Arşiv Kaynak Tarama Dergisi
Archives Medical Review Journal

DERLEME/REVIEW

Mineralize Dokuların Moleküler Karakterizasyonunda Raman Spektroskopisinin Kullanımı

The Use of Raman Spectroscopy in the Molecular Characterization of Mineralized Tissues

Ömer Ülker[1]

[1]Nevsehir Haci Bektas Veli University, Faculty of Dentistry, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Nevsehir, Türkiye

ABSTRACT

Raman spectroscopy is a non-invasive and highly sensitive technique that enables detailed analysis of the biochemical composition and internal organization of bone. In recent years, it has been widely used to investigate the interactions between the mineral and organic components of bone and to better understand how these interactions influence mechanical strength. Raman spectroscopy provides quantitative information on parameters such as the crystallinity of hydroxyapatite, the mineral-to-matrix ratio, carbonate substitution, and the alignment of mineral crystals relative to collagen fibers. In addition, by revealing conformational changes in collagen structure, it offers valuable insights into the mineralization process and overall bone quality. This approach allows for a deeper understanding of microstructural alterations that determine mechanical properties such as stiffness, elasticity, and brittleness. Studies reviewed in the literature demonstrate that Raman spectroscopy has significant potential for detecting early biochemical changes in clinical conditions including osteoporosis, osteoarthritis, fracture healing, and metabolic bone diseases. Moreover, in dentistry and oral and maxillofacial surgery, it has emerged as an important research tool for assessing alveolar bone quality, analyzing bone graft integration, and monitoring bone regeneration processes at the molecular level. Overall, Raman spectroscopy represents a powerful method for the comprehensive and multidimensional evaluation of bone in both basic research and clinical settings. Growing evidence suggests that this technology may contribute to the development of personalized bone health strategies and serve as a complementary diagnostic approach for predicting treatment outcomes in maxillofacial surgery.

Keywords: Raman spectroscopy, mineralized tissue, bone regeneration, bone analysis

ÖZET

Raman spektroskopisi, kemiğin biyokimyasal yapısını ve iç düzenini ayrıntılı biçimde incelemeye olanak tanıyan, invazif olmayan ve yüksek hassasiyete sahip bir tekniktir. Son yıllarda bu yöntem, kemikteki mineral ve organik yapıların birbiriyle nasıl etkileştiğini ve bu etkileşimlerin kemiğin dayanıklılığı üzerindeki etkilerini anlamak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Raman spektroskopisi; kemikte bulunan hidroksiapatit mineralinin kristal düzenliliği, mineral-matriks oranı, karbonat substitüsyonu ve mineral kristallerinin kolajen liflerine göre hizalanması gibi parametreler hakkında nicel veriler sunar. Ayrıca kolajen yapısındaki konformasyonel değişimleri ortaya koyarak mineralizasyon süreci ve kemik kalitesi hakkında önemli bilgiler sağlar. Bu sayede kemiğin sertlik, esneklik ve kırılganlık gibi mekanik özelliklerini belirleyen mikroyapısal değişiklikler daha iyi anlaşılabilmektedir. Derlemede incelenen çalışmalar, Raman spektroskopisinin osteoporoz, osteoartrit, kırık iyileşmesi ve metabolik kemik hastalıkları gibi klinik durumlarda erken biyokimyasal değişimleri tespit etmede yüksek potansiyel taşıdığını göstermektedir. Bunun yanı sıra diş hekimliği ve ağız, diş ve çene cerrahisi alanında; alveolar kemiğin kalitesinin değerlendirilmesi, kemik greftlerinin entegrasyonunun analiz edilmesi ve kemik rejenerasyonu süreçlerinin moleküler düzeyde takibi gibi uygulamalarda da önemli bir araştırma aracı olarak öne çıkmaktadır. Genel olarak Raman spektroskopisi, hem temel araştırmalarda hem de klinik uygulamalarda kemiğin ayrıntılı ve çok boyutlu değerlendirilmesini mümkün kılan güçlü bir yöntemdir. Giderek artan kanıtlar, bu teknolojinin gelecekte kişiye özel kemik sağlığı stratejilerinin geliştirilmesinde ve çene cerrahisinde tedavi başarısının öngörülmesinde tamamlayıcı bir tanısal yaklaşım olarak önemli katkılar sağlayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Raman spektroskopisi, mineralize doku, kemik rejenerasyonu, kemik analizi

Correspondence Address / Yazışma Adresi
Ömer Ülker, Nevsehir Haci Bektas Veli University, Faculty of Dentistry, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Nevsehir, Türkiye e-mail: dr_omerulker@outlook.com

2026;35(2):163-176
doi:10.17827/aktd.1832324
Geliş tarihi/ Received: 29.11.2025
Kabul tarihi/Accepted: 09.06.2026

Giriş

Kemikler; koruma, destek ve hareket gibi temel işlevleri yerine getirmek üzere özelleşmiş, karmaşık yapılı kalsifiye dokulardır. Bu doku, kolajen matriks ve biyolojik apatit (kemik minerali) olmak üzere iki ana bileşenden oluşan doğal bir kompozit malzeme niteliğindedir. Kemiğin olağanüstü sertlik ve dayanıklılığı, mineral ve organik matriksin özgün mimarisi sayesinde sağlanır. Mineral faz kemiğe sertlik kazandırırken, kolajen matriks çekme dayanımı ve esneklik sağlar[1,2].

Her yıl milyonlarca insan çeşitli nedenlerle kemik kırıkları yaşamaktadır. Yalnızca Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda yaklaşık 6 milyondan fazla hasta kemik yaralanmaları nedeniyle tıbbi bakıma ihtiyaç duymaktadır. Bu vakaların yaklaşık %5–10'u cerrahi müdahale gerektirirken, büyük çoğunluğu komplikasyonsuz bir şekilde iyileşmektedir[3,4]. Kemik iyileşmesi, yeni kemik dokusunun oluşumu ile gerçekleşir. Bu süreçte önce granülasyon dokusu oluşur, ardından bu doku fibrokartilajinöz yapıdaki yumuşak kallus ile yer değiştirir ve son olarak sert kallus olarak bilinen olgun kemik dokusuna dönüşür[5]. Ancak bazı durumlarda bu süreç bozulabilir ve iyileşme tam olarak gerçekleşmeyebilir[6]. Bu nedenle, etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için normal ve bozulmuş kemik iyileşmesinin moleküler ve biyokimyasal mekanizmalarının anlaşılması büyük önem taşımaktadır[7].

Kemik iyileşmesini değerlendirmede radyografik görüntüleme ve klinik muayene gibi geleneksel yöntemler hâlen altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak bu yöntemler, iyileşme sürecinde meydana gelen biyokimyasal ve yapısal değişiklikleri, özellikle mineral ve organik matriks bileşimini yeterince yansıtamamaktadır.

Raman spektroskopisi, moleküler bağların belirli dalga sayılarında titreşimine dayanan ve her moleküle özgü bir "kimyasal parmak izi" sağlayan elastik olmayan ışık saçılımı prensibiyle çalışan bir tekniktir[8]. Kemik dokusunun incelenmesinde Raman spektroskopisi, hem mineral faz hem de protein matriksine ait karakteristik titreşimleri analiz ederek bu bileşenlerin yapısal özellikleri hakkında ayrıntılı bilgi sunar[9]. Bu nedenle Raman spektroskopisi, geleneksel yöntemleri tamamlayan, kemik iyileşme sürecinin moleküler düzeyde değerlendirilmesinde değerli bilgiler sağlayan güncel bir yaklaşımdır.

Bu derlemede, kemik ve sert doku analizinde raman spektroskopisinin kullanımına ilişkin literatür geniş bir perspektifle ele alınmıştır. Konuya ilişkin çalışmalar; kemik yapısının değerlendirilmesi, iyileşme süreçlerinin izlenmesi ve mineral–organik matriks etkileşiminin karakterizasyonu bağlamında incelenmiş ve mevcut bilgi birikimi bütüncül bir yaklaşımla tartışılmıştır. Özellikle raman spektroskopisinin kemik dokunun kimyasal ve yapısal özelliklerini ortaya koymadaki rolü, farklı araştırma modelleri ve uygulama alanları çerçevesinde değerlendirilmiştir. Literatürde bildirilen yöntemsel yaklaşımlar ve temel bulgular karşılaştırmalı biçimde yorumlanarak, tekniğin hem deneysel çalışmalarda hem de klinik uygulamalarda sunduğu potansiyel katkılar tematik başlıklar altında özetlenmiştir.

Bu derleme, kemik iyileşmesinin değerlendirilmesinde kullanılan mevcut yöntemlerin biyokimyasal ve moleküler değişimleri yansıtmadaki sınırlılıklarını ele alarak, raman spektroskopisinin bu açığı nasıl giderebileceğini ortaya koymayı amaçlamaktadır. Özellikle, iyileşme sürecinde mineral ve kolajen matriks yapısındaki değişimlerin erken, hassas ve non-invaziv biçimde tespit edilmesine yönelik bilgi eksikliğine odaklanılmakta; raman spektroskopisinin bu kritik ihtiyaca çözüm sağlayıp sağlayamayacağı kapsamlı biçimde tartışılmaktadır.

Kemik Dokunun Matriks Yapısı

Kemik, organik ve inorganik bileşenlerin bir araya gelmesiyle oluşan, yüksek derecede organize ve biyolojik olarak dinamik bir kompozit dokudur. Bu yapı, hem mekanik dayanıklılığı hem de metabolik aktiviteyi sağlayarak kemiğin temel biyolojik işlevlerine olanak tanır.

Kemik Matriksinin İnorganik ve Organik Bileşimi

Kemik dokusu, ağırlıkça yaklaşık %70 inorganik minerallerden, %5–8 sudan ve geri kalan kısmı organik bileşenlerden oluşur. Kemiğin inorganik fazının yaklaşık %95'i, hidroksiapatit [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$] adı verilen

kristalin yapıdaki bir kalsiyum fosfattan meydana gelir. Bu mineral faz, kemiğe sertlik, basınca karşı direnç ve uzun dönem yapısal stabilite kazandırır[10,11].

Organik faz ise başlıca kolajen liflerinden ve az miktarda nonkolajenöz proteinlerden oluşur. Organik bileşenin yaklaşık %90'ını tip I kolajen oluştururken, geri kalan kısmı tip V, III, XI ve XIII gibi diğer kolajen tipleri ile çeşitli yapısal proteinleri içerir. Tip I kolajen, fibril organizasyonunun temelini oluşturarak minerallerin bu fibriller üzerine düzenli şekilde yerleşmesine olanak sağlar. Bu hiyerarşik organizasyon, kemiğin hem mikroyapısal bütünlüğünü hem de mekanik dayanıklılığını belirleyen başlıca unsurdur.

Kolajen ve Nonkolajenöz Proteinlerin Fonksiyonları

Kemiğin organik bileşiminin %10–15'ini oluşturan kolajen dışı proteinler (nonkolajenöz proteinler), kemik metabolizmasında ve doku onarımında önemli düzenleyici roller üstlenir. Bu proteinler; hücre-matriks etkileşimlerinin kontrolü, mineralizasyonun düzenlenmesi, kemik hücrelerinin farklılaşması ve doku yeniden şekillenmesi (remodelling) süreçlerinde aktif olarak görev yapar.

Başlıca nonkolajenöz proteinler arasında osteokalsin, osteopontin, trombospondin, sialoproteinler ve proteoglikanlar yer alır. Bunlardan özellikle osteokalsin, osteoblastlar tarafından sentezlenen ve hidroksiapatit kristallerine bağlanma özelliği sayesinde mineralizasyonun hassas bir biçimde düzenlenmesine katkı sağlayan bir glikoproteindir. Osteopontin ise hücre adezyonunda ve kemik remodelling sürecinde görev alarak matriksin yeniden yapılanmasına aracılık eder[12].

Kolajen ve nonkolajenöz proteinlerin birbirini tamamlayan bu işlevleri, kemiğin mekanik özelliklerinin, elastikiyetinin ve biyolojik yenilenme kapasitesinin korunmasında temel rol oynar. Bu nedenle, kemik matriksinin yapısal ve biyokimyasal bileşiminin dengesi, sağlıklı kemik gelişimi ve onarım süreçleri için kritik öneme sahiptir.

Matris ve Mineral Bileşimi, Kalitesi ve Kemik Dayanıklılığının Değerlendirilmesinde Mikroskobik Görüntüleme Teknikleri

Kemik dokusunun mekanik dayanıklılığı ve biyolojik fonksiyonları, hem mineral fazın hem de organik matrisin bileşimi ve kalitesiyle yakından ilişkilidir. Bu nedenle, matris ve mineral kalitesinin değerlendirilmesinde doku düzeyindeki heterojenliğin dikkate alınması büyük önem taşır. Sağlıklı bireylerde kemik yüzeyleri yaşam boyunca sürekli olarak yeniden yapım (formasyon) veya yıkım (rezorpsiyon) süreçlerine girer. Bu kemik yeniden şekillenmesi (remodelling) süreci, hasarlı dokunun onarılmasını sağlar ve kemiğin değişen mekanik yüklenme koşullarına uyum göstermesine olanak tanır.

Remodelling hem kortikal kemikte (periosteal ve endosteal yüzeyler ile havers kanalları boyunca) hem de trabeküler kemikte gerçekleşir. Yaşam süresi boyunca trabeküler kemikteki yeniden yapılanma hızı, kortikal kemiğe kıyasla daha yüksektir[13]. Araştırmalar, sağlıklı bireylerde mineral ve organik matris bileşiminin hem kronolojik yaşa hem de aynı birey içindeki doku yaşına bağlı olarak değiştiğini göstermiştir[14].

Günümüzde kemik kalitesi ve dayanıklılığının mikroyapısal düzeyde değerlendirilmesinde kullanılan başlıca yöntemler arasında mikrobilgisayarlı tomografi (μCT), küçük açılı X-ışını saçılması (SAXS), mikroradyografi, kantitatif geri saçılmış elektron görüntüleme (qBEI), taramalı akustik mikroskopi, atomik kuvvet mikroskobu (AFM), raman mikrospektroskopisi ve fourier dönüşümlü kızılötesi mikrospektroskopi (FTIRM) yer almaktadır[15,16]. Bu teknikler, kemiğin mineral ve organik bileşenlerinin dağılımını, yapısal organizasyonunu ve yaşa bağlı değişimlerini ayrıntılı biçimde incelemeye olanak tanıyarak kemik kalitesinin daha derinlemesine anlaşılmasını sağlamaktadır.

Raman ve Ftır Spektroskopisinin Karşılaştırılması: Klinik Translasyon ve Parametre Güvenilirliği

Raman ve Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopileri, mineralize dokuların moleküler karakterizasyonunda en yaygın titreşimsel spektroskopik teknikler olarak kullanılmaktadır. Her iki yöntem de doku kompozisyonu, mineral/matris ilişkisi ve kristal özellikleri hakkında bilgi sağlasa da, fiziksel prensipleri ve uygulama bağlamları açısından farklı avantaj ve sınırlamalara sahiptir:

Fiziksel prensipler: Raman spektroskopisi, moleküler polarize edilebilirlik değişimlerini ölçer ve suya düşük duyarlılık sergiler; FTIR ise dipol moment değişimini ölçer ve su tarafından güçlü absorpsiyona uğrayabilir. Bu, özellikle taze veya hidratlı biyolojik örneklerde Raman'ın avantajını ortaya koyar.

Klinik translasyon: Raman spektroskopisi fiber-optik prob entegrasyonuna ve in vivo uygulamalara uygunluğu ile FTIR'a göre translasyonel potansiyeli daha yüksektir, çünkü FTIR genellikle laboratuvar ortamında, ince kesitli örnek hazırlama gerektirir.

Parametre güvenilirliği: FTIR, mineral/matris oranı ve karbonat/fosfat gibi parametrelerin reprodüklenebilir nicel ölçümleri açısından uzun yıllardır kabul görmüş ve validasyonu gelişmiş bir yöntemdir; raman ise mikro yapısal heterojenlikleri daha yüksek mekânsal çözünürlükle ortaya koyabilir.

Klinik örnekler ve uygulama: Örneğin, raman spektroskopisi kemik ve implant materyalleri arasındaki kompozisyonel farklılıkları ayırt edebilmekte ve klinik görüntüleme ile korelasyon potansiyeli göstermektedir[17]. Bununla birlikte, mineral/matris oranı gibi önemli parametreler FTIR ile de klinik bağlamda değerlendirilebilir (ör. mineralizasyon ve karbonat substitüsyonu) ve FTIR'un bu parametrelerde uzun süreli metodolojik güvenilirliği vurgulanmıştır[18].

Bu karşılaştırma, iki titreşimsel spektroskopinin rakip değil, tamamlayıcı olduğunu göstermektedir: Raman spektroskopisi klinik translasyon ve in vivo analiz avantajı sağlarken, FTIR mikrospektroskopisi nicel mineral özelliklerinin klinik ve pre-klinik çalışmalarında güçlü referans tabanlı ölçümler sunar. Her iki yöntemin birlikte kullanımı, mineralize dokulardaki moleküler değişikliklerin daha kapsamlı bir şekilde anlaşılmasına katkı sağlar.

Raman Spektroskopisinin Prensibi ve Moleküler Düzeyde Bilgi Sağlama Kapasitesi

Raman spektroskopisi, moleküllerin titreşimsel enerji seviyeleri arasındaki geçişleri inceleyen bir spektroskopik tekniktir. Bu yöntem, görünür veya ultraviyole bölgedeki fotonların bir örnekteki titreşen moleküler bağlarla etkileşime girmesi sonucunda enerjilerinin bir kısmını kaybetmesi veya kazanmasıyla oluşan elastik olmayan ışık saçılımı (Raman saçılımı) prensibine dayanır. Her molekül, kendine özgü titreşimsel enerji düzeylerine sahip olduğundan, raman spektrumları her bir molekül için karakteristik bir "moleküler parmak izi" niteliği taşır[19].

Raman sinyalleri yalnızca moleküler yapı hakkında değil, aynı zamanda molekülün içinde bulunduğu kimyasal çevre hakkında da bilgi sağlar. Komşu moleküller veya iyonik etkileşimler, bir molekülün titreşimsel özelliklerini etkileyerek "moleküler komşuluk" olarak adlandırılan çevresel bağlam hakkında ek bilgiler sunar. Bu sayede Raman spektroskopisi, hem hedef molekülün hem de çevresindeki mikroortamın yapısal ve kimyasal özelliklerinin eş zamanlı olarak değerlendirilmesine olanak tanır.

Bir raman spektrumunda elde edilen titreşim bantlarının konumu, yoğunluğu, entegre alanı ve genişliği, belirli kimyasal türlerin fonksiyonel gruplarını veya molekül içindeki belirli bölgeleri tanımlamak için kullanılabilir. Titreşimsel bantlar çoğunlukla, farklı moleküler çevrelerden gelen piklerin üst üste binmesiyle oluşan bileşik bantlar şeklindedir. Bu bantların yüksek çözünürlükte ayrıştırılması, moleküler düzeyde en ayrıntılı yapısal bilginin elde edilmesini sağlar[20,21].

Raman Spektroskopisinde Analitik Aşamalar

Noise Reduction (Gürültü Azaltma)

Raman spektroskopisi, düşük sinyal/gürültü oranı nedeniyle doğal olarak gürültü içerebilir. Bu gürültüyü azaltmak için çeşitli filtreleme yöntemleri kullanılır. Fourier dönüşümü tabanlı filtreleme, wavelet transform gibi teknikler, spektrumda istenmeyen rasgele değişimlerin etkisini ortadan kaldırarak verinin doğruluğunu artırır. Gürültü azaltma, özellikle zayıf sinyallerin net bir şekilde analiz edilmesi gereken durumlarda kritik bir adımdır[22].

Baseline Correction (Temel Hattı Düzeltme)

Raman spektrumlarında sıklıkla gözlemlenen temel hat (baseline), sistematik hatalardan kaynaklanabilir (örneğin, ışık kaynağındaki dalgalanmalar veya optik cihazın özelliklerinden). Bu hataların düzeltilmesi, doğru analiz için önemlidir. Polynomial fitting, asansör düzeltmesi veya iteratif yöntemler gibi çeşitli algoritmalarla temel hatanın etkisi ortadan kaldırılır. Bu işlem, gerçek sinyalin doğru bir şekilde izlenebilmesi için gereklidir[23].

Spektrum Smoothing (Spektrum Düzleştirme)

Spektrum verileri bazen yüksek frekanslı, rastgele dalgalanmalara sahip olabilir, bu da spektrumun yorumlanmasını zorlaştırır. Smoothing (düzleştirme) işlemi, bu dalgalanmayı yumuşatarak daha net bir sinyal sağlar. Genellikle Savitzky-Golay filtresi veya moving average (hareketli ortalama) gibi teknikler kullanılır. Bu aşama, özellikle karmaşık spektrumlarda daha belirgin zirve ve çukur bölgelerinin doğruluğunu artırmak için önemlidir[23].

Kemik Dokusu Üzerine Raman Spektroskopisi Uygulamaları

Raman spektroskopisi, kemiğin hem mineral hem de organik bileşenlerini aynı anda analiz etme kapasitesi sayesinde, kemik biyolojisi ve malzeme bilimi alanlarında önemli bir araştırma aracına dönüşmüştür. Bu yöntem, invazif olmayan doğası, numune hazırlığının minimal gerekliliği ve yüksek kimyasal özgüllüğü sayesinde, kemiğin biyokimyasal bileşimi ile mekanik özellikleri arasındaki ilişkiyi anlamada güçlü bir araç olarak öne çıkmaktadır[19,20].

Raman analizi, kemik dokusundaki hidroksiapatit kristallerinin titreşim modlarını (özellikle fosfat ν_1 bandı ~960 cm^{-1} civarında) ve organik matriks bileşenlerini temsil eden bantları (örneğin amide I ve amide III bölgeleri) belirleyebilir. Bu bantlar aracılığıyla mineral ve kolajen oranı, mineral kristalinitesi, karbonat-substitüsyon düzeyi ve mineral hizalanması gibi parametreler nicel olarak değerlendirilebilir[21]. Bu göstergeler, kemiğin sertlik, elastikiyet ve kırılma direnci gibi mekanik özellikleriyle doğrudan ilişkilidir.

Ayrıca raman spektroskopisi, kemik patolojilerinin erken tanısında da umut vadeden bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. Osteoporoz, osteomalazi ve osteoartrit gibi hastalıklarda mineral-matriks oranındaki dengesizlikler ve kolajen yapısındaki değişimler Raman spektrumlarında karakteristik farklılıklar oluşturur. Bu özellik, Raman spektroskopisini biyokimyasal düzeyde hastalık saptama ve kemik kalitesi değerlendirmesinde tamamlayıcı bir tanısal araç hâline getirmektedir[24] (Tablo 1).

Tablo 1. Mineralize Dokularda Klinik Durum–Raman Parametresi–Biyolojik Anlam–Sınırlama İlişkisi [17,27,29].

Klinik Durum/Araştırma Modeli	Raman Parametresi	Biyolojik Anlamı	Sınırlamalar/Yorum Kısıtlılıkları
Osteoporoz	Mineral/Matris Oranı (ν_1 PO_4 ~960 cm^{-1} / Amide I ~1660 cm^{-1})	Azalmış mineralizasyon; kemik kalitesinde bozulma	Pik yüksekliği vs. pik alanı seçimi sonuçları etkiler; yaş ve anatomik bölge farklılıkları karıştırıcı olabilir
Osteoporotik kırık riski	Kristallinite (ν_1 PO_4 FWHM)	Artmış kristal boyutu → kırılganlık artışı	Spektral çözünürlüğe bağımlıdır; cihazlar arası karşılaştırılabilirlik sınırlı
Kemik iyileşmesi (fraktür onarımı)	Mineral/Matris Oranı zamanla artış	Mineralizasyon progresyonu	Erken dönemde yüksek organik içerik nedeniyle sinyal zayıf olabilir
Kemik grefti entegrasyonu	Karbonat/Fosfat Oranı (~1070/960 cm^{-1})	Mineral olgunluğu ve apatitin substitüsyon düzeyi	A- ve B- tipi karbonat ayrımı yapılamayabilir
İmplant çevresi kemik	ν_1 PO_4 yoğunluğu; Kristallinite	Yeni kemik oluşumu ve mineral organizasyonu	Metal implant kaynaklı sinyal saçılması; yüzey düzensizlikleri
Diyabetik kemik değişiklikleri	Amide I alt bant oranları (1660/1690)	Kollajen çapraz bağ değişiklikleri (AGE birikimi)	Pik ayrıştırma (dekonvolüsyon) operatör bağımlıdır
Dentin çürüğü	Fosfat ve karbonat bantlarında azalma	Demineralizasyon	Floresans interferansı; yüzey hidrasyonu
Mine remineralizasyonu	ν_1 PO_4 pik yoğunluğu artışı	Mineral kazanımı	Yüzeysel ölçüm; derinlik analizi sınırlı (konfokal ayar gerekli)

Sonuç olarak, Raman spektroskopisi kemiğin kompozisyonel, yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün çok yönlü bir analizini mümkün kılmaktadır. Bu yönüyle, hem temel araştırmalarda hem de klinik uygulamalarda kemik kalitesi, doku yaşlanması ve rejeneratif süreçlerin değerlendirilmesinde güçlü bir potansiyel sunmaktadır.

Kemik Dokuya Spesifik Piklerin Klinik Yorumlamadaki Sınırları

Raman spektroskopisinde kemik dokuya özgü kabul edilen pikler (ör. 960 cm^{-1} fosfat ν1 bandı, 1003 cm^{-1} fenilalanin bandı, amide I bölgesi ~1660 cm^{-1}) tanısal açıdan çok değerli olsa da klinik yorumlamada bazı önemli sınırlamalar bulunur (Tablo 2).

Tablo 2. Kemik dokusunun karakteristik bantları[25]

Property	Treatment	Offset	Interaction
Intensity ratios			
ν_1 PO_4 /Amide I	<0.0001	0.0759	0.1781
ν_1 PO_4 /proline	0.5633	0.0003	0.1906
ν_1 PO_4 /Amide III	0.0006	0.8847	0.2650
ν_1 PO_4 /CH_2-wag	0.0004	0.0304	0.2682
OH-pro/pro	0.0303	0.0040	0.1253
ν_3CO_3/ν_1 PO_4	<0.0001	0.0065	0.0109
1/FWHM of ν_1 PO_4 [a]	<0.0001	0.0004	0.0079
CH_2-wag/Amide I	0.0403	0.6890	0.0698
Band ratios			
ν_1 PO_4 /Amide I	0.7708	0.0874	0.6112
ν_1 PO_4 /(pro+OH-pro)	0.0066	0.0025	0.1095
ν_1 PO_4 /Amide III	0.0095	0.7300	0.2099
ν_1 PO_4 /CH_2-wag	0.0495	0.0130	0.3038
OH-pro/pro	0.0064	0.4608	0.3380
ν_3CO_3/ν_1 PO_4	<0.0001	0.0003	0.0081
1/FWHM of ν_1 PO_4 [b]	0.0041	0.0002	0.0072
CH_2-wag/Amide I	0.3155	0.3255	0.3517

Piklerin özgüllük sorunu

- 960 cm^{-1} bandı mineralizasyonu (apatit kristal yapısı) iyi gösterir; ancak mineral fazın kristalinite, karbonatlaşma veya fiziksel stres gibi farklı etkilerden aynı yönde etkilenmesi, pik değişimlerinin hastalığa özgül yorumlanmasını zorlaştırır.
- 1003 cm^{-1} fenilalanin piki yalnızca kemik dokusuna özgü değildir; tüm proteinli dokularda görünür.

Amide piklerinin (özellikle Amide I) karmaşık yapısı

- Kolajen yapısı hakkında bilgi verse de Amide I bandı çoklu proteinlerin üst üste binmiş titreşimlerinden oluşur, bu nedenle tek başına kolajen kalite ya da çapraz bağlanma derecesi için yüksek doğruluk vermez.
- Nem, oryantasyon ve doku yapısındaki heterojenlik sinyali önemli ölçüde değiştirir[25].

Bazı Spesifik Hastalıklarda Raman Değişiklikleri

Osteoporoz (OP)

- **Mineral/Matriks Oranının Heterojenliği**

Osteoporozda mineral/matriks oranı, kemik dönüşüm dinamiklerine ve patofizyolojik duruma bağlı olarak farklılık gösterebilir; bazı bölgelerde azalma, bazı durumlarda ise artış bildirilmiştir. Bunun nedeni, yüksek-turnover osteoporozda mineralizasyon gecikmesi ile mineral içeriğinin görece düşmesi iken, düşük-turnover ya da ileri yaşlanma sürecinde göreceli mineral hipermineralizasyonu yansıtan artışın izlenebilmesidir. Bazı kafatası veya uzun kemik örneklerinde mineral/matriks oranında azalma, diğer modellerde ise değişen mineralizasyon trendleri bildirilmiştir[26].

- **Raman Spektroskopisinde Mineral/Matriks Azalışı**

Raman spektroskopik analizlerde özellikle osteoporotik kemiklerde phosphate (PO_4^{3-}) / matriks (Amide I/Amide III) bandı oranının azaldığı ve bunun mineral miktarının düştüğünü gösteren çalışmalar bulunmaktadır; bu eğilim, yüksek-turnover olgularda daha belirgindir[26].

- **Mineral/Kristalin Yapı ve Mineralizasyon Değişimi**

Osteoporotik kemiklerde Raman spektroskopide ν1 PO_4 bandının daralması, yalnızca mineral miktarının değil aynı zamanda hidroksiapatit mineral organizasyonunda ve kristalinite ile ilgili değişimlerin de göstergesi olarak raporlanmıştır; bu değişimler Raman spektral profiline yansır ve kemik mineral kalitesinde bozulmayı işaret eder**.** Bu tür Raman ölçümler, mineral/matriks ayrışımının osteoporotik kemiklerde farklılaşmasını değerlendirmede kullanılmaktadır[27].

Osteoartrit (OA)

Osteoartrit esas olarak eklem kıkırdağının bozulmasıyla ilişkilidir; ancak subkondral kemik ve kolajen yapısı da etkilenir.

Kolajen bantlarında genişleme (özellikle Amide I ve Amide III bölgeleri)

- Kolajenin ikincil yapısı bozuldukça ve lifler düzensizleşip parçalandıkça Amide I bandı (~1660 cm^{-1}) ve Amide III bandı (~1240–1300 cm^{-1}) genişler.
- Bu genişleme, kolajen çapraz bağlarının kaybı, denatürasyon ve fibril oryantasyonunun bozulmasıyla ilişkilidir.

Proteoglikan ve fenilalanin bantlarında azalma

- OA'da proteoglikan kaybı, C–H ve fenilalanin (1003 cm^{-1}) bantlarında şiddet azalmasıyla ilişkilendirilebilir.

Raman bu bozulmaları doğrudan moleküler düzeyde gösterdiği için erken dönemde yapısal değişiklikleri yakalama potansiyeli taşır[28].

Biyomedikal ve Kemik Araştırmalarında Raman Spektroskopisinin Güncel Uygulamaları

Son yıllarda raman spektroskopisi, biyolojik ve tıbbi araştırmalarda giderek artan bir kullanım alanı bulmuştur. Bu yöntem, örnek materyalin moleküler bileşimi ve yapısı hakkında ayrıntılı bilgi sağlayan, invaziv olmayan ve destrüktif etkisi bulunmayan yenilikçi bir analiz tekniğidir. Herhangi bir yan etkisinin olmaması ve biyolojik örneklerin bozulmadan incelenebilmesi, Raman spektroskopisini özellikle biyomedikal uygulamalar açısından cazip hale getirmektedir[30-35].

Son yıllarda geliştirilen ileri optik sistemler ve veri analiz yöntemleri, raman spektroskopisinin klinik uygulama potansiyelini artırmıştır. Bununla birlikte, in vivo ölçümlere geçiş süreci görece yavaş ilerlemiştir. Bu durum, yöntemin klinik ortamlarda güvenilir şekilde uygulanabilmesi için ileri teknolojik altyapı gereksinimlerinin yanı sıra, hekimler (özellikle cerrahlar) ile fizikçi/biyofizikçilerin etkin iş birliğini zorunlu kılmasından kaynaklanmaktadır. Buna rağmen, in vitro çalışmalarda elde edilen başarılı sonuçlar, Raman spektroskopisinin kanser tanısı, tümör evrelemesi ve doku sınıflandırması gibi biyomedikal alanlarda umut vadeden bir tanısal araç olduğunu göstermektedir[31,34].

Raman spektroskopisi, kemik dokusunun mekanik yüklenme, deformasyon ve iyileşme süreçlerinin moleküler düzeyde incelenmesinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle tibia ve femur kırıklarında, raman analizleri fosfat titreşim bantlarındaki konum değişikliklerini yüklenmeye bağlı olarak göstermiştir[36,37]. Mineral ve kolajen spektrumlarındaki farklılıklar, mikroçatlak bölgelerinde ve lokal girintilerde belirgin biçimde gözlemlenmiştir [24,38,39]. Kırık kemiklerde, raman analizleri mineral kaybının düzensiz dağılımını ve kolajen kalitesinde belirgin azalmayı özellikle kırık sınırlarında ortaya koymuştur[36].

Hayvan modelleriyle yapılan çalışmalar, raman spektroskopisinin kemik iyileşme sürecini izleme potansiyelini desteklemektedir. Yetişkin sıçanlarda yapılan stres kırığı deneylerinde, 14 günlük iyileşme süreci sonunda kemik dayanıklılığının yeniden kazanıldığı Raman ölçümleriyle doğrulanmıştır[5]. Uzun kemikler dışında, kafatası kemiklerini oluşturan kalvaryum üzerindeki defekt modelleri de kemik rejenerasyonunu incelemek için sıklıkla kullanılmaktadır[40]. Bu modellerde, kritik boyuttaki defektler doğal olarak iyileşmezken[41], kritik altı defektlerin kendiliğinden onarılabildiği bilinmektedir. Özellikle kritik altı kalvaryal defektler, kimyasal bileşimdeki değişimlerin ve iyileşme sürecinin non-invaziv biçimde izlenmesine olanak tanır.

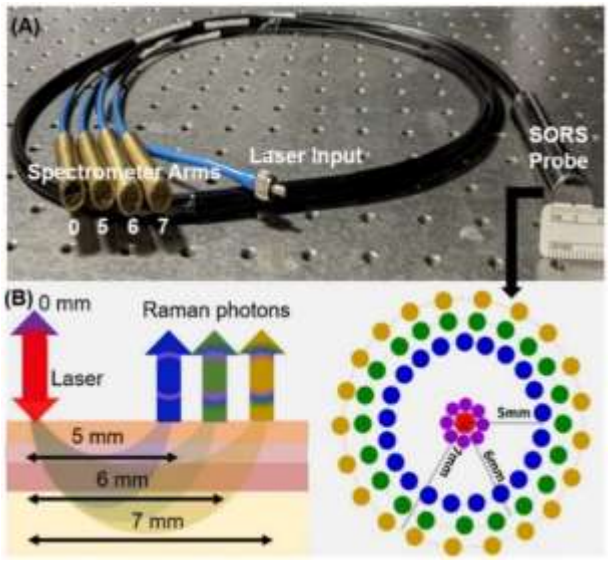
Bu tür modellerde, iyileşme sırasında oluşan kallus yapısına zarar vermeden raman spektroskopik ölçümler yapılabilmesi, kemiğin lokal kimyasal bileşimindeki değişikliklerin hassas bir şekilde belirlenmesine olanak sağlar. Bu yaklaşım, hem doku rejenerasyonu mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sunmakta hem de raman spektroskopisinin in vivo kemik iyileşmesinin izlenmesinde uygulanabilirliğini göstermektedir[42].

Klinik Uygulamalarda Fiber Optik Raman Problarının Gelişimi ve Kullanım Potansiyeli

Yeni nesil malzemeler, optik fiber bağlantılar için güçlü bir raman altyapısı sağlamaktadır. Bununla birlikte, bu tür fiber optik probların geliştirilmesi teknik açıdan oldukça karmaşık olup, özellikle tek kullanımlık probların üretimini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, klinik kullanıma uygun ve ekonomik olarak sürdürülebilir çözümler geliştirmek amacıyla, probların sterilizasyona dayanıklı olacak şekilde tasarlanması veya yeniden kullanılabilir özel başlıklarla donatılması önerilmektedir. Böyle bir yaklaşım, raman teknolojisinin tıbbi ortamlarda güvenli ve etkin bir biçimde uygulanmasına olanak sağlayacaktır[31,34,43].

Fiber optik tabanlı Raman probları çoğunlukla tek nokta sensörleri olarak işlev görmektedir. Bu nedenle, incelenen anatomik bölgeden elde edilen veriler genellikle yalnızca bir noktanın spektrumunu temsil eder. Daha güvenilir ve ortalama değerlere ulaşmak için, farklı doku bölgelerinden çoklu ölçümler yapılması gerekmektedir. Bu da veri toplama sürecinde ileri seviye mekansal örnekleme ve ölçüm tekrarı gereksinimini beraberinde getirmektedir (Şekil 1).

Günümüzde yapılan son dönem in vivo çalışmalar, Raman spektroskopisinin intraoperatif (cerrahi sırasında) rehberlik sağlama ve hastalık tanısında etkili bir araç olabileceğini göstermektedir. Bu uygulamalar, özellikle kardiyovasküler ve inflamatuar hastalıkların yanı sıra akciğer, meme, gastrointestinal sistem, üriner sistem, beyin ve cilt kanserleri gibi geniş bir klinik yelpazede umut verici sonuçlar sunmaktadır[34].



Şekil 1. Özel fiber optik prob, lazer girişi (A) etrafındaki lazer ve iç halkadan (0) 5 mm, 6 mm ve 7 mm uzaklıkta üç ofsete sahiptir. (B) üç farklı ofset halkası arasındaki toplama derinliklerindeki farklılıkları göstermektedir[25].

Raman Spektroskopisinin Mekansal Çözünürlüğü ve Yapısal Duyarlılığı

Raman spektroskopisi, yaklaşık 1 μm düzeyindeki yüksek mekansal çözünürlüğü sayesinde hücresel ve subhücresel ölçekte ayrıntılı kimyasal analizler yapılmasına olanak tanır. Ancak bu üstün çözünürlük, yöntemin geniş alanlı görüntüleme analizleri için kullanımını kısıtlar. Bu nedenle Raman analizi, genellikle daha küçük, anatomik olarak odaklanmış bölgelerin ayrıntılı karakterizasyonu için tercih edilmektedir.

Raman mikrospektroskopi sistemleri, floresan mikroskopları ile kolaylıkla entegre edilebilir. Bu entegrasyon, çift floresan etiketleme gibi yöntemlerle belirlenen spesifik hücresel veya doku bölgelerinin seçilmesine olanak tanıyarak, raman ölçümlerinin hedeflenmiş ve yüksek doğrulukta yapılmasını sağlar.

Raman spektroskopisinde kullanılan lazerler doğaları gereği polarize ışık yayar. Bu durum, elde edilen spektral bantların yoğunluklarının yorumlanmasında önemli bir faktördür. Bazı bantların yoğunluğu yalnızca ilgili moleküler türlerin konsantrasyonuna bağlı iken, diğer bantların yoğunluğu hem bu türlerin konsantrasyonundan hem de numunenin yapısal anizotropisi veya moleküler organizasyon düzeyinden etkilenmektedir. Bu özellik, Raman spektroskopisini yalnızca kimyasal bileşim değil, aynı zamanda biyolojik dokuların morfolojik ve yapısal düzeni hakkında da bilgi sağlayan güçlü bir araç haline getirmektedir[44].

Raman Spektroskopisinde Lazer Dalga Boyunun Kemik Analizine Etkisi

Raman spektroskopisinde lazer dalga boyu, kemik dokularının moleküler karakterizasyonunda sinyal kalitesi, derinlik penetrasyonu ve arka plan floresansının düzeyi üzerinde doğrudan etkilidir. Kemik gibi kompleks biyolojik dokularda floresans arka planı ve raman saçılma verimliliği, kullanılan uyarım dalga boyuna bağlı olarak değişir; yakın-kızılötesi (NIR) bölgesinde (~700 -1400 nm) çalışan lazerler (örneğin 785 nm veya 830 nm) floresans girişimini azaltarak daha temiz spektrumlar sağlar ve numune ısınmasını en aza indirir; bu nedenle bu dalga boyları kemik analizinde sıkça tercih edilmektedir. Ayrıca NIR lazerlerle kemik mineral/matriks ilişkisi, karbonat/fosfat oranı ve kollajen yapısı gibi kimyasal parametreler daha net ayırt edilebilir, çünkü birçok endojen fluorofor bu aralıkta daha az aktif olur ve raman sinyali daha iyi çözümlenir. 785 nm uyarım lazeri özellikle doku penetrasyonu ve düşük floresans arka planı dengesi sayesinde biyolojik örneklerde yaygın olarak rapor edilmiş olup yeni klinik araştırmalarda da tercih edilmektedir. 1064 nm ve benzeri daha uzun dalga boyları ise floresansı daha da azaltabilse de raman saçılma verimi düşebildiğinden, seçim uygulamaya göre optimize edilmelidir[45,46].

Raman Mikrospektroskopisi İle Kemik Kalitesi Ve Mekanik Özelliklerin Değerlendirilmesi

Raman spektrumlarında gözlenen bantlar genellikle birden fazla bileşenin üst üste binmesiyle oluşan bileşik bantlardır. Bu bantları oluşturan bireysel tepe noktaları (pikler), belirli kimyasal veya biyokimyasal ortamlara özgüdür. Dolayısıyla, ham spektrumların bileşenlerine ayrıştırılması, örneğin mineral fazı, kolajen matriksi veya diğer biyomoleküller hakkında detaylı yapısal ve kimyasal bilgi sağlayabilir. Bu ayrıştırma genellikle eğri uydurma algoritmaları ve spektral çözünürlük artırıcı matematiksel teknikler aracılığıyla gerçekleştirilir. Ancak, güvenilir sonuçlar elde etmek için minimum başlangıç parametresi gerektiren dekonvolüsyon yöntemleri ve nesnel veri işleme sağlayan ikinci türev spektroskopisi gibi istatistiksel olarak sağlam yaklaşımların kullanılması önerilmektedir[20].

Raman mikrospektroskopik görüntüleme, kemik dönüşüm süreçlerine bağlı olarak değişebilen doku özellikleri hakkında bilgi sağlayabilir. Bu nedenle analizlerde anatomik bölgelerin rastgele seçilmemesi önemlidir. Analizler, ya tüm kemik yüzeyini kapsayacak biçimde planlanmalı ya da doku yaşı ve mineralizasyon derecesi gibi objektif kriterler dikkate alınarak spesifik mikroanatomik alanlara odaklanmalıdır [44,47].

Titreşimsel spektroskopi teknikleri, kemiğin hem malzeme özellikleri hem de mikroyapısal düzeni hakkında benzersiz bilgiler sunar. Bununla birlikte, bu yöntemler genellikle biyopsi örnekleri üzerinden gerçekleştirildiğinden, rutin klinik kullanıma doğrudan uygun değildir. Buna rağmen, patofizyolojik mekanizmaların araştırıldığı deneysel çalışmalarda (özellikle standart klinik parametrelerin kırık riskini yeterince öngöremediği durumlarda) son derece değerli analiz araçları olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, farklı

tedavi stratejilerinin kemik materyal özellikleri üzerindeki etkilerini değerlendiren klinik araştırmalarda ve hayvan modellerinde sıklıkla tercih edilmektedir[48,49].

Biyopsi gereksinimini ortadan kaldırmak amacıyla, raman spektroskopisinin non-invaziv versiyonları üzerinde yoğun çalışmalar yürütülmektedir. Ancak bu durumda, analizlerin yalnızca periosteal kemik yüzeyi gibi sınırlı anatomik bölgelerde gerçekleştirilebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Raman analizlerinin, kemiğin mekanik özelliklerinin belirlenmesi ve değerlendirilmesinde önemli katkılar sağladığı bildirilmektedir. Bu nedenle, spektroskopik bulguların nano-, mikro- ve makro-düzeydeki mekanik testlerle (örneğin nanoindentasyon) ilişkilendirilmesi giderek artan bir ilgi görmektedir[50-52].

Analiz bölgeleri seçilirken doku yaşı ve mineralizasyon kapsamı hesaba katıldığında, raman spektroskopisiyle belirlenen kemik kalite indeksleri, hem nanomekanik hem de bütün kemik düzeyindeki mekanik parametrelerle güçlü korelasyon göstermektedir[53]. Konuya ilişkin literatür henüz sınırlı olmakla birlikte[54-56], spektroskopik olarak tanımlanan kemik kalite göstergelerinin mikromekanik testlerle entegrasyonu gelecekte klinik açıdan önemli bir potansiyel taşımaktadır. Bu potansiyelin temel nedeni, mikromekanik testlerin yalnızca mineral yoğunluğuna değil, doğrudan kemiğin mekanik dayanıklılığına dayalı ölçümler yapabilmesidir; bu da kırık riski yüksek hastaların daha hassas biçimde belirlenmesini sağlayabilir.

Raman mikrospektroskopisinin, mikro-BT (yapısal özelliklerin değerlendirilmesi), taramalı akustik mikroskopi (mekanik özelliklerin korelasyonu) ve geri saçılmış elektron görüntüleme (mineral dağılımının belirlenmesi) gibi diğer ileri görüntüleme yöntemleriyle birlikte kullanılması, kemiğin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin bütüncül bir biçimde analiz edilmesine olanak tanır[57-59]. Bu çok yönlü yaklaşım, aynı kemik yüzeyinden eşzamanlı olarak kompozisyonel, yapısal ve mekanik verilerin elde edilmesini mümkün kılarak, kemik kalitesi değerlendirmesinde yeni bir standart oluşturma potansiyeli taşımaktadır.

Raman Spektroskopisinin Ağız, Diş ve Çene Cerrahisinde Kemik Kalitesinin ve İyileşmesinin Değerlendirilmesindeki Güncel Rolü

Kemik rejenerasyonu ve greft entegrasyonu, ağız, diş ve çene cerrahisinde implant başarısını ve uzun dönem klinik prognozu doğrudan etkileyen temel faktörlerdir. Konvansiyonel radyolojik yöntemler, özellikle konik ışınlı bilgisayarlı tomografi (CBCT), kemik hacmi ve radyografik yoğunluk hakkında bilgi sağlamakla birlikte, kemiğin moleküler kompozisyonu ve mineral-matriks organizasyonu hakkında sınırlı veri sunmaktadır. Bu bağlamda raman spektroskopisi, kemik dokusunun biyokimyasal yapısını non-destrüktif ve yüksek özgüllükle analiz edebilen potansiyel bir tamamlayıcı yöntem olarak öne çıkmaktadır.

Vaddi ve ark.' larının yaptıkları çalışmada, yakın kızılötesi Raman spektroskopisi kullanılarak kortikal kemik, trabeküler kemik ve deproteinize bovin kaynaklı kemik grefti arasındaki spektral farklılıklar ex vivo koşullarda değerlendirilmiştir. Çalışma, özellikle ν1 fosfat (~960 cm^{-1}) bandı, karbonat/fosfat oranı ve amide I bant intensitesi gibi parametrelerin kemik tiplerinin ve greft materyallerinin ayırt edilmesinde anlamlı biyokimyasal göstergeler sunduğunu göstermiştir. Mineral/organik matriks oranındaki farklılıklar, kemik kalitesinin değerlendirilmesinde raman temelli parametrelerin kullanılabilirliğini desteklemektedir[45].

Buna paralel olarak, Gatin ve ark.' larının çalışmasında, maksiller sinüs tabanı augmentasyonu sonrası oluşan kemiğin kalitesi in vivo Raman spektroskopisi ile analiz edilmiştir. Bulgular, raman spektral parametrelerinin yeni oluşan kemiğin mineralizasyon derecesi ve matriks organizasyonu hakkında bilgi sağlayabildiğini ve bu yöntemin cerrahi sonrası kemik iyileşmesinin biyokimyasal takibinde uygulanabilir olabileceğini ortaya koymuştur. Özellikle greft materyali ile yeni kemik oluşumu arasındaki geçiş bölgelerinde spektral farklılıkların belirlenebilmesi, rejeneratif sürecin objektif olarak izlenmesine katkı sunmaktadır[60].

Bu iki çalışma birlikte değerlendirildiğinde, raman spektroskopisinin ağız, diş ve çene cerrahisinde kemik kalitesinin moleküler düzeyde karakterizasyonunda umut vadeden bir teknoloji olduğu görülmektedir. Özellikle implant planlaması, greft entegrasyonunun değerlendirilmesi ve sinüs augmentasyonu gibi rejeneratif prosedürlerde biyokimyasal temelli objektif parametreler sunması, bu yöntemin klinik translasyon potansiyelini artırmaktadır. Gelecekte yapılacak geniş örneklemli, longitudinal klinik çalışmalar, raman spektroskopisinin intraoperatif veya minimal invaziv tanısal bir araç olarak rutin klinik pratiğe entegrasyonunu mümkün kılabilir.

Raman Parametrelerinin Standardizasyon Problemi

Raman spektroskopisi mineralize dokuların moleküler karakterizasyonu için çok güçlü bir teknik olmasına rağmen, ölçüm ve analiz parametrelerinin standardize edilmemiş olması bu alandaki çalışmalarda önemli bir sınırlılık oluşturmaktadır. Raman spektrumlarının elde edilmesinde kullanılan lazer dalga boyu ve gücü, spektral çözünürlük, örnek hazırlama koşulları, sinyal-gürültü oranı ve özellikle bazal düzeltme ile normalizasyon yöntemleri çalışmadan çalışmaya değişiklik gösterebilmektedir. Bu farklılıklar, ν_1PO_4, Amide I veya Amide III gibi bantların seçimi ve hesaplanan mineral/matriks veya karbonat/phosphate oranları arasında doğrudan karşılaştırılabilirliği zorlaştırır. Son çalışmalar, Raman ile kemik kompozisyonu ölçümünde pre-işleme adımlarının ve analiz protokollerinin heterojenliğinin, sonuçların tekrarlanabilirliğini azalttığını ve farklı sistemler arasında tutarsızlığa yol açtığını belirtmektedir. Bu nedenle, ölçüm protokollerinin, spektral ön işleme yöntemlerinin ve sonuçların raporlanma kriterlerinin klinik translasyon ve çok merkezli araştırmalar için standardize edilmesi kritik öneme sahiptir[61].

Raman Spektroskopisinde Fluoresans İnterferansı

Raman spektroskopisinde fluoresans interferansı**,** biyolojik numunelerde Raman sinyallerinin en büyük sınırlayıcılarından biridir; çünkü numune içindeki çeşitli fluoroforlar (özgül moleküller veya endojen pigmentler) lazer uyarılması ile geniş bantlı ve çok daha güçlü bir floresans ışınımı üretir. Bu arka plan floresansı, raman saçılma sinyalinden genellikle birkaç kat daha yoğun olduğundan, Raman tepe bölgelerini gölgeleyebilir ve gerçek moleküler parmak izi verisinin net biçimde ortaya çıkmasını zorlaştırır. Fluoresans, raman ölçümünde spektral baz hattını yükselterek sinyal-gürültü oranını düşürür ve doğrudan kimyasal bağlara ilişkin bilgi çıkarımını güçleştirir; bu yüzden raman spektroskopi çalışmalarında arka plan bastırma**,** dalga boyu seçimi veya farklılaştırılmış uyarım teknikleri gibi stratejiler kullanılarak fluoresansın etkisi minimize edilmeye çalışılır. Özellikle biyolojik doku analizlerinde bu interferansın modellenmesi ve bastırılması, güvenilir moleküler çıkarımlar için kritik öneme sahiptir[62,63].

Makine Öğrenimi Destekli Raman Analizi

Makine öğrenimi destekli raman analizi, raman spektroskopisinin zayıf ipuçları ve yüksek boyutlu spektral verilerle çalışırken karşılaştığı zorlukları aşmak için son yıllarda önemli bir ivme kazandı. Raman spektroskopisinin sağladığı moleküler "parmak izi" verileri, geleneksel istatistik yöntemleriyle ayrıştırılması zor yüksek boyutlu veri kümeleri oluşturur; bu bağlamda makine öğrenimi algoritmaları, özellik çıkarımı, boyut indirgeme ve sınıflandırma adımlarında önemli avantaj sağlar. Özellikle yüzey güçlendirilmiş raman spektroskopisi ile birleştirilen makine öğrenimi, karmaşık biyolojik ve kimyasal matrikslerdeki bileşenlerin hızlı ve doğru şekilde belirlenmesini mümkün kılar; bu yaklaşım metabolit oranlarının tayininden hastalık tanısına kadar geniş uygulamalarda başarıyla kullanılmıştır. Destek vektör makineleri, uç gradyan artırma ve yapay sinir ağları gibi modeller hem gıda ve çevre analizlerinde hem de klinik tanıda raman spektrumları üzerinde otomatik desen tanıma ve sınıflandırma gerçekleştirerek verim ve doğrulukta belirgin artışlar sağlamıştır. Bu entegrasyon, raman spektroskopisini ham veri toplamaktan öteye taşıyarak akıllı analiz ve öngörücü modelleme kapasitesine sahip modern bir analitik platforma dönüştürmektedir[64].

Sonuç

Raman spektroskopisi, biyolojik dokuların moleküler düzeyde ve minimal invaziv biçimde analizine olanak sağlayarak klinik tanı alanında dikkat çekici bir potansiyel sunmaktadır. Özellikle kanser tanısında sağlıklı ve malign dokular arasındaki biyokimyasal farklılıkların ayırt edilmesinde umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Endoskopik entegrasyon ve gelişmiş spektral analiz algoritmaları yöntemin klinik uygulanabilirliğini artırmaktadır. Bununla birlikte, mevcut veriler raman spektroskopisinin henüz rutin klinik uygulamaya tam olarak entegre edilmiş bir yöntemden ziyade, tamamlayıcı ve karar destek aracı olarak değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. Geniş ölçekli klinik doğrulama çalışmaları, cihazlar arası standardizasyon ve veri analiz protokollerinin harmonizasyonu, yöntemin güvenli ve sürdürülebilir klinik kullanımına yönelik temel gerekliliklerdir. Klinik diş hekimliğinde ise kemik iyileşmesi ve greft entegrasyonu süreçlerinin moleküler düzeyde izlenmesinde raman spektroskopisi; kemik matriksinin mineral ve organik bileşenlerindeki değişimleri ortaya koyarak tedavi başarısının objektif değerlendirilmesine katkı sağlayabilecek bir yaklaşım

olarak öne çıkmaktadır. Raman spektroskopisinin gelecekte implant cerrahisi ve kemik rejenerasyonu alanında tamamlayıcı bir tanısal araç olarak yer bulması olası görünmektedir; ancak bu süreç, metodolojik tutarlılık ve klinik validasyon çalışmalarının başarısına bağlı olacaktır.

Kaynaklar

1. Khan AF, Awais M, Khan AS, Tabassum S, Chaudhry AA, Rehman IU. Raman spectroscopy of natural bone and synthetic apatites. Appl Spectrosc Rev. 2013;48:329-55.
2. Doblare M, Garcia JM, Gomez MJ. Modelling bone tissue fracture and healing: a review. Eng Fract Mech. 2004;71:1809-40.
3. Haas NP. Callus modulation--fiction or reality. Chirurg. 2000;71:987-88.
4. Hall BK. Bones and cartilage: developmental and evolutionary skeletal biology. Elsevier Ltd. 2015.
5. Uthgenannt BA, Kramer MH, Hwu JA, Wopenka B, Silva MJ. Skeletal self-repair: stress fracture healing by rapid formation and densification of woven bone. J Bone Miner Res. 2007;22:1548-56.
6. Rodriguez-Merchan EC, Forriol F. Nonunion: general principles and experimental data. Clin Orthop Relat Res. 2004;419:4-12.
7. Lienau J, Schmidt-Bleek K, Peters A, Weber H, Bail HJ, Duda GN et al. Insight into the molecular pathophysiology of delayed bone healing in a sheep model. Tissue Eng Part A. 2010;16:191-99.
8. Ember KJI, Hoeve MA, McAughtrie SL, Bergholt MS, Dwyer BJ, Stevens MM et al. Raman spectroscopy and regenerative medicine: a review. NPJ Regen Med. 2017;2:12.
9. Stewart S, Shea DA, Tarnowski CP, Morris MD, Wang D, Franceschi R et al. Trends in early mineralization of murine calvarial osteoblastic cultures: a Raman microscopic study. J Raman Spectrosc. 2002;33:536-43.
10. Boskey AL. Bone composition: relationship to bone fragility and antiosteoporotic drug effects. Bonekey Rep. 2013;2:447
11. Burr DB. Changes in bone matrix properties with aging. Bone. 2019;120:85-93.
12. Morgan EF, Gerstenfeld LC. The bone organ system: form and function. Marcus and Feldman's Osteoporosis. 2021:15-35.
13. Einhorn TA. The bone organ system: form and function. In: Marcus R, Feldman D, Kelsey J, eds. Osteoporosis. Academic Press. 1996.
14. Paschalis EP, Fratzl P, Gamsjaeger S et al. Aging versus postmenopausal osteoporosis: bone composition and maturation kinetics at actively-forming trabecular surfaces of female subjects aged 1 to 84 years. J Bone Miner Res. 2016;31:347-57.
15. Montagner F, Kaftandjian V, Farlay D, Brau D, Boivin G, Follet H. Validation of a novel microradiography device for characterization of bone mineralization. J Xray Sci Technol. 2015;23:201-11.
16. Tower RJ, Campbell GM, Muller M, Gluer CC, Tiwari S. Utilizing time-lapse micro-CT-correlated bisphosphonate binding kinetics and soft tissue-derived input functions to differentiate site-specific changes in bone metabolism in vivo. Bone. 2015;74:171-81.
17. Vaddi A, Tadinada A, Deymier A. An ex vivo comparison of near-infrared Raman spectroscopy and cone beam computed tomography in the assessment of bone, dental hard tissues, and bone graft materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2025;139:248-59.
18. Taylor EA, Donnelly E. Raman and Fourier transform infrared imaging for characterization of bone material properties. Bone. 2020;139:115490.
19. Gamsjaeger S, Mendelsohn R, Boskey A, Gourion-Arsiquaud S, Klaushofer K, Paschalis E. Vibrational spectroscopic imaging for the evaluation of matrix and mineral chemistry. Curr Osteoporos Rep. 2014;12:454-64.
20. Paschalis EP, Gamsjaeger S, Tatakis DN, Hassler N, Robins SP, Klaushofer K. Fourier transform infrared spectroscopic characterization of mineralizing type I collagen enzymatic trivalent cross-links. Calcif Tissue Int. 2015;96:18-29.
21. Spevak L, Flach CR, Hunter T, Mendelsohn R, Boskey A. Fourier transform infrared spectroscopic imaging parameters describing acid phosphate substitution in biologic hydroxyapatite. Calcif Tissue Int. 2013;92:418-28.
22. Liu Y, Yang X, Zhu C, Sun Y, Li M, Cheng X, et al. Reduction of relative intensity noise in a diamond Raman laser. Opt Express. 2024;32:18562-571.
23. Guo Y, Jin W, Wang W, He Y, Qiu S. Baseline correction for Raman spectra using a spectral estimation-based asymmetrically reweighted penalized least squares method. Appl Opt. 2023;62:4766-76.
24. McCreadie BR, Morris MD, Chen TC, Rao DS, Finney WF, Widjaja E et al. Bone tissue compositional differences in women with and without osteoporotic fracture. Bone. 2006;39:1190-95.
25. Gautam R, Ahmed R, Haugen E, Unal M, Fitzgerald S, Uppuganti S et al. Assessment of spatially offset Raman spectroscopy to detect differences in bone matrix quality. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2023;303:123240.
26. Orkoula MG, Vardaki MZ, Kontoyannis CG. Study of bone matrix changes induced by osteoporosis in rat tibia using Raman spectroscopy. Vib Spectrosc. 2012;63:404-8.
27. Chen K. et al. Raman spectroscopic analysis for osteoporosis identification in humans with hip fractures. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2024;314:124193.
28. Cook H, Crisford A, Bourdakos K, Dunlop D, Oreffo ROC, Mahajan S. Holistic vibrational spectromics assessment of human cartilage for osteoarthritis diagnosis. Biomed Opt Express. 2024;15:4264-80.
29. Fornasaro S, Rapani A, Farina F, et al. Spectroscopic insights into peri-implant mucositis and peri-implantitis: unveiling peri-implant crevicular fluid profiles using surface-enhanced Raman scattering. Analyst. 2024;149:885-94.
30. Fuji S, Sato S, Fukuda K, Okinaga T, Ariyoshi W, Usui M, et al. Diagnosis of periodontal disease from saliva samples using Fourier transform infrared microscopy coupled with partial least squares discriminant analysis. Anal Sci. 2016;32:225-31.
31. Gatin E, Nagy P, Paun I, Dubok O, Bucur V, Windisch P. Raman spectroscopy: application in periodontal and oral regenerative surgery for bone evaluation. IRBM. 2019;40:279-85.

32. Birtoiu IA, Rizea C, Togoe D, Munteanu RM, Micsa C, Rusu MI et al. Diagnosing clean margins through Raman spectroscopy in human and animal mammary tumour surgery: a short review. Interface Focus. 2016;6:20160067.
33. Stevens O, Petterson IEI, Day JCC, Stone N. Developing fiber optic Raman probes for applications in clinical spectroscopy. Chem Soc Rev. 2016;45:1919-34.
34. Cordero E, Latka I, Matthaus C, Schie IW, Popp J. In vivo Raman spectroscopy: from basics to applications. J Biomed Opt. 2018;23:071210.
35. Timchenko E, Timchenko P, Volova L, Frolov O, Zibin M, Bazhutova I. Raman spectroscopy of changes in the tissues of teeth with periodontitis. Diagnostics (Basel). 2020;10:876.
36. Callender AF, Finney WF, Morris MD, Sahar ND, Kohn DH, Kozloff KM et al. Dynamic mechanical testing system for Raman microscopy of bone tissue specimens. Vib Spectrosc. 2005;38:101-5.
37. de Carmejane O, Morris MD, Davis MK, Stixrude L, Tecklenburg M, Rajachar RM et al. Bone chemical structure response to mechanical stress studied by high pressure Raman spectroscopy. Calcif Tissue Int. 2005;76:207-213.
38. Carden A, Rajachar RM, Morris MD, Kohn DH. Ultrastructural changes accompanying the mechanical deformation of bone tissue: a Raman imaging study. Calcif Tissue Int. 2003;72:166-75.
39. Timlin JA, Carden A, Morris MD, Rajachar RM, Kohn DH. Raman spectroscopic imaging markers for fatigue-related microdamage in bovine bone. Anal Chem. 2000;72:2229-36.
40. Gomes PS, Fernandes MH. Rodent models in bone-related research: the relevance of calvarial defects in the assessment of bone regeneration strategies. Lab Anim. 2011;45:14-24.
41. Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. J Craniofac Surg. 1990;1:60-8.
42. Huang H, Feng S, Chen W, Yu Y, Lin D, Chen R. Study on fracture healing with small-splint-fixation therapy by near-infrared Raman spectroscopy. J Spectrosc. 2013;2013:810247.
43. Sfeatcu R, Luculescu C, Ciobanu L, Balan A, Gatin E, Patrascu I. Dental enamel quality and black tooth stain: a new approach and explanation by using Raman and AFM techniques. Part Sci Technol. 2015;33:429-35.
44. Paschalis EP, Gamsjaeger S, Klaushofer K. Vibrational spectroscopic techniques to assess bone quality. Osteoporos Int. 2017;28:2275-91.
45. Vaddi A, Tadinada A, Lurie A, Deymier A. Evaluation of near-infrared Raman spectroscopy in the differentiation of cortical bone, trabecular bone, and Bio-Oss bone graft: an ex-vivo study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2023;136:632-39.
46. Chang H, Hur W, Kang H, Jun BH. In vivo surface-enhanced Raman scattering techniques: nanoprobes, instrumentation, and applications. Light Sci Appl. 2025;14:79.
47. Dempster DW, Zhou H, Recker RR et al. A longitudinal study of skeletal histomorphometry at 6 and 24 months across four bone envelopes in postmenopausal women with osteoporosis receiving teriparatide or zoledronic acid in the SHOTZ trial. J Bone Miner Res. 2016;31:1429-39.
48. Schulmerich MV, Cole JH, Kreider JM, Esmonde-White F, Dooley KA, Goldstein SA. Transcutaneous Raman spectroscopy of murine bone in vivo. Appl Spectrosc. 2009;63:286-95.
49. Okagbare PI, Begun D, Tecklenburg M, Awonusi A, Goldstein SA, Morris MD. Noninvasive Raman spectroscopy of rat tibiae: approach to in vivo assessment of bone quality. J Biomed Opt. 2012;17:90502-90501.
50. Chauhan S, Manoj K, Rastogi S, Khan SA, Prasad A. Biomechanical investigation of the effect of extracorporeal irradiation on resected human bone. J Mech Behav Biomed Mater. 2017;65:791-800.
51. Aguado E, Mabilleau G, Goyenvalle E, Chappard D. Hypodynamia alters bone quality and trabecular microarchitecture. Calcif Tissue Int. 2017;100:332-40.
52. Zhang Y, McNerny EG, Terajima M et al. Loss of BMP signaling through BMPR1A in osteoblasts leads to greater collagen cross-link maturation and material-level mechanical properties in mouse femoral trabecular compartments. Bone. 2016;88:74-84.
53. McNerny EM, Gong B, Morris MD, Kohn DH. Bone fracture toughness and strength correlate with collagen cross-link maturity in a dose-controlled lathyrism mouse model. J Bone Miner Res. 2015;30:455-64.
54. Mirzaali MJ, Schwiedrzik JJ, Thaiwichai S, Best JP, Michler J, Zysset PK et al. Mechanical properties of cortical bone and their relationships with age, gender, composition and microindentation properties in the elderly. Bone. 2016;93:196-211.
55. Rubin MR, Paschalis EP, Poundarik A, Sroga GE, McMahon DJ, Gamsjaeger S et al. Advanced glycation endproducts and bone material properties in type 1 diabetic mice. PLoS One. 2016;11:e0154700.
56. Bacchetta J, Farlay D, Abelin-Genevois K, Lebourg L, Cochat P, Boivin G. Bone impairment in oxalosis: an ultrastructural bone analysis. Bone. 2015;81:161-67.
57. Roschger P, Paschalis EP, Fratzl P, Klaushofer K. Bone mineralization density distribution in health and disease. Bone. 2008;42:456-66.
58. Tower RJ, Campbell GM, Muller M, Gluer CC, Tiwari S. Utilizing time-lapse micro-CT-correlated bisphosphonate binding kinetics and soft tissue-derived input functions to differentiate site-specific changes in bone metabolism in vivo. Bone. 2015;74:171-81.
59. Raum K, Grimal Q, Varga P, Barkmann R, Gluer CC, Laugier P. Ultrasound to assess bone quality. Curr Osteoporos Rep. 2014;12:154-62.
60. Gatin E, Nagy P, Iordache SM, Iordache A-M, Luculescu CR, Grygorovskyy V. Preliminary assessment of in vivo Raman spectroscopy technique for bone quality evaluation of augmented maxillary sinus floor. Int J Environ Res Public Health. 2023;20:4789.
61. Unal M, Ahmed R, Mahadevan-Jansen A, Nyman JS. Compositional assessment of bone by Raman spectroscopy. Analyst. 2021;146:7464-90.

62. Vulchi RT, Morgunov V, Junjuri R, Bocklitz T. Artifacts and Anomalies in Raman Spectroscopy: A Review on Origins and Correction Procedures. Molecules. 2024;29:4748.
63. Salbreiter M, Frempong SB, Even S, Wagenhaus A, Girnus S, Rösch P et al. Lighting the Path: Raman Spectroscopy's Journey Through the Microbial Maze. Molecules. 2024;29:5956.
64. Khondakar KR, Mazumdar H, Das S, Kaushik A. Machine learning (ML)-assisted surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) technologies for sustainable health. Adv Colloid Interface Sci. 2025;344:103594.