genel ortalama (eşitlik 24) şekil 3.18' deki gibi gösterilebilir.



Şekil 3.18. 4 farklı grup için varyans ve ortalamaların gösterimi

Yine aynı şekilde hesaplanan, alt uzaya yansımaya işlemi yapıldıktan sonra elde edilen ayırım doğruları (y) içinde grup ortalamaları (eşitlik 26), genel ortalama (eşitlik 27), grup içi (eşitlik 28) ve gruplar arası varyans (eşitlik 29) hesaplanır:

$$\tilde{\mu}_j = \frac{1}{N_j} \sum_{y \in w_j} y \quad (26)$$

$$\tilde{\mu} = \frac{1}{N} \sum_{y \in w_j} N_j \tilde{\mu}_j \quad (27)$$

$$\tilde{S}_w = \sum_{j=1}^c \sum_{i=1}^{N_j} (y_{ij} - \tilde{\mu}_j)(y_{ij} - \tilde{\mu}_j)' \quad (28)$$

$$\tilde{S}_B = \sum_{j=1}^c N_j (\tilde{\mu}_j - \tilde{\mu})(\tilde{\mu}_j - \tilde{\mu})' \quad (29)$$

(28) ve (29). eşitliklerin $y = w'x$ formülü ile derivasyonları yapıldıktan sonra eşitlik (30) ve (31)' deki gibi ifade edilirler:

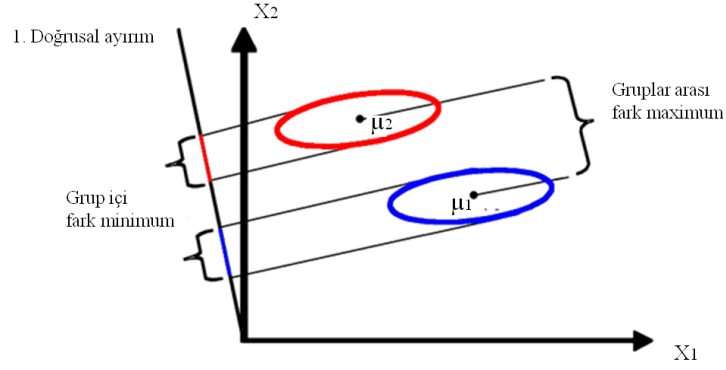
$$\tilde{S}_w = w' S_w w \quad (30)$$

$$\tilde{S}_B = w' S_B w \quad (31)$$

Yansıma işlemi yapıldıktan sonra grupları birbirinden ayırım kriterini formüleştirebilmek için gruplar arası varyansın grup içi varyans matrisine oranının birer sayıya dönüştürülmesi gerekmektedir. Bu oran bir sabit olamayacağı için, eşitlik (32)'de gösterildiği gibi bu matrislerinin determinantı kullanılır (51);

$$J(w) = \frac{|\tilde{S}_B|}{|\tilde{S}_w|} = \frac{|w' S_B w|}{|w' S_w w|} \quad (32)$$

Bu sayı, gruplar arası varyans büyüdükçe ve grup içi varyans küçüldükçe maksimum değerine ulaşır ve dolayısıyla en doğru ayırım bilgisi elde edilir (Şekil 3.19).



Şekil 3.19. Gruplar arası varyans büyük ve grup içi varyans küçük ise ayırım belirgin olur.

Sonuncu işlemde ise eşitlik (32)' deki oranı maksimum yapacak optimum yansıma matrisi (w^*) bulunmaya çalışılır ve eşitlik (33)' teki Genelleştirilmiş Özdeğer Problemi (Generalized Eigenvalue Problem) çözüldüğünde elde edilen en büyük özdeğere sahip özvektörler bu (w^*) yansıma matrisinin sütunlarını oluştururlar:

$$w^* = \left[w_1^* \mid w_2^* \mid w_3^* \mid \dots \mid w_{c-1}^* \right] = \arg \max \left\{ \frac{|w' S_B w|}{|w' S_w w|} \right\} \Rightarrow (S_B - \lambda_j S_w) w_j^* = 0 \quad (33)$$

λ_1 özdeğeri için ve bu özdeğere karşılık gelen özvektör w_1^* ise birinci diskriminant fonksiyonu (y_1) eşitlik (34)' teki gibi gösterilir ve en büyük diskriminant kriterine (λ_1) sahiptir;

$$y_1 = w_1^* X \quad (34)$$

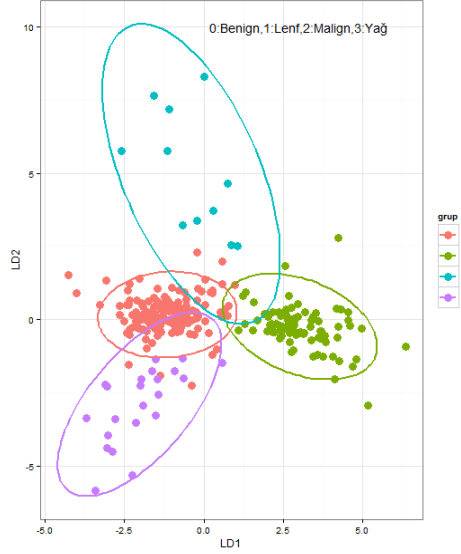
Bizim çalışmamızda bulduğumuz birinci doğrusal ayırım fonksiyonu ($LD1=y_1$) için özvektör değerleri ve istatistiksel olarak anlamlı temel bileşenlerle lineer olarak kombinasyonu eşitlik (35)' teki gibi gösterilir;

$$LD1=y_1 = 0.048*TB1-0.06*TB2-0.045*TB3+0.247*TB4\dots-0.263*TB24 \quad (35)$$

λ_2 özdeğeri için ve bu değere karşılık gelen özvektör w_2^* ise ikinci diskriminant fonksiyonu y_2 eşitlik (36)' daki gibi ifade edilir;

$$Y_2 = w_2^* X \quad (36)$$

Çalışmamızda kullandığımız dataların % 95 güven aralıklı elips çizimi ile 2 boyutlu ayırım fonksiyon grafiği şekil 3.20' de gösterilmektedir.

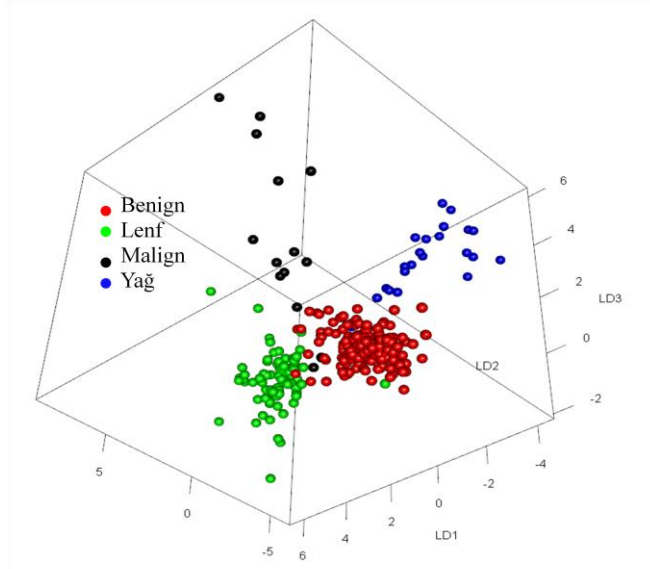


Şekil 3.20. % 95 güven aralıklı elips çizimi ile 2 boyutlu ayırım fonksiyon grafiği

y_2 ikinci en büyük diskriminant kriteri λ_2 ' ye sahiptir. y_2 diskriminant fonksiyonu ile y_1 diskriminant fonksiyonu arasındaki korelasyon sıfırdır. Benzer şekilde y_1 ve y_2 ile korelasyonu sıfır olan üçüncü en büyük diskriminant kriterine sahip y_3 diskriminant fonksiyonunda eşitlik (37)' deki gibi elde edilir;

$$Y_3 = w_3^* X \quad (37)$$

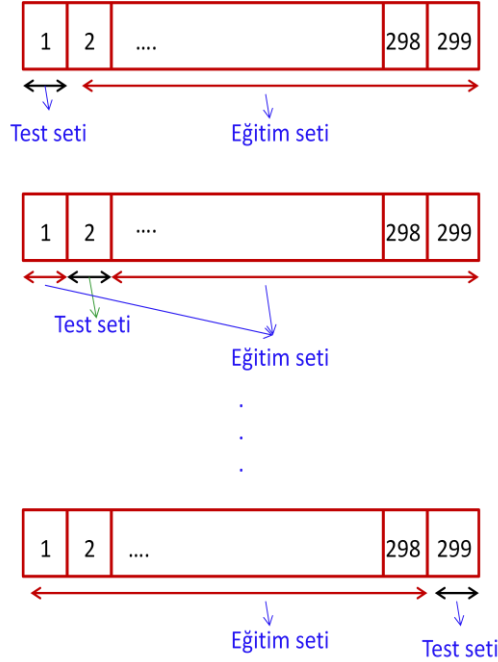
Çalışmamızda bulunan bu 3 tane doğrusal ayırım fonksiyonu (LD1, LD2 ve LD3) ve 4 farklı dokunun 3 boyutlu grafikte gösterimi şekil 3.21' deki gibidir.



Şekil 3.21. Benign, Lenf, Malign ve Yağ dokularının 3 boyutlu ayırım fonksiyon grafiği

3.5.4 Birini Dışarıda-Bırak (Çapraz Sağlama)Metodu

Çapraz sağlama doku gruplandırma doğruluğunu hesaplama yöntemidir (74). TBA ve sonrasında DAA metodu uygulaması ile EISS sisteminin çalışmamızda kullanılan 4 doku tipini (299 doku) birbirinden ne kadar ayırt ettiğinin doğruluğunun test edilmesi yöntemidir. Bunu yaparken data setinde bulunan 299 dokudan rastgele seçilen ve tipi bilinmeyen bir doku test (validasyon) için kullanılırken, geri kalan dokular (298 tane) ise eğitim (training) için kullanılır. Bu işlem data setindeki her doku bir defa test örneği olarak kullanılıncaya kadar devam eder yani 299 defa tekrarlanır. Bu metodun şematik gösterimi şekil 3.22' de gösterildi.



Şekil 3.22. Çapraz Sağlama Yöntemi şeması

DAA ile çalışmamızdaki 299 tane doku değişkeninde gruplar (benign, malign, yağ, lenf) arasındaki varyansı maksimize ederek ve grup içi varyansı minimize ederek patolojik sınıflandırma yapıldı (75, 76). Datalara birini dışarıda-bırak metodu uygulandıktan sonra grup ayırımı tablo 3.5' teki gibi elde edildi.

Tablo 3.5. Doku ayırım tablosu

<u>EISS</u>	<u>PATOLOJİ</u>			
	Benign : Grup 0	Lenf : Grup 1	Malign : Grup 2	Yağ : Grup 3
Benign : Grup 0	162	3	2	14
Lenf : Grup 1	4	80	1	0
Malign : Grup 2	0	0	11	0
Yağ : Grup 3	0	0	0	22
Toplam : 299	166	83	14	36

Benign ve Malign dokuları ayırt etmek için ikili karşılaştırmada sınıflandırma performansı Receiver Operating Characteristic (ROC) analizi ile yapıldı ve (77) optimum kesim noktası ile duyarlılık, seçicilik ve AUC (Area Under the ROC curve) hesaplandı. İstatistiksel değerlendirmede temel bileşenler analizi, doğrusal ayırım analizi ve ROC analizi R software paket program kullanılarak elde edildi (78).

BULGULAR

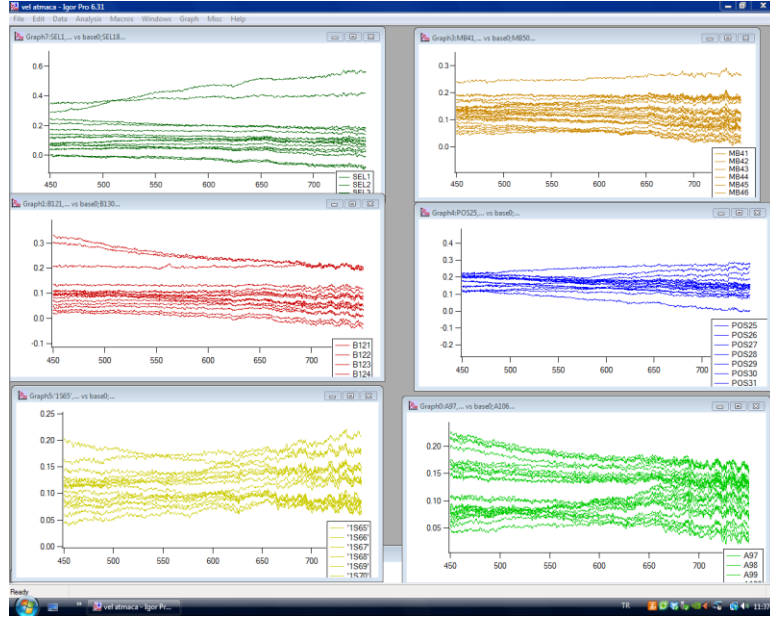
4.1. Deney Prosedürü

Toplam 27 hastadan 299 tane doku üzerinde EISS sistemi ile her dokudan en az 16 tane olacak şekilde spektrum alındı. Alınan spektrum sayısı doku büyüklüğüne bağlı olarak değişiklik gösterdi. EISS sistemi ile farklı dokulardan alınan spektrum sayısı ve doku sayısı tablo 4.1’ de gösterilmektedir. Dokulardan toplam 7089 adet spektrum alındı ve bu spektrumlar analiz edilerek doku ayırımı yapıldı. Bu tez çalışmasında patolojik değerlendirme, EISS sistemi ile doku teşhisi için standart referans olarak kullanıldı. Fiber optik prob ile dokuya gönderilen ve sonrasında dokudaki hücre ve organellerden geri saçılan ışığa bağlı olarak değişen spektrumların şekli ise teşhis parametresi olarak kullanıldı.

Tablo 4.1. Kullanılan 4 farklı doku tipi, sayısı ve bu dokulardan alınan spektrum sayıları

Doku Tipi	Doku Sayısı	Spektrum Sayısı
Benign : Grup 0	166	4071
Lenf : Grup 1	83	2064
Malign : Grup 2	14	378
Yağ : Grup 3	36	576
Toplam :	299	7089

Kalibrasyon işlemi yapıldıktan sonra, hastalardan alınan dokular üzerinde optik tanı sistemi EISS ile alınan veriler, Igor Pro 4.03 teknik grafik ve veri analizi programı ile işlendi ve sonuçta şekil 4.1’deki gibi spektrum grafikleri elde edildi.

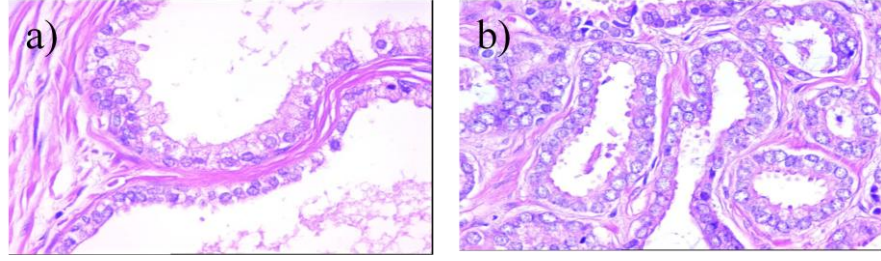


Şekil 4.1. IGOR programında EISS veri grafiklerinin elde edilmesi

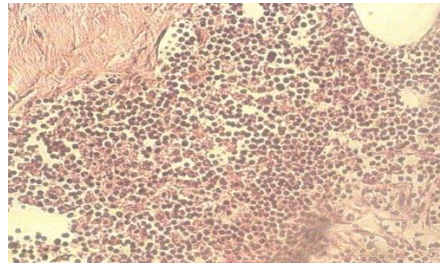
Daha önce EISS sistemi ile hayvanlar üzerinde yapılan çalışmada *in-vivo* olarak alınan spektrumlar ile bu süre içinde *ex-vivo* olarak alınan spektrumlar arasında bir fark oluşmadığı görülmüştür (10). Bu durumda, doku alındıktan sonraki ilk 10 ya da 15 dakika içerisinde dokularda EISS sisteminin duyarlılığını bozacak şekilde morfolojik değişimlerin olmadığı gösterilmektedir.

4.2. Morfometrik Analiz Sonuçları

Morfometrik analiz dokuların çekirdek alanı ile bu dokulardan EISS sistemi ile alınan spektrumlar arasındaki ilişkiyi inceleme amacıyla yapıldı. Dokuların histopatoloji sonuçları ve EISS spektrumları arasındaki ilişki karşılaştırıldı. Her doku tipi için ortalama çekirdek alanları hesaplandı ve fotoğrafları çekildi. Şekil 4.2.a' da görüldüğü gibi benign dokuların ortalama çekirdek alanları $24.6 \pm 5.82 \mu\text{m}^2$, şekil 4.2.b' de görülen malign dokuların ortalama çekirdek alanları $52.5 \pm 12.7 \mu\text{m}^2$ ve şekil 4.3' te lenf nodu ortalama çekirdek alanı ise $41.2 \pm 8.22 \mu\text{m}^2$ olarak hesaplandı.



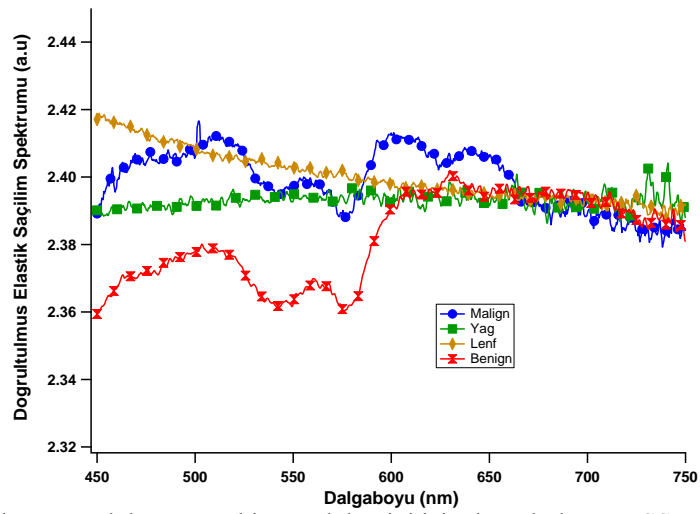
Şekil 4.2. a) Benign prostat dokusu histolojik görünümü H&E X400
b) Malign prostat dokusu histolojik görünümü H&E X400



Şekil 4.3. Lenf dokusu histolojik görünümü H&E X200

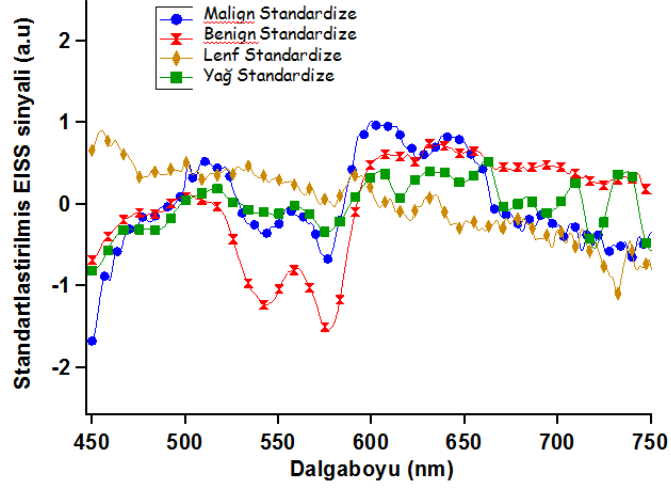
4.3. Doku Sınıflandırma

Şekil 4.4' te EISS sistemi ile her doku tipinden alınan doğrultulmuş spektrumlar görülmektedir.



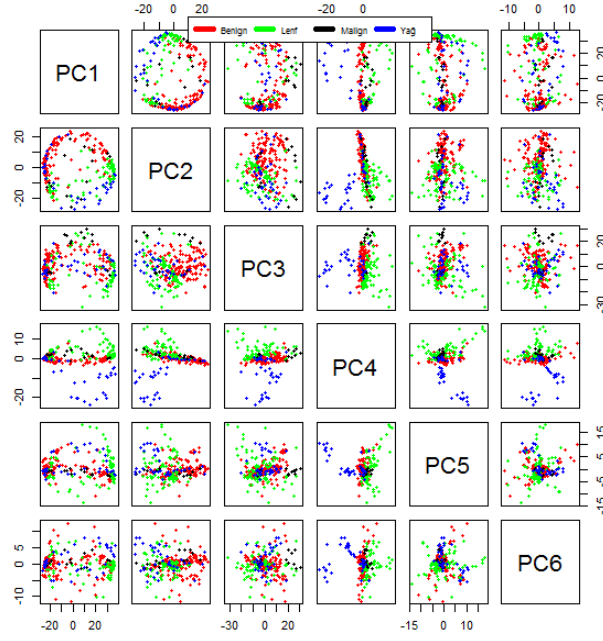
Şekil 4.4. 4 Farklı prostat dokusu cerrahi sınır doku tipi için doğrultulmuş EISS spektrumları

İstatistiksel karşılaştırma öncesi bu spektrumların standardize edilmesi sonucu elde edilen spektrumlar şekil 4.5' te görülmektedir.

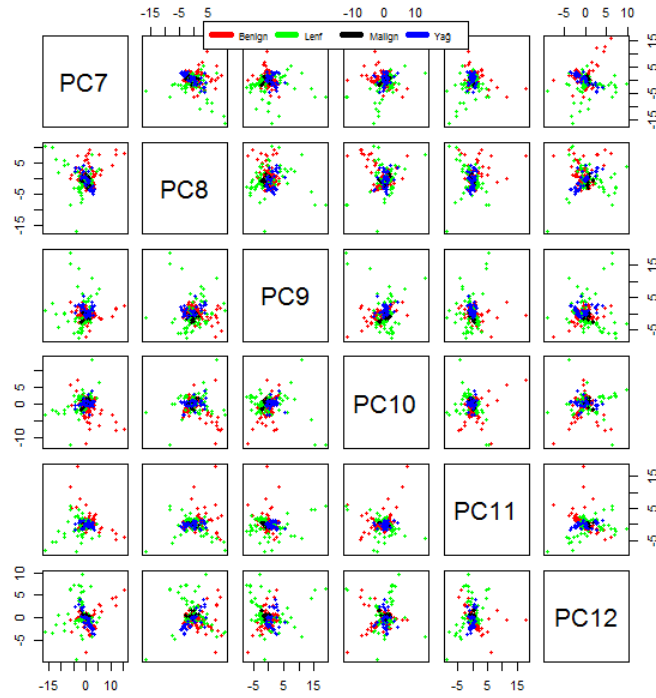


Şekil 4.5. 4 Farklı prostat dokusu cerrahi sınır doku tipi için standartlaştırılmış EISS spektrumları

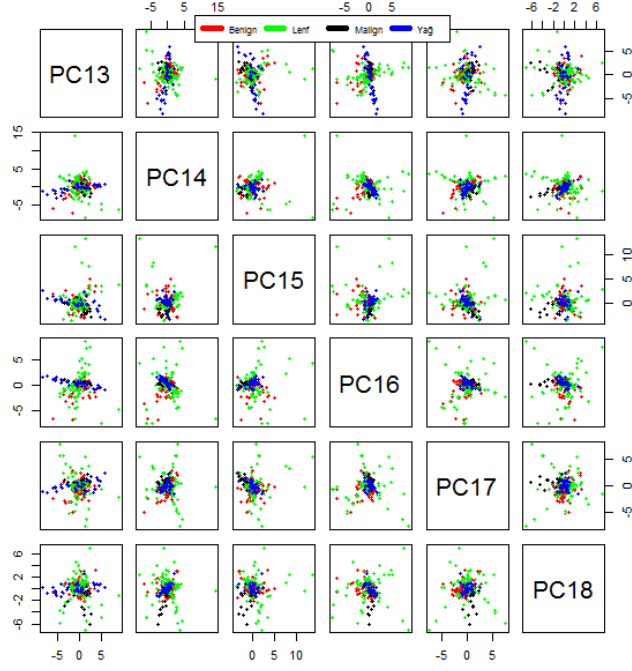
Standartlaştırılmış spektrum datalarına TBA uygulayarak tüm spektral data 26 tane TB' e indirildi. Bu TB' lerin standart sapma ve varyans değerleri tablo 3.3' te verildi. Çalışmada ölçüm aldığımız 4 farklı doku tipi için (Benign, Malign, Lenf ve Yağ) bulunan ilk 6 tane TB skorlarının çizimi şekil 4.6' da, TB7' den TB12' ye kadar olan skorlarının çizimi şekil 4.7' de, TB13' ten TB18' e kadar olan skorlarının çizimi şekil 4.8' de ve TB19' dan TB26' ya kadar olan skorlarının çizimi de şekil 4.9' da gösterildi.



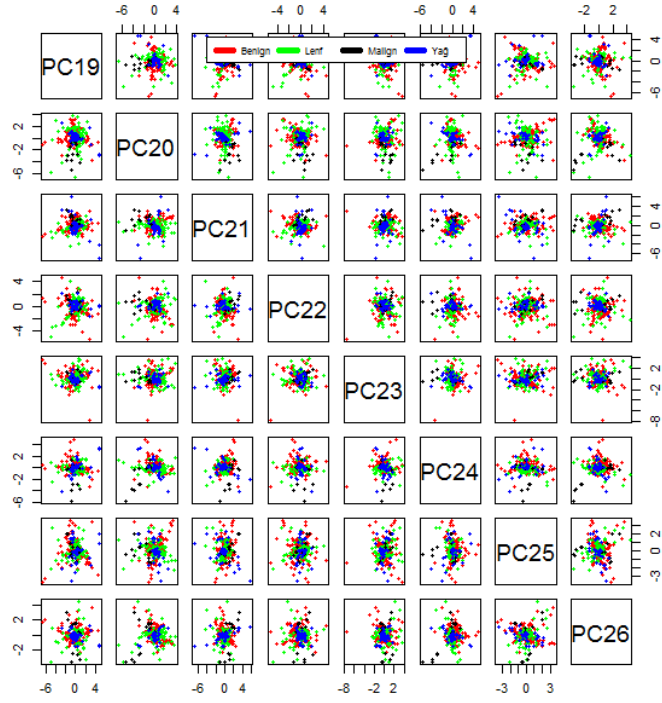
Şekil 4.6. TB1-TB6 skor grafiği (Her bir temel bileşenin diğerlerine göre skor dağılımı)



Şekil 4.7. TB7-TB12skor grafiği (Her bir temel bileşenin diğerlerine göre skor dağılımı)



Şekil 4.8. TB13-TB18skor grafiği (Her bir temel bileşenin diğerlerine göre skor dağılımı)



Şekil 4.9. TB19-TB26 skor grafiği (Her bir temel bileşenin diğerlerine göre skor dağılımı)

Elde edilen bu 26 TB skorlarına parametrik olmayan Kruskal-Wallis H testi uygulandı ve istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) olan 17 tane TB bir sonraki analiz olan Doğrusal Ayırım Analizi (DAA) için kullanıldı (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Kruskal-Wallis H testi sonucu TB ve p-değer tablosu

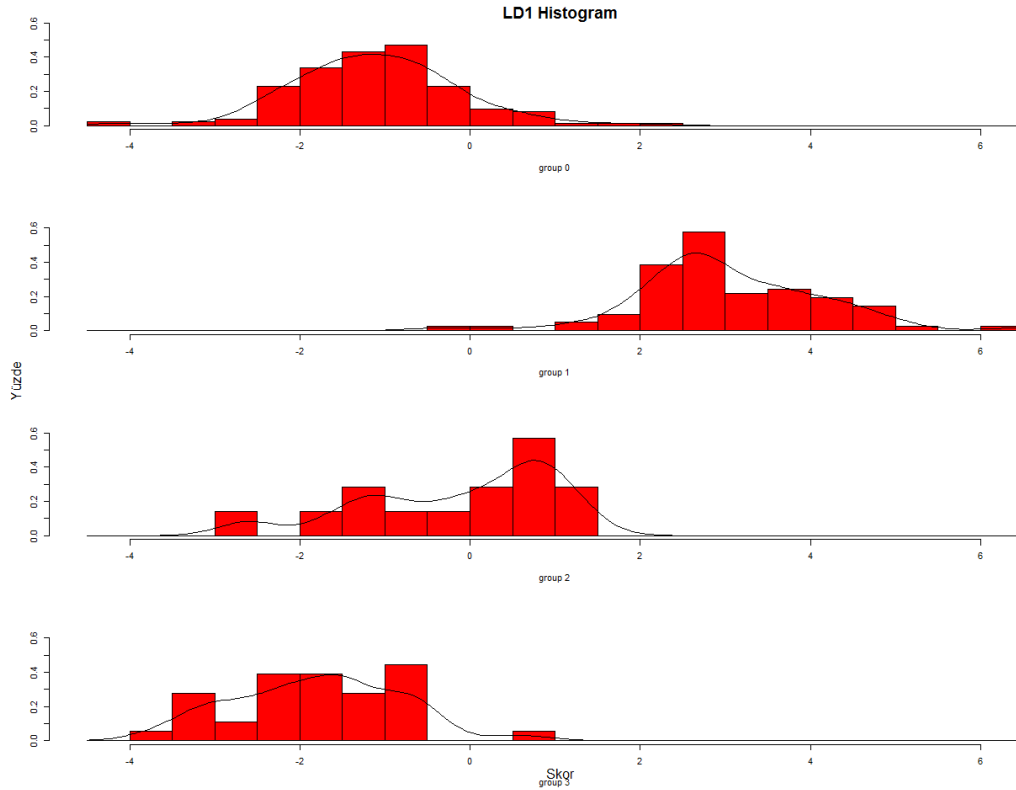
	TB1	TB2	TB3	TB4	TB5	TB6	TB7
p değeri	2.2e-16	1.962e-15	7.379e-06	2.2e-16	0.04387	0.006621	0.003726
	TB8	TB9	TB10	TB11	TB12	TB13	TB14
p değeri	0.1376	7.773e-09	0.7589	0.7	0.002398	0.1108	0.02289
	TB15	TB16	TB17	TB18	TB19	TB20	TB21
p değeri	0.0003068	0.05189	0.02916	4.617e-07	0.03309	4.993e-06	0.0005842
	TB22	TB23	TB24	TB25	TB26		
p değeri	0.3813	0.8767	0.0007721	0.853	0.3748		

İstatistiksel olarak anlamlı olan TB skorları DAA metodu için kullanıldı ve DAA ile ayırım skorları hesaplandı. Elde edilen bu ayırım skorları ile grup sınıflandırması yapıldı. Her bir ayırım fonksiyonu için istatistiksel olarak anlamlı 17 tane TB değerine karşılık gelen katsayı değerleri (özvektör) Tablo 4.3’ te verildi ve bu katsayı değerleri kullanılarak 3 tane ayırım fonksiyonu elde edildi (Eşitlik (34), (36) ve (37)).

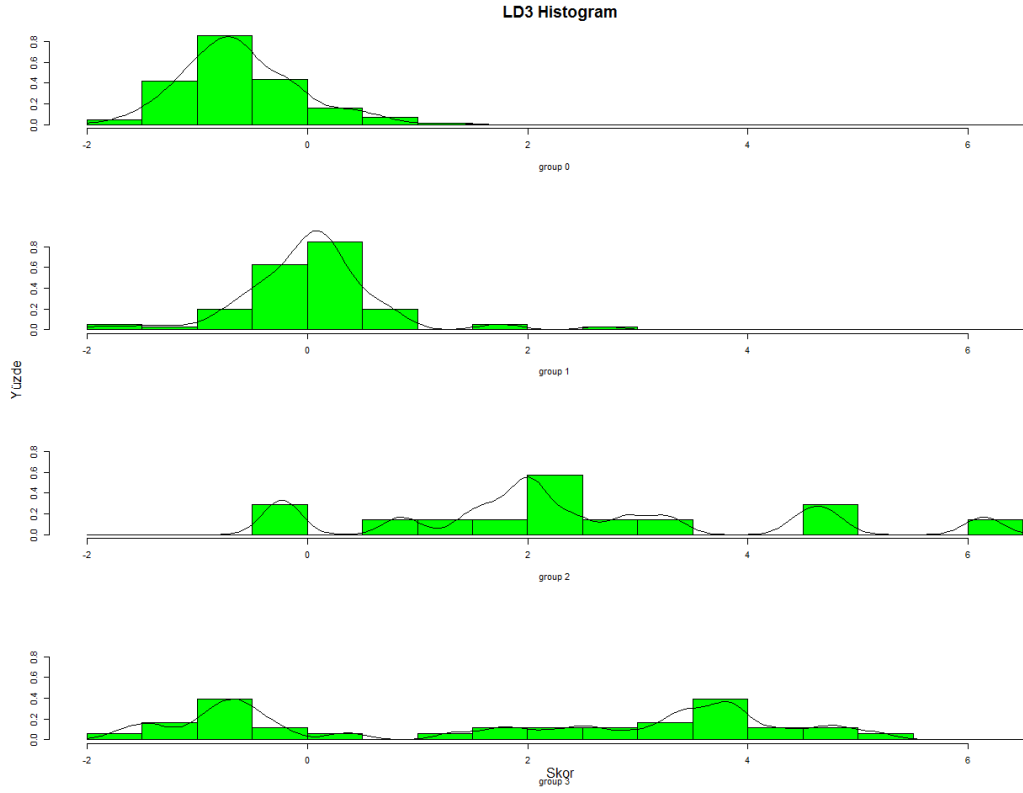
Tablo 4.3. Doğrusal Ayırım Fonksiyonlarının katsayı (özvektör) değerleri

	LD1	LD2	LD3
TB1	0.048172114	-0.008537407	0.01746299
TB2	-0.060315087	0.032563405	-0.06293062
TB3	-0.045258863	0.048696843	0.02553086
TB4	0.247456560	0.133756301	-0.12842899
TB5	-0.027331322	-0.058196532	0.03364193
TB6	-0.082264335	0.001330632	0.09071221
TB7	-0.231484394	0.021876379	-0.02457825
TB9	-0.078578818	-0.099008842	0.03802136
TB12	0.240069413	0.058597202	0.02611052
TB14	0.062376108	-0.058420682	-0.11029450
TB15	0.206819694	-0.206661443	-0.06496172
TB17	0.051406333	0.094193476	0.12527621
TB18	0.082679787	-0.382050387	-0.26908216
TB19	0.008203339	-0.123492111	0.02062886
TB20	0.014135506	-0.435912895	-0.27379410
TB21	-0.158020601	0.360199957	0.05306725
TB24	-0.263978772	-0.321229825	-0.38857397

DAA ile hesaplanan birinci ayırım fonksiyonu değerleri için grup-ayırım fonksiyon değeri histogram grafiği Şekil 4.10' da verildi. Histogram grafiklerinde x eksenini ayırım skoru değerini ve y eksenini de her skordaki yzde değerini (frekans) göstermektedir. Grup 0 (Benign) ve grup 1 (Lenf) doku ayırımı ile grup 1 (Lenf) ve grup 3 (Yağ) doku ayırımı birinci ayırım fonksiyonu ile iyi bir Şekilde yapılmaktadır. Çünkü benign grubunun ayırım skoru değeri -4.5 ile 2.5 arasında iken lenf grubunun değeri -0.5 ile 6.5 arasında ve yağ grubunun değeri -4 ile 1 arasındadır ve bu değerlerde çakışan doku çok azdır.



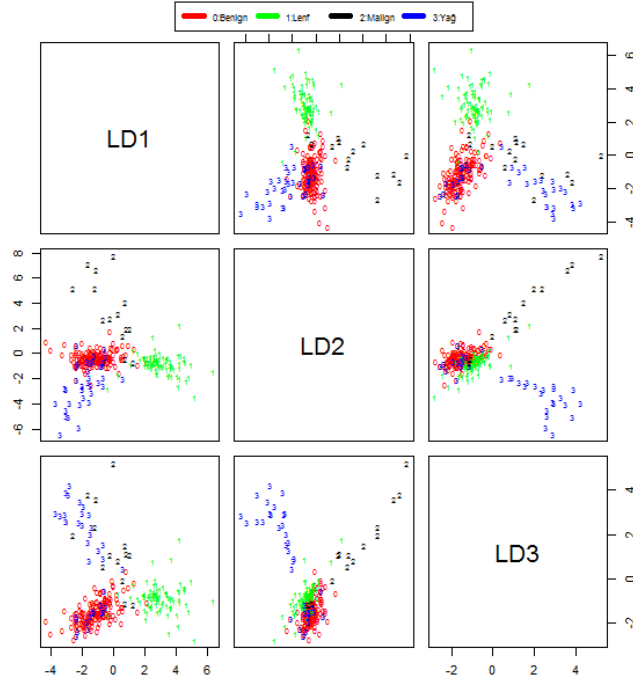
Şekil 4.10. Birinci ayırım fonksiyonu için grup-ayırım fonksiyon değeri histogram grafiği (Grup 0: Benign, Grup 1: Lenf, Grup2: Malign, Grup3: Yağ)



Şekil 4.12. Üçüncü ayırım fonksiyonu için grup-ayırım fonksiyon değeri histogram grafiği (Grup 0: Benign, Grup 1: Lenf, Grup 2: Malign, Grup 3: Yağ)

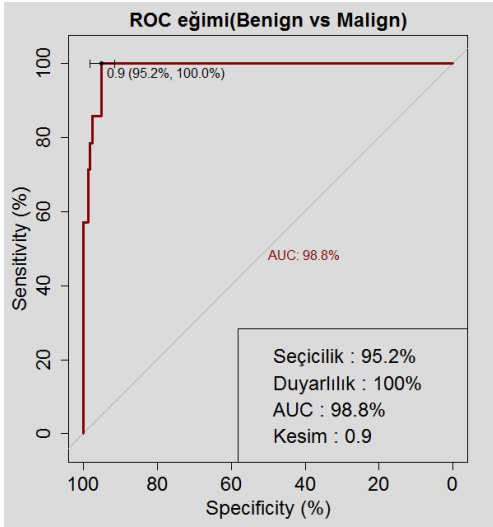
Ayırım fonksiyonu yüzdeleri gruplar arası varyansın grup içi varyansa oranını göstermektedir. Gruplararası varyansı maksimum yapmak için grup içi varyans değeri her grup için 1' e eşit olmaktadır. Bu durumdan dolayı elde edilen ayırım fonksiyonu yüzde değerleri gruplararası varyans değerini göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen birinci ayırım fonksiyonu ayırım yüzdesi 69%, ikinci ayırım fonksiyonu 21%, üçüncü ayırım fonksiyonu ise 15% olarak hesaplandı. Yüksek yüzde değeri doku ayırımında en önemli rolü oynayan fonksiyonu ifade eder. Çalışmamızda 4 grup ayırımında birinci ayırım fonksiyonu 69%' luk değerle en iyi ayırımı yapmaktadır.

Çalışmamızda kullanılan 4 farklı doku tipi ve hesaplanan bu 3 tane doğrusal ayırım fonksiyonu (LD1, LD2 ve LD3) 2 boyutlu grafiği şekil 4.13' te ve 3 boyutlu grafiği de şekil 3.21' deki gibi gösterilmektedir.

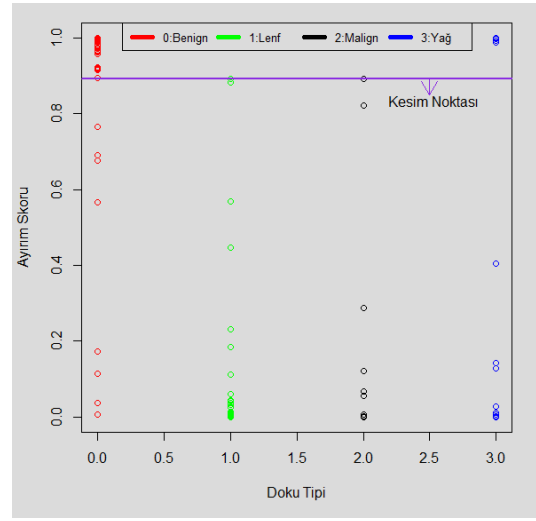


Şekil 4.13. LD1, LD2 ve LD3 ayırım fonksiyonlarının4 doku tipi için grafiği

Çalışmamızda kullanılan benign ve malign doku tipleri ayırımı için TBA, DAA ve çapraz sağlama metodu kullanılarak elde edilen ROC eğrisi şekil 4.14.a' da ve sınıflandırma grafiği şekil 4.14.b' de gösterildi. Bunun sonucunda EISS sisteminin prostat dokusu cerrahi sınırlarında malign ve benign dokuyu ayırt etmedeki duyarlılığı 100%, seçiciliği 95.2% ve AUC değeri 98.8% olarak bulundu. Duyarlılık hesabında 0.893 kesim değerinde 14 tane malign dokunun tamamı EISS sistemi ile malign doku olarak bulundu. Seçicilik hesabında ise aynı kesim değerinde 166 tane benign dokunun 158 tanesi optik tanı sistemi ile benign olarak bulundu. ROC analizi için grup başına gerekli olan minimum örneklem sayısı AUC değeri (0.988), Tip I hata (Alfa) değeri (0.05), Tip II hata (Beta) değeri (0.20) ve 0 hipotez değeri (0.5) kullanılarak hesaplandı ve 10 olarak bulundu.



a)



b)

Şekil 4.14. a) Benign ve Malign dokularının karşılaştırılması ile elde edilen ROC eğrisi
b) 0.89 Ayrım skoru kesim değerinde Malign ve Benign dokularının grafiği

Çalışmanın diğer kısmında hastalardan çıkarılan lenf ve yağ dokularının EISS sistemi ile ayırımında ise elde edilen seçicilik ve duyarlılık tabloları tablo 4.4 ve 4.5' te verildi.

Tablo 4.4. EISS sistemi ile doku ayırımı seçicilik değerleri

<u>Seçicilik</u>	Benign	Lenf	Malign	Yağ
Benign	-			
Lenf	0.952	-		
Malign	0.952	0.904	-	
Yağ	0.976	0.928	1.0	-

Tablo 4.5. EISS sistemi ile doku ayırımı duyarlılık değerleri

<u>Duyarlılık</u>	Benign	Lenf	Malign	Yağ
Benign	-			
Lenf	1.0	-		
Malign	1.0	0.429	-	
Yağ	0.611	0.472	0.389	-

TARTIŞMA

EISS sistemi ile dokuya 100 µm çapında probtan ışık gönderildiğinde aynı prop ile geri toplanan ışığın doku içerisinde aldığı optiksel yolun kısa olmasından dolayı çalışmamızda kullandığımız bu sistem dokunun epitel morfolojisine ve yapısal değişimine duyarlılık göstermektedir. Bu morfolojik ve yapısal değişiklikler saçılım ve absorpsiyon katsayılarından daha çok dokudaki saçıcılara, çekirdek büyüklüğüne, çekirdek stoplazma oranına ve mitokondrial büyüklüğe bağlı olmaktadır (9-11, 13, 14, 65). Bu parametreler dokulara patolojik inceleme yapılacağı zaman patoloğların doku değerlendirme kriterleri ile paralellik göstermektedir. Saçılım hücre morfolojisine bağlı olarak değişim gösterir ve biyolojik dokuda ışık saçılımı hücre çekirdeği, mitokondri, lizozom ve golgi cisimciği gibi intraselüler bileşenler ile stoplazmanın kırılma indisi farklılığından kaynaklanır (29, 30). Stoplazmanın ışığı kırma indisi yaklaşık olarak 1.36 iken hücre ve organellerin membranlarının ışığı kırma indisi ise yaklaşık 1.42'dir ve bu farktan dolayı ışık dokuya girdiğinde saçılıma uğrar (69, 79, 80). Dalga boyu ile aynı büyüklük mertebesine sahip izotropik bir küreden ışığın saçılımı Mie saçılımı olarak adlandırılır. Tek boyutlu saçıcı kullanılarak doku benzeri bir ortam oluşturulduğunda ve bu ortamda spektroskopik ölçüm alındığında Mie salınımı gözlemlenir (81-83). Çalışmamızda çapı 2 ± 0.5 olan %10 polisitren mikro-kürecik su karışımından oluşan doku fantomu kullanılarak tekli fiber optik prob test edildi. Bu salınımlar EISS sisteminin doku benzeri bir ortamda difüz fotonlardan daha çok tek bir defa saçılan fotonları topladığını göstermektedir. Doku gibi içerisinde farklı boyutlarda saçıcı bulunduran turbid ortamlardan elde edilen farklı spektrumların üst üste gelmesi ile Mie salınımları kaybolur (9-11, 65, 84).

Bu tez çalışmasında kullandığımız fiber optik probun geometrisinden dolayı elastik olarak geri saçılan ışığın çoğunluğu dokuda tek bir defa saçılmış ve dokunun epitel yüzeyinden geri toplanmıştır. İnsanlarda kanser oluşumu genellikle epitel dokuda gelişim gösterir. Epitel doku içerisinde birçok bağ doku yapısı bulunduran yüzeyel doku tabakasıdır ve ortalama kalınlığı yaklaşık olarak 100-500 µm civarındadır. Normalde epitel hücreler bazal membrana dik olacak şekilde yerleşmişken kanser gelişimi ile birlikte bu düzen bozulur ve hücre dizilişi dağınık olur (85). Benign dokularda bu düzen kısmen korunurken, malign dokularda epitel doku dizilimi bozulur. Malignite gelişen dokularda epitel yüzey morfolojisi değişimi ile kalınlık değişiminin olması EISS sistemi ile bu dokulardan alınan spektrumların normal dokulara göre farklı olmasını sağlamaktadır. Malign dokularda çekirdek büyümekte, golgi, mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi metabolik organellerin konsantrasyonu artmaktadır. Normal dokulara kıyasla malign dokunun bu tür fiziksel ve biyokimyasal özelliklerinin değişimi

EISS sistemi ile doku hakkında bilgi elde edilmesini sağlamaktadır. EISS sistemi kullanılarak daha önce yapılan çalışmalarda sistemin insanda malign deri lezyonlarını teşhis ettiği (13), beyin tümörlerini normal beyin dokusundan ayırt ettiği (11), hayvan modelinde melanoma dokuyu melanoma olmayan deri dokusundan ayırt ettiği (10) ve servikte HSIL dokuyu gerçek zamanlı teşhis etme potansiyelinin olduğu gösterildi (14). EISS sistemi ile yapılan diğer bir *ex-vivo* ön çalışmada sistemin radikal prostatektomi yapılan hastalardan çıkarılan radikal dokuda kanserli dokuyu normal dokudan ayırt ettiği gösterildi (12).

Sunulan tez çalışmasında sistemin cerrahi sınırlarda malign dokuyu belirlemede ve diğer doku türlerini ayırt etmedeki duyarlılığı ve seçiciliği hesaplandı. Prostat kanserinde hücre çekirdekleri değişkenlik göstermekte ve malign doku ile benign dokular karşılaştırıldığında sitolojik farklılıklar izlenmektedir (47). Prostat kanserinde çekirdek büyümesi, düzensiz çekirdek sınırları ve belirgin çekirdekçik en sık izlenen bulgudur (64, 79). Benign dokular ise içerisinde yağ ve bağ doku bulunduran yapılardır ve bu bağ dokularında kollajen ve elastik fiberlerden zengin yapılardır (74). Operasyon esnasında cerrahi sınırlardan çıkarılan ve patolojik olarak benign tanısı konulan dokuların daha detaylı patolojik incelemesi yapılarak bu dokuların genellikle bağ doku, yağ doku ve prostat stromasından oluştuğu belirlendi. Patologlar ile yapılan ortak çalışmalar sonucunda benign, malign ve lenf dokularının ortalama çekirdek büyüklükleri hesaplandı ve bunun sonucunda benign dokuların çekirdek büyüklüklerinin malign dokulara göre daha küçük olduğu belirlendi. Bu yapısal farklılıktan dolayı malign dokular ile benign dokuların EISS sistemi ile ayırımı 95.2% seçicilik ve 100% duyarlılık ile bulundu. Bir hücrede sürekli aktif bir metabolizma varsa yani hücre ileri derecede metabolik aktivite gösteriyorsa bu hücreler büyük çekirdeğe sahip olmaktadır. Lenf dokuları da aktif dokulardır. Lenf dokuları retiküler bağ dokudan oluşmaktadır. Lenf dokusunda bulunan retikulum hücreleri iri çekirdekli, yuvarlak, merkezi konumlu ve birçok hücreye farklılaşabilme yeteneğinde hücrelerdir. Retikulum hücrelerinin stoplazmaları ve retikulum fibrillerinin birlikte oluşturduğu ağı yapı (retiküler ağ) lenfatik organların stromasını oluşturur. Bu nedenle retikulum hücreleri lenf dokusunda çokça bulunur (86). Lenf dokusunun aktif yapıda olması sonucunda büyük çekirdeklerinin olması EISS sistemi ile bu dokuyu benign dokudan %95.2 seçicilik ve 100% duyarlılık ile ayırt etmemizi sağlamıştır. Patolojik olarak malign doku lehine morfolojik bulgular içerisinde çekirdek büyümesi, çekirdekçik belirginliği, yapısal olarak birbirine yakın bez kümeleri olarak değerlendirilir (8). Yaptığımız tez çalışmasında patolojik olarak malign ve lenf dokuların ortalama çekirdek büyüklükleri hesaplanarak malign dokuların ortalama çekirdek büyüklüğü ile lenf dokuların ortalama çekirdek büyüklüğünün birbirine yakın olduğu belirlendi. EISS sistemi ile malign ve lenf dokularının ayırımı 90.4% seçicilik ve 42.9% duyarlılık ile bulunmuştur. EISS sistemi çekirdek büyüklüğüne duyarlı bir sistem olduğundan bu iki dokunun optik ayırımında duyarlılık düşük bulundu. Yağ dokusu, yağın trigliserit şeklinde depolandığı özelleşmiş bağ dokusu olup temel işlevi yağı depolamaktır. Stoplazmasında kandan gelen yağ asitlerini trigliseridlere dönüştürüp depolamaya başladıktan sonra geniş bir yapıya sahip yuvarlak veya köşeli, stoplazması küçük olan ve çekirdeği de hücrenin bir

kenarına itilmiş tipik bir şekil alan bağ doku hücreleridir. Yağ dokuları enerji üretim merkezi olduklarından dolayı stoplazmalarında bol mitokondri bulunur ancak golgi cisimciği ve endoplazmik retikulum ise gelişmemiştir (87). Hücrelerinde mitokondrinin bol bulunmasından dolayı EISS sistemi ile yağ dokularında ışığın geri saçılımı farklılık göstermektedir. Daha önce Beauvoit ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalarda görünür dalga boyu aralığında mitokondrinin önemli bir saçıcı olduğu belirtilmiştir (88). Yapılan başka bir çalışmada mitokondrinin şeklinin ve sayısının değişiminin dokudaki ışık saçılımını etkilediği gösterilmiştir (89). Çalışmamızda bu dokunun benign doku ile karşılaştırılması sonucunda 97.6% seçicilik ve 61.1% duyarlılık bulunmuştur. Bu dokuların optik ayırımında yanlış negatifliğin fazla bulunmasının nedeni benign dokunun içerisinde de yağ doku bulunmasından dolayı biyolojik benzerlik oluşturmasından kaynaklanmaktadır. Radikal prostatektomi operasyonu esnasında prostat dokusu lateral, apex ve mesane boynu cerrahi sınırlarlarından çıkarılan 14 tane malign doku ile yağ dokularının ayırımı 100% seçicilik ve 38.9% duyarlılık ile ayırt edildi. Prostat kanseri ekstraprostatik yayılım durumlarında (pT3a) prostatın posterior, posterolateral ve lateralinde tümör dokusu prostat çevresinde bulunan yağ dokusu ile iç içe geçmektedir (90, 91). 2011 yılında yapılan patoloji konferansında katılımcıların % 90' ı ekstraprostatik yayılım durumunda malign dokunun yağ dokusunu istila ettiği ya da malign dokunun yağ dokusu ile birleştiği hakkında aynı fikri savunmuşlardır (92). Cerrahi sınırlardan çıkarılan malign dokular mesane çevresinde bulunan yağ dokuya invaze olduğundan yani ekstraprostatik yayılım gösterdiğinden EISS sistemi ile malign dokuyu yağ dokudan optiksel olarak ayırt etmede duyarlılık düşük bulundu. Radikal Prostatektomi operasyonu esnasında lenf düğümleri hastalardan alınarak metastaz olup olmadığını belirlemek amacıyla patolojiye gönderildi. Lenf düğümleri yağ dokusu tarafından çevrelenmiş dokulardır. Çıkarılan bu lenf düğümlerinin etrafındaki yağ dokuları patologlar tarafından temizlendi ve EISS sistemi ile bu lenf düğümleri üzerinden spektroskopik ölçümler alındı. Çalışmamızda lenf dokusunu yağ dokusundan ayırt etmedeki seçicilik 92.8% ve duyarlılık 47.2% olarak bulundu. Sistemin bu iki dokuyu birbirinden ayırt etmede yanlış negatifliğinin yüksek bulunmasının nedeni yağ dokusundan tam olarak temizlenemeyen lenf dokusu üzerinden optik prob ile ölçüm alınmasından kaynaklanmaktadır. Optik probun çapının küçük olmasından dolayı lenf düğümü üzerindeki yağ dokudan ölçüm alınmış olma olasılığı bulunmaktadır ve bu nedenle yanlış pozitiflik yüksek bulunmuştur.

Radikal prostatektomi operasyonunun başarılı olabilmesi için kanserli doku tam olarak çıkarılmalıdır. Eğer kanserli doku kesim sınırlarına ulaşıyor ise 1 yıllık izlem sürecinde tekrarlama olasılığı dört kat artmaktadır (93). Radikal Prostatektomi operasyonu esnasında pozitif cerrahi sınır kalma olasılığını ve böylelikle tekrarlama riskini en aza indirmek için prostat ve çevresinde çok geniş kesi yapılmak durumunda kalınmaktadır (94). Operasyon uzman hekimlerce yapılsa bile hastalardan çıkarılan radikal prostatektomi materyalinde pozitif cerrahi sınır olma olasılığı bulunmaktadır. Mauermann ve arkadaşlarının 2013 yılında yayınlamış oldukları çalışmada Radikal Prostatektomi yapılan 1712 hastanın patolojik değerlendirmeleri sonucunda 281 (16.4%) tanesinde tek odaklı ve 310 (18.1%) tanesinde ise çoklu pozitif cerrahi sınır saptanmıştır

(95). Chalfin ve arkadaşlarının 2012 yılında yapmış oldukları bir diğer çalışmada Radikal Prostatektomi yapılan 4461 hasta çalışmaya dahil edilmiş ve bu hastaların 462 (10.4%) tanesinde pozitif cerrahi sınır saptanmıştır (96). Boorjian ve arkadaşlarının 2010 yılında yapmış oldukları başka bir çalışmada açık prostat ameliyatı yapılan 11729 hasta çalışmaya dahil edilmiş ve bu hastaların 3651 (31.1%) tanesinde pozitif cerrahi sınır saptanmıştır (97). Aynı yılda Wright ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada Radikal Prostatektomi yapılan 65633 hasta çalışmaya dahil edilmiş ve bu hastaların 13914 (21.2%) tanesinde pozitif cerrahi sınır saptanmıştır (98). Pfitzenmaier ve arkadaşlarının 2008 yılında yapmış oldukları çalışmada ise Radikal Prostatektomi yapılan 406 hasta çalışmaya dahil edilmiş ve bu hastaların 70 (17%) tanesinde pozitif cerrahi sınır saptanmıştır (99). Sunulan tez çalışmasında radikal prostatektomi esnasında ürolog tarafından kesilen malign dokular genellikle prostatın apex, lateral ve mesane boynundan çıkarıldı. Daha önce Smith ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada pozitif cerrahi sınırların genellikle yaygın olarak bulunduğu yerin prostatın apex kısmı olduğunu söylemektedirler (100). Obek ve arkadaşlarına göre prostatın mesane boynu ya da posterolateral cerrahi yüzeyinde bulunan kanserli doku hastalığın ilerleme riskini arttırmaktadır (101). Radikal prostatektomi operasyonunda ürolog tarafından tümörlü alanda intraprostatik insizyon yapılarak küçük bir prostat dokusunun hastada kalması pozitif cerrahi sınır verir. Shuford ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir diğer çalışmada intraprostatik insizyon ile tek veya çok odaklı extraprostatik yayımlı (pT3a) pozitif cerrahi sınırın belirtileri benzerlik göstermektedir (102). Chuang ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada tümörlü alanda intraprostatik insizyonun organa sınırlı extraprostatik yayılım yani negatif cerrahi sınır ile kıyaslandığında hastalığın tekrarlama olasılığının çok yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu tekrarlama oranı extraprostatik yayılımı olan pozitif cerrahi sınırlı hastalara göre daha düşüktür. Fakat her ikisinde de ilerleme riski yüksektir (103). Hull ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir diğer çalışmada progresyon (ilerleme) göstermeme yüzdelerini cerrahi sınırları negatif olanlarda 81% olarak saptarken cerrahi sınırları pozitif olan olgularda ise 36% olarak saptamışlar ve pozitif olmasının tekrarlama ihtimalini 3,23 kat artırdığını belirtmişlerdir (104). Pozitif cerrahi sınırlar tümör devamlılığının bir göstergesidir ve 1998 yılında bu oran radikal prostatektomi yapılan %10-68 hastada belirlenmiştir (105). Hastalarda pozitif cerrahi sınırlar riskini en aza indirmek için operasyon esnasında geniş kesim yapılmakta ve bu yapılırken prostat çevresindeki nörovasküler ağ ve üreter sfinkterlerin hasarlanma ihtimalide artmaktadır. Prostat çevresindeki bu hasarlanmalar neticesinde operasyon sonrasında hastalarda erektil disfonksiyon ve üriner inkontinans (idrar tutamama) gelişmektedir. Yapılan operasyon sonrasında erektil disfonksiyon hemen hemen tüm olgularda görülmektedir (33). Radikal prostatektomi sonrası 1 yıldan uzun süren idrar tutamama sorunu ise 7.7%' dir (32). Çalışmamızda kullandığımız sistemin prostat dokusu cerrahi sınırlarında malign ve benign dokuyu ayırt etmedeki duyarlılığı ve seçiciliğinin yüksek olması operasyon sırasında sistemin *in-vivo* olarak kullanılabilme potansiyelini arttırmaktadır. Böylelikle EISS sistemi operasyon esnasında kullanılarak bu yapılara zarar vermeden hem gereksiz yere hastadan parça alınmasının önüne geçilecek hem de operasyon sonrası hastaların yaşam kalitelerini bozan sorunlar engellenmiş olacaktır.

Erken dönemde tanı konamadığı takdirde prostat kanseri lenf ve kan damarları yoluyla çevre dokulara yayılır. En sık yayılım yeri çevresindeki lenf düğümleri ve kemiklerdir. Prostat kanseri ile başvuran ve lenf nodu metastazı olan hastaların tekrar kansere yakalanma yüzdesi 82% olarak bulunmuştur (104). Lenf nodu pozitif hastalarda çoğunlukla sistemik ilerleme oluşmaktadır ve hastalar kaybedilmektedir. Yapmış olduğumuz tez çalışmasında reaktif lenf düğümü hiperplazisi olan hastalar çalışmaya dahil edilmiş ve bu dokunun benign dokudan optiksel olarak ayırımı yüksek bulunmuştur. Radikal prostatektomi operasyonunda çıkarılan lenf düğümlerinde herhangi bir metastaz olmadığından bu dokuların reaktif olanlarla karşılaştırılması yapılamamıştır.

Ameliyat sırasında hastada operasyonun gidişatını değiştirebilecek bir durumla karşılaşıldığında, dakikalar içinde verilecek bir tanıya gereksinim duyulabilir. Hastanın anestezi alma süresini uzatmamaya ve yeniden ameliyata alınmasına engel olmaya yönelik bir uygulama olarak "frozen-section"a (dondurarak kesme) doku gönderilir ve maksimum 15 dakika içerisinde dokunun kanserli olup olmadığı söylenir. Patologlar prostat dokusunda cerrahi sınırları belirlemek için frozen tekniğini kullanmaktadırlar. Yapılan bazı çalışmalarda bu tekniğin bazı limitlerinin olduğu gösterilmiştir. Tsuboi ve arkadaşlarının 1998 ve 2002 yılları arasında 760 hasta üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada frozen tekniğinin prostat dokusu pozitif cerrahi sınırları belirlemedeki duyarlılığını 41.8% ve seçiciliğini de 100% olarak bulmuşlardır (4). Dillenburg ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada laparoskopik radikal prostatektomi yapılan hastalarda frozen tekniğinin seçiciliği 97% ve duyarlılığı 70% olarak bulunmuştur (5). Goharderakhshan ve arkadaşları frozen tekniğinin tüm alanlarda duyarlılığını 40.7% ve seçiciliğini 95% olarak bulmuşlar (6), ve Lepor ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer benzer çalışmada ise frozen tekniği ile apikal yumuşak doku cerrahi sınırlarında kanserli dokuyu belirlemedeki duyarlılığı 57.7% ve seçiciliği 98.2% olarak belirlenmiştir(7). Yapılan bu çalışmalar ile frozen tekniğinin kanserli dokuyu belirlemedeki duyarlılığının 40.7% ve 70% aralığında değiştiği gösterilmektedir. Bu tekniğin dezavantajları operasyon esnasında 20-30 dakika gibi bir süre alması, sınırlı sayıda örnekle çalışılması ve analizi için uygun personel bulundurulmasıdır. EISS sistemi ile kanser odaklı teşhis yapma potansiyeli bulunmaktadır. Bu sistemin *in-vivo* olarak kullanılması ile operasyon sırasında fiber optik prob prostat dokusu cerrahi sınırlarına değdirilerek dokunun kanserli olup olmadığı gerçek zamanda anlaşılabilir.

Sunulan tez çalışmasında EISS sisteminin prostat dokusu cerrahi sınırlarında malign dokuyu benign dokudan ayırt etmedeki duyarlılığı 100% ve seçiciliği ise 95.2% olarak bulundu. Sistemin yanlış pozitiflik oranının düşük olması ile prostat dokusu cerrahi sınırlarında operasyon esnasında hastadan gereksiz yere doku alınmasının önüne geçilebilme potansiyeli bulunmaktadır. Böylelikle hastanın operasyon sonrası yaşam kalitesini bozan unsurlar minimuma indirilmiş olur. Spektroskopik teknikler niceliksel yöntemlerdir ve bu yönüyle geleneksel yaklaşımlardan daha objektif sonuçlar vermektedir. Spektroskopik sistem kullanarak prostat dokusu cerrahi sınırlarında kanserli dokuyu tespit etmek için literatürde henüz bir çalışma bulunmamaktadır. EISS

tekniki doku hakkında detaylı bilgi vermemekte ve histopatolojinin yerine geçmemektedir.

Yapılan *ex-vivo* çalışmada kullanılan EISS sistemi ile radikal prostatektomi ameliyatlarından sonra cerrahi sınırlarda pozitif dokuların yüksek bir duyarlılık ve seçicilik ile belirlenebileceği gösterildi. Kullanılan sistemde optik fiber çapı 100 µm olduğu için bütün cerrahi sınırı sistematik olarak taramak oldukça uzun zaman almaktadır. Bundan dolayı EISS sisteminin pratikte kullanılabilmesi için birden fazla optik liften oluşan bir probun *in-vivo* deneylerde kullanılması gerekmektedir. Bu çalışma Biyomedikal Optik Araştırma Ünitesinde devam etmektedir.

SONUÇLAR

Kanser, günümüzün en ciddi sağlık sorunlarından birisi olmakla birlikte sık görülmesi ve mortalitenin yüksek olması nedeniyle de önemli bir sorundur. Kanser hastalığının bilinen tedavi yöntemlerinden birisi ameliyattır. Kanser ameliyatlarının en önemli noktası tümörün tekrarlamaması için tümöre mümkün olduğunca dokunmadan, tümörü delmeden ve etrafta mutlaka sağlıklı doku kalacak şekilde tümörlü dokunun lenf düğümleri ve etkilediği organlar ile birlikte eksiksiz olarak çıkartılmasıdır. Ameliyatla çıkarılan dokunun etrafındaki cerrahi sınırlar tüm kanser operasyonları için çok önemlidir. Ameliyat bitiminde hastada kanser hücresi kalmaması amaçtır. Bu sınırların patolojik olarak incelemesinde temiz olarak belirtilmemişse yani kanserli doku bulunuyorsa patoloji uzmanının belirttiği bölgeden yeniden doku çıkartılır. Böylece kanserin kısa zamanda yeniden tekrarlama riski çok azalır. Radikal Prostatektomi operasyonu esnasında prostat dokusu cerrahi sınırında normal doku bulunana kadar hastadan parça alınır. Bu dokuların kesimi sırasında nörovasküler ağ ve sfinkterlerin hasarlanma ihtimalide artmakta ve sonucunda erektil disfonksiyon ve üriner inkontinans gelişmesi olasılığı da yükselmektedir. Üriner inkontinans ve erektil disfonksiyon radikal prostatektominin en önemli uzun dönem komplikasyonlarıdır. Tüm bu işlemler ameliyat esnasında yapılmakta ve bazen teknik aksaklıklardan dolayı uzun zaman almaktadır.

Bu tez çalışmasında, tüm bu olumsuz durumları en aza indirmek için açık prostat ameliyatı yapılan hastaların cerrahi sınırlarında kanserli dokunun olup olmadığı EISS sistemi ile *ex-vivo* olarak incelendi. Sistemin cerrahi sınırlarda kanser dokusunu benign dokudan yüksek bir duyarlılık ve seçicilik ile belirlediğinden pratikte kullanılma potansiyeli bulunmaktadır. Bu durumda, operasyon esnasında frozen-section inceleme ile patoloji sonucu beklemek durumu ortadan kalkacak ve gerçek zamanda hastaların sadece kanserli dokuları çıkarılacağı için cerrahi sınırdan gereksiz yere parça alınmayacak ve böylelikle sinir ve kasların daha az hasar görmesi sağlanacaktır. Bu durum sonucunda hastaların hayat kalitelerini bozan işlev bozukluğu ve idrar kaçırma durumları da azalacaktır. Kullanılacak olan sistemin maliyetinin ucuz, kullanımının kolay ve taşınabilir olması nedeniyle de ameliyat esnasında büyük kolaylık sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Boyle, P., Levin, B., and Cancer. 2008. World cancer report 2008: IARC Press.
2. <http://imaging.cancer.gov/patientsandproviders/cancerimaging>.
3. Mohan, H. 2005. Textbook of Pathology: Anshan.
4. Tsuboi, T., Ohori, M., Kuroiwa, K., Reuter, V.E., Kattan, M.W., Eastham, J.A., and Scardino, P.T. 2005. Is intraoperative frozen section analysis an efficient way to reduce positive surgical margins? *Urology* 66:1287-1291.
5. Dillenburg, W., Poulakis, V., Witzsch, U., de Vries, R., Skriapas, K., Altmansberger, H.M., and Becht, E. 2005. Laparoscopic radical prostatectomy: the value of intraoperative frozen sections. *Eur Urol* 48:614-621.
6. Goharderakhshan, R.Z., Sudilovsky, D., Carroll, L.A., Grossfeld, G.D., Marn, R., and Carroll, P.R. 2002. Utility of intraoperative frozen section analysis of surgical margins in region of neurovascular bundles at radical prostatectomy. *Urology* 59:709-714.
7. Lepor, H., and Kaci, L. 2003. The role of intraoperative biopsies during radical retropubic prostatectomy (RRP). *Journal of Urology* 169:438-439.
8. Epstein, J.I., and Netto, G.J. 2008. *Biopsy Interpretation of the Prostate: Lippincott Williams & Wilkins*.
9. Canpolat, M., Akman, A., Ciftcioglu, M.A., and Alpsoy, E. 2007. Detecting skin malignancy using elastic light scattering spectroscopy - art. no. 66280K. *Diagnostic Optical Spectroscopy in Biomedicine Iv* 6628:K6280-K6280.
10. Canpolat, M., Gokhan, A.G., Ciftcioglu, M.A., and Erin, N. 2008. Differentiation of melanoma from non-cancerous tissue in an animal model using elastic light single-scattering spectroscopy. *Technology in Cancer Research & Treatment* 7:235-240.
11. Canpolat, M., Akyuz, M., Gokhan, G.A., Gurer, E.I., and Tuncer, R. 2009. Intraoperative brain tumor detection using elastic light single-scattering spectroscopy: a feasibility study. *J Biomed Opt* 14.
12. Denkceken T., Canpolat M., Bassorgun I., Yücel S., Ciftcioglu M.A. , Baykara M. . 2011. Differentiation of Cancerous Prostate tissue from Non-Cancerous Prostate tissue by using Elastic Light Single-Scattering Spectroscopy: A Feasibility Study. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 59:3.
13. Canpolat, M., Akman-Karakas, A., Gokhan-Ocak, G.A., Bassorgun, I.C., Ciftcioglu, M.A., and Alpsoy, E. 2012. Diagnosis and Demarcation of Skin Malignancy Using Elastic Light Single-Scattering Spectroscopy: A Pilot Study. *Dermatologic Surgery* 38:215-223.
14. Denkceken, T., Simsek, T., Erdogan, G., Pestereli, E., Karaveli, S., Ozel, D., Bilge, U., and Canpolat, M. 2013. Elastic Light Single-Scattering Spectroscopy

- for the Detection of Cervical Precancerous Ex vivo. *Ieee Transactions on Biomedical Engineering* 60:123-127.
15. Wyatt, J.S., Delpy, D.T., Cope, M., Wray, S., and Reynolds, E.O.R. 1986. Quantification of Cerebral Oxygenation and Hemodynamics in Sick Newborn-Infants by near-Infrared Spectrophotometry. *Lancet* 2:1063-1066.
 16. Tromberg, B.J., Shah, N., Lanning, R., Cerussi, A., Espinoza, J., Pham, T., Svaasand, L., and Butler, J. 2000. Non-invasive in vivo characterization of breast tumors using photon migration spectroscopy. *Neoplasia* 2:26-40.
 17. Ntziachristos, V., Yodh, A.G., Schnall, M., and Chance, B. 2000. Concurrent MRI and diffuse optical tomography of breast after indocyanine green enhancement. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97:2767-2772.
 18. Hawrysz, D.J., and Sevick-Muraca, E.M. 2000. Developments toward diagnostic breast cancer imaging using near-infrared optical measurements and fluorescent contrast agents. *Neoplasia* 2:388-417.
 19. Ntziachristos, V., and Chance, B. 2001. Probing physiology and molecular function using optical imaging: applications to breast cancer. *Breast Cancer Research* 3:41-46.
 20. Spinelli, L., Torricelli, A., Pifferi, A., Taroni, P., Danesini, G., and Cubeddu, R. 2005. Characterization of female breast lesions from multi-wavelength time-resolved optical mammography. *Physics in Medicine and Biology* 50:2489-2502.
 21. Weissleder, R., Tung, C.H., Mahmood, U., and Bogdanov, A. 1999. In vivo imaging of tumors with protease-activated near-infrared fluorescent probes. *Nature Biotechnology* 17:375-378.
 22. Hoffman, R.M. 2005. The multiple uses of fluorescent proteins to visualize cancer in vivo. *Nature Reviews Cancer* 5:796-806.
 23. Petrovsky, A., Schellenberger, E., Josephson, L., Weissleder, R., and Bogdanov, A. 2003. Near-infrared fluorescent imaging of tumor apoptosis. *Cancer Research* 63:1936-1942.
 24. Ntziachristos, V., Schellenberger, E.A., Ripoll, J., Yessayan, D., Graves, E., Bogdanov, A., Josephson, L., and Weissleder, R. 2004. Visualization of antitumor treatment by means of fluorescence molecular tomography with an annexin V-Cy5.5 conjugate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:12294-12299.
 25. Crow, P., Stone, N., Kendall, C.A., Persad, R.A., and Wright, M.P.J. 2003. Optical diagnostics in urology: current applications and future prospects. *BJU Int* 92:400-407.
 26. Wong Kee Song, L.M., and Wilson, B.C. 2005. Endoscopic detection of early upper GI cancers. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 19:833-856.
 27. Sokolov, K., Follen, M., and Richards-Kortum, R. 2002. Optical spectroscopy for detection of neoplasia. *Curr Opin Chem Biol* 6:651-658.
 28. Swinson, B., Jerjes, W., El-Maaytah, M., Norris, P., and Hopper, C. 2006. Optical techniques in diagnosis of head and neck malignancy. *Oral Oncol* 42:221-228.

29. Bolin, F.P., Preuss, L.E., Taylor, R.C., and Ference, R.J. 1989. Refractive index of some mammalian tissues using a fiber optic cladding method. *Appl Opt* 28:2297-2303.
30. Tearney, G.J., Brezinski, M.E., Southern, J.F., Bouma, B.E., Hee, M.R., and Fujimoto, J.G. 1995. Determination of the Refractive-Index of Highly Scattering Human Tissue by Optical Coherence Tomography. *Optics Letters* 20:2258-2260.
31. Bigio, I.J., Amar, O.A., and Hirsch, M.S. 2003. Elastic scattering spectroscopy for detection of prostate cancer: preliminary feasibility study. *Diagnostic Optical Spectroscopy in Biomedicine II* 5141:142-146.
32. Murphy, G.P., Mettlin, C., Menck, H., Winchester, D.P., and Davidson, A.M. 1994. National Patterns of Prostate-Cancer Treatment by Radical Prostatectomy - Results of a Survey by the American-College-of-Surgeons Commission-on-Cancer. *Journal of Urology* 152:1817-1819.
33. Scardino, P.T., and Kim, E.D. 2001. Rationale for and results of nerve grafting during radical prostatectomy. *Urology* 57:1016-1019.
34. Waugh, A., Grant, A.W., and Ross, J.S. 2001. *Ross and Wilson Anatomy and Physiology in Health and Illness: Churchill Livingstone.*
35. Sağlık İstatistikleri Yıllığı saglikistatistikleriyilligi2010.pdf.
36. Salomon, L. 2008. Re: Bianco FJ, Scardino PT, and Eastham JA: Radical prostatectomy: long-term cancer control and recovery of sexual and urinary function ("Trifecta") (*Urology* 66(5 suppl): 83-94, 2005). *Urology* 71:362.
37. Potosky, A.L., Miller, B.A., Albertsen, P.C., and Kramer, B.S. 1995. The role of increasing detection in the rising incidence of prostate cancer. *JAMA* 273:548-552.
38. Constans, J.P., de Divitiis, E., Donzelli, R., Spaziante, R., Meder, J.F., and Haye, C. 1983. Spinal metastases with neurological manifestations. Review of 600 cases. *J Neurosurg* 59:111-118.
39. McNeal, J.E. 1968. Regional morphology and pathology of the prostate. *Am J Clin Pathol* 49:347-357.
40. <http://ozradonc.wikidot.com/anatomy:focused-prostate>.
41. <http://endourologist.com/bph.html>.
42. Umbreit, E., Shimko, M., and Gettman, M. 2012. Prostate Anatomy and Prostate Cancer Screening, Diagnosis, Staging, and Prevention. In *Robotic Radiosurgery. Treating Prostate Cancer and Related Genitourinary Applications*. L.E. Ponsky, D.B. Fuller, R.M. Meier, and C. Ma, editors: Springer Berlin Heidelberg. 29-40.
43. Kirby, R.S., Brawer, M.K., and Christmas, T.J. 2001. *Prostate Cancer: Mosby.*
44. Epstein, J.I., Grignon, D.J., Humphrey, P.A., McNeal, J.E., Sesterhenn, I.A., Troncoso, P., and Wheeler, T.M. 1995. Interobserver reproducibility in the diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol* 19:873-886.
45. Gleason, D.F. 1992. Histologic grading of prostate cancer: a perspective. *Hum Pathol* 23:273-279.
46. Mostofi, F.K., Sesterhenn, I.A., and Davis, C.J., Jr. 1993. A pathologist's view of prostatic carcinoma. *Cancer* 71:906-932.

47. Eble, J.N., Organization, W.H., and Cancer, I.A.f.R.o. 2004. Pathology And Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs: IARC Press.
48. Gaudin, P.B., and Epstein, J.I. 1995. Adenosis of the prostate. Histologic features in needle biopsy specimens. *Am J Surg Pathol* 19:737-747.
49. Bostwick, D.G., Amin, M.B., Dundore, P., Marsh, W., and Schultz, D.S. 1993. Architectural patterns of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Hum Pathol* 24:298-310.
50. Reyes, A.O., Swanson, P.E., Carbone, J.M., and Humphrey, P.A. 1997. Unusual histologic types of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. In *Am J Surg Pathol*. 1215-1222.
51. Ahlering, T.E., Eichel, L., Edwards, R.A., Lee, D.I., and Skarecky, D.W. 2004. Robotic radical prostatectomy: a technique to reduce pT2 positive margins. *Urology* 64:1224-1228.
52. Su, L.M., Link, R.E., Bhayani, S.B., Sullivan, W., and Pavlovich, C.P. 2004. Nerve-sparing laparoscopic radical prostatectomy: replicating the open surgical technique. *Urology* 64:123-127.
53. Bianco, F.J., Jr., Scardino, P.T., and Eastham, J.A. 2005. Radical prostatectomy: long-term cancer control and recovery of sexual and urinary function ("trifecta"). *Urology* 66:83-94.
54. Sohayda, C., Kupelian, P.A., Levin, H.S., and Klein, E.A. 2000. Extent of extracapsular extension in localized prostate cancer. *Urology* 55:382-386.
55. http://www.redorbit.com/education/electromagnetic_spectrum.
56. Jacques, S.L. 2013. Optical properties of biological tissues: a review. *Phys Med Biol* 58:R37-61.
57. <http://omlc.org/news/dec12/Israel2012/index.html>.
58. Wriedt, T. 1998. A Review of Elastic Light Scattering Theories. *Particle & Particle Systems Characterization* 15:67-74.
59. Hulst, H.C., and van de Hulst, H.C. 1957. *Light Scattering by Small Particles*: Dover Publications.
60. Arnfield, M.R., Tulip, J., and McPhee, M.S. 1988. Optical propagation in tissue with anisotropic scattering. *IEEE Trans Biomed Eng* 35:372-381.
61. Niemz, M.H. 2007. *Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications*: Springer.
62. Vo-Dinh, T. 2003. *Biomedical Photonics Handbook*: Taylor & Francis.
63. Perelman, L.T., Backman, V., Wallace, M., Zonios, G., Manoharan, R., Nusrat, A., Shields, S., Seiler, M., Lima, C., Hamano, T., et al. 1998. Observation of periodic fine structure in reflectance from biological tissue: A new technique for measuring nuclear size distribution. *Phys Rev Lett* 80:627-630.
64. D.G., B. 2003. Surgical pathology of the prostate. In *Modern surgical pathology*. N. Weidner, editor. Philadelphia: Elsevier Science. 1149-1196.
65. Canpolat, M., and Mourant, J.R. 2001. Particle size analysis of turbid media with a single optical fiber in contact with the medium to deliver and detect white light. *Appl Opt* 40:3792-3799.

66. Canpolat, M., and Demir, U. 2002. Estimation of the average size of white light scatterers in normal and cancerous tissue using light scattering spectrum. Google Patents.
67. Zonios, G., Perelman, L.T., Backman, V., Manoharan, R., Fitzmaurice, M., Van Dam, J., and Feld, M.S. 1999. Diffuse Reflectance Spectroscopy of Human Adenomatous Colon Polyps In Vivo. *Applied Optics* 38:6628-6637.
68. Backman, V., Wallace, M.B., Perelman, L.T., Arendt, J.T., Gurjar, R., Muller, M.G., Zhang, Q., Zonios, G., Kline, E., McGilligan, J.A., et al. 2000. Detection of preinvasive cancer cells. *Nature* 406:35-36.
69. Mourant, J.R., Canpolat, M., Brocker, C., Esponda-Ramos, O., Johnson, T.M., Matanock, A., Stetter, K., and Freyer, J.P. 2000. Light scattering from cells: the contribution of the nucleus and the effects of proliferative status. *J Biomed Opt* 5:131-137.
70. Drezek, R., Dunn, A., and Richards-Kortum, R. 1999. Light Scattering from Cells: Finite-Difference Time-Domain Simulations and Goniometric Measurements. *Applied Optics* 38:3651-3661.
71. F., A. 2005. Cancer Diagnosis Via Elastic Scattering Spectroscopy In Biomedical Engineering: Boğaziçi University. 79.
72. Abdi, H., and Williams, L.J. 2010. Principal component analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics* 2:433-459.
73. Perrotti, M. 2005. Nerve-sparing laparoscopic radical prostatectomy: replicating the open surgical technique. *Urology* 65:630; author reply 630-631.
74. Kierszenbaum, A.L., and Tres, L. 2011. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*: Elsevier Health Sciences.
75. Lachenbruch, P.A. 1965. Estimation of Error Rates in Discriminant Analysis: University of California, Los Angeles-Biostatistics.
76. Devore, J.L. 1991. *Probability and Statistics for Engineering and the Sciences*: Brooks/Cole Publishing Company.
77. Fawcett, T. 2006. An introduction to ROC analysis. *Pattern Recognition Letters* 27:861-874.
78. Team, T.R.D.C. 2010. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*.
79. Damjanov I., L.J. 1996. Male Reproductive System. In *Anderson's pathology*. Damjanov I., editor: Mosby. 2197-2219.
80. Mourant, J.R., Freyer, J.P., Hielscher, A.H., Eick, A.A., Shen, D., and Johnson, T.M. 1998. Mechanisms of light scattering from biological cells relevant to noninvasive optical-tissue diagnostics. *Appl Opt* 37:3586-3593.
81. Lorenz, L., and Valentiner, H. 1965. *Oeuvres Scientifiques: 1898. (First Reprinting) : Tome 1*: Johnson Reprint Corporation.
82. Mie, G. 1908. Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen der Physik* 330:377-445.
83. Debye, P. 1909. Der Lichtdruck auf Kugeln von beliebigem Material. *Annalen der Physik* 335:57-136.

84. (IARC). 2004. Tumors of the prostate. In Pathology and genetics of tumor of the urinary system and male genital organs J.E. J. Eble, I. Sesterhenn, G. Sauter, editor: World Health Organization. 159-215.
85. Junqueira, L.C.U., Carneiro, J., and Kelley, R.O. 1992. Basic histology: Appleton & Lange.
86. Krstić, R. 1985. Reticular Connective Tissue. Human Lymph Node. In General Histology of the Mammal: Springer Berlin Heidelberg. 110-111.
87. Fantuzzi, G. 2005. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 115:911-919; quiz 920.
88. Beauvoit, B., Evans, S.M., Jenkins, T.W., Miller, E.E., and Chance, B. 1995. Correlation between the Light-Scattering and the Mitochondrial Content of Normal-Tissues and Transplantable Rodent Tumors. *Analytical Biochemistry* 226:167-174.
89. Mourant, J.R., Hielscher, A.H., Eick, A.A., Johnson, T.M., and Freyer, J.P. 1998. Evidence of intrinsic differences in the light scattering properties of tumorigenic and nontumorigenic cells. *Cancer Cytopathology* 84:366-374.
90. Cohen, R.J., and Stables, S. 1998. Intraprostatic fat. *Human Pathology* 29:424-425.
91. Sung, M.T., Eble, J.N., and Cheng, L. 2006. Invasion of fat justifies assignment of stage pT3a in prostatic adenocarcinoma. *Pathology* 38:309-311.
92. Magi-Galluzzi, C., Evans, A.J., Delahunt, B., Epstein, J.I., Griffiths, D.F., van der Kwast, T.H., Montironi, R., Wheeler, T.M., Srigley, J.R., Egevad, L.L., et al. 2011. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 3: extraprostatic extension, lymphovascular invasion and locally advanced disease. *Modern Pathology* 24:26-38.
93. Catalona, W.J., and Smith, D.S. 1998. Cancer recurrence and survival rates after anatomic radical retropubic prostatectomy for prostate cancer: Intermediate-term results. *Journal of Urology* 160:2428-2434.
94. Stapleton AMF, S.P. 1999. Nerve-sparing radical rerropubic prostatectomy. In Atlas of Clinical Urology. S.P. McConnell P, editor. Philadelphia: Current Medicine; 1 edition
95. Mauermann, J., Fradet, V., Lacombe, L., Dujardin, T., Tiguert, R., Tetu, B., and Fradet, Y. 2013. The impact of solitary and multiple positive surgical margins on hard clinical end points in 1712 adjuvant treatment-naive pT2-4 N0 radical prostatectomy patients. *Eur Urol* 64:19-25.
96. Chalfin, H.J., Dinizo, M., Trock, B.J., Feng, Z., Partin, A.W., Walsh, P.C., Humphreys, E., and Han, M. 2012. Impact of surgical margin status on prostate-cancer-specific mortality. *BJU Int* 110:1684-1689.
97. Boorjian, S.A., Karnes, R.J., Crispen, P.L., Carlson, R.E., Rangel, L.J., Bergstralh, E.J., and Blute, M.L. 2010. The impact of positive surgical margins on mortality following radical prostatectomy during the prostate specific antigen era. *J Urol* 183:1003-1009.

98. Wright, J.L., Dalkin, B.L., True, L.D., Ellis, W.J., Stanford, J.L., Lange, P.H., and Lin, D.W. 2010. Positive surgical margins at radical prostatectomy predict prostate cancer specific mortality. *J Urol* 183:2213-2218.
99. Pfitzenmaier, J., Pahernik, S., Tremmel, T., Haferkamp, A., Buse, S., and Hohenfellner, M. 2008. Positive surgical margins after radical prostatectomy: do they have an impact on biochemical or clinical progression? *BJU Int* 102:1413-1418.
100. Smith, J.A., Chan, R.C., Chang, S.S., Herrell, S.D., Clark, P.E., Baumgartner, R., and Cookson, M.S. 2007. A comparison of the incidence and location of positive surgical margins in robotic assisted Laparoscopic radical prostatectomy and open retropubic radical prostatectomy. *Journal of Urology* 178:2385-2389.
101. Obek, C., Sadek, S., Lai, S.H., Civantos, F., Rubinowicz, D., and Soloway, M.S. 1999. Positive surgical margins with radical retropubic prostatectomy: Anatomic site-specific pathologic analysis and impact on prognosis. *Urology* 54:682-688.
102. Shuford, M.D., Cookson, M.S., Chang, S.S., Shintani, A.K., Tsiatis, A., Smith, J.A., and Shappell, S.B. 2004. Adverse prognostic significance of capsular incision with radical retropubic prostatectomy. *Journal of Urology* 172:119-123.
103. Chuang, A.Y., Nielsen, M.E., Hernandez, D.J., Walsh, P.C., and Epstein, J.I. 2007. The significance of positive surgical margin in areas of capsular incision in otherwise organ confined disease at radical prostatectomy. *Journal of Urology* 178:1306-1310.
104. Hull, G.W., Rabbani, F., Abbas, F., Wheeler, T.M., Kattan, M.W., and Scardino, P.T. 2002. Cancer control with radical prostatectomy alone in 1,000 consecutive patients. *Journal of Urology* 167:528-534.
105. Wieder, J.A., and Soloway, M.S. 1998. Incidence, etiology, location, prevention and treatment of positive surgical margins after radical prostatectomy for prostate cancer. *Journal of Urology* 160:299-315.

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 eğitime başladı. Lisans diplomasını 2006 yılında aldı ve aynı yıl Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitime başladı. 2009 yılında yüksek lisans eğitimini bitirerek doktora eğitime başladı. Halen Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır. Yabancı dili İngilizce’dir.