



**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ
HASTALARINDA RADYOTERAPİ ETKİNLİĞİNİN
TİTREŞİM SPEKTROSKOPİSİ YÖNTEMLERİ İLE
BELİRLENMESİ**

Yılmaz şAHİN

**Danışman: Prof. Dr. Muhammet YILDIRIM
İkinci Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hilal KIZILTUNÇ ÖZMEN
Doktora Tezi
Fizik Ana Bilim Dalı
2022**

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZİK ANA BİLİM DALI

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ HASTALARINDA RADYOTERAPİ
ETKİNLİĞİNİN TİTREŞİM SPEKTROSKOPİSİ YÖNTEMLERİ İLE
BELİRLENMESİ**

(Determination of Radiotherapy Efficiency in Non-Small Cell Lung Cancer Patients by
Vibration Spectroscopy Methods)

DOKTORA TEZİ

Yılmaz ŞAHİN

Danışman: Prof. Dr. Muhammet YILDIRIM
İkinci Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hilal KIZILTUNÇ ÖZMEN

Erzurum
Temmuz, 2022

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ HASTALARINDA RADYOTERAPİ
ETKİNLİĞİNİN TİTREŞİM SPEKTROSKOPİSİ YÖNTEMLERİ İLE
BELİRLENMESİ**

Prof. Dr. Muhammet YILDIRIM danışmanlığında, Yılmaz ŞAHİN tarafından hazırlanan bu çalışma, 20/07/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Fizik Anabilim Dalı Katıhal Fizigi Bilim Dalı'nda doktora tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Şakir AYDOĞAN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Prof. Dr. Muhammet YILDIRIM <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Duygu EKİNCİ <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Songül DUMAN <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Abdulkерim KARABULUT <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi Nihal ŞİMŞEK ÖZEK <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
İkinci Tez Danışmanı	Doç.Dr. Hilal KIZILTUNÇ ÖZMEN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır

Enstitü Yönetim
Kurulunun .../.../.... tarih
ve sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof.Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Enstitü Müdürü

Aslı Islak İmzalıdır

Bu çalışma Lisansüstü Eğitim Projeleri (LEP) kapsamında desteklenmiştir.
Proje Kodu: FDK-2021-8796

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora Tezi olarak *Prof. Dr. Muhammet YILDIRIM* danışmanlığında sunulan “**Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Hastalarında Radyoterapi Etkinliğinin Titreşim Spektroskopisi Yöntemleri ile Belirlenmesi**” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	8	30
Kuramsal Temeller	19	30
Materyal ve Metot	7	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	11	20
Sonuçlar ve Öneriler	1	20
Tezin Geneli	10	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Sunulan bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ettiğimizi beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Yılmaz ŞAHİN	Prof. Dr. Muhammet YILDIRIM
20.7.2022	20.7.2022
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Hayatımın her anında hep arkamda olan, bana inanan, desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen değerli annem, babam ve kardeşlerime,

Tez çalışmam boyunca bilgi ve desteğini esirgemeyen danışman hocalarım Sayın Prof. Dr. Muhammet YILDIRIM ve Doç. Dr. Hilal KIZILTUNÇ ÖZMEN'e,

Eğitim hayatım boyunca bilgi ve tecrübelerinden hep yararlandığım Prof. Dr. Şakir AYDOĞAN'a,

Tezimin her aşamasında benden desteğini ve bilgisini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Nihal ŞİMŞEK ÖZEK'e,

Çalışmalarım boyunca yardım ve desteklerinden ötürü Doç. Dr. Mevlüt ALBAYRAK'a,

Numune örneklerin toplanması ve saklanmasıyla ilgili yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Halil İbrahim ÖZKAN'a,

Bu tez çalışmasını FDK-2021-8796 Lisansüstü Eğitim Projeleri (LEP) kapsamında destekleyen Atatürk Üniversitesi'ne,

Çalışma hayatım boyunca hep yanımda olan, benden desteğini esirgemeyen Öğr. Gör. Korkmaz ŞERİFOĞLU'na,

Sağladığı imkânlarla bu çalışmayı yapmama vesile olan Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümüne ve Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Araştırma Merkez Müdürlüğü (DAYTAM) değerli öğretim üyelerine ve çalışanlarına, sonsuz minnet ve şükranlarımı sunarım.

Yeğenlerim Livyan ve Liran'a sevgilerimle.

Yılmaz ŞAHİN

ÖZET

DOKTORA TEZİ

KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ HASTALARINDA RADYOTERAPİ ETKİNLİĞİNİN TİTREŞİM SPEKTROSKOPİSİ YÖNTEMLERİ İLE BELİRLENMESİ

Yılmaz ŞAHİN

Danışman: Prof. Dr. Muhammet YILDIRIM

İkinci Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hilal KIZILTUNÇ ÖZMEN

Amaç: Bu çalışmada Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK) hastalarına ait radyoterapi öncesi (RÖ) ve radyoterapi sonrası (RS) kan serumu örnekleri üzerinden radyoterapi etkinliğinin farklı titreşim spektroskopik teknikleriyle belirlenmesi amaçlandı.

Yöntem: Çalışma toplamda 6600 cGy radyoterapi dozu almış 20 hastanın kan serumu örnekleri üzerinde yapıldı. RS ve RÖ spektrumlarında örnekler arası varyasyonları saptamak için Gözetimsiz Örüntü metotları olarak Temel Bileşen Analizi (PCA) ve Hiyerarşik Kümeleme Analizi (HCA) metotları kullanıldı. Gözetimli Örüntü metotları olarak da Destek Vektör Makine Metodu (SVM), Temel bileşen analizi-lineer diskriminant analizi (PCA-LDA) metotları kullanıldı.

Bulgular: PCA skor grafiklerine göre hem Raman hem de FTIR spektrumları için RS ve RÖ grupları birbirinden belirgin bir biçimde ayrıldığı görüldü. Gruplar arası farklılıkları ifade eden temel bileşenlerdeki varyasyonlar FTIR da %87 iken Raman spektroskopisinde bu oran %97 olarak elde edildi. PCA skor ayrımları HCA ile doğrulandı. Elde edilen ayrımlara yönelik metodun güvenilirliğini test etmek için oluşturulan eğitici ve test veri setlerine PCA-LDA ve SVM uygulandı. Hem eğitici hem de test veri setindeki örneklerin %100 doğrulukla kendi gruplarında sınıflandığı görüldü. Aynı analiz FTIR spektroskopisi ile yapıldığında gruplar arası farklılıkları ifade eden temel bileşenlerdeki varyasyonların %87 olduğu görüldü. Aynı şekilde Raman spektroskopisi analizlerinde SVM ile sınıflar arasındaki doğru sınıflandırma yapıldığında bu oran %100 olarak bulundu.

Sonuç: Elde edilen sonuçlar KHDAK hasta serumlarında radyoterapi etkinliğinde titreşim spektroskopisinin başarılı bir analiz yöntemi olarak kullanılabileceğini gösterdi. Radyoterapi etkinliğinin farklı analiz metotlarıyla değerlendirilmesi ve doğrulanması tedavi etkinliği ve tedaviye yön verilmesi açısından son derece önemlidir.

Anahtar Kelimeler: KHDAK, Radyoterapi, Raman Spektroskopisi, FTIR Spektroskopisi, Kemometrik analiz

Temmuz 2022, 78 sayfa

ABSTRACT

DOCTORAL DISSERTATION

DETERMINATION OF RADIOTHERAPY EFFICIENCY IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER PATIENTS BY VIBRATIONAL SPECTROSCOPY METHODS

Yılmaz ŞAHİN

Supervisor: Prof. Dr. Muhammet YILDIRIM

Co-supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hilal KIZILTUNC OZMEN

Aim: In this study, it was aimed to determine the biochemical composition differences of blood serum samples of Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) before and after radiotherapy using vibrational spectroscopic techniques and to determine the efficacy of radiotherapy in this context.

Method: This study was done on blood serum samples of 20 patients who received a total of 6600 cGy radiotherapy dose. Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Clustering Analysis (HCA) methods were used as Unsupervised Pattern methods to detect inter-sample variations in the RS and RÖ spectra. Support Vector Machine Method (SVM) and Principal component analysis-linear discriminant analysis (PCA-LDA) methods were used as the Supervised Pattern methods.

Results: According to the PCA score graphs, the RS and RÖ groups are separated from each other for both Raman and FTIR spectra. While the variations in the principal components expressing the differences between the groups were 87% in FTIR, this ratio was 97% in Raman spectroscopy. PCA score distinctions were confirmed by HCA. PCA-LDA and SVM were applied to the generated trainer and test datasets to test the reliability of the method for the obtained discriminations. It was seen that the samples in both the training and test datasets were classified in their groups with 100% accuracy. When the same analysis was performed with FTIR spectroscopy, it was observed that the variations in the principal components expressing the differences between the groups were 87%. Likewise, in Raman spectroscopy analysis, this rate was found to be 100% when the correct classification between the classes was made with the SVM.

Conclusion: The obtained results showed that vibration spectroscopy can be used as a successful analysis method in the efficacy of radiotherapy in NSCLC patient blood serums. Evaluating and confirming the effectiveness of radiotherapy with different analysis methods is extremely important in terms of treatment effectiveness and direction of treatment.

Keywords: NSCLC, Radiotherapy, FTIR Spectroscopy, Raman Spectroscopy, Chemometric Analyses

July 2022, 78 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	xi
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	3
Akciğer Kanseri	3
Akciğer Kanserinin Biyolojisi.....	4
Akciğer Kanserin Değerlendirilmesi ve Evrelemesi.....	4
Normal Doku Toksisitesi Durumları.....	5
Akciğer Kanserin Tipleri	5
Küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK)	5
Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK).....	5
Akciğer Kanseri Tanı Yöntemleri.....	6
Girişimsel olarak;	6
Girişimsel olmadan;	6
Akciğer Kanseri Tanısında Kullanılan Radyolojik Yöntemler	7
Akciğer grafisi.....	7
Bilgisayarlı Toraks Tomografisi (BT) :	7
Akciğer Kanseri Tedavi Etkinliğinin Belirlenmesindeki Eksiklikler	8
Akciğer Kanseri Tedavi Yöntemleri	9
Erken evre (Evre I ve Evre II) küçük hücreli dışı akciğer kanserinin tedavisi	9
Evre III küçük hücreli dışı akciğer kanserinin tedavisi.....	9
Evre IV küçük hücreli dışı akciğer kanserinin tedavisi	10
Kemoterapi.....	10
Küçük hücreli dışı akciğer kanseri için aşı tedavisi	10
Akciğer Kanseri Tedavisinde Radyoterapi ve Etkinliği.....	10

Akciğer Kanserinde Radyoterapi Etkinliğinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemlerin Dezavantajları	11
Radyoterapi	12
Radyoterapi planlaması ve teknikleri.....	12
3 Boyutlu konformal radyoterapi (3BKRT).....	13
Yoğunluk ayarlı radyoterapi (YART).....	13
Volümetrik ayarlı radyoterapi (VMAT).....	13
Sterotaktik vücut radyoterapisi (SBRT).....	14
Titreşim Spektroskopisi Yöntemleri ve Avantajları	14
Klasik Raman Spektroskopisi (KRS).....	16
Tarihçesi.....	16
Temel çalışma prensibi	16
Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektroskopisi	18
Biyolojik Sıvılardan Kanser Tanısında Titreşim Spektroskopisi Yöntemlerinin Kullanımı	20
Zayıflatılmış Toplam Yansıma – Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi (ATR-FTIR) Spektrometresi)	22
Akciğer Kanseri Radyoterapisinde Tedavi Etkinliğinin Belirlenmesinde Titreşim Spektroskopisinin Rolü	23
Kemometrik Analiz.....	24
Kemometrik Analiz Metotları	24
Gözetimsiz kemometrik analizler	25
Gözetimli kemometrik analizler.....	27
Çalışmanın Amacı.....	27
MATERYAL VE METOT.....	28
Numune Türleri ve Örneklem Grupları.....	28
Spektral Deneyler İçin Serum Örneklerinin Hazırlanması ve Spektrumların Elde Edilmesi	28
Raman spektroskopisi	28
İnfrared spektroskopisi.....	28
Spektral Analizler.....	29
Kemometrik analizler.....	29
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	32
KHDAK Hücrelerinde Fourier Transform Spektroskopisi Metodu ile Moleküler Değişikliklerin Karakterizasyonu	32

Kemometrik analiz	32
Şekil 12. 4000-800 cm ⁻¹ spektral bölge için PC-1 yükleme grafiği.....	34
Gözetimli örüntü tanımlama analizleri.....	36
KHDAK Hücrelerinde Raman Spektroskopisi Metodu ile Moleküler Değişikliklerin Karakterizasyonu.....	41
Kemometrik analiz	41
Gözetimli örüntü tanımlama analizleri.....	45
SONUÇ VE ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	65



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. RÖ ve RS Gruplarında Eğitici Veri Setine Ait LDA Tahmin Tablosu	37
Tablo 2. RÖ ve RS Gruplarında Test Örneklerine Ait LDA Sınıflandırma Tablosu	38
Tablo 3. Radyoterapi Öncesi ve Sonrası Eğitici Veri Setine Ait Doğruluk Değerleri	39
Tablo 4. SVM Sınıflandırma Modelinin Test Setinde Uygulanmasından Elde Edilen Tahmin Matrisi.....	40
Tablo 5. RÖ ve RS Gruplarında Test Örneklerine Ait SVM Sınıflandırma Tablosu	40
Tablo 6. RÖ ve RS Gruplarında Eğitici Veri Setine Ait LDA Tahmin Tablosu	46
Tablo 7. RÖ ve RS Gruplarında Test Örneklerine Ait LDA Sınıflandırma Tablosu	47
Tablo 8. Radyoterapi Öncesi ve Sonrası Eğitici Veri Setine Ait Doğruluk Değerleri	48
Tablo 9. SVM Sınıflandırma Modelinin Test Setinde Uygulanmasından Elde Edilen Tahmin Matrisi.....	49
Tablo 10. RÖ ve RS Gruplarında Test Örneklerine Ait SVM Sınıflandırma Tablosu	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 78 yaşındaki bir erkeğin bilgisayarlı tomografi taraması cT1c N ₀ KHDAK tespiti için görüntü.....	7
Şekil 2. Sağ üst lob cT1N3 KHDAK tanısı almış 74 yaşında bir kadın hastanın, kontrastlı (A) göğüs bilgisayarlı tomografi (BT) taraması ve (B) hantal sağ hiler ve subkarinal lenfadenopatiyi gösteren füzyonlu pozitron emisyon tomografi-BT görüntüsü	8
Şekil 3. Radyasyon molekül etkileşiminde enerji değişimleri	18
Şekil 4. Bir FTIR spektrometresinin şeması	19
Şekil 5. Akciğer örneklerine titreşim spektroskopisinin uygulanmasıyla ilgili sürecin akış diyagramı	22
Şekil 6. Çok yansımali ATR sistemi yapısı.....	23
Şekil 7. Mesafeleri gösteren genel bir dendrogram.....	26
Şekil 8. Lam üzerine damlatılmış serum örnekleri.....	28
Şekil 9. FTIR analizi için serum örneklerinin kristal üzerine eklenmesi ve azot gazı ile kurutma işlemi.....	29
Şekil 10. RÖ ve RS alınan örneklerinin PCA analizine ait iki boyutlu skor grafiği.....	33
Şekil 11. RÖ ve RS alınan kan serumlarının üç boyutlu PCA skor grafiği	33
Şekil 12. 4000-800 cm ⁻¹ spektral bölge için PC-1 yükleme grafiği	34
Şekil 13. 4000-800 cm ⁻¹ spektral bölge için PC-2 yükleme grafiği	34
Şekil 14. 4000-800 cm ⁻¹ spektral bölge için PC-3 yükleme grafiği	35
Şekil 15. RÖ ve RS gruplarındaki örneklere ait hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) sonuçlarının dendrogramı.....	36
Şekil 16. RÖ ve RS gruplarındaki örneklere ait LDA grafiği	37
Şekil 17. Toplanan IR spektrumları için eğitim setleri için SVM sınıflandırma grafiği.....	39
Şekil 18. RÖ ve RS örneklerinin PCA analizine ait 2B skor grafiği	42
Şekil 19. RÖ ve RS alınan kan serumlarının üç boyutlu PCA skor grafiği	43
Şekil 20. 0-3700 cm ⁻¹ spektral bölge için PC-1 yükleme grafiği.....	43
Şekil 21. 0-3700 cm ⁻¹ spektral bölge için PC-2 yükleme grafiği	44
Şekil 22. 0-3700 cm ⁻¹ spektral bölge için PC-3 yükleme grafiği.....	44
Şekil 23. RÖ ve RS gruplarındaki örneklere ait hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) sonuçlarının dendrogramı.....	45
Şekil 24. RÖ ve RS gruplarındaki örneklere ait 4000-800 cm ⁻¹ spektral bölgedeki lineer diskriminant analizi ayırım grafiği	46
Şekil 25. Toplanan IR spektrumları için eğitim setleri için SVM sınıflandırma grafiği.....	48

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

3BKRT	: 3 Boyutlu Konformal Radyoterapi
ANN	: Yapay sinir ağları
ATR-FTIR	: Zayıflatılmış Toplam Yansıma Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
EBT	: Emisyon Bilgisayarlı Tomografi
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi
HCA	: Hiyerarşik Kümeleme Analizi
KHAK	: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
KHDAK	: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
KRS	: Klasik Raman Spektroskopisi
LDA	: Lineer diskriminant analizi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
NTCP	: Normal Doku Komplikasyon Olasılığı
PCA	: Temel Bileşen Analizi
PCA-LDA	: Temel bileşen analizi-lineer diskriminant analizi
PD-L1	: Programlanmış ölüm ligandı
PET	: Pozitron Emisyon Tomografisi
PLS-DA	: Kısmi en küçük kareler ayırma analizi
QUANTEC	: Normal Doku Etkilerinin Kantitatif Analizi
RÖ	: Radyoterapi Öncesi
RS	: Radyoterapi Sonrası
RT	: Radyoterapi
SBRT	: Stereotaktik Vücut Radyoterapisi
SVM	: Destek Vektör Makinesi
TCP	: Tümör Kontrol Olasılığı
TTİA	: Transtorasik İğne Aspirasyonu
VMAT	: Volümetrik Ayarlı Ark Tedavisi
YART	: Yoğunluk Ayarlı Radyoterapi Tekniği

GİRİŞ

Titreşimsel spektroskopisi, elektromanyetik radyasyonun emilmesi veya yayılmasından kaynaklanan geçişlerle ilgilidir. Bu geçişler $10^2 - 10^4 \text{ cm}^{-1}$ aralığında oluşur ve moleküllerin titreşiminden kaynaklanır. Bir moleküldeki kimyasal bağ farklı şekillerde titreşebilir. Oluşan her titreşime titreşim modu adı verilir. Germe ve bükme olmak üzere iki tür moleküler titreşim modu vardır. Gerilme titreşimi, atomlar arası mesafelerin artması veya azalmasıyla bağ ekseninde boyunca hareket ile karakterize edilirken, bükülme titreşimi, molekülün geri kalanına göre bağ açılarındaki bir değişiklikten oluşur. Raman spektroskopisi ve kızılötesi spektroskopisi, titreşim enerjisine dayalı, yaygın olarak kullanılan iki spektroskopik tekniktir (Singh *et al.* 2014). Her iki yöntem de tamamlayıcı bilgi verir ve herhangi bir molekül içinde atomların, o molekülün birkaç keskin, keskin tanımlanmış frekans özelliği ile titreştiği gerçeğine dayanır. Bir numune ile radyasyon demeti etkileştiği zaman numune, moleküllerde bulunan kimyasal bağların titreşim frekansına özgü frekanslardaki enerjiyi absorbe eder. Titreşimli kimyasal bağ ile enerjinin bu absorpsiyonu, bir Kızılötesi spektrum ile sonuçlanır. Numunenin kimyasal yapısının “parmak izi” bilgisini sağlaması Raman saçılmasının frekans kaymaları, gibi özellikleri ile Raman spektroskopisinin diğer spektroskopik tekniklere kıyasla birçok özelliği olduğu görülmektedir. Raman spektroskopisi bir saçılma olayıdır ve saçılan radyasyon frekansları arasındaki farktan dolayı ortaya çıkar. Raman spektroskopisi ile diğer spektroskopik tekniklere kıyasla birçok farklı özelliği vardır. Ayrıca, Raman pikleri çok dardır, bu da çok bileşenli analiz ve miktar analizini kolaylaştırır (Wang *et al.* 2017). Raman spektroskopisi, biyomalzemelerin kimyasal parmak izlerini verebilir. Ayrıca, biyokimyasal moleküllerin bileşimini ve uzaysal yapısını da ayırt edebilir (Kong *et al.* 2015). Raman spektroskopisi, tümörün kimyasal bileşimini araştırabilen, moleküler bir sistemde titreşim, dönme ve diğer durumları tespit etmek için kullanılan ve moleküler düzeyde tanı koyabilen spektroskopik bir tekniktir. Girişimsel olmayan bu hızlı teşhis yöntemi ile hastalarda acı hissi olmadan teşhis işlemi yapılabilir. Böylece, gelecekteki klinik uygulamalarda geniş bir kapsama alanına sahip olabilir (Wang *et al.* 2015). Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) spektroskopisi de tıpkı Raman spektroskopisinde olduğu gibi, biyomedikal numune analizinde yaygın olarak kullanılan spektroskopik bir tekniktir (Chan & Kazarian, 2016). FTIR spektroskopisi esas olarak orta kızılötesi bölgedeki ($4000-600 \text{ cm}^{-1}$) absorpsiyon modlarını belirlemek için kullanılır. Bu bölgedeki keskin bantlar öncelikle nükleer asitler, lipidler, proteinler ve karbonhidratlar gibi biyomoleküllerden gelen spesifik titreşimlerdir ve her numune için oldukça

farklı bir absorpsiyon modeli ve spektral profil ile sonuçlanır (Petibois & Dél  ris, 2006; Dorling & Baker, 2013). FTIR spektroskopisi basit, hızlı, ucuz ve invazif olmayan bir   l  m tekniğidir. Tümör oluşununun erken evresinde veya tümörün yok oluşumu sürecinde, vücutta bulunan dokular, kan veya diğ  er sıvılar; metabolizmada ve dokuları ve hücreleri oluşturan ana biyomoleküllerin bileşimi ve içeriğinde değişikliklere uğrar. Ayrıca, bu değişiklikler henüz görüntüleme değişikliklerine veya spesifik klinik semptomlara yol a  mamıştır Malins *et al.* 2004; Krishnan *et al.* 2017). FTIR teknolojisi, sağladığı biyokimyasal ve moleküler bilgiler sayesinde kanser teşhisinde lezyonu veya kanserin ilerlemesi sırasındaki küçük değişikliklerin tespit edilmesini sağlar (Sahu & Mordechai, 2005). Moleküler yapı değişiklikleri, özellikle proteinlerin ikincil yapısı FTIR spektral analizinden de elde edilebilir (Glassford *et al.* 2013). Bu değişiklikler kanser belirteçleri olarak tanımlanabilir. Bu belirteçler de normal ve tümör dokuları arasında hassas ve spesifik ayırım yapılmasına ve tümör ilerlemesinin gerçek zamanlı izlenmesine olanak sağlar. Harder ve ark. yaptığı bir çalışmada, insan epitelyal tümör hücre hattında radyasyona bağlı spesifik tepkiler tanımladı. Klinik dozları 2-10 Gy arasında olan meme (MCF-7, MDA-MB-231), prostat (LNCaP) ve akciğ  er (H460)   zerinde çalışıldı. Bu hücre hatlarında, Temel bileşen analizini (PCA) kullanarak radyasyonla ilgili özellikleri tanımlamak için yalnızca 10 Gy veya daha az alan popülasyonlardan spektral bilgiler alındı. Buna karşılık, MDA-MB-231 hücre hattı, 6 Gy veya daha yüksek dozlarda nükleik asit ve lipid spektral özelliklerine göre proteinde önemli bir artış gösterdi. Hücreler klinik dozlara maruz kaldığında meydana gelen radyasyona bağlı değişikliklerin, p53 durumu ve radyasyon duyarlılığı ile ilgili olduğu bulundu. Ayrıca, RS'nin terapötik dozlarda radyasyona maruz kalan insan tümör hücrelerinde biyolojik bir yanıtı tanımlamadaki faydasının, bir radyasyon yanıtı tarafından indüklenen biyokimyasal değişikliklerin kapsamı tarafından yönetildiği ve bu nedenle hücre hattına özgü olduğu bulundu (Harder *et al.* 2015). Bu tez kapsamında, titreşim spektroskopisi ile birlikte kemometrik analiz yaklaşımının kullanılması, KHDAK hastalarında radyoterapi etkinliğinin belirlenmesinde özgün, hızlı, ucuz ve invaziv olmayan bir yöntem olabileceği gösterildi.

KURAMSAL TEMELLER

Bu bölümde, akciğer kanseri, tedavi yöntemleri, radyoterapinin akciğer kanseri üzerinde etkinliği, akciğer kanseri teşhis ve tedavi yöntemleri ile ilgili bilgilere yer verilmektedir. Akciğer kanserinin radyoterapi yöntemi ile tedavisinin etkinliğinin belirlenmesinde alternatif bir yöntem olarak düşünülen Raman spektroskopisi ve Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile ilgili bilgiler verilmektedir.

Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri, Amerika Birleşik Devletleri'nde her hafta yaklaşık 3000 ölüme neden olan en yaygın ve en ölümcül toraks malignitesidir (Siegel RL and Miller KD, 2016). Türkiye'de yaşa göre standardize edilmiş akciğer kanseri insidansı erkeklerde 100.000'de 60,4, kadınlarda ise 100.000'de 9,3'tür (T.C. Halk Sağlığı Kurumu, 2018). Akciğer kanserinin en yaygın sebeplerinden biri sigara dumanına maruz kalmadır. Araştırmalara göre vakaların %85 ila %90'ı doğrudan aktif veya pasif sigara dumanına maruz kalma ile doğrudan ilişkilidir (AJ *et al.* 2007). 1960'ların ortalarına kadar uzanan sigara içme prevalansındaki azalmalar nedeniyle erkeklerde akciğer kanseri ölüm oranları düşme eğilimindeyken, kadınlarda ölüm oranları sadece 2003 yılında sabitlenmeye başladı. Amerika Birleşik Devletleri'nde önemli coğrafi farklılıklar vardır ve Kaliforniya, kadınlarda akciğer kanseri insidansı ve ölüm oranlarının azaldığı tek eyalettir (Egleston *et al.* 2009). Gelişmiş ülkelerde çeşitli mesleki solunum karsinogenlerine maruziyet kontrol altına alınmıştır, ancak akciğer kanseri ölümünde ikinci sırada yer alan radona çevresel maruziyet sorun olmaya devam etmektedir (Neuberger & Gesell, 2002).

Çernobil felaketi birçok ülkeyi etkiledi. Radyoaktif serpintiden etkilenen bölgeler arasında sadece Ukrayna değil, Belarus, Gürcistan, Polonya, İsveç, Almanya, Avusturya, Macaristan, Finlandiya, Norveç, Türkiye ve diğerleri de yer aldı. Bu kazadan sonra, dünya çapında çevresel örneklerin yoğun, büyük ölçekli radyolojik araştırmalarına başlandı. Bu çalışmaların temel amacı, kirlilik seviyesini belirlemek ve çevreyi yapay radyoaktivitenin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Türkiye'nin kuzeydoğusu bu kaza ile en ciddi şekilde kirlenmiş bölgelerden biriydi (Celik *et al.* 2008). Acil durum sırasında Çekmece Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi, çeşitli maddelerin analizini yaptı. Raporlarında, Karadeniz dağlarının doğu kesiminin yüzey toprağı Sezyum aktivite konsantrasyonunun 1988 yılında 0,5 cm toprakta 4-4,5 kBq kg⁻¹ civarında olduğu belirtilmektedir (Gedikoglu & Sipahi, 1989).

Giresun ilinde meydana gelen tüm akciğer kanseri ölümlerinin %8'inden iç mekân radonunun sorumlu olduğu bulundu. ^{137}Cs aktivite konsantrasyonu Çernobil kazasından 21 yıl sonra ölçülmüştür. Sonuçlar, ^{137}Cs aktivite konsantrasyonunun 41 ila 1304 Bq kg⁻¹ arasında değiştiğini ve ortalama 307 Bq kg⁻¹ değerinde olduğunu gösterdi (Celik *et al.* 2008).

Akciğer kanseri ile başvuran hastaların ortalama yaşı 70'dir (Howlader N *et al.* 2019). Akciğer kanseri genel olarak Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK) ve Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK) tiplerine ayrılır. KHDAK, vakaların yaklaşık %80 ila %85'ini oluşturur. KHDAK'li hastaların %50'den azında ilk başvuruda rezektabl (ameliyatla alınabilen) hastalık vardır ve hastaların %25'inde lokal olarak ilerlemiş hastalık (uzak metastaz olmaksızın bölgesel lenf nodu tutulumu) vardır. Başvuru sırasında KHAK'li hastaların yaklaşık %30'unun sınırlı evrede hastalığa sahip olduğu görülmüştür (Warde & Payne, 1992).

Akciğer Kanserin Biyolojisi

Akciğer kanserleri erken yayılma eğilimindedir ve cerrahi, kemoterapi, radyoterapi (RT) veya bu modalitelerin kombinasyonları ile agresif tedaviye rağmen yüksek oranda nüks etme eğilimindedir. KHDAK, geleneksel olarak tek bir hastalık olarak tedavi edilmesine rağmen, histolojik ve moleküler özelliklerin doğrudan tedaviye yardımcı olabileceği konusunda artan bir kabul vardır (Mok *et al.* 2009; Neal 2010; Jordan *et al.* 2017). Tümöre özgü T-hücresi bağışıklığının artırılması programlanmış ölüm ligandı 1 (PD-L1) inhibisyonu, son zamanlarda metastatik ve lokal olarak ilerlemiş KHDAK'de sağkalımın arttığını göstermiştir. Ancak PD-L1 tümör ekspresyonu, tümör yanıtı ile değişken bir ilişkiye sahiptir (Reck *et al.* 2016; Antonia *et al.* 2018).

Akciğer Kanserin Değerlendirilmesi ve Evrelemesi

Değerlendirme dikkatli bir öykü ve fiziki muayene ile başlanmaktadır. Hastanın genel temel tıbbi durumu, torasik neoplazm ile ilgili belirti ve bulguların süresi değerlendirme açısından önemlidir. Teşhis ve evreleme düzenli ve uygun maliyetli bir şekilde yapılmalıdır. Balgam sitolojisi her ne kadar hastaların sadece küçük bir yüzdesinde tanı koysa da, solunum semptomları ve şüpheli akciğer kitlesi olan hastalar için göz önünde bulundurulması gereken basit ve girişimsel olmayan bir değerlendirmedir. Geleneksel olarak, bronkoskopi santral lezyonların biyopsisi için kullanılırken, transtorasik iğne biyopsisi genellikle periferik lezyonlar için ilk akları gelen yöntemlerden biridir.

Evreleme değerlendirmesi genellikle kesin bir patolojik tanı konulmadan önce başlatılır. Bilgisayarlı tomografi (BT) görüntüleme ile birlikte ^{18}F -florodeoksiglukoz pozitron emisyon tomografisi (^{18}F -FDG-PET), lokalize KHDAK ve KHAK'li hastaların çoğunda endikedir ve

göğüs ve karın BT görüntülemesi artı bir kemik taraması içeren geleneksel çalışmanın yerini alabilir. ¹⁸F-FDG-PET görüntülemenin kullanımının, KHDAK'li hastalar için göğüs kafesinin cerrahi girişimle açılması işlemi olan torakotomi sayısını azalttığı ve özellikle ilgili alan radyoterapi (RT) yaklaşımı kullanıldığında, KHDAK ve KHAK için radyasyon tedavi planı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Normal Doku Toksisitesi Durumları

Radyoterapide omurilik, akciğer, yemek borusu ve kalp torasik malignite için doz sınırlayıcı yapılardır. Genel olarak, bir organın işleyen alt birimleri, seri veya paralel yapı olarak düzenlenebilir. Akciğer gibi normal doku, organ hasar görmeden önce kritik sayıda işleyen birimde paralel yapıya bir örnektir (Marks, 1996). Fonksiyonel alt birimler kritik bir düzeyin ötesinde hasar görürse organ yetmezliği başlar. Gastrointestinal sistem ve omurilik, tek bir işleyen alt birimin kaybının organ bozukluğuna veya klinik semptomların gelişmesine yol açabileceği seri yapıları temsil eder. Erken evre KHDAK için stereotaktik vücut radyoterapisinden (SBRT) sonra sınırlı toksik etkiler meydana getirdiğini söyleyen birçok rapor olmasına rağmen, tedaviye bağlı ölümler de bildirilmiştir (Chi *et al.* 2010). Doz-hacim ilişkisi, sistemik kemoterapinin entegrasyonundan da etkilenebilir, tedavinin toksik etkileri üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir (Belani *et al.* 2005).

Akciğer Kanserinin Tipleri

Akciğer kanseri genel olarak KHAK ve KHDAK tiplerine ayrılır.

Küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK)

KHAK, daha yaygın bir karşılığı olan KHDAK genellikle daha agresif bir doğal geçmişe sahip bir akciğer kanseri alt kümesidir (M. J. Matthews *et al.* 1973). 2018'de, Amerika Birleşik Devletleri'nde teşhis edilen toplam 234.000 yeni akciğer kanseri vakası olduğu tahmin ediliyordu (Society, 2018). Akciğer kanseri, dünya çapında en yaygın maligniteyi ve kansere bağlı ölümlerin en yaygın nedenini temsil etmektedir (Ferlay *et al.* 2015). KHAK, tüm akciğer kanseri teşhisinin yaklaşık %15'ini temsil eder. Zamanla, büyük ölçüde sigara içme oranlarındaki düşüşe atfedilen insidansında bir düşüş olmuştur (Govindan *et al.* 2006).

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK)

KHDAK, tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %85'ini oluşturur (Cadranel *et al.* 2016). TNM (tümör, nodül ve metastaz) sistemi, KHDAK 'yi I, II, III ve IV aşamaları olarak ayırmak için kullanılır. KHDAK'nin erken evreleri olarak Evre I ve evre II kabul edilir. Herhangi bir önemli fiziksel belirti vermeden var olabilir ve ilerleyebilirler. Bu nedenle, KHDAK teşhisi

konan hastaların çoğu maalesef çoğunlukla hastalığın III veya IV aşamasındadır. KHDAK'lı hastaların teşhisi gecikirse, hastalar için tedavi seçenekleri de olumsuz bir şekilde etkilenir. Akciğer kanserinin erken teşhisi, hastaların daha iyi tedavisi ve prognozu için büyük önem taşımaktadır. Göğüs röntgeni, BT taraması ve balgamsitoloji de dâhil olmak üzere akciğer kanseri için birkaç tarama yöntemi mevcuttur (Hillerdal *et al.* 2001). Akciğer kanserinin 2019'da Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 142.670 erkek ve kadını, kolon, meme, prostat ve pankreas kanserlerinin toplamından daha fazla öldüreceği tahmin ediliyordu (Siegel *et al.* 2019). Bu vakaların %80'inden fazlası sigara dumanından veya çevresel maruziyetten kaynaklanmıştır (Alberg *et al.* 2013). Ancak bu tarama yöntemleri, tarama yöntemi olarak etkinliği ve yüksek maliyeti konusundaki tartışmalar nedeniyle yaygın olarak uygulanmamaktadır (Klittich & Caro, 2002; Manser *et al.* 2005; Wisnivesky *et al.* 2003).

2020'de yayınlanan en son Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre Türkiye de Akciğer Kanseri Ölümleri toplam ölümlerin %9.01'ine ve sayı olarak da 35.070'una eşittir. Yaşa göre ayarlanmış ölüm hızı, 100.000 nüfus başına 39.65 olarak belirlenmiştir. Türkiye dünyada 3. sırada yer almaktadır (World Health Organization, 2020)

Doğru evreleme önemlidir çünkü tedavi seçenekleri ve prognoz, aşamalara göre önemli ölçüde farklılık gösterir. KHDAK'nin mevcut klinik evrelemesi, büyük ölçüde göğüs radyografisi, X-ışını bilgisayarlı tomografi (BT), emisyon bilgisayarlı tomografi (EBT), pozitron emisyon bilgisayarlı tomografi (PET-CT), manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve invazif fiberoptik Bronkoskopi ile yapılır (Detterbeck & Figueroa Almanzar, 2014; Kim *et al.* 2015). Bu testler hem pahalıdır hem de komplikasyonlarla ilişkilidir. Bu nedenle, akciğer kanserini tanımlamaya ve evrelemeyi kolaylaştırmaya yardımcı olacak basit ve güvenilir yöntemlerin geliştirilmesine büyük ihtiyaç vardır.

Akciğer Kanseri Tanı Yöntemleri

Akciğer kanserinde uygulanan tanısal işlemler genellikle; anamnez, fiziki muayene, tam kan sayımı ve rutin biyokimya testlerinden sonra;

Girişimsel olarak; bronkoskopi, transtorasik iğne aspirasyonu (TTİA), lenf bezi biyopsileri, mediastinoskopi vb işlemlerden oluşur.

Girişimsel olmadan; Akciğer filmi, Toraks Bilgisayarlı Tomografi (BT), Pozitron Emisyon Tomografisi (PET), balgam sitolojisi vb. işlemlerden oluşur (Westeel, 2003).

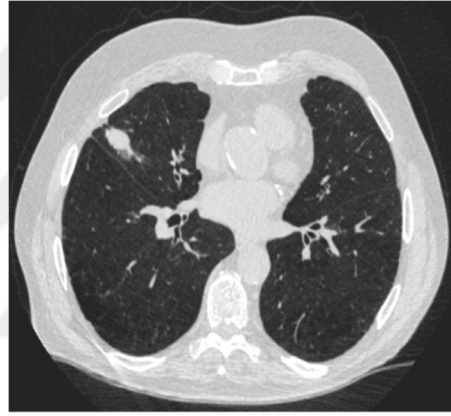
Akciğer Kanseri Tanısında Kullanılan Radyolojik Yöntemler

Akciğer grafisi

Akciğer kanseri tanısında kullanılacak ilk yöntemlerden biri iki yönlü akciğer grafisidir.

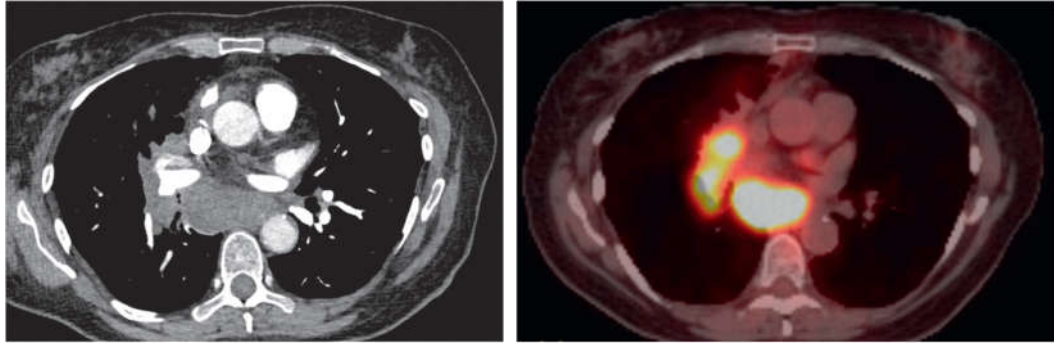
Bulgular: Direkt bulgu olarak kenarları belirsiz, anatomik yapılarla süperpoze lezyon, hiler büyüme ve infiltratif lezyonlar olarak, indirekt bulgular olarak ise, tedaviye cevap vermeyen pnömoni veya atelektazi, tek taraflı hava hapsi, plevral efüzyon ve diyafram felci sayılabilir.

Bilgisayarlı Toraks Tomografisi (BT) : Bilgisayarlı toraks tomografisi akciğer kanseri düşünülen her hastanın hem tanı hem de evrelendirilmesinde önemli bir görüntüleme yöntemidir. Bilinen ya da şüpheli kitle varlığı tespit edilen hastalarda spiral BT çekilmesi önerilir. Kontrastlı çekilmesi önerilir (Beckles *et al.* 2003; Hamilton, 2004)



Şekil 1. 78 yaşındaki bir erkeğin bilgisayarlı tomografi taraması cT1c N0 KHDAC tespiti için görüntü

Pozitron Emisyon Tomografisi (PET): 18F-florodeoksiglukozlu (FDG) PET, malignitenin göstergesi olabilen, yukarı regüle edilmiş glikolizin metabolik bilgilerini sağlar. PET tek başına sınırlı uzamsal çözünürlüğe sahiptir, ancak CT ile birlikte kayıt, yorumu önemli ölçüde iyileştirir. Metabolik alım, arka plan ve / veya mediastinal kan havuzu veya karaciğer gibi yakındaki organlarla ilgili olarak görsel olarak değerlendirilebilir (Şekil 2) (Gould *et al.* 2013).



(A) (B)

Şekil 2. Sağ üst lob cT1N3 KHDAC tanısı almış 74 yaşında bir kadın hastanın, kontrastlı (A) göğüs bilgisayarlı tomografi (BT) taraması ve (B) hantal sağ hiler ve subkarinal lenfadenopatiyi gösteren füzyonlu pozitron emisyon tomografi-BT görüntüsü

Akciğer Kanseri Tedavi Etkinliğinin Belirlenmesindeki Eksiklikler

Akciğer kanseri teşhisi, önceki on yılda büyük ölçüde ilerlemiştir. KHDAC’de tek bir örnekten birden fazla genetik varyantın test edilmesine izin vererek moleküler tanı için yeni nesil modelleme platformlarının uygulanması giderek daha yaygın hale gelmektedir. Doğru bir histolojik tanı verilemeyen tümörlerin oranı (yani adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom) immünohistokimyasal belirteçlerin kullanılmasıyla büyük ölçüde azalmıştır (Reck *et al.* 2014; Masters *et al.* 2015). Erken evre KHDAC için cerrahi rezeksiyon bir seçenek olabilir ve bazı durumlarda ameliyat sonrası radyasyon tedavisi (RT) endike olabilir. Ancak daha ileri evrelerdeki akciğer kanserleri, tümör boyutu, yerleşimi, lenfatik tutulum ve hastanın genel sağlık durumu gibi sınırlayıcı faktörler nedeniyle cerrahi için aday olmayabilir. Bu durumlarda RT’nin alternatif bir tedavi seçeneği olarak kullanılabileceği söylenebilir. Radyasyon tedavisi, hastalıklı dokuyu yüksek enerjili radyasyon ile yok ederek, sağlıklı dokulara minimum düzeyde zarar vermeyi amaçlar (Harder *et al.* 2016). Kesin RT’ye başarılı bir şekilde yanıt vermeyen hastalar, radyasyon direncini veya duyarlılığını değerlendirmek için ön tarama tekniklerinden yararlanabilir ve bu da kişi için uygun bir tedavi rejiminin seçilmesinde daha fazla rehberlik sağlar. Başarılı RT tedavisi için en önemli şey, belirli bir hastanın hastalığıyla ilişkili radyasyona duyarlılığı veya radyasyona direncinin derecesidir. Radyasyona tümör tepkisinin kapsamını ve dolayısıyla tümör hücrelerinin içsel radyasyon tepkisini ve çevreleyen tümör mikroçevresini içeren RT’nin başarılı sonucunu çeşitli faktörler etkileyebilir (Vaupel, 2004a; Karar & Maity, 2009b). Bu yüzden; bu sorunların çözülmesi, tümör biyolojisinin daha iyi anlaşılmasına ek olarak teknolojik gelişmeler gerektirecektir. Bu teknolojik gelişmelerden biri de titreşim (FT-IR ve Raman) spektroskopisidir. Tümörlerde radyoterapiye dirençle ilgili bazı önemli faktörler, bu tekniklerle açıklanabilir.

Akciğer Kanseri Tedavi Yöntemleri

Bu bölümde, erken evre, ileri ve tekrarlayan KHDAK için standart ve yeni ortaya çıkan tedaviler tartışılacaktır.

Erken evre (Evre I ve Evre II) küçük hücreli dışı akciğer kanserinin tedavisi

Rezektabl ve operabl erken evre hastalığın (evre I ve II) birincil tedavisi, uzun vadeli sağkalım için en iyi seçenek cerrahidir (R *et al.* 2010; Da Cunha Santos *et al.* 2011). Cerrahi rezeksiyon sonrası beş yıllık sağkalım oranlarından bahsedecek olursak, evre I KHDAK için %60 - %80 ve evre II KHDAK hastaları için %30-%50'dir (Tanoue & Detterbeck, 2009). Rezeke edilemeyen tümörler için, cerrahi rezeksiyonu reddeden veya rezeke edilemeyen tümörleri olan hastalar için ise Stereotaktik Vücut Radyoterapisi (SBRT) gibi birincil radyoterapi tedavileri kullanılabilir. Bununla birlikte, evre I ve II hastalar için ameliyat sonrası radyoterapi önerilmez (Howington *et al.* 2013). Bugüne kadar, evre II KHDAK hastaları için adjuvan platin bazlı kemoterapinin faydalı olduğu görülmüştür ve tamamen rezeke edilmiş hastalar için önerilen tedavi stratejisidir (J.P. *et al.* 2008; Howington *et al.* 2013). Aksine, evre I KHDAK hastalarında şimdiye kadar adjuvan kemoterapi için net bir fayda kanıtlanmamıştır (NSCLC Meta-analyses Collaborative Group, 2010).

Evre III küçük hücreli dışı akciğer kanserinin tedavisi

KHDAK hastalarının %70'inden fazlasına ileri evrelerde veya metastatik evrede (evre III ve IV) teşhis konulur (Travis *et al.* 2013). Evre III KHDAK homojen olmayan bir hastalıktır ve mikroskobik metastazlı rezektabl (cerrahi müdahaleye uygun) tümörlerden lenf düğümlerine, çok sayıda nodal lokasyonu içeren rezeke edilemeyen, hacimli hastalığa kadar değişir. Evre III KHDAK hastalarının bu homojen olmayan popülasyonunda tedavi stratejileri (radyoterapi, kemoterapi ve cerrahi rezeksiyon) tümörün yeri ve rezeke edilebilir olup olmadığına göre belirlenir. Standart tedavi, rezeke edilebilir evre IIIA KHDAK olan hastalar için cerrahi ve ardından kemoterapiden oluşur. Rezeke edilemeyen evre IIIA hastaları için standart tedavi, kemoterapi ve radyasyon tedavisinin (kemoradyoterapi) sıralı veya eş zamanlı kombinasyonunu ve kombine tedavi ile tedavi edilemeyen hastalar için harici radyasyon tedavisini içerebilir. Birden fazla randomize klinik çalışmanın meta-analizleri, platin bazlı kemoradyasyon tedavisinin, tek başına radyasyon tedavisi ile karşılaştırıldığında ölüm riskinde önemli bir %10 azalma sağladığını göstermiştir (Stewart & Pignon, 1995; Rowell & O'Rourke, 2004; Aupérin *et al.* 2006).

Evre IV küçük hücreli dışı akciğer kanserinin tedavisi

Evre IV KHDAK, teşhisi yeni konulmuş KHDAK hastalarının %40'ını oluşturmaktadır. Evre IV KHDAK hastaları için tedavi seçimi, kanserin komorbiditesi, histolojisi ve moleküler genetik özellikleri dâhil olmak üzere birçok faktöre bağlıdır (Oken *et al.* 1982). Palyatif harici radyasyon tedavisi, kombinasyon kemoterapi, hedefe yönelik tedaviler ve gerektiğinde herhangi bir lazer tedavisi veya dahili endoskopik radyasyon tedavisi, Evre IV KHDAK hastalığı için standart tedavi seçenekleri arasında yer alabilir. Bazı durumlarda, radyasyon tedavisine benzer şekilde, ameliyat seçeneği de hastalıkla ilgili semptomları hafifletmek için kullanılabilir.

Kemoterapi

KHDAK için kemoterapi genellikle performans durumu 0 ve 1 olan hastalara uygulanır ancak palyatif bakımın tercih edildiği performans durumu 3 ve 4 olan hastalarda nadiren etkilidir. Kemoterapi kullanımı, ileri evre KHDAK hastalarının yaklaşık %40'ını temsil eden performans durumu KHDAK hastalarında tartışmalıdır. Kemoterapi, günün %50'sinden fazlası için makul derecede formda ve uyanık olan performans durumu 2 hastaları için önerilir.

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri için aşı tedavisi

Modern tıbbın en önemli gelişmelerinden biri de patojenlere karşı aşılamaadır. Bu sayede her yıl milyonlarca hayat kurtarılmaktadır. İleri KHDAK hastaları için ortalama hayatta kalma süresi yaklaşık bir yıldır. Standart kemoterapiye yeni tedavilerin eklenmesine rağmen tanıdan sonra sadece %3,5'i beş yıl hayatta kalmaktadır (Thomas & Hassan, 2012). Bu nedenle, katı tümörler için ya önleyici (insan papilloma virüsü ile ilişkili rahim ağzı kanseri gibi enfeksiyonlarla ilişkili tümörler için) ya da terapötik (toleransı kırma ve ilerlemiş melanomlarda ipilimumab (anti-CTLA-4) gibi tümörlerde uzun süreli yanıt elde etme amaçlı aşılar) kanser hastaları için uzun süredir nihai tedavi seçeneği olarak görülmüştür (Mao *et al.* 2006; Hodi *et al.* 2010; Topalian *et al.* 2011). Diğer birçok kanser türü gibi, KHDAK'de immünojenik olmayan tümörlere aittir ve bu nedenle aşı tedavisi için tümöre özgü immünojenik antijenlerin tanımlanması büyük bir zorluk teşkil etmektedir. İlerlemiş KHDAK'de ve adjuvan ortamda, KHDAK hastaları için aşılamanın en umut verici sonuçları gözlemlenmiştir (Capelletto & Novello, 2012).

Akciğer Kanseri Tedavisinde Radyoterapi ve Etkinliği

Radyoterapi, akciğer kanserinin multidisipliner tedavisinin ayrılmaz bir parçasıdır. KHDAK'de radyoterapi, yaygın hastalık olarak evrelenen tümörlerde kemoterapi (adjuvan)

sonrası ve eş zamanlı olarak lokalize hastalık olarak evrenlenmiş tümörlerde yapılır (Turrisi *et al.* 1999; Slotman *et al.* 2015). KHDAK’de, cerrahi olarak rezeke edilebilir hale getirmek veya lokorejyonel hastalıkların ve pozitif sınırlı tümörlerin nüksetmesini önlemek amacıyla ameliyattan önce veya sonra (adjuvan) radyoterapi, rezeke edilemeyen tümörlerde ise tercihen kemoterapi endikedir (Rusch *et al.* 2001; Anne Aupérin *et al.* 2010)

Vücuttaki iç yapıların tanınmasına izin veren bilgisayarlı sistemlerdeki gelişmelerle son yıllarda radyasyon tedavisi ciddi ilerleme kaydetmiştir. Önceden yapılandırılmış bir tedavi planlama sisteminden türetilen ve radyasyon cihazına gönderilen bilgilerle normal dokular korunurken, tedavi edilmesi amaçlanan alana ulaşan doğru bir doz dağılımı elde edilir. Bu da konformal radyoterapi tekniği olarak adlandırılır. Bu yazılım, hastanın vücudundaki radyasyon doz dağılımını gösterir ve hedef organ veya hacimde doz-yoğunluk grafikleri oluşturur. Böylelikle bu organların potansiyel toksisitesini ve tümörün yeterince tedavi edilip edilmediğini, yeterli dozu alıp almadığını anlamak mümkündür (M. J. Chen *et al.* 2017).

Konformal teknik, sağlıklı organları koruyarak ışınlanmış bölgede doz değerlendirmesine izin verse de, ışınlanan bölge ile temas halindeki dokuları korumanın yollarını sağlamaz. Yoğunluk Ayarlı Radyoterapi Tekniği (YART) bu sorunu çözmek için geliştirilmiştir. YART tekniği, ışınlanacak bölgenin sınırları içinde belirlenen dozun kalmasını sağlar ve tedavi dışındaki alanların maksimum düzeyde korunmasına da olanak tanır.

Torasik bölgede bulunan akciğerler, kalp, yemek borusu, omurilik ve gibi birçok radyasyona duyarlı organ, konformal radyoterapide hasta güvenliği için minimal olarak önerilen bir tekniktir (Chen *et al.* 2017).

Radyoterapi komplikasyonları ile ilgili klinik deneyimlere dayanarak, normal bir organın hacmine göre doz sınırlayıcı bir standart oluşturulmuş ve 2010 yılında Klinikte Normal Doku Etkilerinin Kantitatif Analizi (QUANTEC) yayınlanmıştır (Bentzen *et al.* 2010a).. Bu, halihazırda tüm dünyada radyoterapi uygulamayanlar için pratik bir rehber olarak önerilmektedir.

Akciğer Kanseri Radyoterapi Etkinliğinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemlerin Dezavantajları

İyonize radyasyon tedavisi, çok sayıda kanser için standart bir tedavi şeklidir. Buna rağmen, hastaya özel radyasyon duyarlılığını hesaba katan onaylanmış bir yöntem yoktur (Harder *et al.* 2015). Başarılı RT tedavisi için en önemli şey, bir hastanın hastalığıyla ilişkili radyasyon duyarlılığı veya radyasyon direncinin derecesidir. Radyasyona tümör tepkisinin derecesini ve dolayısıyla tümör hücrelerinin içsel radyasyon tepkisini ve çevreleyen tümörün

mikro ortamını içeren RT'nin başarılı sonucunu çeşitli faktörler etkileyebilir (Vaupel, 2004b; Karar & Maity, 2009a). Bir hasta için radyasyon tepkisini belirleme yeteneği, radyoterapide tedavi sonucunu iyileştirmeye yönelik önemli bir adımdır. Deoksiribonükleik asit (DNA) kırılma onarımı, kromozom sapmaları, apoptoz dahil olmak üzere hücrel radyasyon yanıtının tahmin edicileri, hipoksi, kanser kök hücre içeriği ve radyorezistansın genetik biyobelirteçlerini araştırmak bu açıdan önem arz etmektedir (Coco Martin *et al.* 1999; Harada 2011; Bourton *et al.* 2011). Radyoterapide tümörlerde oluşan dirençle ilgili önemli faktörler bu teknikle açıklanabilir. Ancak bu tekniklerin hiçbiri klinikte benimsenmemiştir; muhtemelen birçoğu, klinik uygulama için, tümör tipi spesifikliği, invazivlik (tümör dokusunun biyopsisini gerektiren) ve ayrıca zaman ve işçilik maliyeti dahil olmak üzere önemli sınırlamalardan muzdariptir.

Radyoterapi

Radyoterapi, tıbbi olarak ameliyat edilemeyen veya cerrahi bir yaklaşımı reddeden erken evre KHDAK hastaları için tercih edilen alternatiftir. Erken evre hastalığı olan tedavi edilmemiş zayıf hastalarda ölüm nedeni, diğer eşlik eden durumlardan değil, ağırlıklı olarak kanserden kaynaklanmaktadır (Raz *et al.* 2007). Bu hastalara küratif tedavi kararı verilirken iyi düşünülmelidir. Radyoterapi daha önce geleneksel planlama teknikleri kullanılarak 2D veya 3D tekniklerle verilmişti, ancak Stereotaktik Vücut Radyoterapisi (SBRT) dahil daha modern tekniklerin sağkalımı artırdığı görülmektedir (Boyer *et al.* 2017).

Radyasyon simülasyonu, planlaması ve dağıtımındaki gelişmeler SBRT platformunun geliştirilmesini kolaylaştırmıştır. Kişiselleştirilmiş solunum hareket değerlendirmesi ve yönetimi kullanılarak hedef hacim en aza indirilir. Birden fazla eş düzlemler ve düzlemsel olmayan ışın veya ark iletme yeteneği, dik doz gradyanlarına izin verir ve böylece risk altındaki yakın organlara radyasyon dozunu en aza indirirken tümöre alışılmadık şekilde yüksek dozlara izin verir.

Radyoterapi planlaması ve teknikleri

Akciğer kanseri için radyoterapi planlamasının amacı, yemek borusu, kalp, omurilik, göğüs duvarı ve deri dahil olmak üzere çevredeki normal dokuların radyasyona maruz kalmasını en aza indirirken birincil tümörün, patolojik olarak tutulan lenf düğümlerinin ve ilişkili hedef hacimlerin optimum şekilde verilen dozun en yüksek seviyede kapsanmasını sağlamaktır. Şu anda kullanılan standart planlama ve tedavi yaklaşımı, çoklu ışın düzenlemeleri olan 3 Boyutlu Konformal Radyoterapi (3BKRT) veya YART'dır. Son zamanlarda kalp

radasyon dozu, akut ve geç toksisitesi ve hayatta kalmayı etkileyen planlama önceliklerinin önemi açısından akciğer ve omurilik dozunu birleştirdi hatta aştı denilebilir.

3 Boyutlu konformal radyoterapi (3BKRT)

3BKRT hastanın, Bilgisayarlı Tomografi (BT) ile tedavi pozisyonunda çekilen görüntülerine dayalı olarak yapılan bir planlama tekniğidir. Tümör bölgesine verilecek doz, tümör bölgesini çevreleyen sağlam dokuların tolereans dozlarıyla sınırlıdır. 3BKRT'nin kullanımı, hedef hacime tanımlanan dozun daha hassas şekilde verilmesini ve daha iyi Tümör Kontrol Olasılığı (TCP) değerlerinin elde edilmesini sağlar. Ayrıca 3BKRT'nin bir sonucu da hedef yakınındaki ani doz dşşleri, Normal Doku Komplikasyon Olasılığını (NTCP) en aza indirir. Dolayısıyla, 3BKRT tekniği istenilen klinik sonuçlara ulaşmak için hem fiziksel hemde biyolojik temelleri içerir.

Yoğunluk ayarlı radyoterapi (YART)

Görüntüleme teknolojilerindeki ilerlemelere paralel olarak Bilgisayarlı Tomografi (BT) kullanımının artması ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) teknikleriyle, 1990'lı yıllarda hedefin lokalizasyonu daha güvenilir olarak üç boyutlu (3D) değerlendirilmeye başlanmıştır. Ayrıca tedavi planlama tekniklerindeki gelişmelerle birlikte, hedef alanı daha doğru kapsayan 3D tedavi alanları tasarlanmaya başlanmıştır. Genellikle homojen yoğunluklu radyasyon ışınlarının kullanıldığı 2D ve 3D tedavi tekniklerinde, kontur düzensizliklerini azaltmak ve/veya daha homojen karma doz dağılımları oluşturmak için yoğunluk profillerini değiştirme işlemlerinde kama filtreler (wedge) ve kompensatörler kullanılmıştır (Palma *et al.* 2010; Faiz M. & John P., 2014). YART teknikleri, yüksek düzeyde uyumlu doz dağılımlarının oluşturulmasına yol açar. Bu teknik de çoklu radyasyon ışınları boyunca değişken yoğunluk kullanır. Bu da, her bir radyasyon huzmesini daha küçük radyasyon huzmelerine bölerek ve bu huzmelerin bireysel yoğunluklarını değiştirerek elde edilir (Webb, 1998).

Volümetrik ayarlı radyoterapi (VMAT)

Günümüzde sıkça kullanılmakta olan Volümetrik Ayarlı Ark Tedavisi (VMAT), 2007 yılında Yoğunluk Ayarlı Ark Tedavisi (IMAT)'nin temel prensiplerinin geliştirilmesiyle ortaya çıkmıştır. Standart lineer aksilatr tedavi cihazının değişken şekil ve yoğunluğa sahip cone-beam'ın döndürülerek verilmesiyle oluşan hacimsel tedavi şeklidir (Faiz M. & John P., 2014). VMAT, tedavi uygulaması sırasında gantri rotasyon hızı, MLC yapraklarının hareketi yoluyla tedavi açıklığı şekli ve doz hızı olmak üzere üç parametrenin eşzamanlı varyasyonuna izin veren yeni bir radyasyon tekniği olarak tanımlandı (Otto, 2007). Ayrıca, yoğunluk ayarlı

radyoterapiye (YART) tedavi uygulama süresinin daha kısa olması gibi ek avantajlar sunma potansiyeline de sahiptir. VMAT'ın dünya çapında klinik kullanımı git gide artmaktadır.

Sterotaktik vücut radyoterapisi (SBRT)

Erken evre akciğer kanserleri için örneğin; Evre I KHDAK, stereotaktik vücut radyoterapisi (SBRT), tıbbi olarak ameliyat edilemeyen hastalar için cerrahi rezeksiyona alternatif bir tedavi seçeneği olarak ortaya çıktı ve mükemmel lokal kontrol oranları (%95'e kadar) verdi (Xia *et al.* 2006; Lagerwaard *et al.* 2008). SBRT genellikle hipofraksiyone radyoterapi programları ile ve ara sıra dinamik arklarla birlikte birden fazla eş düzlemli olmayan sabit ışınlar kullanılarak verilir.

Kanser tedavisinde radyoterapinin etkinliğini belirlemek bazen kolay bazen zor olabilir. Bunu belirlemenin çeşitli yöntemleri mevcuttur. İnsan vücudunda radyasyona bağlı biyokimyasal değişiklikleri belirlemek radyoterapinin etkinliğini, dolayısıyla tedavinin ilerleyişini belirlemek açısından önemlidir. Bu değişiklikleri belirlerken mümkün en kısa zamanı ve en az maliyetli bir analiz yöntemi kullanmak son derece önemlidir. Bu çalışmada da KHDAK kan serumlarında radyasyona bağlı biyokimyasal değişiklikleri farklı spektroskopik yöntemlerle inceledik. Bunlar Raman Spektroskopisi ve FTIR yöntemleridir.

Titreşim Spektroskopisi Yöntemleri ve Avantajları

Titreşim Spektroskopisi, bir molekül (veya malzeme) içindeki titreşimleri analiz eden spektroskopinin alt kümesidir. Titreşimler moleküler yapının karakteristiğidir ve çok atomlu moleküllerde spektroskopik bir "parmak izi" meydana getirir. Bu nedenle titreşim spektroskopisi, dış etkenler (örneğin radyasyon, kimyasal maddeler) nedeniyle moleküler bir yapıdaki değişiklikleri karakterize etmek için kullanılabilir. Titreşim enerjileri, elektromanyetik spektrumun orta Kızılötesi (IR) bölgesine girer ve genellikle IR absorpsiyon spektroskopisi yoluyla incelenir. 1800 yılında kızılötesi absorpsiyon spektroskopisinin ilk uygulamaları astronomi ve astrofizik ile sınırlıydı (Rieke, 2009). Abney ve Festing, malzeme bilimlerinde, soğurma bantlarını moleküler yapılarla ilişkilendirerek 52 bileşik için spektrumlar kaydetti. Coblentz, hem organik hem de inorganik yüzlerce maddenin spektrumlarını kataloglayan rutin bir analitik araç olarak IR spektroskopisinin kurulmasına yardımcı oldu (A. L. (Albert L. Smith, 1979). II. Dünya Savaşı sonrası teknolojik gelişmeler, IR spektroskopisinin rutin bir laboratuvar karakterizasyon tekniği olarak kurulmasına önemli ölçüde yardımcı oldu. 1960'larda ve 70'lerde FTIR spektrometreleri ve 1980'lerin sonlarında FTIR mikroskoplarının geliştirildi (Z. Y. Chen *et al.* 2019). IR spektroskopisi artık malzeme karakterizasyonu için rutin bir tekniktir ve tıp, çevre bilimi ve farmakolojide dahil birçok uygulamada kullanılmaktadır (Cantor *et al.* 2011).

Raman ve FTIR spektroskopisi olmak üzere kullanılan 2(iki) tür titreşim spektroskopisi vardır. Raman spektroskopisi, 1928'de Raman saçılmasının keşfedilmesiyle uygulanmaya başlanmış spektroskopinin tamamlayıcı bir tekniğidir. Bunun için C.V. Raman 1930'da Nobel fizik ödülüne layık görüldü. 1998'de Raman Etkisi, malzeme ve süreç analizindeki önemi nedeniyle ACS Ulusal Tarihi Kimyasal Dönüm Noktası olarak belirlendi. Raman spektroskopisi, 1960'larda lazerin ortaya çıkışına kadar büyük ölçüde bir merak konusuydu. 1980'lerde ve 1990'larda Charged Coupled Detector (CCD) dizilerindeki devrim, yüksek lazer kaynağı yoğunluklarının avantajlarına katkıda bulundu (Byrne and Stone, 2011). Ek olarak, dar bant lazer hattı eleme filtrelerinin geliştirilmesi, geleneksel üçlü monokromatör sistemlerinden gelen sinyaldeki büyük kayıpların, bir filtre seti ve tek bir spektroskopik ızgara kombinasyonu ile üstesinden gelinebileceği anlamına da geliyordu. 1990'larda teknolojik gelişmelerin ilerlemesi ile, yeni bir Raman spektroskopik mikroskop serisi oluştu. Raman, spektroskopik mikroskopisini geleneksel kızılötesi spektroskopiye rakip olacak nispeten ucuz bir masaüstü laboratuvar aracı olarak kurdu (Le Duff, 2003). Ayrıca, çok kanallı sinyal algılama ile edinme süresindeki önemli azalmalar, sinyal-gürültü oranlarında önemli iyileştirmeler sağladı.

İn vitro teşhis ve tedavi alanında, titreşim spektroskopisi gerçekçi bir alternatif olarak sunulmaktadır. Titreşim spektroskopisi uygulamalarının geliştirilmesi, biyomedikal ve kimyasal uygulamalar için büyük ölçüde çok değişkenli istatistiksel ve veri madenciliği tekniklerinin geliştirilmesine ve uygulanmasına dayanmıştır. Bir hücre veya doku üzerindeki tek bir nokta, kendi içinde çok sayıda farklı biyokimyasal bileşen içerir ve bu karmaşık melanjin bileşimi ve morfolojisi, örneklenen nokta boyutuyla karşılaştırılabilir bir uzunluk ölçeğinde önemli ölçüde değişebilir (Baranska, 2014). Dokudan dokuya, hücreden hücreye veya hastadan hastaya değişkenlik de dikkate alınmalıdır. Bu nedenle ilgili bilgileri çıkarmanın zorluğu çok büyüktür ve çok sayıda teknikte örneklediği gibi sayısız teknik uygulanmış ve uyarlanmıştır. Özellikle tıbbi teşhiste elde edilen sonuçların etkisi göz önüne alındığında, spektral analiz ve veri işleme kombinasyonunun “doğru cevabı” vermesi zorunludur. Ancak gerçekte “doğru cevabın” ne olduğunu kesin olarak bilmek imkansızdır. Bu bağlamda, araçsal değişkenlikleri ve ölçüm artefaktlarını ve aynı zamanda örneklemiden örneğe değişkenlikleri içeren karmaşık benzetilmiş veri kümeleri, veri analitik tekniklerinin doğrulanması ve optimize edilmesinde kritik bir rol oynayabilir. Hastalık teşhisi ve ötesi için optimize edilmiş spektroskopik teknolojileri, örnek sunum protokolleri, veri işleme ve analiz tekniklerinin bir titreşim spektroskopisi ile kombinasyonu çok önemlidir.

Klasik Raman Spektroskopisi (KRS)

Tarihçesi

Esnek olmayan ışık saçılması ilk olarak 1923'te A.Smekal tarafından ileri sürüldü ve ilk olarak 1928'de C.V. Raman ve K.S. Krishnan tarafından deneysel olarak gözlemlendi (Sidorov *et al.* 2016). O zamandan beri Raman saçılması olarak adlandırılır. Orijinal deneyde, güneş ışığı bir teleskopla saflaştırılmış bir sıvı veya tozsuz bir buhar olan bir numuneye odaklandı. İkinci bir mercekle yerleştirilerek saçılan radyasyonun toplanması sağlandı. Raman saçılmasının temel özelliği olan, gelen ışıktan farklı bir frekansta dağılmış radyasyonun varlığını göstermek için bir optik filtre sistemi kullanıldı.

Temel çalışma prensibi

Işık madde ile etkileşime girdiğinde, ışığı oluşturan fotonlar soğrulabilir, saçılabilir ya da malzeme ile etkileşime girmeden doğrudan içinden geçebilir. Gelen fotonun enerjisi, bir molekülün temel durumu ile uyarılmış durumu arasındaki enerji aralığına karşılık gelirse, foton soğrulabilir ve molekül daha yüksek enerji seviyesine çıkabilir. Bununla birlikte, fotonun molekülle etkileşime girmesi ve saçılması da mümkündür. Bu durumda, fotonun, molekülün iki enerji seviyesi arasındaki farkı karşılayan bir enerjiye sahip olmasına gerek yoktur. Saçılan fotonlar, gelen ışık demetine belirli bir açıyla toplanarak gözlemlenebilir.

Saçılma, yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Örneğin, saçılma parçacık boyutunu 1 μm 'den küçük boyutlara kadar boyut dağılımını ölçmek için yaygın bir yöntem olarak kullanılır. Bunun günlük bir örneği, gökyüzünün mavi olmasıdır, çünkü atmosferdeki moleküllerden ve parçacıklardan daha yüksek enerjili mavi ışık, düşük enerjili kırmızı ışığa göre daha verimli bir şekilde saçılır. Moleküler tanımlama için, saçılan ışığın küçük bir bileşeni olan Raman saçılması özellikle etkilidir.

Spektroskopide önemli olan nokta, dedektörün kullanılan radyasyona duyarlı olup olmadığıdır. Soğurma süreci çok çeşitli spektroskopik tekniklerde kullanılmaktadır. Örneğin, taban ve uyarılmış durumlar arasında çok küçük bir enerji farkının olduğu akustik spektroskopide ve çok büyük bir farkın olduğu X-ışını absorpsiyon spektroskopisinde kullanılır.

Radyasyon genellikle dalga boyu (λ) ile karakterize edilir. Raman spektroskopisinde, incelenen molekülün titreşim durumları üzerine saçılan radyasyondan elde edilen bilgiler kullanılır. Bunlar genellikle enerji açısından daha uygun bir şekilde tartışılır ve sonuç olarak, enerjiyle doğrusal olarak ilişkili olan frekans (ν) veya dalga sayısı (k) ölçekleri kullanılır. Bu ölçekler arasındaki ilişkiler aşağıdaki (1), (2) ve (3) denklemlerde verilmiştir.

$$\lambda = \frac{c}{\nu} \quad (1)$$

$$\nu = \frac{\Delta E}{h} \quad (2)$$

$$k = \frac{\nu}{c} = \frac{1}{\lambda} \quad (3)$$

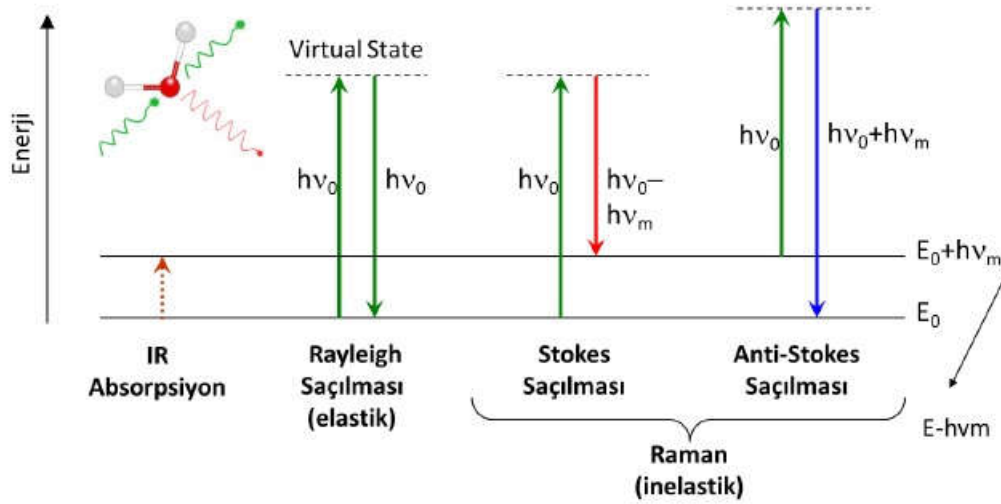
Titreşim spektroskopisinde tespit edilen enerji değışiklikleri, atomik veya moleküler titreşimlerdeki farklılıklardan kaynaklanır. Kızılötesi spektroskopide, kızılötesi enerji kaplaması numuneye bir dizi frekanslı radyasyon yönlendirir. Absorpsiyon, gelen radyasyonun frekansı bir titreşimin frekansına eşit olduğunda meydana gelir, böylece moleköl titreşimsel uyarılmış bir duruma yükseltilir. Işın numuneden geçtikten sonra bu radyasyon frekansının kaybı tespit edilir. Buna karşılık, Raman spektroskopisi numuneyi ışınlamak için tek bir radyasyon frekansı kullanır. Tespit edilen radyasyon, gelen ışın demetinden farklı bir titreşim enerjisiyle atom veya molekülden saçılan radyasyondur. Bu nedenle, kızılötesi adsorpsiyondan farklı olarak, Raman saçılması, gelen radyasyonun zemin ve uyarılmış durumlar arasındaki enerji farkıyla eşleştirilmesini gerektirmez.

Işık, bir saçılma sürecinde molekülle etkileşime girer ve sanal durum adı verilen kısa ömürlü bir durum meydana getirmek için çekirdeklerin etrafındaki elektron bulutunu bozar (polarize eder). Bu durum kararlı değildir ve foton hızla yeniden yayılır. Saçılma sürecinde sadece elektron bulutu bozulursa, elektron bulutu başlangıç konumuna döndüğünde, fotonlar gelen radyasyonla aynı frekansta saçılır. Bu saçılma süreci elastik saçılma olarak kabul edilir ve baskın süreçtir. Moleküller için bu Rayleigh saçılması olarak adlandırılır. Bununla birlikte, saçılma işlemi sırasında nükleer hareket indüklenirse enerji, fotondan moleküle veya molekülden saçılmış fotona aktarılır. Bu durumlarda, süreç esnek değildir ve saçılan fotonun enerjisi, gelen fotondan bir titreşim birimi kadar farklıdır. Bu, Raman saçılmasıdır ve doğası gereği zayıf bir süreçtir, çünkü saçılan her 10^6 - 10^8 fotondan yalnızca biri Raman'ın dağılmış halidir. Modern lazerler ve mikroskoplarda çok yüksek güç yoğunlukları çok küçük numunelere verilebildiğinden, bu kendi başına süreci duyarsız hale getirmez, ancak numune bozulması ve flüoresans gibi diğer olası olayların kolayca gerçekleşebileceğini gösterir.

Sanal durumların gerçekleşebilmesi için lazerin elektronlarla etkileşime girmesi ve polarizasyona neden olması gerekir. Bunlar molekülün gerçek halleri değildir. Bu durumların enerjisi kullanılan ışık kaynağının frekansı ile belirlenir. Birçok foton bu şekilde dağıldığı için Rayleigh süreci en yoğun süreç olacaktır.

Raman etkisini daha iyi anlayabilmenin en iyi yolu ışığın madde ile etkileşimini anlamaktır. Bunun en iyi ve en kolay anlaşılabilir açıklaması kuantum mekanik etki ile

açıklamaktır. Raman spektroskopisi, bir fotonun numuneyi uyardığı esnek olmayan bir ışık saçılımı şeklidir. Bu uyarma, foton yayınlanmadan önce molekülü kısa bir süre için sanal bir enerji durumuna sokar. Esnek olmayan saçılma, yayılan fotonun enerjisinin gelen fotondan daha düşük veya daha yüksek enerjiye sahip olduğu anlamına gelir. Saçılma olayından sonra, numune farklı bir dönme veya titreşim durumundadır. Molekül yeni bir dönme-titreşim-elektronik durumuna geçtikten sonra sistemin toplam enerjisinin sabit kalması için saçılan foton farklı bir enerjiye ve dolayısıyla farklı bir frekansa kayar. Bu enerji farkı, molekülün ilk ve son dönme-titreşim elektronik durumları arasındaki farka eşittir. Son halin enerjisi ilk halinden daha yüksekse, saçılan foton daha düşük bir enerjiye (düşük frekansa) kayar, böylece toplam enerji aynı kalır. Frekanstaki bu kaymaya Stokes kayması adı verilir. Son durumda molekülün enerjisi daha düşükse, saçılan fotonun enerjisi artar, gelen ve saçılan fotonun enerjisindeki fark anti-Stokes kayması olarak adlandırılır. Bu durum şematik olarak Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. Radyasyon molekül etkileşiminde enerji değişimleri

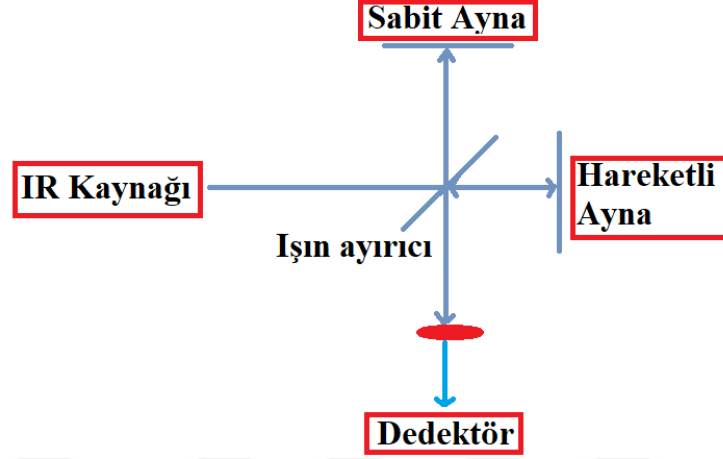
Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektroskopisi

Kızılötesi (IR) Spektroskopisi, elektromanyetik spektrumun kızılötesi bölgesindeki radyasyonun bir numune içindeki moleküller tarafından soğurulmasının incelenmesidir. Gelen ışığın frekansı, normal titreşim modlarından birinin frekansı ile aynı olması durumunda absorpsiyonun gerçekleşebilir. Bunun amacı, normal titreşim moduna karşılık gelen bir spektrum oluşturmaktır (Bower & Maddams, 1989). Kızılötesi spektrum, y ekseninde absorbans birimleri ile temsil edilen, x eksenindeki cm⁻¹ cinsinden dalga sayılarına karşı soğrulan radyasyon miktarının bir grafiğidir. A= εbc, absorbansın A molar absorptivite ε ile doğru orantılı olduğunu belirten yasa Beer-Lambert yasasıdır (L mol⁻¹ cm⁻¹ cinsinden), b numunesinin yol uzunluğu (cm olarak) ve c numunesinin konsantrasyonu (mol L⁻¹ olarak). Soğrulan radyasyon, denklem (4) kullanılarak radyasyon iletiminin ölçülmesiyle hesaplanır:

$$A=\log(I_0/I)$$

(4)

Burada I_0 gelen radyasyon ve I iletilen radyasyondur. Analiz edilen numune hakkında bilgi edinilmesi IR spektrumlarının yorumlanmasına bağlıdır. Bir numune içindeki moleküller, soğurulan belirli dalga sayılarına karşılık gelen tepe konumları ile tanımlanır.



Şekil 4. Bir FTIR spektrometresinin şeması

Kızılötesi ışık, bir numune tarafından soğrulabilir veya iletilebilir. İletilen ışığın numune tarafından hangi dalga boylarının soğrulduğunu belirlemek IR spektroskopisi kullanılabilir. Bu durum, moleküler bileşimini gösterebilen bir numunenin spektral parmak izine neden olur. Moleküllerin, dipol momentinde bir değişiklik meydana gelirse moleküller uyarılabilir ve ışığı soğurabilir. Soğrulan ışığın frekansı, titreşim seviyelerinin temel durumu ile uyarılmış durumu arasındaki enerji farkına bağlıdır. Meydana gelen spektrumda görülen soğurma piklerinin sayısı, molekülün serbestlik derecelerinin sayısına bağlıdır (Stuart, 2005). FTIR spektrometreleri şu anda en yaygın olarak kullanılan IR spektrometresidir ve ilk olarak 1940'larda kullanıma sunulan dağıtıcı enstrümantasyonun yerini almıştır (Stuart, 2005). FTIR'ın geliştirilmesinin ana sebebi, daha hızlı spektral kazanımlara duyulan ihtiyaçtı. Dağıtıcı enstrümantasyon, prizmalar veya ızgaralar kullanarak IR radyasyonunu bireysel dalga boylarına böler. Burada, her frekanstaki iletim miktarı dedektör tarafından ölçülür. FTIR enstrümantasyonu, bireysel spektral taramaların yalnızca bir saniye sürdüğü interferometreleri kullanarak yüksek çözünürlüklü spektral verileri eşzamanlı olarak tespit eder (Thermo Nicolet, 2001). Bir ışın ayırıcı içeren interferometre, bir kara cisim kaynağından yayılan IR radyasyonunun %50'sini yansıtır ve diğer %50'sini iletir. Bu ışın ayırıcı, radyasyonu biri ışın ayırıcıya birkaç milimetre titreşen bir aynadan yansıyan diğeri ise statik bir aynadan yansıyan, iki ışına böler (P. R. Griffiths and J. A. de Haseth, 2007). İki ışın daha sonra ışın ayırıcıda yeniden birleşir ve kodlanmış bir sinyal olarak çıkar. Sinyal, her veri noktasının IR kaynağının her bir IR frekansına ilişkin bilgiye sahip olduğu bir interferogramdır. Belirli enerji frekansa

sahip ışın daha sonra soğrulabileceği örneğe ulaşır. Bir dedektör, sayısallaştırıldığı ve bir frekansa bağlı spektrumunun üretilmesi ve görüntülenmesi için gönderildiği bir bilgisayar interferogram sinyalini toplar. Fourier dönüşümü olarak adlandırılan matematiksel bir tekniğin uygulanmasıyla bu işlem gerçekleştirilir. Spektrumun analiz edilen numunenin katkıda bulunmadığı (tipik olarak su ve CO₂'den oluşan) kısmının çıkarılması için bir arka plan spektrumu toplanmalıdır (Thermo Nicolet, 2001).

Fourier dönüşümlü Michelson tipi interferometreler Fellgett, Jacquinot ve Connes avantajlarından faydalanılarak kullanılır. Bu avantajlar sırasıyla; Fellgett avantajı, eş zamanlı dedektör ölçümünün bir sonucu olarak iyileştirilmiş sinyal-gürültü oranıdır. Jacquinot avantajı, yüksek optik çıktının bir sonucu olarak artan sinyal-gürültü oranı sunar (Lewis *et al.* 1995). Connes avantajı ise, FTIR enstrümantasyonunda frekans doğruluğunda bir gelişmedir (N. Jaggi and D. R. Vij, 2006).

FTIR enstrümantasyonunu ile katı, sıvı ve gaz gibi hemen hemen her durumdaki moleküler bir spektral parmak izi oluşturmak için herhangi bir numunenin analizi yapılabilir. En önemli avantajlarından biri ise enstrümantasyon nispeten ucuz ve kullanımı kolaydır. FTIR spektrometreleri ayrıca, moleküler bileşenlerin pikogramlarına kadar tespiti ve spektral kaliteyi değerlendirmek için tepe boyutunun bir ölçüsü olan iyi bir sinyal-gürültü oranı ile oldukça hassastır. Ancak, bu tekniğin dezavantajları vardır. Karmaşık karışımlar, karmaşık ve yorumlanması zor spektrumlara neden olabilir. Homonükleer diatomik moleküller gibi IR aktif moleküler titreşimlere sahip olmayan moleküller bu teknikle tespit edilemez.

Biyolojik Sıvılardan Kanser Tanısında Titreşim Spektroskopi Yöntemlerinin Kullanımı

Su, biyolojik matrislerdeki ana moleküler bileşendir ve özellikle MIR bölgesinde, güçlü O – H absorpsiyonları nedeniyle seçilen elektromanyetik spektral rejimlerin faydasını güçlü bir şekilde etkiler (Shaw & Mantsch, 2008). Bununla birlikte, suyun Yakın İnfrared (NIR) bölgesinde nispeten geniş bir iletim penceresi vardır, bu nedenle biyolojik örneğin doğrudan ölçülmesini sağlar. Klinik analizler için IR spektroskopisinin kullanımı düşünüldüğünde, tüm biyolojik sıvılarda en çok bulunan türün su olduğu ve IR spektrumlarının bu gerçeği yansıttığı söylenebilir.

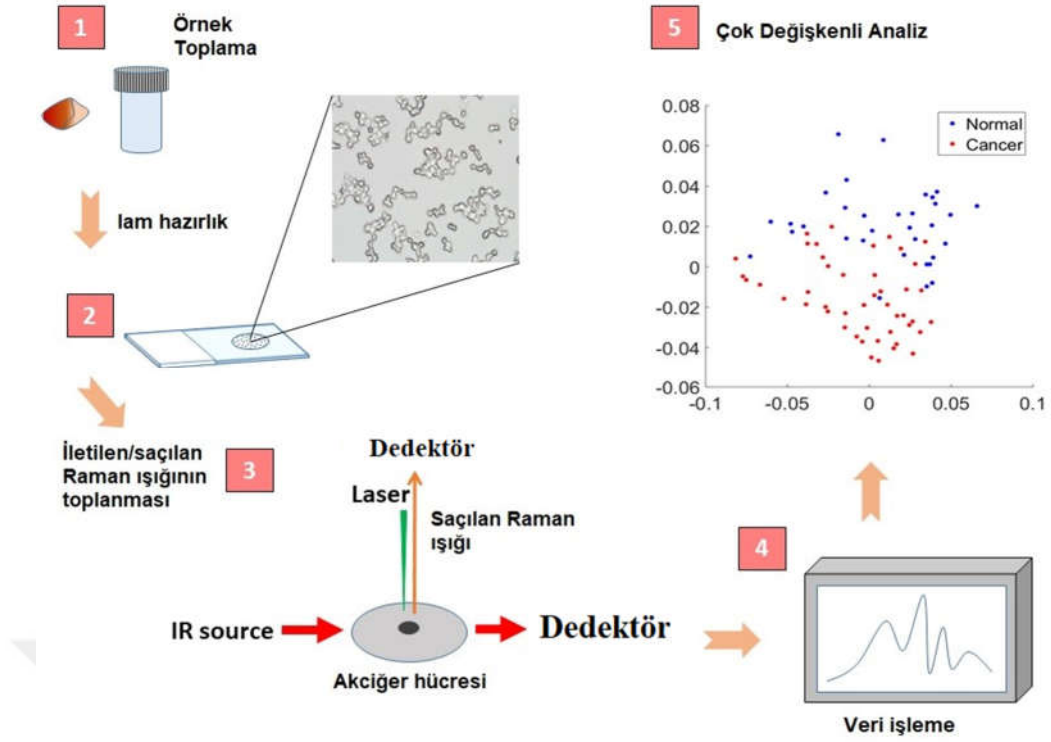
Titreşim spektroskopisi, kızılötesi aralıkta (IR) birçok karakteristik bant sunan hem ana bileşikte hem de küçük bileşiklerle ilgili numunelerin kimyasal bileşimi hakkında eksiksiz bir bilgi sunar. Ek olarak, bazı durumlarda eser bileşiklerin varlığı, ana bileşiklerin bantlarının boyutu da IR spektrumlarının çok değişkenli düzenlenmesi yoluyla modellenebilir.

Orta kızılötesi (mid- IR) (MIR) spektrumun “biyo-parmak izi bölgesi” (1800 cm^{-1} ile 900 cm^{-1}), hücre içi mekanizmaları anlamak için kullanılabilecek anahtar kimyasal bağların temel titreşim modlarını içerir. Bu nedenle, IR spektroskopisi, hızlı bir şekilde yapılabilen tanıya tahribatsız, tarama yaklaşımı sağlayan, tepe noktaları ve kimyasal bağlar arasındaki doğrudan ilişki ile incelenen materyalin sözde "biyokimyasal hücre parmak izi"ni üretir (Francis L and Martin 2010).

FTIR spektroskopisinin üç ana örnekleme yöntemi mevcuttur. İletim modu deneyleri, ortaya çıkan radyasyon algılanmadan önce numune ve altlık üzerinden IR radyasyonu ileterek çalışır. Bu tekniğin kullanılmasında yaygın olarak pahalı IR şeffaf altlıklar kullanılır. İlk olarak, iletim modu deneyleri en yaygın olanı olmasına rağmen, iletim spektrumları, numune ölçülürken meydana gelen çeşitli fiziksel etkilere tabidir. İkinci olarak, transfleksiyon modu deneyleri, numuneden iletildikten, altlıktan yansdıktan ve numuneden geri iletildikten sonra absorbe edilen IR radyasyonunu tespit eder. FTIR spektroskopisinin son modu Zayıflatılmış Toplam Yansıma – Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi (ATR-FTIR)'dır ve toplam iç yansıma ilkelerine göre çalışır. FTIR spektroskopisinin bu örnekleme modunu kullanarak, spektrumlara yukarıda belirtilen istenmeyen katkıların üstesinden gelinebilir (Bunaciu, Fleschin *et al.* 2015). Bu alanda geçmişteki araştırmalar, ATR-FTIR'ın biyoakışkanların ve kuru filmlerin analizi için çok uygun olduğunu göstermiştir. Klinik deneylerde ilgilenilen çeşitli serum bileşenlerinin miktarını belirlemede geniş bir uygulanabilirliğe sahiptir (Shaw & Mantsch, 2008). Serum gibi örnekleri analiz etmek için belirgin bir avantaja sahip olan yöntemlerden biride örnekleme yöntemidir. Çünkü ölçülmeden önce örnek spektrumlar doğrudan Zayıflatılmış Toplam Yansıma (ATR) kristali üzerine yerleştirilebilir ve kurutulabilir.

Doku biyokimyasındaki değişiklikler, hastalıklı bir durumla ilişkili herhangi bir morfolojik veya semptomatik tezahürden önce gelmelidir. Bu nedenle spektroskopik tanı hastalığın erken tespiti için önemli bir alternatiftir (Fernandez *et al.* 2005). Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, elektromanyetik radyasyonun 4000 ile 400 cm^{-1} arasında absorpsiyonu ile moleküler bileşimlerdeki ve yapılardaki değişikliklere karşı hassastır. Bu spektroskopi aracılığıyla milimetre boyutundaki örneklerden hızlı bir şekilde spektrumlar elde edilir ve hastalığın oluşumu ve ilerlemesi ile ilişkili dokuların biyokimyasal imzaları tespit edilebilir (Das *et al.* 2008).

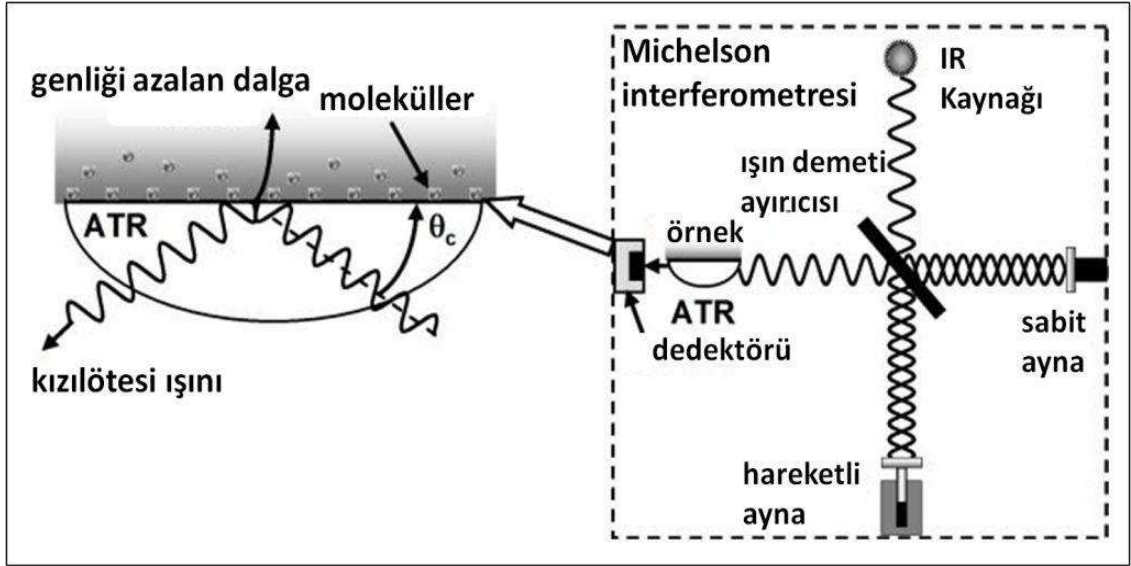
Şekil 5’de biyolojik örneklere titreşim spektroskopisinin uygulanmasıyla ilgili süreci göstermektedir (O’dea, 2020).



Şekil 5. Akciğer örneklerine titreşim spektroskopisinin uygulanmasıyla ilgili sürecin akış diyagramı

Zayıflatılmış Toplam Yansıma – Fourier Dönüştürümlü Kızıl Ötesi (ATR-FTIR) Spektrometresi)

Kızılötesi (IR) titreşim spektroskopisi, kimyasal bileşiklerin moleküler bileşimini ve yapısını belirlemek için kullanılan en güvenilir tekniktir. Son yirmi yılda, IR enstrümantasyonundaki ilerlemeyle birlikte, zayıflatılmış toplam yansıma Fourier dönüşümü kızılötesi (ATR-FTIR) titreşim spektroskopik yöntem fizik, kimya, malzeme ve biyolojik bilimler alanında önemli bir konum almıştır. Moleküler yapıyı, kimyasal etkileşimlerini ve dinamiklerini araştırmaya olanak tanır. ATR-FTIR, çevreleyen dalgalanmalara karşı daha yüksek duyarlılığı sayesinde, moleküler konfigürasyon ve çeşitli morfolojik durumlarda bulunan farklı numunelerin yerel etkileşimli çerçevesi hakkında bilgi edinmeye yardımcı olur. ATR-FTIR, toplu çözeltide bulunan parçaların yapısal moleküler bileşimini ve bağlanma ortamını araştırmak için kullanılan güçlü bir doğrusal titreşim spektroskopik araçtır (Pradier & Chabal, 2011). Parmak izi bölgesindeki moleküllerin titreşimsel imzasını sağlar. Çok yansımali ATR sisteminin şeması Şekil 6'da görülmektedir.



Şekil 6. Çok yansımalı ATR sistemi yapısı ((T. D. Wang *et al.* 2007)

ATR modunda kanser dâhil pek çok hastalığın karakterizasyonu ve teşhisinin yapılabileceği ve bu alanlarda kullanılabileceği gösterilmiştir. Örneğin, 2010 yılında yapılan çalışmalar ile bu teknik kullanılarak hastalardan alınan kan örneklerinden bazal hücreli karsinoma tanısı yapılabileceği gösterilmiştir (Khanmohammadi *et al.* 2007). Ayrıca, bu metodun çok değişkenli veri analiz metodlarıyla birlikte biyolojik sıvılardan bovin spongiform encephalopathy (BSE), diyabet, lösemi, artrit gibi birçok hastalığın tanısında kullanılabileceği gösterilmiştir (Eysel *et al.* 1997; Petrich *et al.* 2000; Martin *et al.* 2004)

Akciğer Kanseri Radyoterapisinde Tedavi Etkinliğinin Belirlenmesinde Titreşim Spektroskopisinin Rolü

Karmaşık tümör fizyolojisi ve biyokimyasının, RT sonrası gözlenen glikojen birikimini sağlayan mekanizmalara katkıda bulunması mümkündür. Spesifik olarak, hipoksik hücreler, oksik hücrelerden daha fazla radyo dirençlidir, oksik hücrelerin tercihen RT sırasında öldürülmesine neden olur (Vaupel *et al.* 2001). Bu, ışınlanmamış tümörlere kıyasla ışınlanmış tümörlerde bir dereceye kadar hipoksik iyileşmeye izin vererek tümör içinde kanın yeniden dağılımına yol açar. Hipoksiden kurtulan beyin dokusunda glikojen birikiminin meydana geldiği gösterilmiştir, bu nedenle bu, ışınlanmış tümörlerde glikojen Raman spektral özelliklerinin artan ekspresyonunun olası bir açıklaması olabilir (Ibrahim *et al.* 1970). Raman ve FTIR spektroskopisi, tümör hücrelerinde radyasyona bağlı biyokimyasal değişikliklerin değerlendirilmesi yoluyla radyasyon tepkisini tespit edebilen, invaziv olmayan ve etiketsiz bir tekniktir. Raman ve FTIR spektroskopisi bazen "kardeş" teknikler olarak adlandırılır ve moleküller hakkında tamamlayıcı bilgi sağlar, ancak birkaç temel yolla farklılık gösterir.

İnsan epitelyal tümör hücre hatları (KHDAK, meme, prostat), 6 MV foton enerjisi, tek fraksiyonda (15, 30 veya 50 Gy) radyasyon dozuna maruz kaldıktan sonra, Raman spektroskopisi ile radyasyon tepkisi ölçüldü. Bu çalışmada, Raman spektroskopisinin radyasyon kaynaklı spektral değişiklikleri, hücre döngüsü gibi eşzamanlı olarak meydana gelen diğer spektral değişkenli kaynaklardan ayırabildiğini gösterdi (Q. Matthews *et al.* 2010, 2011).

Daha iyi klinik sonuçlar ve daha az hasta morbiditesi için titreşimsel spektroskopi ve görüntülemenin artan tanısal doğruluk ve daha iyi tedavi için kullanılması önemlidir. Titreşimsel tekniklerin kullanımı, gelecekteki gelişim açısından klinik örneklerdeki küçük değişiklikleri ve bunların hastalıkların teşhisinin karakterizasyonunu artıracak açıktır (Bunaciu, Aboul-Enein, *et al.* 2015).

Kemometrik Analiz

Kemometri, kimyasal sistemlerden veriye dayalı araçlarla bilgi çıkarma bilimidir. Kemometri birçok multidisipliner (fizik, kimya, biyoloji, tıp, mühendislik vb.) alanda kullanılan bir yöntemdir. Kemometri, deneysel doğa bilimlerinde, özellikle kimyada hem tanımlayıcı hem de tahmine dayalı problemleri çözmek için uygulanır. Kimyasal sistemlerde alınan ölçümler birçok farklı biçimde (spektroskopi, kromatografi, fiziksel analizler vb.) gerçekleştirilir ve her ölçüm bir data verir (Dearing 2012). Bu veriler çok değişkenli ya da çok boyutlu ölçüm verileridir. Bu yüzden kompleks materyallerin analiz edilmesi nedeniyle klasik istatistiksel yöntemlerle analizi mümkün değildir. Verilerin ileri düzey bilgisayar yazılımları kullanılarak matematiksel ve istatistik yöntemler ile analiz edilmesi gerekir (Dinç 2007). Bu çalışmada da elde edilen spektrumlar aşağıda belirtilen kemometrik analiz metotları kullanılarak değerlendirilmiştir.

Kemometrik Analiz Metotları

Ölçüme dayalı alınan örnekler arasındaki benzerliklerin ve farklılıkların tespit edilmesi önemlidir. Bunun için örneklerle ilgili bilgilere göre yöntemler kullanmak gerekir. Bu çalışmada da çalışılan grupların sınıflandırılması amacıyla kemometrik analiz metotlarından, gözetimsiz (unsupervised) örüntü tanıma yöntemlerinden hiyerarşik kümeleme (HCA) ve temel bileşen analizi (PCA) ile gözetimli (supervised) örüntü tanıma yöntemlerinden Temel bileşen analizi-lineer diskriminant analizi (PCA-LDA) (principal component analysis - linear discriminant analysis) ve destek vektör makinesi (SVM) (Support Vector Machine) metotları kullanılmıştır.

Gözetimsiz kemometrik analizler

Bu grupta iki yöntem mevcuttur. Bunlar, Hiyerarşik Kümeleme Analizi (HCA) ve Temel Bileşenler Analizi (PCA)'dır. Buradaki amaç, örneklerle ilgili sınıfı kullanmadan veri setinde herhangi bir kümeleme olup olmadığını değerlendirmektir.

Hiyerarşik kümeleme analizi (Hierarchical Cluster Analysis, HCA)

HCA, numuneler ve grup arasındaki mesafeyi değerlendirmek için kullanılan bir tekniktir. Bu mesafe, örneğin Öklid, Mahalanobis veya Manhattan mesafesi gibi farklı yöntemler kullanılarak hesaplanabilir. Öklid mesafesi için denklem (5) kullanılır, Mahalanobis mesafesi için denklem (6) kullanılır ve Manhattan mesafesi için denklem (7) kullanılır:

$$\text{Mesafe} = \sqrt{(X_1 - Y_1)^2 + (X_2 - Y_2)^2 + \dots + (X_n - Y_n)^2} \quad (5)$$

Burada;

X_n ve Y_n , satır uzayının n'inci boyutundaki X ve Y örneğinin koordinatlarıdır.

$$\text{Mesafe} = \sqrt{(X_i - Y_j)^T + C^{-1}(X_i + Y_j)} \quad (6)$$

Burada;

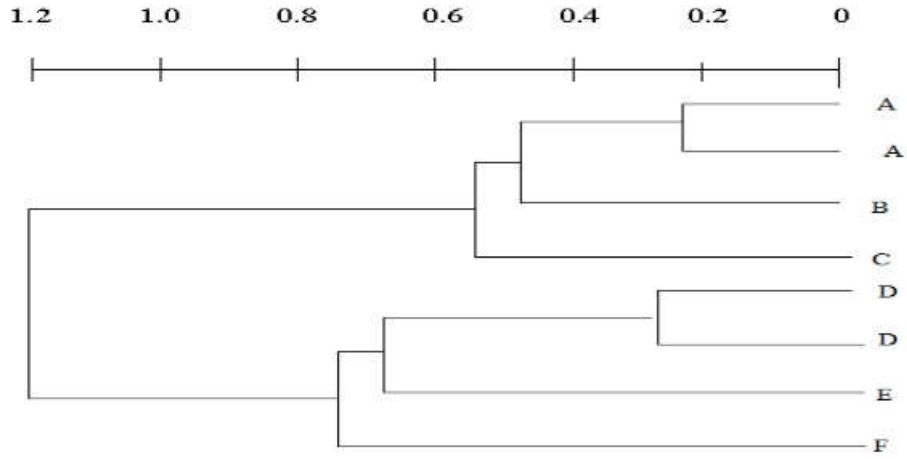
X_i ve Y_j , sırasıyla i ve j nesneleri için sütun vektörleridir ve C kovaryans matrisidir.

$$\text{Mesafe} = \sum_{i=1}^p |X_i - Y_j| \quad (7)$$

Burada;

X_i ve Y_j vektörlerdir.

Mesafe tahmini yapıldığında, dendrogramı çizmek de mümkündür. Aşağıda genel bir dendrogram görülmektedir (Şekil 7). Bu dendrogramda örnekleri (harfleri) ve mesafeleri (sayıları) görmek mümkündür. A kümesine ait numuneler birbirinden 0,2 birim mesafededir. Aynı zamanda, B numunesinin A kümesinden 0,5 birim mesafededir (Túlio & Oliveira, 1974).



Şekil 7. Mesafeleri gösteren genel bir dendrogram

Temel bileşenler analizi (Principal Component Analysis, PCA)

Büyük veri kümeleri giderek daha yaygın hale gelir ve genellikle yorumlanması zordur. Temel bileşen analizi (PCA), bu tür veri kümelerinin boyutluluğunu azaltan, yorumlanabilirliği artıran ancak aynı zamanda bilgi kaybını en aza indiren bir tekniktir. Büyük veri kümeleri birçok disiplinde giderek yaygınlaşmaktadır. Bu tür veri kümelerini yorumlamak için, verilerdeki bilgilerin çoğu korunacak şekilde, boyutlarını yorumlanabilir bir şekilde büyük ölçüde azaltmak için yöntemler gereklidir. Bu amaç için birçok teknik geliştirilmiştir, ancak PCA en eski ve en yaygın kullanılanlardan biridir. Mantığı basittir. Bir veri kümesinin boyutsallığını azaltırken, 'değişkenliği' (yani istatistiksel bilgiyi) mümkün olduğu kadar korur.

PCA, doğrusal bir boyut azaltma tekniğidir. Bir dizi ilişkili değişkeni (p), orijinal veri kümesindeki varyasyonun mümkün olduğunca çoğunu korurken, temel bileşenler adı verilen daha küçük k ($k < p$) sayıda ilişkisiz değişkene dönüştürür.

PCA'nın arkasındaki ana kavram, özellikler arasındaki korelasyonu dikkate almaktır. Özniteliklerin bir alt kümesi arasında korelasyon çok yüksekse, PCA yüksek düzeyde ilişkili özellikleri birleştirmeye ve bu verileri daha az sayıda doğrusal olarak ilişkisiz özelliklerle temsil etmeye çalışacaktır. Algoritma, orijinal yüksek boyutlu verilerde maksimum varyans yönlerini bularak ve bunları daha küçük boyutlu bir uzaya yansıtarak bu korelasyon azaltmayı gerçekleştirmeye devam eder. Bu yeni türetilen bileşenler, temel bileşenler olarak bilinir.

PCA'de skor ve yükleme grafiği olmak üzere 2 tür grafik elde edilir. Skor grafiği örnekler arasındaki ilişkilerin/varyasyonların araştırılmasına olanak sağlarken, yükleme grafiği ise bu varyasyonlara hangi değişkenlerin ne kadar ölçüde katkı sağladığının analiz edilmesini sağlar.

Gözetimli kemometrik analizler

Gözetimli örüntü tanımlama yöntemleri ise eğitici veri örneklerinin sınıflandırılmasıyla ilgili bir ön bilgiye ihtiyaç duyan yöntemlerdir. Verileri daha önceden tanımlanmış gruplara göre ayırarak, grup sınırları içinde daha keskin bir sınıflandırmaya olanak tanır. Lineer diskriminant analizi (LDA), kısmi en küçük kareler ayırma analizi (PLS-DA), Temel bileşen analizi-lineer diskriminant analizi (PCA-LDA), SIMCA (soft independent modeling of class analogy) ve yapay sinir ağları (Artificial Neural Networks, ANN) metotları gözetimli örüntü tanımlama yöntemleridir.

Temel bileşen analizi-lineer diskriminant analizi (PCA-LDA)

Bu analiz yöntemi Temel bileşen analizi olan PCA ile lineer diskriminant analizi olan LDA birleştirilerek oluşturulmuş iki oryantasyon matrisi üretmek için sınıflar arası dağılım ve sınıf içi dağılım matrislerini paralel olarak düzenleyen iki aşamalı bir doğrusal diskriminant analiz tekniğidir. Temel bileşen ve lineer diskriminant analizlerinin (PCA-LDA) kullanımı RÖ ve RS arasında meydana gelen önemli spektral varyasyonların tanımlanmasını sağladı.

Destek vektör makine metodu ile sınıflandırma, SVM (Support Vector Machine Based Classification)

SVM yöntemi birçok maddenin FTIR spektrumunu analiz etmek için kullanılan bir yöntemdir. SVM'lerin ana fikri, iki sınıfa ait veri örneklerini en iyi şekilde ayıran bir ayırma hiperdüzlemi oluşturmaktır; böylece noktalar ve ayırma hiperdüzlemi arasındaki minimum mesafe en üst düzeye çıkarılır. Bu şekilde, bilinmeyen örnekler üzerinde genelleme yapmak en iyisidir. Destek vektör makineleri yapısal riski en aza indirme ilkesini kullanır ve sıfır eğitim hatası almayı ve modelin karmaşıklığını en aza indirmeyi amaçlar (Vapnik, 2000). Bazı durumlarda doğrusal ayırma mümkün değilse SVM'ler, durgun değişkenlerini ve düzensizleştirmeyi tanıtarak eğitim setinde yanlış sınıflandırılmış örnek sayısını en aza indirmeye çalışır.

Çalışmanın Amacı

Bu tez çalışmasının amacı; KHDAK hastalarına ait radyoterapi öncesi (RÖ) ve radyoterapi sonrası (RS) kan serumu örnekleri üzerinden radyoterapi etkinliğinin farklı titreşim spektroskopik teknikleriyle belirlenmesidir. KHDAK hastalarında radyoterapi etkinliğinin belirleyebilmek için Raman ve FTIR titreşim spektroskopik teknikleri kullanıldı. Bu spektroskopik tekniklerden elde edilen verilerin kemometrik analizleri yapılarak hastaların kan serumlarında radyasyona bağlı biyokimyasal değişiklikler belirlendi.

MATERYAL VE METOT

Numune Türleri ve Örneklem Grupları

KHDAK patoloji türüne sahip 20 hastadan RÖ ve RS kan örnekleri alındı. Serideki tüm hastalar günlük 200 cGy, 33 fraksiyon ve toplamda 6600 cGy radyasyon dozu almış hastalardır. Tedavi yanıtı radyoterapi öncesi ve sonrası olarak değerlendirildi.

Spektral Deneyler İçin Serum Örneklerinin Hazırlanması ve Spektrumların Elde Edilmesi

Raman spektroskopisi

Radyoterapi öncesi ve sonrası kan örnekleri alındıktan sonra santrifüj edilip serum örnekleri elde edildi ve -80°C 'de muhafaza edildi. Daha sonra serum örnekleri Raman ölçümleri için lam üzerine Şekil 8'deki gibi numaralandırılarak 10 μl transparent Low-E camlara damlatıldı ve çeker ocak altında havayla kurutularak ölçüme hazır hale getirildi.



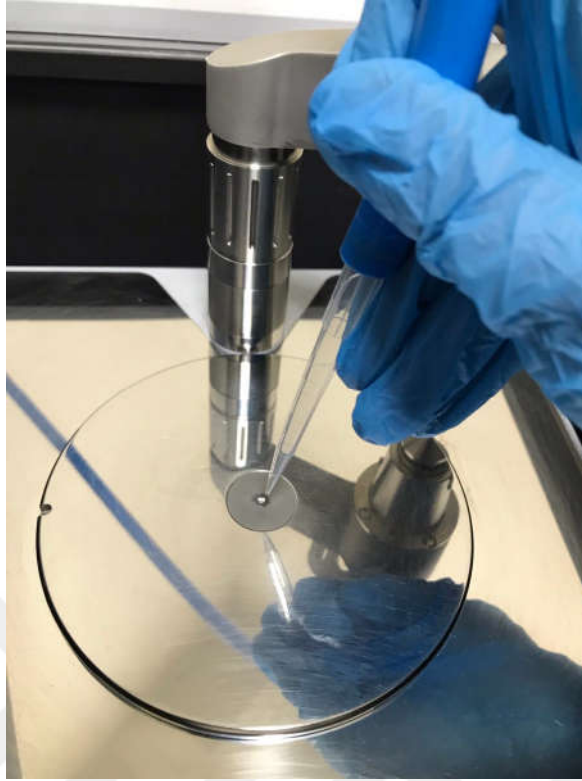
Şekil 8. Lam üzerine damlatılmış serum örnekleri

Her serum örneğini test etmek için Konfokal Raman Spektrometresi (WITec alpha 300R) kullanıldı. Numuneler ($\lambda=532\text{ nm}$ dalga boyu, 50X objektif, 10 mW çıkış gücü) lazer tarafından bütünleşik konfokal mikroskopa beslendi. Spektrumlar, 25 saniye ve 5 tarama sayısı kullanılarak $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ spektral bölgede elde edildi.

İnfrared spektroskopisi

Serum örnekleri FTIR spektroskopisi analizi yapılırken Şekil 9'daki gibi cihazın kristal yüzeyine 2 μl damlatılarak azot gazı ile kurutuldu ve ölçümler alındı. Her serum örneğini test etmek için Konfokal Raman Spektrometresi (Bruker Vertex 70v) kullanıldı. FTIR ölçümlerinde hem background hem de örnekler ölçülürken 4 cm^{-1} resolution ile 64 tarama sayısı kullanıldı.

Radyoterapi öncesi ve radyoterapi uygulanmış gruplar için her bir örnekten 4'er kez spektrum toplanarak her bir grup için toplam 80 adet spektrum elde edildi.



Şekil 9. FTIR analizi için serum örneklerinin kristal üzerine eklenmesi ve azot gazı ile kurutma işlemi

Spektral Analizler

Kemometrik analizler

PCA ve LDA, çok fazla girdi özelliğine sahip verilerde yaygın olarak kullanılan iki popüler boyutluluk azaltma yöntemidir. Birçok yönden iki algoritma benzer, ancak aynı zamanda çok da farklıdır. Temel Bileşen Analizi veya kısaca PCA, yaygın olarak kullanılan bir denetimsiz doğrusal dönüşüm tekniğidir. PCA, yüksek boyutlu verilerde maksimum varyansı bularak boyutların sayısını azaltır. Linear Discriminant Analysis veya kısaca LDA, boyutların sayısını azaltırken sınıf etiketlerini hesaba katan denetimli bir yöntemdir. LDA'nın amacı, sınıf ayrılabilirliğini en iyi şekilde optimize eden bir özellik alt uzayı bulmaktır. Her iki algoritma da özdeğer ve özvektör matrislerinin ayrıştırılmasına dayanır, ancak ikisi arasındaki en büyük fark temel öğrenme yaklaşımındadır. PCA'nın denetlenmediği durumlarda, LDA denetlenir. PCA, farklı özellikler arasındaki korelasyona bakarak boyutları küçültür. Bu, yeni bir alt uzay olarak maksimum varyans yönü ile ortogonal eksenler - veya ana bileşenler - yaratılarak yapılır. Esasen PCA, en fazla varyansın olduğu verilerdeki yöne dayalı olarak bileşenler üretir. Kısaca her ikisi de özdeğer ve özvektör matrislerini ayrıştıran doğrusal dönüşüm teknikleridir. Temel

fark, LDA'nın PCA'nın denetimsiz olduğu ve olmadığı durumlarda sınıf etiketlerini dikkate almasıdır.

Tez kapsamında, radyoterapi öncesi ve sonrası çalışılan kan ve serum örneklerinde grupların birbirinden ayrılıp ayrılmadığını belirlemek amacıyla gözetimsiz örüntü tanımlama metotlarından temel bileşen analizi (PCA) ve hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) uygulandı. Hem HCA hem de PCA için Unscrambler X 10.3 (Camo Software AS) kullanıldı. Tanı amaçlı metot geliştirmek amacıyla da grupların birbirinden ayrılmasında kullanılacak gözetimli örüntü tanımlama metotlarından PCA-LDA ve SVM metotları kullanıldı. Serum örneklerinde 20 adet radyoterapi öncesi ve 20 adet radyoterapi sonrası örnekler kullanıldı. Toplam da 40 grup kemometrik analize tabi tutulmuş oldu.

Gözetimsiz örüntü tanımlama (PCA ve HCA) analizleri

Hiyerarşik kümeleme analizi ve temel bileşen analizi için Unscrambler X 10.3 (Camo Software, Inc.) programı kullanıldı.

Skor grafikleri gruplar arası benzerlik veya farklılıkların yorumlanmasında yaygın kullanılmakta olup, çalışılan örnekler arasındaki bağlantıların yorumlanmasına olanak sağlamaktadır (Kansiz *et al.* 1999). Söz konusu grafikler temel bileşenlere dayalı olarak çizilmektedirler. Dolayısıyla, bu bileşenlerle örnekler arasındaki farklılıklar gösterilir. İlk temel bileşen değişkenlik/ varyans değeri en büyük olandır ve diğer temel bileşenler varyans değerleri azalacak şekilde sıralanır.

Gözetimli örüntü tanımlama analizleri

SVM analizi

SVM, giriş vektörlerini optimum bir hiper düzlemin yapıldığı daha yüksek boyutlu bir vektör boşluğuna eşler. Doğrusal bölünebilirliğe sahip veriler bir hiper düzlem ile analiz edilebilir ve doğrusal olarak ayıramayan veriler, Gaussian RBF (Radial Basis Function) gibi çekirdek fonksiyonları ile analiz edilir. Bir SVM'nin çıktısı, çekirdek işlevi kullanımıyla yüksek boyutlu bir unsur alanına yansıtılan eğitim örneklerinin doğrusal bir kombinasyonudur. Bu çalışmada, numunelerin radyoterapi öncesi ve radyoterapi sonrası olmak üzere iki sınıfa sınıflandırılması için lineer ve RBF (Radial Basis Function) çekirdek fonksiyonlu SVM kullanılmıştır. Bu sınıflar için etiketler sırasıyla “RÖ” ve “RS” olarak adlandırılmıştır. Sınıflandırma performans sonuçları ayrıntılı olarak sonuç bölümünde tartışılmıştır.

PCA-LDA analizi

Temel bileşen analizi-lineer diskriminant analizi (PCA-LDA), spektral veri setinde radyoterapi öncesi ve sonrası alınan kan serumu örneklerinde tedavi etkinliğini ayırt etmek için kaydedilen varyasyonları içeren değişkenli bir analiz gerçekleştirildi. PCA-LDA algoritması, spektral veri setindeki tanısal olarak en önemli özellikleri belirlemek ve farklı numunelerdeki radyoterapi etkinliğindeki varyasyonları daha fazla araştırılması için kullanıldı. Önce verinin boyutunu ve değişken sayısını azaltan ve varyansı mümkün olduğunca koruyan PCA, ardından bağımsız değişkenlere (dalga boyları) dayalı veri gruplama için uygun bir model olan LDA yöntemi uygulandı. Sonuç bölümünde ayrıntılı olarak tartışıldı.



ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

KHDAK Hücrelerinde Fourier Transform Spektroskopisi Metodu ile Moleküler Değişikliklerin Karakterizasyonu

Kemometrik analiz

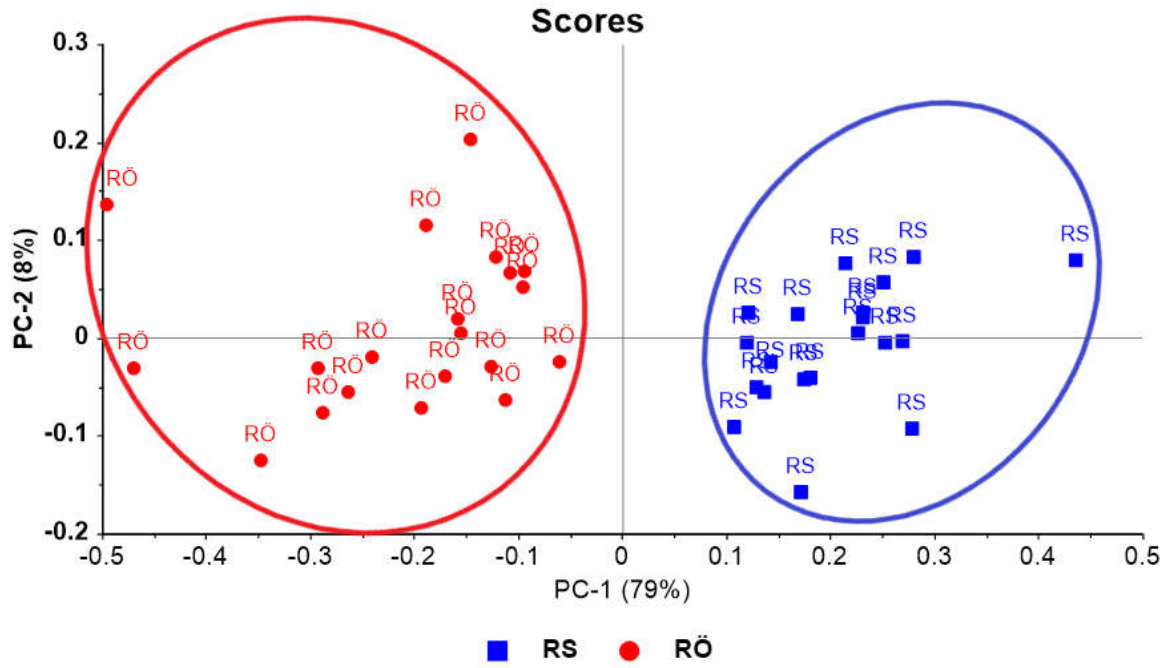
RÖ ve RS gruplarına grupları arasında spektral değişimlere dayalı olarak bir kümelenme olup olmadığını belirlemek, radyoterapi öncesi ve sonrası hücre spektrumlarını kontrol etmek için PCA ve HCA uygulandı. Her iki kemometrik yaklaşım da farklı spektral grupları tanımlamayı ve ayırt etmeyi sağlayan gözetimsiz çok değişkenli analiz yöntemleridir (Gasper *et al.* 2009). Bu nedenle, bu yöntem mikroorganizmalar, hücre zarları, hatta dokular gibi farklı biyolojik sistemleri ayırt etmek için yaygın olarak kullanılır.

Gözetimsiz örüntü tanımlama

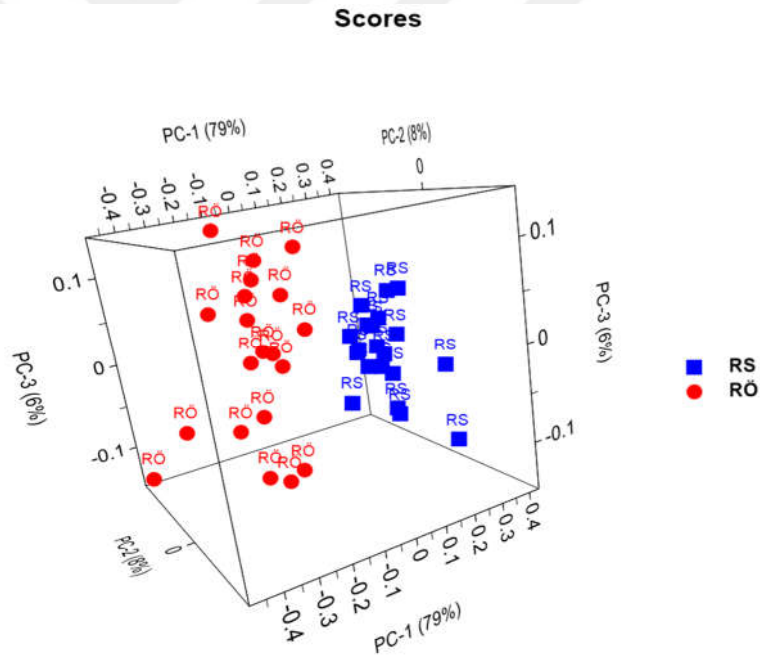
Temel bileşen analizi (PCA)

PCA, ilişkisiz varyasyonlar içeren büyük spektral veri setlerinde tekrarlayan küçük spektral varyasyonları ayırt etmek için uygun çok değişkenli bir analiz yöntemidir. Örnek grupları arasındaki spektral varyasyonlar, temel bileşenler (PC) ile açıklanmaktadır (Romeo *et al.* 2006). PC-1 değişkendir, varyasyonu ilk en iyi, PC-2 ise ikinci en iyi açıklar ve bu böyle devam eder. Numuneler genellikle bu bileşenlere dayalı olarak kümelenir/sınıflandırılır; bu, puan grafikleri bir çift iki skor vektörüne dayalı olarak çizildiğinden PCA skor grafiklerinde açıkça görülebilir. Bu grafikler, çalışılan numune grupları arasındaki ilişkileri göstermek için kullanılır. Şekil 10'da elde edilmiş iki boyutlu skor grafikleri görülmektedir. Şekil 11'de ise RÖ ve RS spektrumların üç boyutlu dağılım/skor grafiği görülmektedir.

Şekillerden de görüldüğü gibi RÖ ve RS gruplar spektral bölgede birbirinden başarılı bir şekilde ayrıldı. Bununla birlikte, gruplar arası farklılıkları ifade eden temel bileşenlerdeki varyasyonların %87 olduğu görülmektedir. Bu sonuç da spektral bölgede söz konusu hastalık da karakteristik moleküler değişimin olduğunu göstermektedir.



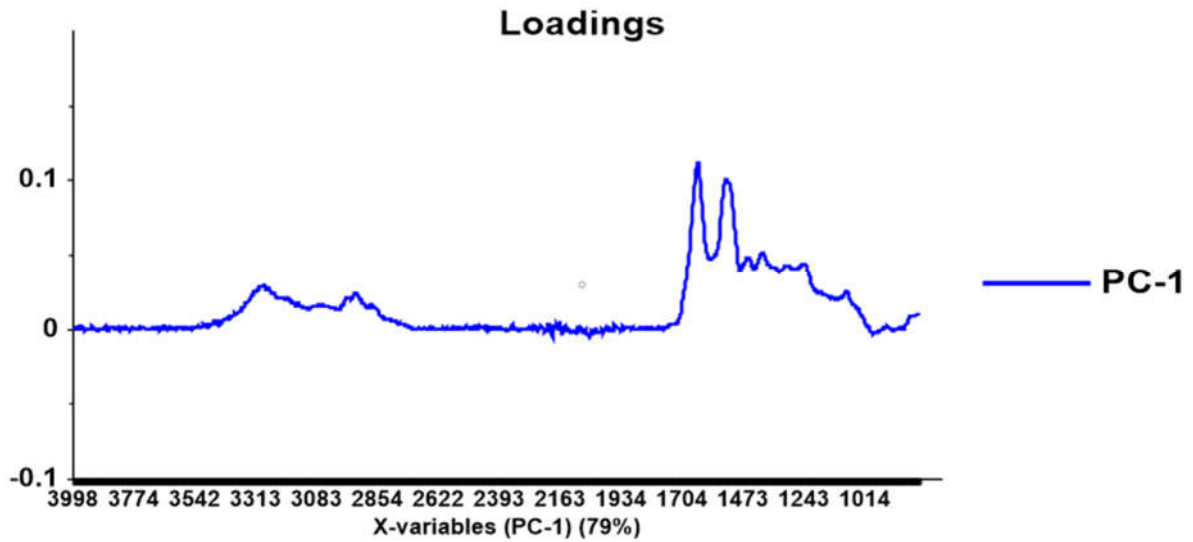
Şekil 10. RÖ ve RS alınan örneklerinin PCA analizine ait iki boyutlu skor grafiği



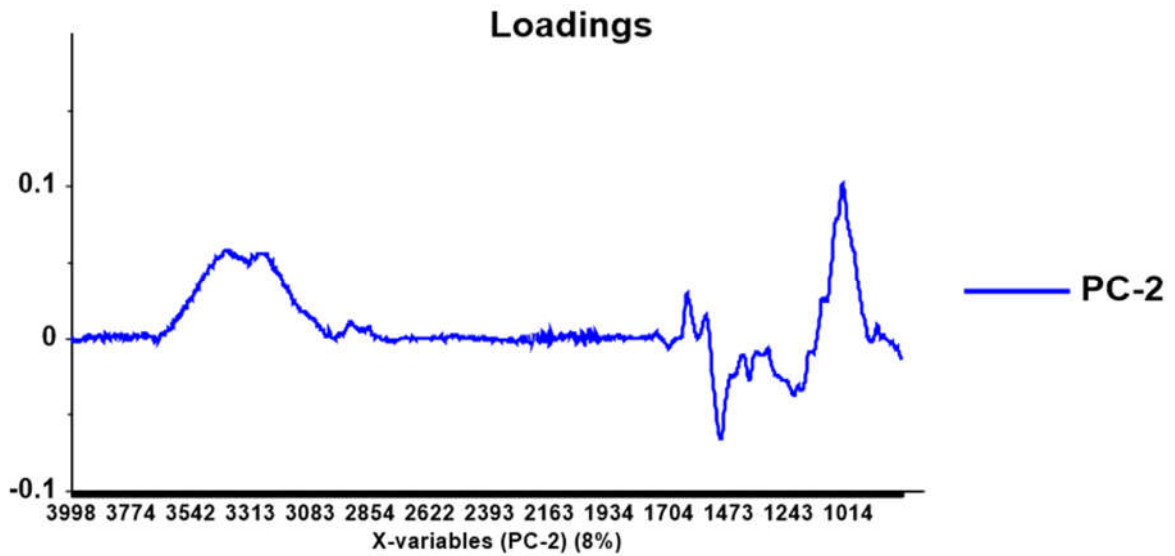
Şekil 11. RÖ ve RS alınan kan serumlarının üç boyutlu PCA skor grafiği

PCA analizinde skor grafiğinin yanı sıra elde edilen diğer bir grafikte yükleme grafiğidir ve bu grafik temel bileşenlerle ifade edilen değişkenler arasındaki ilişkilerin yorumlanmasını sağlamaktadır (Kansiz *et al.* 1999; Kirschner *et al.* 2012). Spektral verilerde ise bu grafik temel bileşenlerdeki varyasyonlara hangi frekanstaki spektral bantların hangi ölçüde katkıda bulunduğunu ifade etmektedir. PCA'da, PCA elde edilen her bir temel bileşene ait yükleme grafikleri, veri gruplarını spektral olarak farklılaştıran varyasyonların spektral bant olarak kökeni hakkında bilgi verir. Yükleme grafiklerindeki pozitif öz değerleri, IR spektrumunda ölçülen

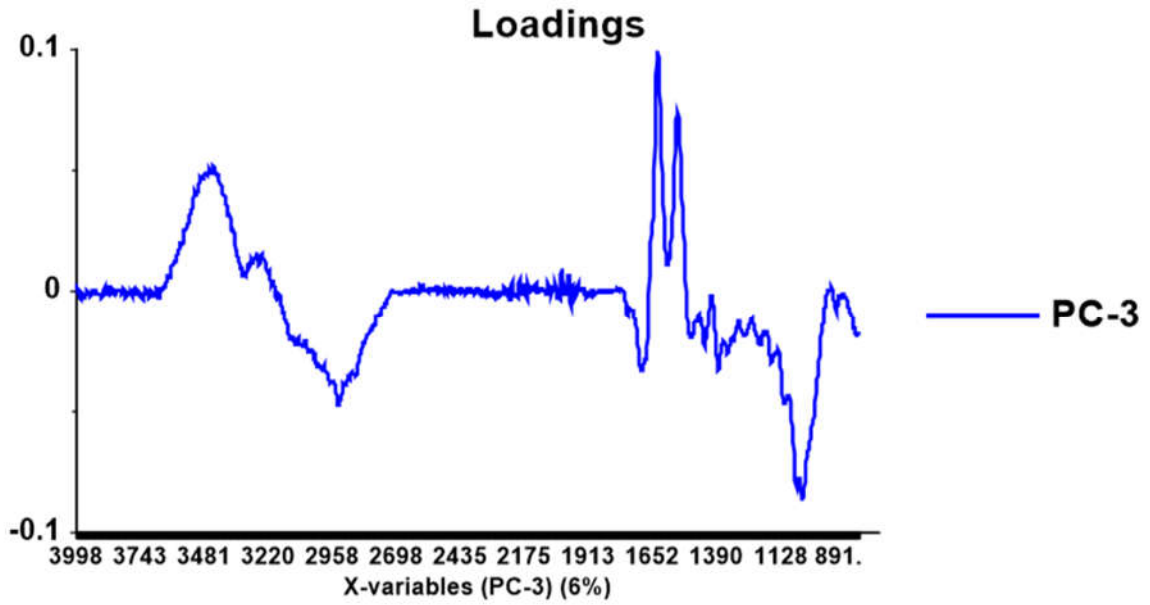
sinyallerin katkısındaki artışı gösterir. Aynı şekilde yüklemelerdeki negatif öz değerleri de sinyallerin katkısının azaldığını göstermektedir (ÖZEK, 2015). Elde edilen belli bir frekanstaki banda ait yükleme değeri, o bant için örnekler arasındaki farklılığın derecesini göstermektedir. Şekil 12, 13 ve 14’de PC-1, PC-2 ve PC-3 için elde edilmiş olan yükleme grafikleri görülmektedir. Her üç yükleme grafiği görsel olarak değerlendirildiğinde, öz değerlerinin genelde 1800-800 cm^{-1} spektral bölgesinde yer alan, parmak izi olarak isimlendirilen protein, nükleik asit ve karbohidratlardan kaynaklı bantlarda yüksek olduğu görülmektedir. Yüksek öz değerleri (0.1 ve daha yüksek değerleri) radyoterapi uygulamasına bağlı değişimlerin olduğunu göstermektedir. 3700-1800 cm^{-1} spektral bölgesinde yer alan protein ve özellikle lipidlerden kaynaklı görülen bantlarda da diğer bölgedeki bantlara oranla daha az değişimlerin olduğunu göstermektedir.



Şekil 12. 4000-800 cm^{-1} spektral bölge için PC-1 yükleme grafiği



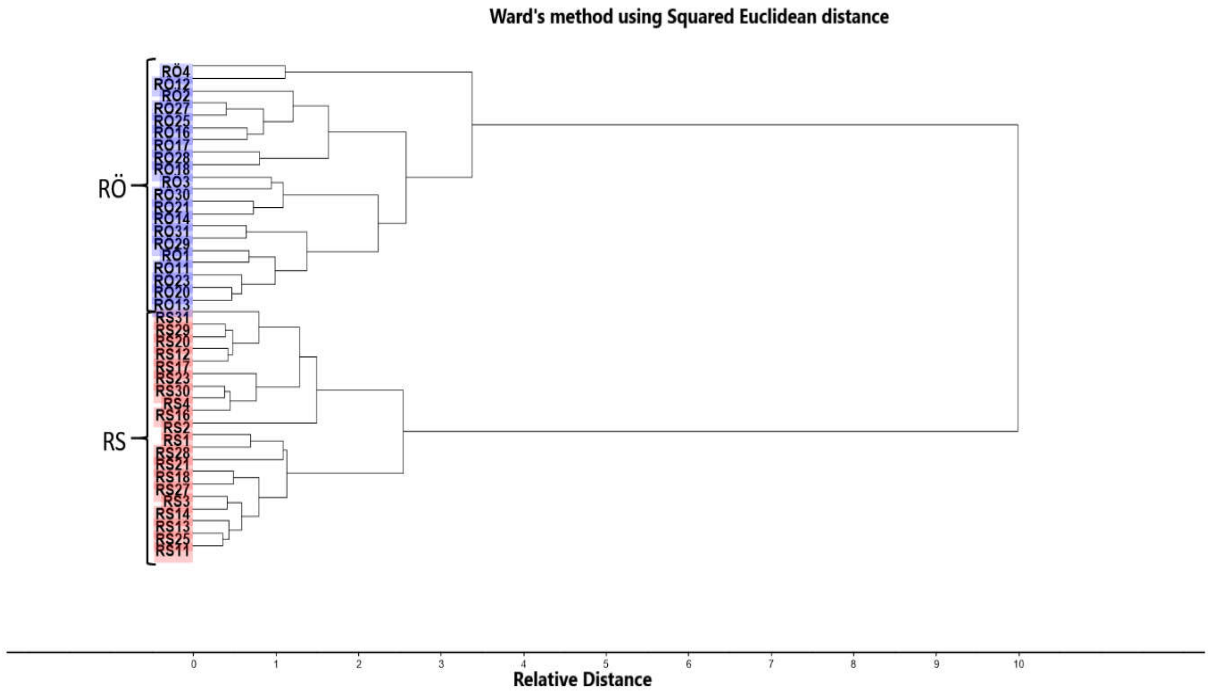
Şekil 13. 4000-800 cm^{-1} spektral bölge için PC-2 yükleme grafiği



Şekil 14. 4000-800 cm^{-1} spektral bölge için PC-3 yükleme grafiği

Hiyerarşik kümeleme analizi (HCA)

PCA çalışmalarına ilaveten, RÖ ve RS gruplarına ayırım olup olmadığını gözlemlemek amacıyla gözetimsiz analiz metodlarından biri olan HCA uygulandı. HCA genellikle örneklerin özelliklerine göre gruplandırılması için gerçekleştirilir (Zhang *et al.* 2017). Öte yandan, PCA genellikle, örneklerin net bir farklılaşma gösterip göstermediğine dair veriler arasındaki genel ilişkileri araştırmak için kullanılır. Farklılaşma açıksa, ek küme analizi yapılmalıdır. HCA'da gruplar kümelenir ve dendrogram olarak gösterilir (Murtagh & Contreras, 2012). Numunelerin benzerliği, dendrogramın x eksenlerinde heterojenlik değeri olarak belirtilir. Heterojenlik değerindeki artış benzerlik indeksindeki düşüşü gösterir. Gruplar arası belirgin bir ayırım olup olmadığını belirlemek amacıyla, öncelikle ikişerli gruplara, farklı spektral bölgelerde söz konusu analiz yapıldı. Şekil 15'de RÖ ve RS gruplarındaki örneklere ait HCA sonuçları görülmektedir. RÖ ve RS deki tüm örnekler yüksek heterojenlik değeri/rölatif uzaklık ile birbirinden ayrılmaktadır.



Şekil 15. RÖ ve RS gruplarındaki örneklere ait hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) sonuçlarının dendrogramı

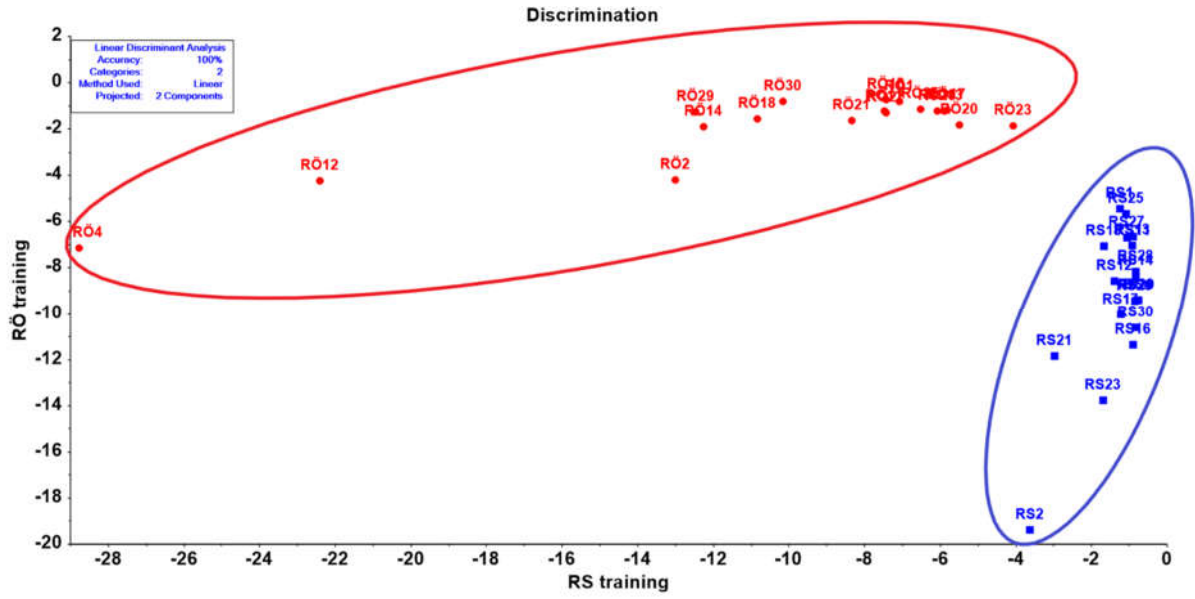
Gözetimli örüntü tanımlama analizleri

Linear discrimination analysis (LDA)

Spektroskopik sonuçlarımızı doğrulamak için, radyoterapi öncesi ve sonrası süreç sırasında meydana gelen en önemli spektral değişiklikleri tanımlamaya ve farklılaşmanın farklı aşamalarını ayrı kümelerle ayırmaya izin veren LDA analizini gerçekleştirdik (Echabe *et al.* 1995; Walsh *et al.* 2007). PCA tabanlı ayırım modeli kullanılarak, bu ayırımın doğruluğunu değerlendirmek için LDA gözetimli kemometrik analiz 4000 ile 800 cm^{-1} spektral bölgede yapıldı. Bu yöntem, spektral veri yönetiminde yaygın olarak kullanılmaktadır ve multidisipliner araştırmalarda teşhis/ayırt etme algoritmaları oluşturur. Gözetimli metotlarda analiz yapabilmek için eğitici ve test grubu olmak üzere iki adet veri seti gereklidir (“Introd. to Stat. Pattern Recognit.,” 1990; Winn *et al.* 2005). Eğitici veri seti her bir gruptan 18 adet hasta seçildi geri kalan örnekler ise test veri seti olarak kullanıldı. Eğitici set için elde edilen dağılım grafiği Şekil 16’da gösterilmektedir. Ayırım grafiğinden de görüleceği üzere RÖ ve RS gruplarında bulunan örnekler kendi sınıfında yer almakta ve gruplar birbirinden belirgin bir şekilde ayrılmaktadır.

LDA analizinde elde edilen eğitici veri setine ait sınıflandırma tahmin tablosu tablo 1’de verilmektedir. Tüm örnekler %100 doğruluk oranı ile kendi sınıflarında yer almaktadır. Tabloda verilen tahmine ait örnekler arasındaki varyasyonları gösteren ayırım değerleri karşılaştırıldığında, yüksek varyasyon değeri RÖ ve RS gruplarında serum biyokimyasal

kompozisyonunda farklılıkların olduğunu ortaya koymaktadır. Eğitici veri setindeki sınıflandırma yönteminin doğruluğunu kanıtlamak amacıyla, LDA ayırım modeli kullanılarak, test veri setindeki örnekler LDA sınıflandırma analizi uygulanmıştır. Elde edilen sınıflandırma sonuçları tablo 2’de verilmektedir. Test veri setinde yer alan tüm örnekler %100 doğruluk değeri ile kendi grubunda yer almıştır. Elde edilen yüksek doğruluk değeri, FTIR spektroskopisi PCA-LDA kemometrik analiz yaklaşımının radyoterapiye bağlı kanserli hastaların serum makromoleküler içeriğinde değişimlerin olduğunu ve FTIR spektroskopisinin radyoterapi değişimlerin belirlenmesinde kullanılabilecek, kullanıcıdan bağımsız, kolay ve etkin bir yöntem olduğunu göstermektedir.



Şekil 16. RÖ ve RS gruplarındaki örnekler için LDA grafiği

Tablo 1. RÖ ve RS Gruplarında Eğitici Veri Setine Ait LDA Tahmin Tablosu

Numune İsimleri	RS training	RÖ training	Class
RS11	-0.8867475	-6.656838	RS training
RS13	-0.8994884	-7.031961	RS training
RS2	-3.607786	-19.40371	RS training
RS14	-0.8171235	-8.366853	RS training
RS16	-0.8880625	-11.36684	RS training
RS4	-0.7545766	-9.417083	RS training
RS17	-1.202076	-10.05722	RS training
RS20	-0.7835723	-9.419405	RS training
RS21	-2.95375	-11.87684	RS training
RS25	-1.069395	-5.681621	RS training
RS27	-1.0515	-6.684558	RS training
RS28	-0.8201523	-8.187635	RS training
RS12	-1.386328	-8.594167	RS training

Tablo 1. (devam)

RS29	-0.8396958	-9.434533	RS training
RS18	-1.663149	-7.064038	RS training
RS23	-1.668378	-13.77213	RS training
RS30	-0.8117859	-10.60918	RS training
RS1	-1.230323	-5.472091	RS training
RÖ13	-5.876372	-1.239474	RÖ training
RÖ18	-10.82208	-1.586378	RÖ training
RÖ14	-12.25952	-1.901613	RÖ training
RÖ17	-5.81622	-1.183559	RÖ training
RÖ21	-8.331444	-1.647379	RÖ training
RÖ11	-7.469753	-1.255839	RÖ training
RÖ1	-7.064571	-0.8354503	RÖ training
RÖ20	-5.474822	-1.84885	RÖ training
RÖ25	-6.50747	-1.178425	RÖ training
RÖ12	-22.40377	-4.269535	RÖ training
RÖ27	-7.429132	-1.301127	RÖ training
RÖ2	-13.00478	-4.207523	RÖ training
RÖ4	-28.76836	-7.16699	RÖ training
RÖ28	-6.074536	-1.254185	RÖ training
RÖ16	-7.422576	-0.7636821	RÖ training
RÖ29	-12.44705	-1.274676	RÖ training
RÖ23	-4.053296	-1.879023	RÖ training
RÖ30	-10.15648	-0.8256983	RÖ training

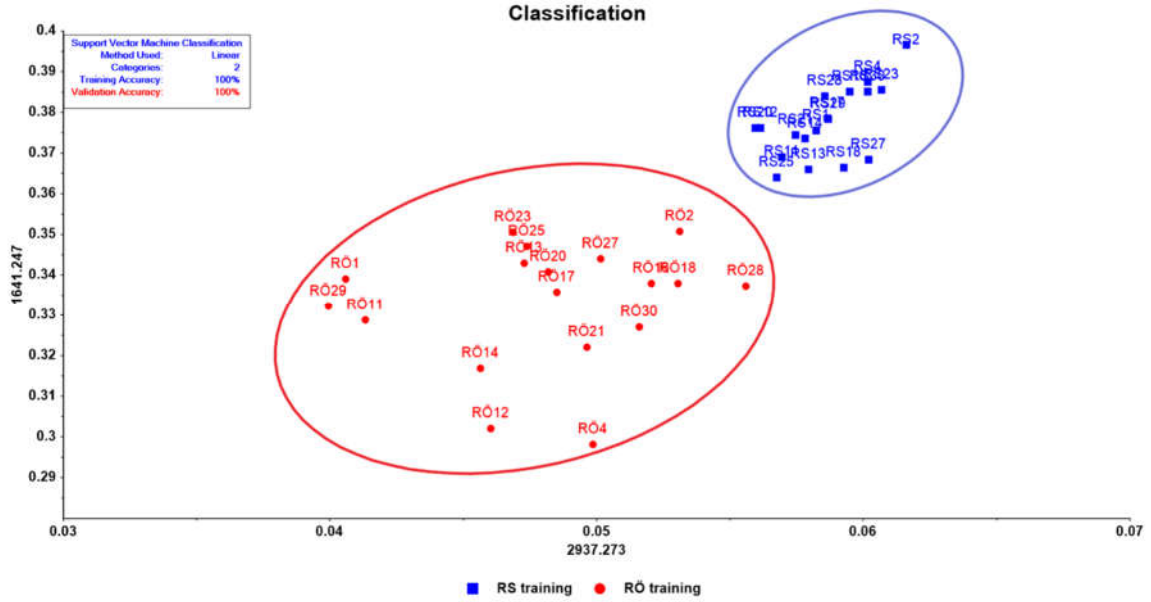
Tablo 2. RÖ ve RS Gruplarında Test Örneklerine Ait LDA Sınıflandırma Tablosu

Numune İsimleri	RS training	RÖ training	Class
RS31	-1.52359	-11.2099	RS training
RS3	-1.093809	-7.14002	RS training
RÖ3	-15.23384	-3.227879	RÖ training
RÖ31	-11.03665	-1.385148	RÖ training

SVM analizi

SVM, iki sınıfı izole eden ve sınıflar arasında en büyük ayrımı yapmaya çalışan bir hiperdüzlem geliştirir. Sınıfların önemli bir kenarla izole edilmesi, normal spekülasyon hatası nedeniyle bir sınır belirler (S. Chen *et al.* 2007). Bu kısımda da RÖ ve RS serum örneklerine SVM sınıflandırma modeli uygulandı. Şekil 17’de RÖ ve RS kan serumu örneklerinde eğitici veri setine ait SVM sınıflandırma grafiği görülmektedir. RÖ ve RS örnekleri eğitici veri setinde kendi grubunda yer aldı. Veri setinin eğitici ve validasyon için doğruluk değerleri yüzde olarak Tablo 3’de verilmektedir. %100 doğruluk oranı elde edilmiştir. SVM eğitici veri seti için elde

edilen tahmin matrisi Tablo 4’de verilmektedir. Her örnek %100 doğrulukla kendi grubunda yer almıştır. Test veri seti için elde edilen sınıflandırma tablosu ise Tablo 5’de verilmektedir. Test veri setindeki örnekler %100 doğrulukla kendi grubunda yer aldı. SVM sınıflandırma metodu sonuçları FTIR spektroskopisinin KHDAK hastalarında radyoterapiye bağlı serum moleküler içerik değişimlerinin ortaya konulmasında etkin bir yöntem olduğunu desteklemektedir.



Şekil 17. Toplanan IR spektrumları için eğitim setleri için SVM sınıflandırma grafiği

Tablo 3. Radyoterapi Öncesi ve Sonrası Eğitici Veri Setine Ait Doğruluk Değerleri

Accuracy		Training	Validation
Accuracy(%)	1	100.0000	100.0000
	2	100.0000	100.0000

Tablo 4. SVM Sınıflandırma Modelinin Test Setinde Uygulanmasından Elde Edilen Tahmin Matrisi

Prediction		
		1
RS11	1	RS training
RS13	2	RS training
RS2	3	RS training
RS14	4	RS training
RS16	5	RS training
RS4	6	RS training
RS17	7	RS training
RS20	8	RS training
RS21	9	RS training
RS25	10	RS training
RS27	11	RS training
RS28	12	RS training
RS12	13	RS training
RS29	14	RS training
RS18	15	RS training
RS23	16	RS training
RS30	17	RS training
RS1	18	RS training
RO13	19	RÖ training
RO18	20	RÖ training
RO14	21	RÖ training
RO17	22	RÖ training
RO21	23	RÖ training
RO11	24	RÖ training
RO1	25	RÖ training
RO20	26	RÖ training
RO25	27	RÖ training
RO12	28	RÖ training
RO27	29	RÖ training
RO2	30	RÖ training
RO4	31	RÖ training
RO28	32	RÖ training
RO16	33	RÖ training
RO29	34	RÖ training
RO23	35	RÖ training
RO30	36	RÖ training

Tablo 5. RÖ ve RS Gruplarında Test Örneklerine Ait SVM Sınıflandırma Tablosu

Classified_F		
		1
RS31	1	RS training
RS3	2	RS training
RO3	3	RÖ training
RO31	4	RÖ training

KHDAK Hücrelerinde Raman Spektroskopisi Metodu ile Moleküler Değişikliklerin Karakterizasyonu

Kemometrik analiz

Farklı tümör örneklerinin sınıflandırılması, çok değişkenli analiz gerektirir. Temel Bileşen Analizi (PCA) ve Doğrusal Diskriminant Analizi (LDA), dokular arasında ve hücreler arasında ve kolajen ve kolajen olmayan bileşenler arasında düşük bir hesaplama maliyetiyle ayırt etmede çok etkilidir (D'Acunto *et al.* 2020). PCA, spektral verilerimizin değişkenliğini en üst düzeye çıkaran daha az sayıda ana bileşene (PC) indirgemek suretiyle bir kimyasal sistemin ölçümlerinde oluşturulan spektral verilerin ayrılmasını sağlar. Veriler, yeni bir koordinat sistemi oluşturmak için çeşitli bilgisayar kombinasyonları seçilerek sınıflandırılır. LDA yöntemi, PCA'ya benzer şekilde çalışır. Ancak, PCA yöntemiyle yapılan verilerin varyansını maksimize eden bileşen eksenlerini tanımlamak yerine, LDA ek olarak, daha önce PCA tarafından tanımlanan çoklu sınıflar arasındaki ayrımı maksimize eden eksenleri bulur. PCA ve LDA, bu tür özgün özellikleri ile patolojik sınıflandırma için Raman spektroskopisi araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Tang *et al.* 2017).

Gözetimsiz örüntü tanımlama

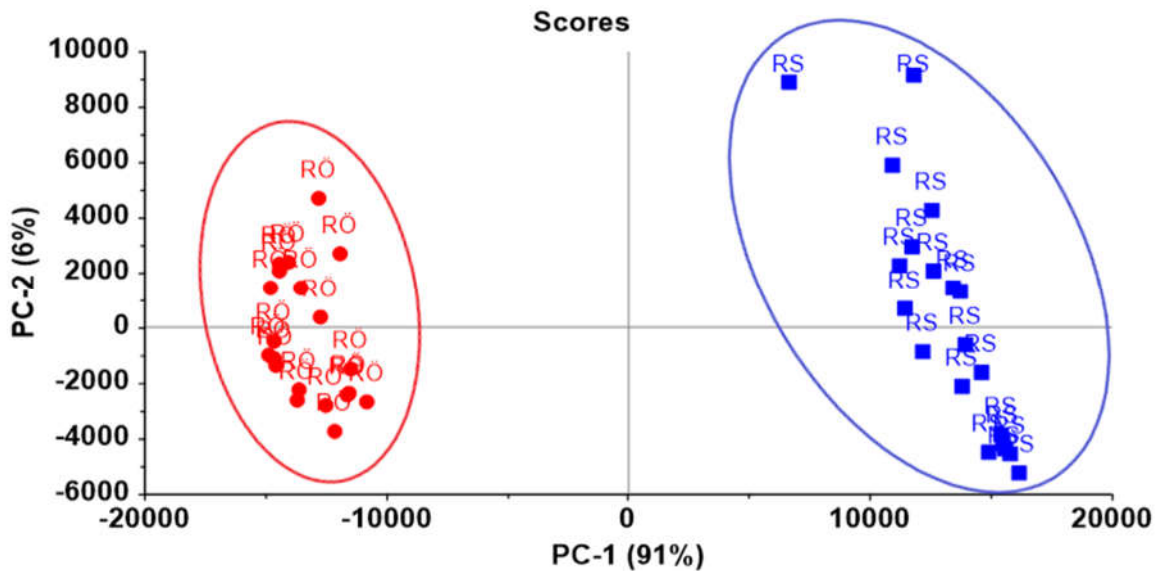
Temel bileşen analizi (PCA)

Raman spektroskopisi kullanılarak kanser biyobelirteçlerinin tanımlanması, zaman sinyalinin veri madenciliği teknikleriyle bir tanılamaya dönüştürülmesini gerektirir. Spektrumlar arasındaki değişiklikler, makine öğrenimi yazılımı kullanılarak saptanır ve değerlendirilir ve altın standart tanı yöntemlerinden elde edilen histopatolojik sonuçlarla ilişkilendirilir. Bu veriler radyoterapi öncesi ve sonrası alınan serumların birbirleri arasında ayırmak için bir sınıflandırma sistemi tasarlamak için kullanılabilir. Ek olarak, önemli spektral bantların dalga sayıları da spesifik biyomoleküllerle ilişkilendirilebilir ve hastalığın ilerlemesi, çoğalması, radyoterapi etkinliği ve daha fazlasıyla ilgili yolları belirleyebilir. Biyolojik Raman spektrumlarının analizi için çok sayıda istatistiksel teknik vardır. Temel bileşen analizi (PCA), kanser araştırmalarıyla ilgili olarak yaygın olarak kullanılan denetimsiz bir veri azaltma tekniğidir. Bireysel spektrumları gruplar halinde sınıflandırabilen verilerdeki varyansları belirlemek için kullanılır (Bohnsack & Hirschi, 2004; Movasaghi *et al.* 2007; Weinert & Lydall, 1993). PCA, veri kümesindeki varyansın çoğunu korurken verilerin boyutsallığını azaltır. Bu, birkaç matematiksel adımla elde edilir. Başlangıçta ortalama, yeni bir veri seti, ortalama merkezli matris üretmek için veri setinden çıkarılır. Daha sonra ortalama merkezli matrisin kovaryans matrisi, bireysel spektrumlar arasındaki doğrusal ilişkiler hesaplanır. Temel bileşenler (PC) ve puanlar veya özvektörler ve özdeğerler daha sonra

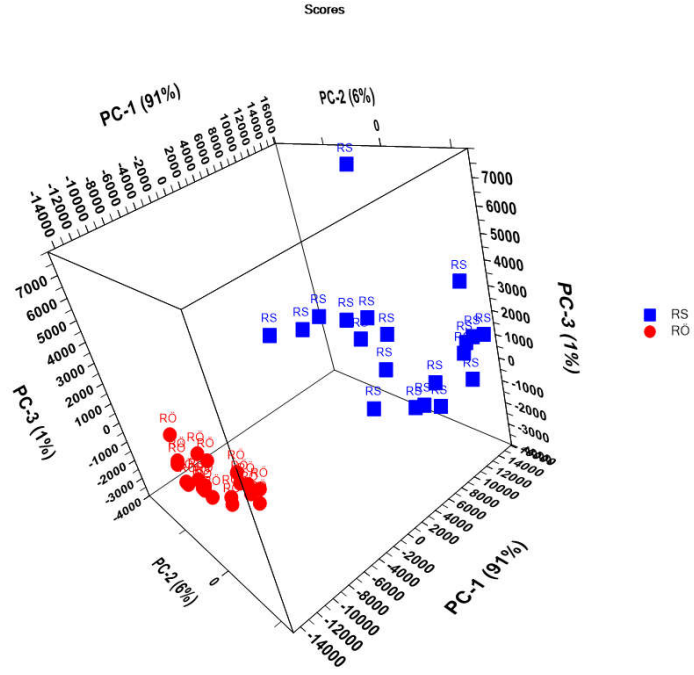
kovaryans matrisi için hesaplanır. Her bir PC bağımsız varyans kaynaklarını açıklar ve buna karşılık gelen varyanslar bir puana sahiptir. En yüksek puana sahip PC, veri setindeki varyansın çoğunu açıklar ve ilk PC olarak adlandırılır. PC'ler, açıkladıkları varyans oranına göre en yüksekten en düşüğe doğru düzenlenir. Verilerin daha detaylı analizi, her bir PC ile ilgili olarak her bir değişkenin hesaplanan puanları ile yapılır (Weinert & Lydall, 1993; Bohnsack & Hirschi, 2004; Movasaghi *et al.* 2007)

PCA tarafından çıkarılan bilgileri görüntülemenin üç yaygın yolunun bir örneği Şekil 18'de görülmektedir. Burada gruplar arası farklılıkları ifade eden temel bileşenlerdeki varyasyonların %97 olduğu görülmektedir. Şekil 19'da ise PCA'nın üç boyutlu skor grafiği verilmiştir.

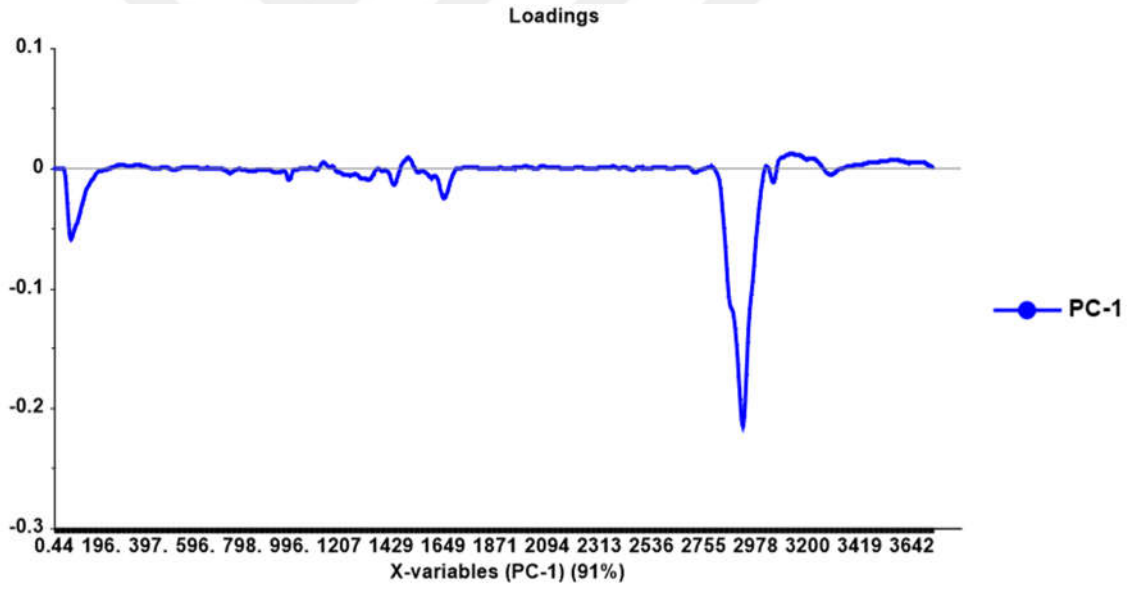
PC'ler arasındaki farkları belirlemenin başka bir yolu da, karşılık gelen PC'nin yükleme faktörlerinin bir analizidir. Şekil 20, 21 ve 22'de Raman spektrumlarına ait RÖ ve RS grupları için elde edilen yükleme grafikleri görülmektedir. Her üç yükleme grafiği görsel olarak kalitatif değerlendirildiğinde, öz değerleri, PC-1 için $3200-2700\text{ cm}^{-1}$ spektral bölgesindeki protein ve lipidlerden kaynaklı bantlar, PC-2 için $1700-0\text{ cm}^{-1}$ de yer alan, parmak izi olarak isimlendirilen protein, nükleik asit ve karbohidratlardan kaynaklı bantlar için elde edilmiş olup, söz konusu bantlarla ilgili moleküllerde radyoterapi uygulamasına bağlı içeriksel değişimlerin olduğunu göstermektedir. FTIR spektrumlarına ait yükleme grafikleri ile de bulgular desteklenmektedir. İçeriksel bulguların kantitatif olarak tayini spektral bantlara ait bant alanı veya bant sinyal şiddetlerinin hesaplanması ile yapılacaktır.



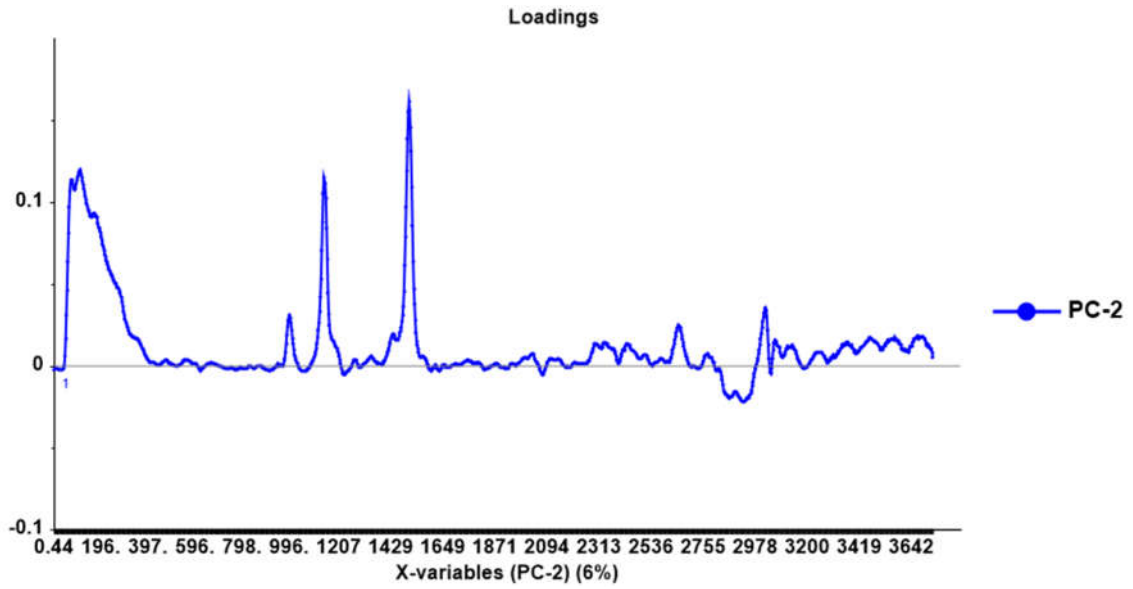
Şekil 18. RÖ ve RS örneklerinin PCA analizine ait 2B skor grafiği



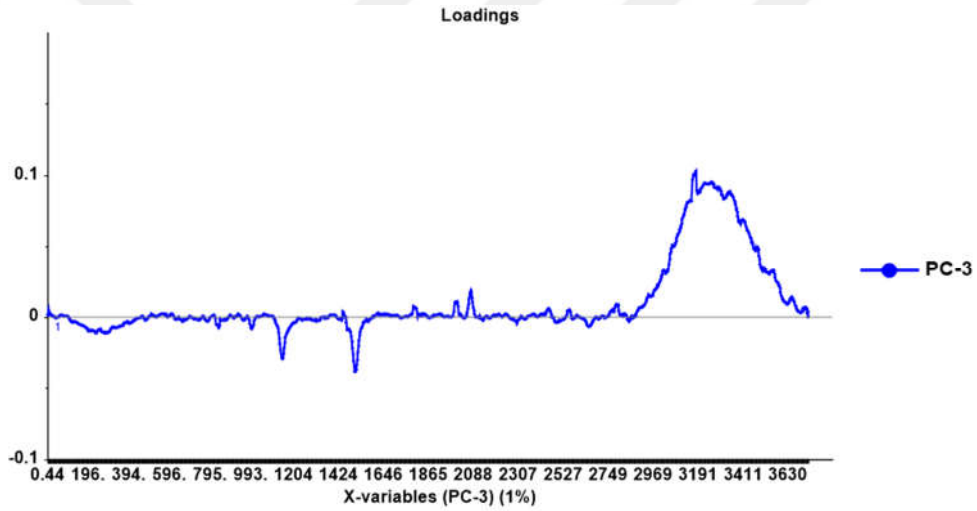
Şekil 19. RÖ ve RS alınan kan serumlarının üç boyutlu PCA skor grafiği



Şekil 20. 0-3700 cm^{-1} spektral bölge için PC-1 yükleme grafiği



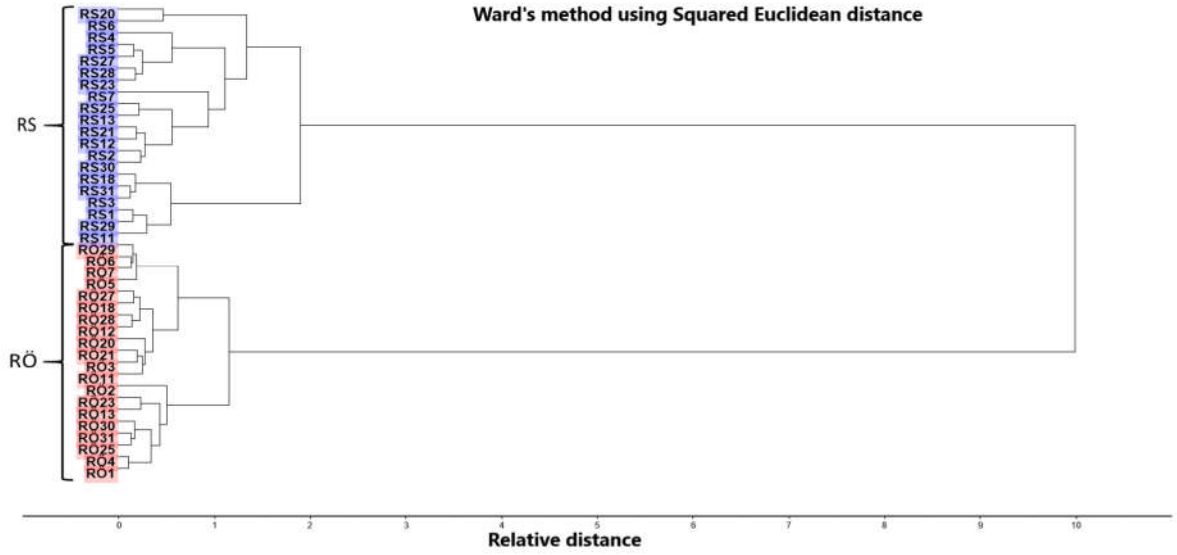
Şekil 21. 0-3700 cm^{-1} spektral bölge için PC-2 yükleme grafiği



Şekil 22. 0-3700 cm^{-1} spektral bölge için PC-3 yükleme grafiği

Hiyerarşik kümeleme analizi (HCA)

Burada, akciğer kanseri hücrelerinin radyoterapi tedavisine tepkisini izlemek için Raman görüntülemeyi hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) ile birleştirdik. Şekil 23’de tam spektral aralıkta radyoterapi öncesi ve sonrası kan serumu örneklerinin dendrogramı görülmektedir. 2 ana küme oluşturuldu. Her bölge oldukça iyi bir küme oluşturdu ve mesafe ölçümleri, tam spektral bölgenin biyokimyasal enstantanesine ve üçlü negatif alt tipleri arasında daha fazla benzerlik göstermiştir.



Şekil 23. RÖ ve RS gruplarındaki örneklere ait hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) sonuçlarının dendrogramı

PCA-LDA yöntemi

Spektral veri setindeki tanısal olarak en önemli özellikleri belirlemek ve farklı dokulardaki biyokimyasal varyasyonları daha fazla araştırmak, radyoterapi öncesi ve sonrası tedavi etkinliğini daha iyi değerlendirmek için PCA-LDA algoritması kullanıldı. RÖ ve RS kan serumlarından elde edilen Raman spektrumlarına karşılık gelen PC ve yüklemelerinin oluşturduğu PCA hesaplandı. PC1, PC2 ve PC3'ün %98 güven düzeyinde etkinlik açısından en anlamlı PC'ler olduğu gösterildi. Bu skorlar daha sonra radyoterapi öncesi ve sonrası etkinlik arasındaki spektral dağılım farklılıklarını görselleştirmek için çizildi.

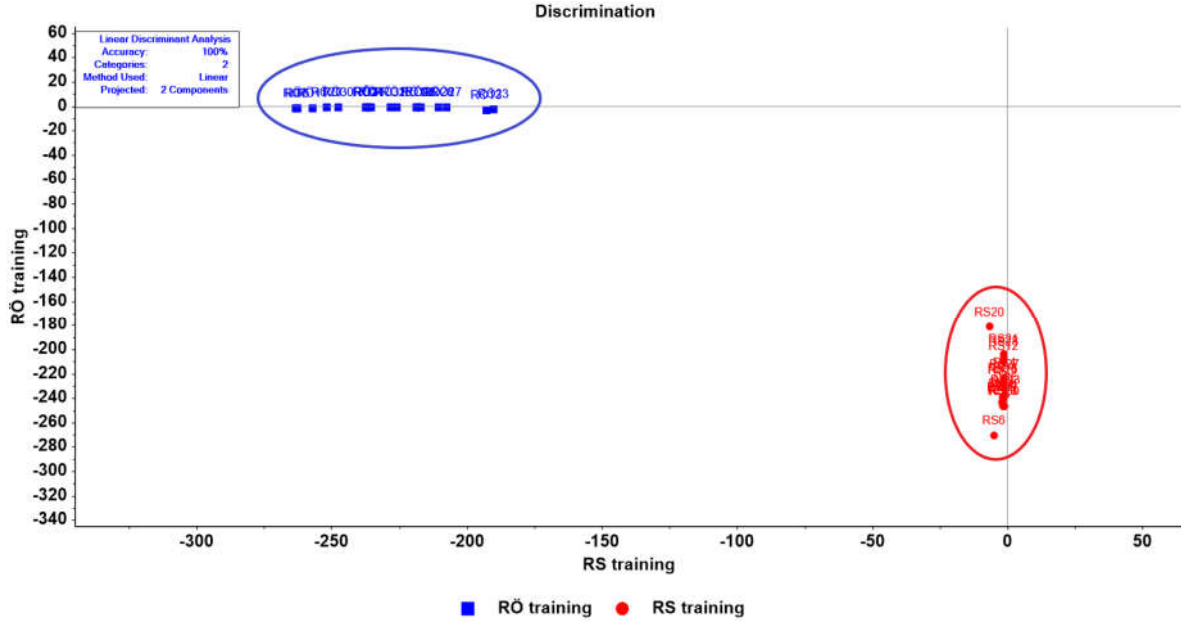
PCA sadece farklı dokuların spektrumlarını ayırt etmekle kalmadı, aynı zamanda her bir PC'nin karşılık gelen yükleme spektrumlarına bağlı olarak sınıflandırmalarıyla ilgili moleküler özellik bilgilerini de çıkarabildi (Bonnier & Byrne, 2011). Tablo 6'da LDA prosedürüne göre, doğrulama sürecinden tahmin matrisi gerçekleştirildi, her bir örnek için tahmin edilen sınıfın yanı sıra her sınıf için ayırt edilen değerler belirlendi. Tablo 6 radyoterapi öncesi ve sonrası numuneler arasındaki karşılaştırmayla sınıflandırma sonuçlarını göstermektedir. Doğru sınıflandırma oranının burada %100 olduğu görüldü.

Gözetimli örüntü tanımlama analizleri

Linear discrimination analysis (LDA)

Doğrusal diskriminant analizi (LDA), Raman spektrumlarına dayalı bir tahmin modeli geliştirmek için PCA ile rutin olarak birleştirilen başka bir tekniktir. LDA sınıflandırma sistemi, PCA modeli ile uygulandığında, PC puanlarını kullanarak sınıflandırma doğruluğunu artırır.

LDA yöntemi, sınıflandırma için doğrusal karar sınırlarını kullanan bir yöntem sınıfının üyesidir. LDA yöntemi, sınıf içi kovaryans matrisini minimuma indiren doğrusal işlevleri tanımlar. Ayrıca, farklı sınıflar arasındaki ayrımı en üst düzeye çıkarır ve verilerin farklı sınıflandırılmalarına izin verir (O’dea, 2020). Şekil 24’de radyoterapi öncesi ve sonrası kan serumu örnek gruplarına ait LDA grafiği görülmektedir.



Şekil 24. RÖ ve RS gruplarındaki örneklere ait 4000-800 cm^{-1} spektral bölgedeki lineer diskriminant analizi ayırım grafiği

Tablo 6. RÖ ve RS Gruplarında Eğitici Veri Setine Ait LDA Tahmin Tablosu

Numune İsimleri	RS training	RÖ training	Predicted
RS11	-1.660774	-238.9472	RS training
RS29	-2.077157	-243.7674	RS training
RS1	-1.763212	-241.4214	RS training
RS30	-1.050934	-246.7296	RS training
RS2	-0.7963346	-231.4154	RS training
RS12	-1.233418	-210.1782	RS training
RS21	-1.429177	-203.9428	RS training
RS23	-0.798005	-237.2755	RS training
RS13	-1.53948	-246.8208	RS training
RS6	-4.987052	-270.6721	RS training
RS20	-6.548012	-181.0175	RS training
RS25	-1.789282	-229.5278	RS training
RS3	-1.566642	-239.3987	RS training
RS27	-0.9314522	-224.9369	RS training
RS31	-1.490557	-240.6798	RS training

Tablo 6. (devam)

RS18	-1.559886	-227.4831	RS training
RS28	-1.337723	-206.3672	RS training
RS4	-0.9830469	-223.5384	RS training
RÖ11	-256.9041	-1.679599	RÖ training
RÖ3	-237.0853	-0.9897951	RÖ training
RÖ21	-236.3091	-1.169933	RÖ training
RÖ12	-218.61	-0.9851316	RÖ training
RÖ13	-192.5862	-3.253556	RÖ training
RÖ23	-190.1078	-2.861851	RÖ training
RÖ1	-237.1541	-0.9641563	RÖ training
RÖ4	-235.3906	-0.9867036	RÖ training
RÖ20	-251.6512	-1.352093	RÖ training
RÖ18	-217.0886	-1.01554	RÖ training
RÖ27	-207.3127	-1.46502	RÖ training
RÖ25	-225.7862	-0.8136213	RÖ training
RÖ2	-218.3627	-0.8374147	RÖ training
RÖ30	-247.3413	-1.153421	RÖ training
RÖ31	-228.1979	-0.9658439	RÖ training
RÖ28	-210.3872	-1.147042	RÖ training
RÖ5	-262.5398	-1.871048	RÖ training
RÖ7	-263.1739	-1.899388	RÖ training
RS11	-1.660774	-238.9472	RS training
RS29	-2.077157	-243.7674	RS training
RS1	-1.763212	-241.4214	RS training
RS30	-1.050934	-246.7296	RS training

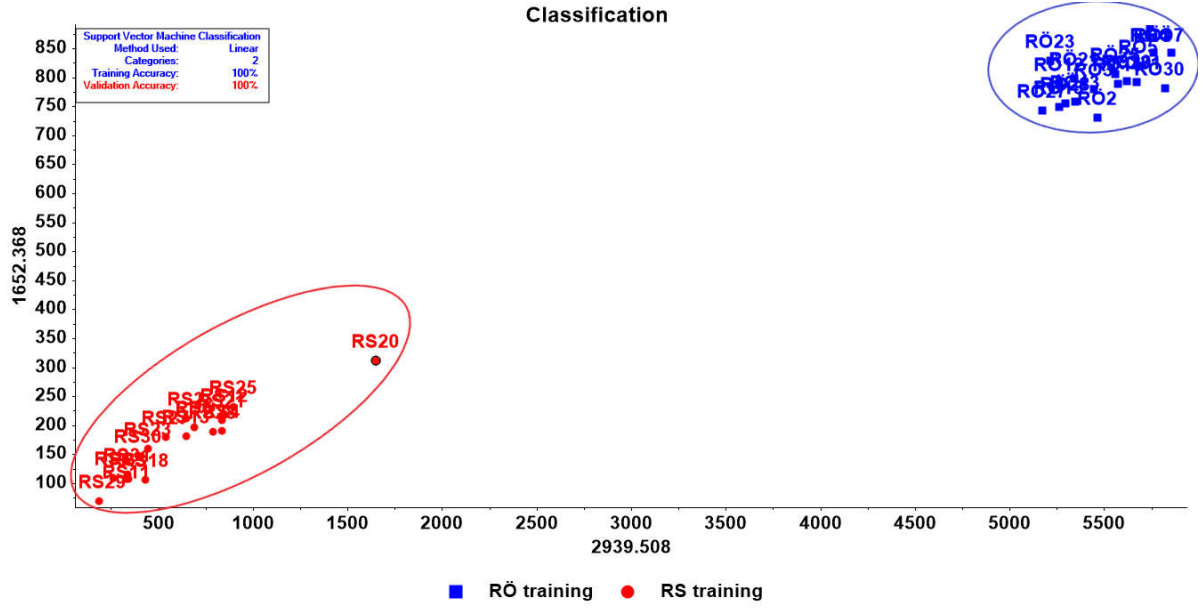
Tablo 7. RÖ ve RS Gruplarında Test Örneklerine Ait LDA Sınıflandırma Tablosu

	RS training	RÖ training
RS training	18	0
RÖ training	0	18

SVM analizi

SVM modeli 4000-2400 ve 2300-600 cm^{-1} aralığındaki spektrumlar dikkate alınarak oluşturuldu. Sınıflandırma modeli çapraz doğrulanma ile yapıldı. SVM'lerin sonucu, örneklerin sınıflandırılması, her örnek için tahmini sınıflandırma matrisi Tablo 9'da gösterilmiştir. Elde edilen veriler ışığında radyoterapi öncesi ve sonrası örneklerin ayırımının doğrulanması gerçekleştirilmiş oldu. Tablo 8'de görüldüğü gibi spektrumlardan gerçekleştirilen doğruluk

oranının %100 olduğu görülmektedir. Daha sonra bu sonuçlar şekil 25’de gösterildiği gibi 2D sınıflandırma grafiği ile doğrulandı.



Şekil 25. Toplanan IR spektrumları için eğitim setleri için SVM sınıflandırma grafiği

Tablo 8. Radyoterapi Öncesi ve Sonrası Eğitimci Veri Setine Ait Doğruluk Değerleri

Accuracy		Training	Validation
		1	2
Accuracy(%)	1	100.0000	100.0000

Tablo 9. SVM Sınıflandırma Modelinin Test Setinde Uygulanmasından Elde Edilen Tahmin Matrisi

Prediction		
		1
RS11	1	RS training
RS29	2	RS training
RS1	3	RS training
RS30	4	RS training
RS2	5	RS training
RS12	6	RS training
RS21	7	RS training
RS23	8	RS training
RS13	9	RS training
RS6	10	RS training
RS20	11	RS training
RS25	12	RS training
RS3	13	RS training
RS27	14	RS training
RS31	15	RS training
RS18	16	RS training
RS28	17	RS training
RS4	18	RS training
RÖ11	19	RÖ training
RÖ3	20	RÖ training
RÖ21	21	RÖ training
RÖ12	22	RÖ training
RÖ13	23	RÖ training
RÖ23	24	RÖ training
RÖ1	25	RÖ training
RÖ4	26	RÖ training
RÖ20	27	RÖ training
RÖ18	28	RÖ training
RÖ27	29	RÖ training
RÖ25	30	RÖ training
RÖ2	31	RÖ training
RÖ30	32	RÖ training
RÖ31	33	RÖ training
RÖ28	34	RÖ training
RÖ5	35	RÖ training
RÖ7	36	RÖ training

Tablo 10. RÖ ve RS Gruplarında Test Örneklerine Ait SVM Sınıflandırma Tablosu

Classified_F		
		1
RS31	1	RS training
RS3	2	RS training
RÖ3	3	RÖ training
RÖ31	4	RÖ training

SONUÇ VE ÖNERİLER

Akciğer kanseri, dünya genelinde kanserle ilgili ölümlerin başlıca nedenidir; KHDAK başlıca akciğer kanseri türlerinden biridir ve akciğer kanseri vakalarının %85'ini oluşturur (Cadranel *et al.* 2016) . Radyoterapi (RT), kesin ve eşzamanlı RT'nin standart bir tedavi yaklaşımı olduğu KHDAK yönetiminde hayati bir rol oynar (Dosoretz *et al.* 1996; Falkson *et al.* 2017). Hem içsel hem de dışsal faktörler, tümör yanıtını ve RT'nin genel sonucunu etkileyebilir (Salem *et al.* 2018). Özellikle, Raman Spektroskopisinin KHDAK'ya uygulamaları, hücrelerde (Van Nest *et al.* 2018) ve tümör ksenograft dokusunda (Harder *et al.* 2016) radyasyona bağlı belirgin metabolik değişiklikleri ortaya çıkarmıştır.

Raman spektroskopisi, hücrelerdeki ve dokudaki genel biyomoleküler değişikliklerin in vivo izlenmesi potansiyeline sahip, tahribatsız ve etiketsiz bir optik spektroskopik tekniktir. Bu özellikler biyomedikal uygulamalar için elverişlidir ve özellikle hücre ve dokulardaki radyasyon direnci göstergelerinin hedeflenmemiş olarak izlenmesine olanak tanır.

Bir tanı aracı olarak Raman spektroskopisinin kullanımı üç ana alanı içerir:

- (1) Patolojik tanının değerlendirmesinin belirsiz ve zor olduğu durumlarda tamamlayıcı moleküler bilgi sağlama yeteneği,
- (2) Gerçek zamanlı olarak tümörü, tümör ilerlemesini ve in vivo sınırları teşhis etme imkânı ve
- (3) Radyasyon tedavisine tümör yanıtını ve normal doku yanıtını belirleme imkânıdır (Devpura *et al.* 2014).

Radyasyon onkolojisi alanında Raman tekniğinin en etkili uygulaması muhtemelen terapötik yanıt değerlendirmesi alanında olacaktır. Tümörlerin ve normal dokuların radyasyona nasıl tepki verdiğini anlamak karmaşık bir olaydır. Bu durumda mevcut olarak uygulanan histopatoloji, tümör nüksü veya normal doku sekelleri ve ilişkili biyokimyasal süreçlerle ilgili biyolojik belirteçleri incelemek önemlidir. Hücrelerin mekanik ve biyokimyasal yapısı hakkında bilgi sağlayan Raman spektroskopisinin spektral sonucundan, sonuçla bağlantılı (tümör yanıtı ve normal doku hasarı) biyolojik belirteçler radyasyon öncesi ve sonrası radyoterapideki değişiklikleri tanımlayabileceğimize olanak tanır (Crow *et al.* 2005; Devpura *et al.* 2011).

Kolayca tanımlanabilen, hemen elde edilebilen, tanısal ve prognostik olan belirli bir hastalık veya hasta için spesifik olan belirteçler radyasyon tedavisi alanında gereklidir (Okunieff *et al.* 2008). Tümörün ve normal doku toksisitesinin radyasyon tedavisine yanıtı hastadan hastaya değişebilir (Emami *et al.* 1991; Bentzen *et al.* 2010b). Bu nedenle, Raman spektroskopisi kullanılarak tümör ve normal hücrelerin mekanik özelliklerinin anlaşılması, tedaviye nasıl yanıt verdiklerinin daha iyi anlaşılmasını sağlar. Normal doku toksisiteleri ile tümör kontrolü arasında bir dengeye yol açan tümör için doz seçimini sınırlayan faktörlerden biri normal doku doz toleranslarıdır. Radyasyon yanıtını öngören moleküler belirteçleri belirleme ve bu bilgiyi radyasyon tedavisini değiştirmek için Raman spektroskopisini kullanma yeteneği, doz rejimini uyarlayarak hasta sonuçlarını iyileştirme potansiyeline imkân sağlar.

Raman spektroskopisinde kullanılan kan serumlarında, ışınlanmış tümör ve ışınlanmamış tümörler arasındaki metabolik değişiklikleri inceleyen son yıllarda yapılmış çalışmalar da mevcuttur (Harder *et al.* 2016; Van Nest *et al.* 2019). Radyoterapinin ne düzeyde etki gösterdiğinin tespiti, tedavinin gidişatı ve dolayısıyla da hastanın en yüksek düzeyde tedaviden fayda görmesi açısından son derece önemlidir.

Prostat kanseri hastalarından alınan plazma örneklerinin FTIR spektrumları arasında ayırım olduğu görüldü. Ayrıca spektral ayırım, hem akut hem de geç toksisite derecesi gösteren hastalardan alınan spektrumlar arasında görüldü. Hasta grupları, PLS-DA modeli ile yüksek duyarlılık ve özgüllük ile sınıflandırıldı (Medipally *et al.* 2019).

Raman spektroskopisi ağız kanserlerinde radyasyon dencinin ve hastalığın prognozunun tahmininde olukça önemli katkılar sunmaktadır (Yasser *et al.* 2014). Radyasyon hasarı sonucu doku ve beyinde meydana gelen biyokimyasal değişiklikleri belirlemek için Raman spektroskopi çalışmaları yapılmaktadır (Jyothi Lakshmi *et al.* 2002). FTIR ve Raman teknikleri, moleküler düzeyde temel analizlerin klinik teşhis değişikliğine potansiyel olarak uygulanabilir (Naurecka *et al.* 2017).

Tez kapsamında çalışılan gruplara ait serum örneklerinde biyokimyasal bileşenlere ait radyoterapi etkinliği görmek amacıyla normalize edilmemiş, ham ortalama Raman ve FTIR spektrumlarına hem gözetimsiz hem de gözetimli kemometrik analizler uygulandı.

FTIR spektroskopisindeki yoğunluk oranlarının temel bileşen analiziyle birleştirilmesi, kanser ilerlemesinin izlenmesi için bir yöntemdir. Bu yöntem, farklı IR absorpsiyonunun moleküler bileşiminin anlaşılmasını sağlar (Kar *et al.* 2019). Bu çalışmanın sonuçlarında, hem Raman hem de FTIR spektroskopisi ile yaptığımız analizlere göre radyoterapi öncesi ve sonrası örneklem grupları arasında belirgin ayrımlar elde edildi. FTIR spektroskopisi yöntemlerinden gözetimsiz örüntü tanımlama metodu temel bileşen analizi yapıldığında gruplar arası

farklılıkları ifade eden temel bileşenlerdeki varyasyonların %87 olduğu bulunmuştur. Aynı analiz Raman spektroskopisi ile yapıldığında gruplar arası farklılıkları ifade eden temel bileşenlerdeki varyasyonların %97 olduğu görüldü. PCA-LDA modelinin radyoterapi öncesi ve sonrası numuneleri %100 oranında ayırt edebildiği görüldü. SVM analizi de doğruluk açısından çok iyi bir performans gösterdi.

Elde ettiğimiz spektrumlardaki farklılıklar yardımıyla hastaların tedaviye yanıtı değerlendirilmiş oldu. Bu tedavi yanıtının sınıflandırılması da PCA-LDA algoritması kullanılarak doğrulandı. Elde edilen tüm sonuçlar, Raman ve FTIR spektroskopisi ve kemometrik analiz yöntemlerinin birlikte kullanımının söz konusu hastalığın tedavisinde radyoterapinin etkinliğinin belirlenmesinde yüksek bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bu analizler sayesinde moleküllerin ve hücresel bileşenlerin tedavi boyunca nasıl değiştiğine dair bilgileri kaydedebilir ve analiz edebiliriz. Böylece tedaviye başladıktan kısa süre sonra bile tedavi dozu daha kesin ve hedefli olacak şekilde ayarlanabilir. Önceden tedavinin tek sonucu hastalık durumuydu; örneğin, tümör boyutunun değişip değişmediği yönünde değerlendirilmesi idi. Diğer birçok hastalık gibi, kanser tedavisi ile zamanlama her şeydir. Başarılı bir tedavi ne kadar erken uygulanırsa tedavi etkinliği o düzeyde yüksek olur. Hedefimiz, Raman ve FTIR gibi analizlerin doğru tedavi değerlendirmesini daha kısa sürede sağlanmasıdır.

Çalıştığımız Raman ve FTIR metotları ile serum örneklerinde hastalığa özgü radyoterapi etkinliğinin kesinlik kazanması ve buna bağlı olarak da farklı metotların geliştirilmesi ve klinik alanda etkinliğinin gösterilerek uygulamaya konulabilmesi için;

- Kullanılan metotların tekrarlanabilirliğinin gösterilmesi: Bu kapsamda, daha fazla sayıda hasta örneklerine ait, farklı zamanda, farklı ve daha güncel Raman ve FTIR spektrometresi ile spektrumların toplanması, kantitatif spektral analizler ile bu tezde kullanılan ve kullanılmayan diğer kemometrik analizlerin yapılması ve sonuçlarının karşılaştırılması,
- Söz konusu hastalığa ait veri bankasının oluşturulması gerekmektedir.

Bu nedenle yapılan bu çalışma özellikle Raman ve FTIR spektroskopisi ve kemometrik analiz yöntemlerinin, kan serumları üzerinden diğer kanser türlerinde de radyoterapinin etkinliğinin araştırılması ve buna yönelik yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi, tedavi etkinliğine bağlı olarak tedavi yönteminin seçilmesine yönelik yapılacak araştırmalara da öncü olacaktır.

KAYNAKLAR

- Adjuvant chemotherapy, with or without postoperative radiotherapy, in operable non-small-cell lung cancer: two meta-analyses of individual patient data. (2010). *The Lancet*. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60059-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60059-1)
- AJ, A., JG, F., & JM, S., 2007. Epidemiology of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). In *Chest*.
- Alberg, A. J., Brock, M. V., Ford, J. G., Samet, J. M., & Spivack, S. D., 2013. Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. <https://doi.org/10.1378/chest.12-2345>
- Antonia, S. J., Villegas, A., Daniel, D., Vicente, D., Murakami, S., Hui, R., Kurata, T., Chiappori, A., Lee, K. H., de Wit, M., Cho, B. C., Bourhaba, M., Quantin, X., Tokito, T., Mekhail, T., Planchard, D., Kim, Y.-C., Karapetis, C. S., Hirt, S., ... Özgüroğlu, M., 2018. Overall Survival with Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC. *New England Journal of Medicine*. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1809697>
- Aupérin, A., Le Péchoux, C., Pignon, J. P., Koning, C., Jeremic, B., Clamon, G., Einhorn, L., Ball, D., Trovo, M. G., Groen, H. J. M., Bonner, J. A., Le Chevalier, T., & Arriagada, R., 2006. Concomitant radio-chemotherapy based on platin compounds in patients with locally advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): A meta-analysis of individual data from 1764 patients. *Annals of Oncology*. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdj117>
- Aupérin, A., Le Péchoux, C., Rolland, E., Curran, W. J., Furuse, K., Fournel, P., Belderbos, J., Clamon, G., Ulutin, H. C., Paulus, R., Yamanaka, T., Bozonnat, M. C., Uitterhoeve, A., Wang, X., Stewart, L., Arriagada, R., Burdett, S., & Pignon, J. P., 2010. Meta-analysis of concomitant versus sequential radiochemotherapy in locally advanced non - small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.26.2543>
- Baranska, M., 2014. Optical spectroscopy and computational methods in biology and medicine.
- Beckles, M. A., Spiro, S. G., Colice, G. L., & Rudd, R. M., 2003. Initial evaluation of the patient with lung cancer: Symptoms, signs, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes. In *Chest* (Vol. 123, Issue 1 SUPPL., pp. 97S-104S). American College of Chest Physicians. https://doi.org/10.1378/chest.123.1_suppl.97S
- Belani, C. P., Choy, H., Bonomi, P., Scott, C., Travis, P., Haluschak, J., & Curran, W. J., 2005. Combined chemoradiotherapy regimens of paclitaxel and carboplatin for locally advanced non-small-cell lung cancer: A randomized phase II locally advanced multi-modality protocol. *Journal of Clinical Oncology*. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.55.405>
- Bentzen, S. M., Constine, L. S., Deasy, J. O., Eisbruch, A., Jackson, A., Marks, L. B., Ten Haken, R. K., & Yorke, E. D., 2010a. Quantitative Analyses of Normal Tissue Effects in the Clinic (QUANTEC): An Introduction to the Scientific Issues. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2009.09.040>
- Bentzen, S. M., Constine, L. S., Deasy, J. O., Eisbruch, A., Jackson, A., Marks, L. B., Ten Haken, R. K., & Yorke, E. D., 2010b. Quantitative Analyses of Normal Tissue Effects

- in the Clinic (QUANTEC): an introduction to the scientific issues. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 76(3 Suppl). <https://doi.org/10.1016/J.IJROBP.2009.09.040>
- Bohnsack, B. L., & Hirschi, K. K., 2004. Nutrient regulation of cell cycle progression. *Annual Review of Nutrition*, 24, 433–453. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.NUTR.23.011702.073203>
- Bonnier, F., & Byrne, H. J., 2011. Understanding the molecular information contained in principal component analysis of vibrational spectra of biological systems. *Analyst*, 137(2), 322–332. <https://doi.org/10.1039/C1AN15821J>
- Bourton, E. C., Plowman, P. N., Smith, D., Arlett, C. F., & Parris, C. N., 2011. Prolonged expression of the γ -H2AX DNA repair biomarker correlates with excess acute and chronic toxicity from radiotherapy treatment. *International Journal of Cancer*, 129(12), 2928–2934. <https://doi.org/10.1002/IJC.25953>
- Bower, D. I., & Maddams, W. F., 1989. The Vibrational Spectroscopy of Polymers. In *The Vibrational Spectroscopy of Polymers*. <https://doi.org/10.1017/cbo9780511623189>
- Boyer, M. J., Williams, C. D., Harpole, D. H., Onaitis, M. W., Kelley, M. J., & Salama, J. K., 2017. Improved Survival of Stage I Non–Small Cell Lung Cancer: A VA Central Cancer Registry Analysis. *Journal of Thoracic Oncology*, 12(12). <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2017.09.1952>
- Bunaciu, A. A., Aboul-Enein, H. Y., & Fleschin, Ș., 2015. Vibrational spectroscopy in clinical analysis. *Applied Spectroscopy Reviews*, 50(2), 176–191. <https://doi.org/10.1080/05704928.2014.955582>
- Bunaciu, A. A., Fleschin, Ș., & Aboul-Enein, H. Y., 2015. CANCER DIAGNOSIS BY FT-IR SPECTROPHOTOMETRY. In *Rev. Roum. Chim* (Vol. 60). <http://web.icf.ro/rrech/>
- Byrne, H. J., & Stone, N., 2011. Raman Microscopy: Complement or Competitor? Breast calcification detection using Transmission Raman spectroscopy View project NutraDel-Oral delivery of nutraceuticals View project. www.rsc.org
- Cadranel, J., Park, K., Arrieta, O., Pless, M., Bendaly, E., Patel, D., Sasane, M., Nosal, A., Swallow, E., Galebach, P., Kageleiry, A., Stein, K., Degun, R., & Zhang, J., 2016. Characteristics, treatment patterns, and survival among ALK+ non-small cell lung cancer (NSCLC) patients treated with crizotinib: A chart review study. *Lung Cancer*. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2016.05.004>
- Cantor, S. L., Hoag, S. W., Ellison, C. D., Khan, M. A., & Lyon, R. C., 2011. NIR Spectroscopy Applications in the Development of a Compacted Multiparticulate System for Modified Release. *AAPS PharmSciTech*, 12(1), 262. <https://doi.org/10.1208/S12249-010-9580-Z>
- Capelletto, E., & Novello, S., 2012. Emerging new agents for the management of patients with non-small cell lung cancer. In *Drugs*. <https://doi.org/10.2165/1163028-S0-000000000-00000>
- Celik, N., Cevik, U., Celik, A., & Kucukomeroglu, B., 2008. Determination of indoor radon and soil radioactivity levels in Giresun, Turkey. *Journal of Environmental Radioactivity*, 99(8), 1349–1354. <https://doi.org/10.1016/J.JENVRAD.2008.04.010>
- Chan, & Kazarian, S. G., 2016. Attenuated total reflection Fourier-transform infrared (ATR-FTIR) imaging of tissues and live cells. *Chemical Society Reviews*, 45(7), 1850–1864. <https://doi.org/10.1039/C5CS00515A>
- Chen, M. J., Novaes, P. E., Gadia, R., & Motta, R., 2017. Guidelines for the treatment of lung

- cancer using radiotherapy. *Revista Da Associacao Medica Brasileira*, 63(9), 729–732. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.63.09.729>
- Chen, S., Zhou, S., Yin, F. F., Marks, L. B., & Das, S. K., 2007. Investigation of the support vector machine algorithm to predict lung radiation-induced pneumonitis. *Medical Physics*, 34(10), 3808. <https://doi.org/10.1118/1.2776669>
- Chen, Z. Y., Persson, D., Nazarov, A., -, al, Kartaschew, K., Baldus, S., Ellis, G., Santoro, G., Gómez, M. A., & Marco, C., 2010. Synchrotron IR microspectroscopy: Opportunities in polymer science You may also like In Situ Studies of the Effect of CO₂ on the Initial NaCl-Induced Atmospheric Corrosion of Copper Cold atmospheric-pressure plasma and bacteria: understanding the mode of action using vibrational microspectroscopy Synchrotron IR microspectroscopy: Opportunities in polymer science. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/14/1/012019>
- Chi, A., Liao, Z., Nguyen, N. P., Xu, J., Stea, B., & Komaki, R., 2010. Systemic review of the patterns of failure following stereotactic body radiation therapy in early-stage non-small-cell lung cancer: Clinical implications. In *Radiotherapy and Oncology*. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2009.12.008>
- Coco Martin, J. M., Mooren, E., Ottenheim, C., Burrill, W., Nunez, M. I., Sprong, D., Bartelink, H., & Begg, A. C., 1999. International Journal of Radiation Biology Potential of radiation-induced chromosome aberrations to predict radiosensitivity in human tumour cells. <https://doi.org/10.1080/095530099139638>
- Crow, P., Molckovsky, A., Stone, N., Uff, J., Wilson, B., & Wongkeesong, L. M., 2005. Assessment of fiberoptic near-infrared raman spectroscopy for diagnosis of bladder and prostate cancer. *Urology*, 65(6), 1126–1130. <https://doi.org/10.1016/J.UROLOGY.2004.12.058>
- D'Acunto, M., Gaeta, R., Capanna, R., & Franchi, A., 2020. Contribution of Raman Spectroscopy to Diagnosis and Grading of Chondrogenic Tumors. *Scientific Reports*, 10(1), 2155. <https://doi.org/10.1038/S41598-020-58848-0>
- Da Cunha Santos, G., Shepherd, F. A., & Tsao, M. S., 2011. EGFR mutations and lung cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011110-130206>
- Das, K., Kendall, C., Isabelle, M., Fowler, C., Christie-Brown, J., & Stone, N., 2008. FTIR of touch imprint cytology: A novel tissue diagnostic technique. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 92(3), 160–164. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2008.05.012>
- Dearing, T., 2010. *Fundamentals of Chemometrics and Modeling*.
- Detterbeck, F. C., & Figueroa Almanzar, S., 2014. Lung cancer staging: the value of PET depends on the clinical setting. *Journal of Thoracic Disease*. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2014.11.16>
- Devpura, S., Barton, K. N., Brown, S. L., Palyvoda, O., Kalkanis, S., Naik, V. M., Siddiqui, F., Naik, R., & Chetty, I. J., 2014. Vision 20/20: The role of Raman spectroscopy in early stage cancer detection and feasibility for application in radiation therapy response assessment. *Medical Physics*, 41(5), 050901. <https://doi.org/10.1118/1.4870981>
- Devpura, S., Thakur, J. S., Sethi, S., Naik, V. M., & Naik, R., 2011. Diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma using Raman spectroscopy: tongue tissues. *Wiley Online Library*, 43(4), 490–496. <https://doi.org/10.1002/jrs.3070>
- Dinç, E., 2007. Kemometri Çok Değişkenli Kalibrasyon Yöntemleri . Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy , (1) , 61-92 . Retrieved from

<https://dergipark.org.tr/en/pub/hujpharm/issue/49849/639187>.

- Dorling, K. M., & Baker, M. J., 2013. Highlighting attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy for rapid serum analysis. *Trends in Biotechnology*, 31(6), 327–328. <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2013.03.010>
- Dosoretz, D. E., Katin, M. J., Blitzer, P. H., Rubenstein, J. H., Galmarini, D. H., Garton, G. R., & Salenius, S. A., 1996. Medically inoperable lung carcinoma: The role of radiation therapy. *Seminars in Radiation Oncology*, 6(2), 98–104. [https://doi.org/10.1016/S1053-4296\(96\)80006-3](https://doi.org/10.1016/S1053-4296(96)80006-3)
- Kidder, L.H., Levin, I. W., Neil Lewis, E., Kleiman, V. D., and Heilweil. E. J., 1997. Mercury cadmium telluride focal-plane array detection for mid-infrared Fourier-transform spectroscopic imaging. *Opt. Lett.* 22, 742-744.
- Echabe, I., Requero, M. A., Goñi, F. M., Arrondo, J. L. R., & Alonso, A., 1995. An infrared investigation of palmitoyl-coenzyme A and palmitoylcarnitine interaction with perdeuterated-chain phospholipid bilayers. *European Journal of Biochemistry*, 231(1), 199–203. <https://doi.org/10.1111/J.1432-1033.1995.0199F.X>
- Egleston, B. L., Meireles, S. I., Flieder, D. B., & Clapper, M. L., 2009. Population-Based Trends in Lung Cancer Incidence in Women. *Seminars in Oncology*. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2009.09.003>
- Emami, B., Lyman, J., Brown, A., Cola, L., Goitein, M., Munzenrider, J. E., Shank, B., Solin, L. J., & Wesson, M., 1991. Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 21(1), 109–122. [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(91\)90171-Y](https://doi.org/10.1016/0360-3016(91)90171-Y)
- Eysel, H. H., Jackson, M., Nikulin, A., Somorjai, R. L., Thomson, G. T. D., & Mantsch, H. H., 1997. A novel diagnostic test for arthritis: Multivariate analysis of infrared spectra of synovial fluid. *Biospectroscopy*, 3(2), 161–167. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6343\(1997\)3:2<161::AID-BSPY9>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6343(1997)3:2<161::AID-BSPY9>3.0.CO;2-A)
- Faiz M., K., & John P., G., 2014. *The Physics of Radiation Therapy*, 4nd ed. Ed. John P. Gibbons
- Falkson, C. B., Vella, E. T., Yu, E., El-Mallah, M., Mackenzie, R., Ellis, P. M., & Ung, Y. C., 2017. Guideline for Radiotherapy with Curative Intent in Patients with Early-Stage Medically Inoperable Non-Small-Cell Lung Cancer. *Current Oncology 2017, Vol. 24, Pages 44-49*, 24(1), 44–49. <https://doi.org/10.3747/CO.24.3358>
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D. M., Forman, D., & Bray, F., 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*. <https://doi.org/10.1002/ijc.29210>
- Fernandez, D. C., Bhargava, R., Hewitt, S. M., & Levin, I. W., 2005. Infrared spectroscopic imaging for histopathologic recognition. *Nature Biotechnology*, 23(4), 469–474. <https://doi.org/10.1038/nbt1080>
- Francis L Martin, H. M. P., 2010. Microspectroscopy as a tool to discriminate nano-molecular cellular alterations in biomedical research.
- Gasper, R., Meyer, S., Gotthardt, K., Sirajuddin, M., & Wittinghofer, A., 2009. It takes two to tango: regulation of G proteins by dimerization. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 10(6), 423–429. <https://doi.org/10.1038/NRM2689>
- Gedikoglu, A., & Sipahi, B. L., 1989. Chernobyl radioactivity in Turkish tea. *Health Physics (1958)*, 56(1).
- Glassford, S. E., Byrne, B., & Kazarian, S. G., 2013. Recent applications of ATR FTIR

- spectroscopy and imaging to proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1834(12), 2849–2858. <https://doi.org/10.1016/J.BBAPAP.2013.07.015>
- Gould, M. K., Donington, J., Lynch, W. R., Mazzone, P. J., Midthun, D. E., Naidich, D. P., & Wiener, R. S., 2013. Evaluation of individuals with pulmonary nodules: When is it lung cancer? Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*, 143(5 SUPPL), e93S–e120S. <https://doi.org/10.1378/chest.12-2351>
- Govindan, R., Page, N., Morgensztern, D., Read, W., Tierney, R., Vlahiotis, A., Spitznagel, E. L., & Piccirillo, J., 2006. Changing epidemiology of small-cell lung cancer in the United States over the last 30 years: Analysis of the surveillance, epidemiologic, and end results database. *Journal of Clinical Oncology*. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.04.4859>
- Hamilton, W., 2004. Diagnosis of lung cancer in primary care: a structured review. *Family Practice*, 21(6), 605–611. <https://doi.org/10.1093/fampra/cmh605>
- Harada, H., 2011. How Can We Overcome Tumor Hypoxia in Radiation Therapy? Award Article *J. Radiat. Res*, 52, 545–556. <https://doi.org/10.1269/jrr.11056>
- Harder, S. J., Isabelle, M., Devorkin, L., Smazynski, J., Beckham, W., Brolo, A. G., Lum, J. J., & Jirasek, A., 2016. Raman spectroscopy identifies radiation response in human non-small cell lung cancer xenografts. *Scientific Reports* 2016 6:1, 6(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep21006>
- Harder, S. J., Matthews, Q., Isabelle, M., Brolo, A. G., Lum, J. J., & Jirasek, A., 2015. A Raman spectroscopic study of cell response to clinical doses of ionizing radiation. *Applied Spectroscopy*, 69(2), 193–204. <https://doi.org/10.1366/14-07561>
- Hillerdal, G., Henschke, C., & Sone, S., 2001. [Screening for lung cancer--new possibilities with new methods!]. *Lakartidningen*.
- Hodi, F. S., O'Day, S. J., McDermott, D. F., Weber, R. W., Sosman, J. A., Haanen, J. B., Gonzalez, R., Robert, C., Schadendorf, D., Hassel, J. C., Akerley, W., van den Eertwegh, A. J. M., Lutzky, J., Lorigan, P., Vaubel, J. M., Linette, G. P., Hogg, D., Ottensmeier, C. H., Lebbé, C., ... Urban, W. J., 2010. Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. *New England Journal of Medicine*. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1003466>
- Howington, J. A., Blum, M. G., Chang, A. C., Balekian, A. A., & Murthy, S. C., 2013. Treatment of stage I and II non-small cell lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. <https://doi.org/10.1378/chest.12-2359>
- Howlander N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, & Cronin KA., 2019. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2016. In National Cancer Institute.
- Ibrahim, M. Z. M., Pascoe, E., & Miquel, J., 1970. Glycogen and Phosphorylase Activity in Rat Brain During Recovery from Several Forms of Hypoxia.
- Introduction to Statistical Pattern Recognition., 1990. Introduction to Statistical Pattern Recognition. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-27872-X>
- Pignon JP, Tribodet H, Scagliotti GV, Douillard JY, Shepherd FA, Stephens RJ, Dunant A, Torri V, Rosell R, Seymour L, Spiro SG, Rolland E, Fossati R, Aubert D, Ding K, Waller D, Le Chevalier T., 2008. Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. *J Clin Oncol*. Jul 20;26(21):3552-9. doi: 10.1200/JCO.2007.13.9030. Epub 2008 May 27. PMID: 18506026..

- Jordan, E. J., Kim, H. R., Arcila, M. E., Barron, D., Chakravarty, D., Gao, J. J., Chang, M. T., Ni, A., Kundra, R., Jonsson, P., Jayakumaran, G., Gao, S. P., Johnsen, H. C., Hanrahan, A. J., Zehir, A., Rekhtman, N., Ginsberg, M. S., Li, B. T., Yu, H. A., ... Riely, G. J., 2017. Prospective comprehensive molecular characterization of lung adenocarcinomas for efficient patient matching to approved and emerging therapies. *Cancer Discovery*. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-1337>
- Jyothi Lakshmi, R., Kartha, V. B., Murali Krishna, C., R. Solomon, J. G., Ullas, G., & Uma Devi, P., 2002. Tissue Raman spectroscopy for the study of radiation damage: brain irradiation of mice. *Radiation Research*, 157(2), 175–182. [https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2002\)157\[0175:trsfts\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2002)157[0175:trsfts]2.0.co;2)
- Kansiz, M., Heraud, P., Wood, B., Burden, F., Beardall, J., & McNaughton, D., 1999. Fourier transform infrared microspectroscopy and chemometrics as a tool for the discrimination of cyanobacterial strains. *Phytochemistry*, 52(3), 407–417. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(99\)00212-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00212-5)
- Kar, S., Katti, D. R., & Katti, K. S., 2019. Fourier transform infrared spectroscopy based spectral biomarkers of metastasized breast cancer progression. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 208, 85–96. <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2018.09.052>
- Karar, J., & Maity, A., 2009a. Modulating the tumor microenvironment to increase radiation responsiveness. *Cancer Biology and Therapy*, 8(21), 1994–2001. <https://doi.org/10.4161/cbt.8.21.9988>
- Karar, J., & Maity, A., 2009b. Modulating the tumor microenvironment to increase radiation responsiveness. *Cancer Biology & Therapy*, 8(21), 1994–2001. <https://doi.org/10.4161/CBT.8.21.9988>
- Khanmohammadi, M., Ansari, M. A., Garmarudi, A. B., Hassanzadeh, G., & Garoosi, G., 2007. Cancer Diagnosis by Discrimination between Normal and Malignant Human Blood Samples Using Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Cancer Investigation*, 25(6), 397–404. <https://doi.org/10.1080/02770900701512555>
- Kim, H. S., Lee, K. S., Ohno, Y., Van Beek, E. J. R., & Biederer, J., 2015. PET/CT versus MRI for diagnosis, staging, and follow-up of lung cancer. In *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. <https://doi.org/10.1002/jmri.24776>
- Kirschner, M. B., Cheng, Y. Y., Badrian, B., Kao, S. C., Creaney, J., Edelman, J. J. B., Armstrong, N. J., Vallely, M. P., Musk, A. W., Robinson, B. W. S., McCaughan, B. C., Klebe, S., Mutsaers, S. E., Van Zandwijk, N., & Reid, G., 2012. Increased circulating miR-625-3p: a potential biomarker for patients with malignant pleural mesothelioma. *Journal of Thoracic Oncology : Official Publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*, 7(7), 1184–1191. <https://doi.org/10.1097/JTO.0B013E3182572E83>
- Klittich, W. S., & Caro, J. J., 2002. Lung cancer screening: Will the controversy extend to its cost-effectiveness? In *American Journal of Respiratory Medicine*. <https://doi.org/10.1007/BF03257166>
- Kong, K., Kendall, C., Stone, N., & Notingher, I., 2015. Raman spectroscopy for medical diagnostics - From in-vitro biofluid assays to in-vivo cancer detection. In *Advanced Drug Delivery Reviews*. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.03.009>
- Krishnan, S., Whitwell, H. J., Cuenco, J., Gentry-Maharaj, A., Menon, U., Pereira, S. P., Gaspari, M., & Timms, J. F., 2017. Evidence of Altered Glycosylation of Serum Proteins Prior to Pancreatic Cancer Diagnosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12). <https://doi.org/10.3390/IJMS18122670>

- Lagerwaard, F. J., Haasbeek, C. J. A., Smit, E. F., Slotman, B. J., & Senan, S., 2008. Outcomes of Risk-Adapted Fractionated Stereotactic Radiotherapy for Stage I Non-Small-Cell Lung Cancer. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 70(3), 685–692. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2007.10.053>
- Le Duff, Y., 2003. Ideal glass transitions in thin films: An energy landscape perspective. *The Journal of Chemical Physics*, 119, 1897. <https://doi.org/10.1063/1.1594183>
- Malins, D. C., Anderson, K. M., Gilman, N. K., Green, V. M., Barker, E. A., & Hellström, K. E., 2004. Development of a cancer DNA phenotype prior to tumor formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(29), 10721–10725. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0403888101/ASSET/F186FBBC-440C-42E4-A3E2-65D42731862E/ASSETS/GRAPHIC/ZPQ0290454090004.JPEG>
- Manser, R., Dalton, A., Carter, R., Byrnes, G., Elwood, M., & Campbell, D. A., 2005. Cost-effectiveness analysis of screening for lung cancer with low dose spiral CT (computed tomography) in the Australian setting. *Lung Cancer*. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2004.11.001>
- Mao, C., Koutsky, L. A., Ault, K. A., Wheeler, C. M., Brown, D. R., Wiley, D. J., Alvarez, F. B., Bautista, O. M., Jansen, K. U., & Barr, E., 2006. Efficacy of human papillomavirus-16 vaccine to prevent cervical intraepithelial neoplasia: A randomized controlled trial. *Obstetrics and Gynecology*. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000192397.41191.fb>
- Marks, L. B., 1996. The impact of organ structure on radiation response. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(95\)02186-8](https://doi.org/10.1016/0360-3016(95)02186-8)
- Martin, T. C., Moecks, J., Belouossov, A., Cawthraw, S., Dolenko, B., Eiden, M., von Frese, J., Köhler, W., Schmitt, J., Somorjai, R., Udelhoven, T., Verzakov, S., & Petrich, W., 2004. Classification of signatures of Bovine Spongiform Encephalopathy in serum using infrared spectroscopy. *The Analyst*, 129(10), 897–901. <https://doi.org/10.1039/B408950M>
- Masters, G. A., Temin, S., Azzoli, C. G., Giaccone, G., Baker, S., Brahmer, J. R., Ellis, P. M., Gajra, A., Rackear, N., Schiller, J. H., Smith, T. J., Strawn, J. R., Trent, D., & Johnson, D. H., 2015. Systemic Therapy For Stage IV Non-Small-Cell Lung Cancer: American Society Of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update. In *Journal Of Clinical Oncology* (Vol. 33, Issue 30, Pp. 3488–3515). American Society Of Clinical Oncology. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.62.1342>
- Matthews, M. J., Kanhouwa, S., Pickren, J., & Robinette, D., 1973. Frequency of residual and metastatic tumor in patients undergoing curative surgical resection for lung cancer. *Cancer Chemother.Rep*.
- Matthews, Q., Brolo, A. G., Lum, J., Duan, X., & Jirasek, A., 2010. Raman spectroscopy of single human tumour cells exposed to ionizing radiation in vitro. *Physics in Medicine & Biology*, 56(1), 19. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/56/1/002>
- Matthews, Q., Jirasek, A., Lum, J. J., & Brolo, A. G., 2011. Biochemical signatures of in vitro radiation response in human lung, breast and prostate tumour cells observed with Raman spectroscopy. *Physics in Medicine & Biology*, 56(21), 6839. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/56/21/006>
- Medipally, D. K. R., Nguyet, T., Nguyen, Q., Bryant, J., Untereiner, V., Sockalingum, G. D., Cullen, D., Noone, E., Bradshaw, S., Finn, M., Dunne, M., Shannon, A. M., Armstrong, J., Lyng, F. M., & Meade, A. D., 2019. Monitoring Radiotherapeutic Response in Prostate Cancer Patients Using High Throughput FTIR Spectroscopy of Liquid

- Biopsies. <https://doi.org/10.3390/cancers11070925>
- Mok, T. S., Wu, Y.-L., Thongprasert, S., Yang, C.-H., Chu, D.-T., Saijo, N., Sunpaweravong, P., Han, B., Margono, B., Ichinose, Y., Nishiwaki, Y., Ohe, Y., Yang, J.-J., Chewaskulyong, B., Jiang, H., Duffield, E. L., Watkins, C. L., Armour, A. A., & Fukuoka, M., 2009. Gefitinib or Carboplatin–Paclitaxel in Pulmonary Adenocarcinoma. *New England Journal of Medicine*. <https://doi.org/10.1056/nejmoa0810699>
- Movasaghi, Z., Rehman, S., & Rehman, I. U., 2007. Raman Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*. <http://Dx.Doi.Org/10.1080/05704920701551530>, 42(5), 493–541. <https://doi.org/10.1080/05704920701551530>
- Murtagh, F., & Contreras, P., 2012. Algorithms for hierarchical clustering: an overview. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Data Mining and Knowledge Discovery*, 2(1), 86–97. <https://doi.org/10.1002/WIDM.53>
- Jaggi, N., Vij, D., 2006. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In: Vij, D. (eds) *Handbook of Applied Solid State Spectroscopy*. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/0-387-37590-2_9
- Naurecka, M. L., Sierakowski, B. M., Kasprzycka, W., Dojs, A., Dojs, M., Suszyński, Z., & Kwaśny, M., 2017. FTIR-ATR and FT-Raman Spectroscopy for Biochemical Changes in Oral Tissue. *American Journal of Analytical Chemistry*, 08(03), 180–188. <https://doi.org/10.4236/ajac.2017.83015>
- Neal, J. W., 2010. Histology Matters: Individualizing Treatment in Non-Small Cell Lung Cancer. *The Oncologist*. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2009-0306>
- Neuberger, J. S., & Gesell, T. F., 2002. Residential radon exposure and lung cancer: Risk in nonsmokers. In *Health Physics*. <https://doi.org/10.1097/00004032-200207000-00001>
- O’dea, D., 2020. Medicine and Health Sciences Commons Recommended Citation O.Dea, D. (2020) Raman Microspectroscopy for the Discrimination of Thyroid and Lung Cancer Subtypes for Application in Clinical Cytopathology. <https://doi.org/10.21427/jknp-x470>
- Oken, M. M., Creech, R. H., & Davis, T. E., 1982. Toxicology and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *American Journal of Clinical Oncology: Cancer Clinical Trials*. <https://doi.org/10.1097/00000421-198212000-00014>
- Okunieff, P., Chen, Y., Maguire, D. J., & Huser, A. K., 2008. Molecular markers of radiation-related normal tissue toxicity. *Cancer Metastasis Reviews*, 27(3), 363–374. <https://doi.org/10.1007/S10555-008-9138-7>
- Otto, K., 2007. Volumetric modulated arc therapy: IMRT in a single gantry arc; Volumetric modulated arc therapy: IMRT in a single gantry arc. *Wiley Online Library*, 35(1), 310–317. <https://doi.org/10.1118/1.2818738>
- Ozek, N. Ş., 2015. Characterization of Molecular-Level Changes Due To Microrna-125b Expression in Breast Cancer Cells By Spectroscopic And Chemometric Analysis Techniques. Doctorate, The Graduate School of Natural And Applied Sciences, Turkey.
- P. R. Griffiths and J. A. de Haseth., 2007. *Fourier Transform Infrared Spectrometry*. John Wiley & Sons.
- Palma, D. A., Verbakel, W. F. A. R., Otto, K., & Senan, S., 2010. New developments in arc radiation therapy: A review. In *Cancer Treatment Reviews* (Vol. 36, Issue 5, pp. 393–399). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2010.01.004>
- Petibois, C., & Délérís, G., 2006. Chemical mapping of tumor progression by FT-IR imaging: towards molecular histopathology. *Trends in Biotechnology*, 24(10), 455–462.

- Petrich, W., Dolenko, B., Früh, J., Ganz, M., Greger, H., Jacob, S., Keller, F., Nikulin, A. E., Otto, M., Quarder, O., Somorjai, R. L., Staib, A., Werner, G., & Wielinger, H., 2000. Disease pattern recognition in infrared spectra of human sera with diabetes mellitus as an example. *Applied Optics*, 39(19), 3372. <https://doi.org/10.1364/AO.39.003372>
- Pradier, C. M., & Chabal, Y. J., 2011. Biointerface Characterization by Advanced IR Spectroscopy. In *Biointerface Characterization by Advanced IR Spectroscopy*. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-61094-1>
- R, S., J, P., & CA, B., 2010. Adjuvant therapy in non-small cell lung cancer: current and future directions. *The Oncologist*.
- Raz, D. J., Zell, J. A., Ou, S. H. I., Gandara, D. R., Anton-Culver, H., & Jablons, D. M., 2007. Natural history of stage I non-small cell lung cancer: Implications for early detection. *Chest*, 132(1). <https://doi.org/10.1378/chest.06-3096>
- Reck, M., Popat, S., Reinmuth, N., De Ruyscher, D., Kerr, K. M., & Peters, S., 2014. Metastatic non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 25, iii27–iii39. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu199>
- Reck, M., Rodríguez-Abreu, D., Robinson, A. G., Hui, R., Csösz, T., Fülöp, A., Gottfried, M., Peled, N., Tafreshi, A., Cuffe, S., O'Brien, M., Rao, S., Hotta, K., Leiby, M. A., Lubiniecki, G. M., Shentu, Y., Rangwala, R., & Brahmer, J. R., 2016. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1–Positive Non–Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1606774>
- Rieke, G. H., 2009. History of infrared telescopes and astronomy. *Experimental Astronomy*, 25(1–3), 125–141. <https://doi.org/10.1007/S10686-009-9148-7>
- Romeo, M., Mohlenhoff, B., Jennings, M., & Diem, M., 2006. Infrared micro-spectroscopic studies of epithelial cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1758(7), 915–922. <https://doi.org/10.1016/J.BBAMEM.2006.05.010>
- Rowell, N. P., & O'Rourke, N., 2004. Concurrent chemoradiotherapy in non-small cell lung cancer. In *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd002140.pub2>
- Rusch, V. W., Giroux, D. J., Kraut, M. J., Crowley, J., Hazuka, M., Johnson, D., Goldberg, M., Detterbeck, F., Shepherd, F., Burkes, R., Winton, T., Deschamps, C., Livingston, R., & Gandara, D., 2001. Induction chemoradiation and surgical resection for non-small cell lung carcinomas of the superior sulcus: Initial results of southwest oncology group trial 9416 (Intergroup Trial 0160). *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. <https://doi.org/10.1067/mtc.2001.112465>
- Sahu, R. K., & Mordechai, S., 2005. Fourier transform infrared spectroscopy in cancer detection. *Future Oncology (London, England)*, 1(5), 635–647. <https://doi.org/10.2217/14796694.1.5.635>
- Salem, A., Asselin, M. C., Reymen, B., Jackson, A., Lambin, P., West, C. M. L., O'Connor, J. P. B., & Faivre-Finn, C., 2018. Targeting Hypoxia to Improve Non–Small Cell Lung Cancer Outcome. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 110(1), 14–30. <https://doi.org/10.1093/JNCI/DJX160>
- Shaw, R. A., & Mantsch, H. H., 2008. Infrared Spectroscopy of Biological Fluids in Clinical and Diagnostic Analysis. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a0106.pub2>

- Sidorov, N. V., Palatnikov, M. N., Yanichev, A. A., Titov, R. A., & Teplyakova, N. A., 2016. Structural Disorder of LiNbO₃:B Crystals and its Manifestation in Raman Spectra. *Journal of Applied Spectroscopy*, 83(5), 750–756. <https://doi.org/10.1007/s10812-016-0358-2>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A., 2019. Cancer statistics, 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. <https://doi.org/10.3322/caac.21551>
- Siegel RL, Miller KD, J. A., 2016. No Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin*, 66(1), 7–30.
- Singh, K. S., Majik, M. S., & Tilvi, S., 2014. Vibrational Spectroscopy for Structural Characterization of Bioactive Compounds. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 65, 115–148. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63359-0.00006-9>
- Slotman, B. J., Van Tinteren, H., Praag, J. O., Kneegjens, J. L., El Sharouni, S. Y., Hatton, M., Keijser, A., Faivre-Finn, C., & Senan, S., 2015. Use of thoracic radiotherapy for extensive stage small-cell lung cancer: A phase 3 randomised controlled trial. *The Lancet*. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61085-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61085-0)
- Smith, A. L. (Albert L., 1979. *Applied infrared spectroscopy : fundamentals, techniques, and analytical problem-solving*. 322.
- Smith, B. C., 2011. *Fundamentals of fourier transform infrared spectroscopy, second edition*. In *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Second Edition*.
- Society, A. C., 2018. *Cancer Facts & Figures 2018*. American Cancer Society.
- Stewart, L. A., & Pignon, J. P., 1995. Chemotherapy in non-small cell lung cancer: A meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomised clinical trials. *British Medical Journal*. [https://doi.org/10.1016/0169-5002\(96\)85918-6](https://doi.org/10.1016/0169-5002(96)85918-6)
- Stuart, B. H., 2005. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. In *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. <https://doi.org/10.1002/0470011149>
- T.C. Halk Sağlığı Kurumu., 2018. Türkiye Kanser İstatistikleri 2015. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Müdürlüğü, 1–64. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2015.pdf
- Tang, M., Xia, L., Wei, D., Yan, S., Du, C., & Cui, H. L., 2017. Distinguishing different cancerous human cells by Raman spectroscopy based on discriminant analysis methods. *Applied Sciences (Switzerland)*, 7(9). <https://doi.org/10.3390/APP7090900>
- Tanoue, L. T., & Detterbeck, F. C., 2009. New TNM classification for non-small-cell lung cancer. In *Expert Review of Anticancer Therapy*. <https://doi.org/10.1586/ERA.09.11>
- Thermo Nicolet., 2001. *Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry*. Thermo Nicolet Corporation.
- Thomas, A., & Hassan, R., 2012. Immunotherapies for non-small-cell lung cancer and mesothelioma. In *The Lancet Oncology*. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70126-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70126-2)
- Topalian, S. L., Weiner, G. J., & Pardoll, D. M., 2011. Cancer immunotherapy comes of age. In *Journal of Clinical Oncology*. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.38.0899>
- Travis, W. D., Brambilla, E., & Riely, G. J., 2013. New pathologic classification of lung cancer: Relevance for clinical practice and clinical trials. In *Journal of Clinical Oncology*. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.46.9270>
- Túlio, H., & Oliveira, A. M. De., 1974. *Chemometrics : Theory and Application*. Figure 1.

- Turrisi, A. T., Kim, K., Blum, R., Sause, W. T., Livingston, R. B., Komaki, R., Wagner, H., Aisner, S., & Johnson, D. H., 1999. Twice-Daily Compared with Once-Daily Thoracic Radiotherapy in Limited Small-Cell Lung Cancer Treated Concurrently with Cisplatin and Etoposide. *New England Journal of Medicine*. <https://doi.org/10.1056/nejm199901283400403>
- Van Nest, S. J., Nicholson, L. M., Devorkin, L., Brolo, A. G., Lum, J. J., & Jirasek, A., 2018. Raman Spectroscopic Signatures Reveal Distinct Biochemical and Temporal Changes in Irradiated Human Breast Adenocarcinoma Xenografts. *Radiation Research*, 189(5), 497–504. <https://doi.org/10.1667/RR15003.1>
- Van Nest, S. J., Nicholson, L. M., Pavey, N., Hindi, M. N., Brolo, A. G., Jirasek, A., & Lum, J. J., 2019. Raman spectroscopy detects metabolic signatures of radiation response and hypoxic fluctuations in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer*, 19(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/S12885-019-5686-1/FIGURES/6>
- Vapnik, V. N., 2000. The Nature of Statistical Learning Theory. The Nature of Statistical Learning Theory. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-3264-1>
- Vaupel, P., 2004a. Tumor microenvironmental physiology and its implications for radiation oncology. *Seminars in Radiation Oncology*, 14(3), 198–206. <https://doi.org/10.1016/J.SEMRADONC.2004.04.008>
- Vaupel, P., 2004b. Tumor microenvironmental physiology and its implications for radiation oncology. *Seminars in Radiation Oncology*, 14(3), 198–206. <https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2004.04.008>
- Vaupel, P., Thews, O., & Hoeckel, M., 2001. Introduction Treatment Resistance of Solid Tumors Role of Hypoxia and Anemia. In *Medical Oncology* (Vol. 18, Issue 4).
- Walsh, M. J., Singh, M. N., Pollock, H. M., Cooper, L. J., German, M. J., Stringfellow, H. F., Fullwood, N. J., Paraskevaidis, E., Martin-Hirsch, P. L., & Martin, F. L., 2007. ATR microspectroscopy with multivariate analysis segregates grades of exfoliative cervical cytology. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 352(1), 213–219. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2006.11.005>
- Wang, F., Cao, S., Yan, R., Wang, Z., Wang, D., & Yang, H., 2017. Selectivity/specificity improvement strategies in surface-enhanced raman spectroscopy analysis. In *Sensors* (Switzerland). <https://doi.org/10.3390/s17112689>
- Wang, T. D., Triadafilopoulos, G., Crawford, J. M., Dixon, L. R., Bhandari, T., Sahbaie, P., Friedland, S., Soetikno, R., & Contag, C. H., 2007. Detection of endogenous biomolecules in Barrett's esophagus by Fourier transform infrared spectroscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(40), 15864–15869. <https://doi.org/10.1073/pnas.0707567104>
- Wang, W., Zhao, J., Short, M., & Zeng, H., 2015. Real-time in vivo cancer diagnosis using raman spectroscopy. *Journal of Biophotonics*. <https://doi.org/10.1002/jbio.201400026>
- Warde, P., & Payne, D., 1992. Does thoracic irradiation improve survival and local control in limited-stage small-cell carcinoma of the lung? A meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology*. <https://doi.org/10.1200/JCO.1992.10.6.890>
- Webb, S., 1998. Advances in treatment with intensity-modulated conformal radiotherapy. In *Tumori* (Vol. 84, Issue 2, pp. 112–126). Il Pensiero Scientifico Editore s.r.l. <https://doi.org/10.1177/030089169808400206>
- Weinert, T., & Lydall, D., 1993. Cell cycle checkpoints, genetic instability and cancer.

- Seminars in Cancer Biology, 4(2), 129–140.
<https://europepmc.org/article/med/8513148>
- Westeel, V., 2003. Diagnosis of lung cancer. In *La Revue du praticien* (Vol. 53, Issue 7, pp. 727–734). Elsevier. https://doi.org/10.1378/chest.123.1_suppl.129s
- Winn, J., Criminisi, A., & Minka, T., 2005. Object categorization by learned universal visual dictionary. *Proceedings of the IEEE International Conference on Computer Vision, II*, 1800–1807. <https://doi.org/10.1109/ICCV.2005.171>
- Wisnivesky, J. P., Mushlin, A. I., Sicherman, N., & Henschke, C., 2003. The cost-effectiveness of low-dose CT screening for lung cancer: Preliminary results of baseline screening. *Chest*. <https://doi.org/10.1378/chest.124.2.614>
- World Health Organization., 2020. World Helath Rankings.
- Xia, T., Li, H., Sun, Q., Wang, Y., Fan, N., Yu, Y., Li, P., & Chang, J. Y., 2006. Promising clinical outcome of stereotactic body radiation therapy for patients with inoperable Stage I/II non-small-cell lung cancer. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 66(1), 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2006.04.013>
- Yasser, M., Shaikh, R., Chilakapati, K., & Teni, T., 2014. Raman Spectroscopic Study of Radioresistant Oral Cancer Sublines Established by Fractionated Ionizing Radiation. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097777>
- Zhang, Z., Murtagh, F., Poucke, S. Van, Lin, S., & Lan, P., 2017. Hierarchical cluster analysis in clinical research with heterogeneous study population: highlighting its visualization with R. *Annals of Translational Medicine*, 5(4). <https://doi.org/10.21037/ATM.2017.02.05>

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı: Doğum tarihi: Doğum Yeri: Uyruğu: Adres: Tel: E-mail:	Yılmaz ŞAHİN
Eğitim	
Lise: Lisans: Yüksek lisans: Doktora:	Erzurum Atatürk Lisesi Erzurum Atatürk Üniversitesi-Fizik Erzurum Atatürk Üniversitesi-Katıhal Fiziği Erzurum Atatürk Üniversitesi-Katıhal Fiziği
Akademik ve İdari Deneyim	
2020 –Halen: Müdür Yrd: Atatürk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO 2015–Halen: Öğretim Görevlisi: Atatürk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO 2015-2020: Atatürk Üniversitesi Tıp Fak. Radyasyon Onkolojisi AD.	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Türk Fizik Derneği Türk Medikal Fizik Derneği Türk Radyasyon Onkokolojisi Derneği European Society For Radiotherapy & Oncology Radyasyondan Korunma Uzmanları Derneği	