



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**İSKEMİ MODİFİYE ALBÜMİN DÜZEYLERİNDE BİYOLOJİK
DEĞİŞKENLİKLERİN SAPTANMASI,
REFERANS DEĞİŞİM DEĞERİ VE TÜRK TOPLUMUNDAKİ
REFERANS DEĞERLERİNİN HESAPLANMASI**

Gül Özlem TUNCER

(DOKTORA TEZİ)

Bursa-2014



T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

İSKEMİ MODİFİYE ALBÜMİN DÜZEYLERİNDE BİYOLOJİK
DEĞİŞKENLİKLERİN SAPTANMASI,
REFERANS DEĞİŞİM DEĞERİ VE TÜRK TOPLUMUNDAKİ
REFERANS DEĞERLERİNİN HESAPLANMASI

Gül Özlem TUNCER

(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. Yeşim ÖZARDA

Bursa-2014

İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET	II – III
İNGİLİZCE ÖZET	IV – V
TABLO LİSTESİ	VI
ŞEKİL LİSTESİ	VII
KISALTMALAR	VIII
1. GİRİŞ	1 – 3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Analit Konsantrasyonlarına Ait Toplam Varyasyonlar	4 – 6
2.2. Biyolojik Varyasyon	7 – 9
2.2.1. Biyolojik Varyasyon ve Analitik Kalite	10 – 14
2.2.2. Biyolojik Varyasyon Bileşenlerinin Belirlenmesi ve Çalışma Prosedürleri	15 – 17
2.2.3. Sağlıklı Popülasyonda Biyolojik Varyasyon	18 – 20
2.2.4. Biyolojik Varyasyon ve Hastalıklar	20 – 21
2.3. Klinik Laboratuvarlarda Referans Aralık Kavramı	22 – 26
2.3.1. Popülasyona ve Bireye Dayalı Referans Aralık	27 – 30
2.4. Referans Değişim Değeri ve Bireysellik İndeksi	31 – 36
2.5. İskemi Modifiye Albumin ve Klinik Önemi	37 – 43
2.5.1. Albumin Kobalt Bağlanma Testi	43 – 45
3. GEREÇ ve YÖNTEM	46 – 52
4. BULGULAR	53 – 61
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	62 – 75
EKLER	76 – 79
KAYNAKLAR	80 – 96
TEŞEKKÜR	97
ÖZGEÇMİŞ	98

ÖZET

İskemi Modifiye Albumin Düzeylerinde Biyolojik Değişkenliklerin Saptanması, Referans Değişim Değeri ve Türk Toplumundaki Referans Değerlerinin Hesaplanması

Biyolojik varyasyon (BV) birey içi (CV_I) ve bireyler arası (CV_G) varyasyondan oluşmaktadır. Bu BV bileşenleri analitik kalite özelliklerini ve hedeflerini belirlemek, seri analit ölçümlerindeki değişiklikleri incelemek ve referans aralıkların (RA) klinik açıdan yararlılığını değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Popülasyona dayalı RA, $CV_I > CV_G$ durumunda geçerli olmakta, $CV_I < CV_G$ bulunması, hastalıkların belirlenmesinde bireye dayalı RA'nı daha duyarlı hale getirmektedir. Bireysellik indeksi (II), RA'ların klinik yararlılığının değerlendirilmesinde objektif bir kriter olarak sunulmaktadır. Bireye dayalı RA ve CV_I kullanılarak ardışık ölçüm sonuçları arasındaki anlamlı farklılıkları ifade eden Referans Değişim Değeri (RCV) belirlenebilmektedir.

Son yıllarda miyokardiyal iskemi belirteçleri potansiyel bir ilgi alanı olmaktadır. Bu belirteçler arasında İskemi Modifiye Albumin (İMA) FDA onayı almış ilk kardiyak iskemi belirteci olarak dikkat çekmektedir.

Bu çalışmada sabah 12-14 saatlik açlık sonrası, İMA BV bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla 24-50 yaş aralığındaki 21 (11 kadın, 10 erkek) sağlıklı gönüllüden ayın 0.,1., 2., 7.,14., 21. ve 28. günlerinde toplam 7; RA'nın belirlenmesi için 24-52 yaş aralığındaki 260 (130 kadın, 130 erkek) sağlıklı bireyden bir adet kan örneği alınmıştır. İMA kolorimetrik yöntemle ve Albumin- Kobalt Bağlanma (ACB) testiyle ölçülmüştür. ACB testi için analitik varyasyon (CV_A) değerleri ve analitik kalite özellikleri (doğruluktan sapma ve ölçüm belirsizliği) belirlenmiştir. Her iki cinsiyet ve tüm grup için CV_I , CV_G , II, RCV ve RA değerleri hesaplanmıştır.

İMA CV_I ve CV_G sonuçlarıyla belirlenen II değeri (1.5), hesapladığımız RA'larını klinik açıdan yararlı hale getirmektedir. Çalışmamıza ait BV bileşenleri ve RCV'nin, hesaplanan RA'lar ile beraber klinik kullanıma sunulabilir, konuyla ilgili yapılmış diğer çalışma verileriyle karşılaştırılabilir ve mümkünse birleştirilebilir olduğu kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Birey içi ve bireyler arası biyolojik varyasyon, analitik varyasyon, bireysellik indeksi, referans değişim değeri, İMA.

SUMMARY

Determination Of The Biological Variability On Ischemia Modified Albumin Levels And Calculated Reference Change Values And Reference Values In Turkish Society

Biological variation (BV) consists of within-subject (CV_I) and between-subject (CV_G) variation. These components of biological variation are used to determine quality specifications and analytical goals, evaluate serial changes for analytes, and assess the clinical utility of reference intervals (RI). Population based RI is valid if $CV_I > CV_G$, when is found $CV_I < CV_G$, this makes subject based RI more sensitive for detecting disease. The index of individuality (II) provides an objective criterion to evaluation of clinical utility of RI. The Reference Change Value (RCV), that means significant difference between consecutive measurements, can be determined with using subject based RIs and CV_I .

In recent years, a potential markers of myocardial ischemia is of interest. Among these markers the Ischemia Modified Albumin (IMA) has received FDA approval as a first marker of cardiac ischemia is point out.

In this study, with the aim of determining for the BV components of IMA, specimens from 21 (11 female, 10 male) healthy volunteers ages between 24-50 years old were collected at 0., 1., 2., 7., 14., 21. and 28. day of a month and determining for the RIs, specimens from 260 (130 female,130 male) healthy adults ages between 24-52 years old were collected after a 12 to 14 hours of fasting in the morning. IMA, as measured by the Albumin-Cobalt Binding (ACB) test with colorimetric method. For ACB test the values of analytical variation (CV_A) and analytical quality specifications (imprecision, bias) was determined, and the CV_I , CV_G , II, RCV and RIs for all group and both gender were calculated.

Determined II value (1.5) from our IMA CV_I and CV_G results makes calculated RI clinically useful. We think that BV components and RCV appear in our study, can be presented to clinical use with calculated RI, be comparable and if it is possible be combined with the data of other studies on this subject.

Key Words: Within and between-subject biological variation, analytical variation, index of individuality, reference change value, IMA.

TABLO LİSTESİ

Tablo.1. BV için analitik kalite hedefleri.....	13
Tablo.2. RA Belirleme Aşamaları.....	24
Tablo.3. Gerçek durum- tıbbi karar ilişkisi.....	34
Tablo.4. Albumin-Kobalt Bağlanma testi analiz aşamaları.....	49
Tablo.5. Analitik varyasyon hesaplamasında kullanılan fomüller şeması.....	51
Tablo.6. Erkek, kadın ve tüm grupta İMA için hesaplanan istatistik değerleri.....	54
Tablo.7. RG'ta İMA için belirlenen RA değerleri ve %90 GA'nda alt ve üst sınırları.....	55
Tablo.8. BVG bireylerde ACB testi ile elde edilen İMA değerleri.....	56
Tablo.9. Cochran testi için kritik değerler tablosu.....	58
Tablo.10. İMA'nın BVG ve her iki cinsiyet için hesaplanan CV_I ve CV_G değerleri ve %95 GA alt ve üst sınırları.....	59
Tablo.11. Düzey I ve Düzey II kontrol serumlarının gün içi ve günler arası CV_A değerleri.....	60
Tablo.12. İMA için hesaplanan RCV ve II değerleri.....	61
Tablo.13. Belirlenen analitik kalite özellikleri.....	61
Tablo.14. Farklı CV_A/CV_I oranları için CV_I 'un belirlenme gücü.....	67

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil.1. Farklı CV_I değerleri için hesaplanan CV_A ve toplam varyasyondaki değişimler.....	12
Şekil.2. %95 'lik merkezi alanı gösteren örnek histogram.....	25
Şekil.3. Gaussian dağılımında hesaplanmış alt ve üst RA'nın % 90 GA'nı gösteren örnek histogram.....	26
Şekil.4. Aynı standart sapmaya sahip 'kararlı durum' ve 'patolojik süreçte' analit değerlerinde gözlenen değişimleri yansıtan iki dağılımın karşılaştırılması.....	33
Şekil.5. İskemi durumunda İMA ve okside metallerin reaksiyonu.....	38
Şekil.6. İskemik olan ve olmayan grupta elde edilen İMA konsantrasyonları.....	44
Şekil.7. Referans grup bireylerde elde edilen İMA değerleri histogramı.....	53
Şekil.8. Kadın bireylere ait ait İMA değerleri histogramı.....	54
Şekil.9. Erkek bireylere ait ait İMA değerleri histogramı.....	54
Şekil.10. BVG bireylerde elde edilen İMA değer aralıkları.....	57

KISALTMALAR

- AKS:** Akut Koroner Sendrom
- ACB:** Albumin Kobalt Bağlanma Testi (Albumin-Cobalt Binding Assay)
- α :** Tip 1 hata
- β :** Tip 2 hata
- B:** Doğruluktan Sapma (Bias)
- BV:** Biyolojik Varyasyon
- BVG:** Biyolojik Varyasyon Grubu
- CV:** Varyasyon Katsayısı (Coefficient of Variation)
- CV_A:** Analitik Varyasyon (Analytical Variation)
- CV_I:** Birey içi Biyolojik Varyasyon (Within-Subject Variation)
- CV_G:** Bireyler arası Biyolojik Varyasyon (Between-Subject Variation)
- CLIA:** Klinik Laboratuvarlar İyileştirme Önerileri (Clinical Laboratory Improvement Amendments)
- CLSI:** Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi (Clinical and Laboratory Standards Institute)
- EKG:** Elektrokardiyografi
- FDA:** Gıda ve İlaç Uygulamaları Yönetimi (Food and Drug Administration)
- GA:** Güven Aralıkları (Confidence Intervals)
- I:** Ölçüm Belirsizliği (Imprecision)
- IFCC:** Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu (International Federation of Clinical Chemistry)
- II:** Bireysellik İndeksi (Index of Individuality)
- İKK:** İç Kalite Kontrol
- İMA:** İskemi Modifiye Albumin
- P:** Analitik Kesinlik (Precision)
- RA:** Referans Aralıklar
- RCV:** Referans Değişim Değeri (Reference Change Value)
- RG:** Referans Grup
- ROS:** Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species)
- SD:** Standart Sapma (Standard Deviation)
- Z_p:** İstatistiksel olasılık değeri

1. GİRİŞ

Tıbbi laboratuvarlar toplum taraması, sağlık durumu değerlendirmesi, hastalık tanı, tedavi ve derecelendirmesi, ilaç dozu belirlenmesi amacıyla ve prognostik ve genetik faktörleri içeren klinik araştırmalar aracılığıyla tedavi sürecine katkı sağlamaktadır.

Laboratuvarlar test sonuçlarını yorumlarken gözlem değerlerinin normal kabul edilen değerlerden farklı olup olmadığını, varsa farkın ne kadar anlamlı olduğunu, sonuç – klinik uyumunu, farklı test sonuçlarının birbirleriyle ilişkisini değerlendirmektedir. Bu nedenlerden dolayı test sonuçları kritik önem taşımaktadır (1).

Laboratuvarlarda analiz aşamalarıyla ilgili tüm varyasyon kaynaklarının (preanalitik, analitik ve biyolojik varyasyon) laboratuvarlar tarafından belirlenmesi ve en az seviyeye indirilmesi hedeflenmektedir. Ölçüm sonuçlarının güvenilirliği açısından bireyde gözlemi yapılan analit değerlerinde zaman içinde meydana gelen değişikliklerin, biyolojik kaynaklı varyasyonlarla ayırımlarının yapılması ve değerlendirmelere dahil edilmesi önerilmektedir (2). Tüm varyasyon kaynaklarının doğru tahmin edilmesi, sonuçların yorumlanmasında yararlanılan geleneksel referans aralık değerlerinin kullanılabilirliğini de etkilemektedir (3).

Referans aralık değerleri, genel popülasyon içinden belli kriterlere göre seçilen ve sağlıklı kabul edilen referans grup bireylerde, gözlenen zamana ait tek ölçüm değeri dağılımlarının belirlenmesiyle elde edilmektedir (4). Bireydeki gözlem değerlerine ait varyasyonların biyolojik kaynakları araştırılırken, popülasyona dayalı referans aralık değerlerine göre yapılan değerlendirmelerin yararı sınırlı olmaktadır (5). Varyasyonun tüm kaynakları içinde biyolojik olanların belirlenebilmesi, aynı bireyde ölçümü hedeflenen analit için uygun zaman ve aralıklarla ve çok sayıda gözlemin yapılmasını gerektirmektedir (6). Yeterli sayıda yapılan bu gözlemlerle bireysel referans aralık değerleri üretilebilmekte ve sonuçların değerlendirilmesine önemli katkılar sağlayabilmektedir (7). BV bileşenleri hakkındaki mevcut veriler ardışık ölçümler arasındaki farklılıkların anlamlı olup

olmadığının değerlendirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Laboratuvar tıbbının ilgilendiği çoğu analitin bireysellik özelliğine dikkat çekilmektedir. Belirgin bireysellik, popülasyona dayalı referans aralıkların doğru kullanımında da önem verilmesi gereken bir özellik olmakta ve analit özelliklerinin, bireyler arasında farklılık gösterip göstermediğinin belirlenmesine de ihtiyaç duyulmaktadır (8).

Günümüzde mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerinden biri olan koroner kalp hastalıkları sıklıkla ateroskleroz nedeniyle oluşmakta ve miyokard infarktüsü ve artmış kardiyak ölüm riski ile ilişkili olmaktadır (9). Ülkemizde dolaşım sistemi kaynaklı ölümlerin %38.8'ini iskemik kalp hastalıkları oluşturmaktadır (10).

Akut Koroner Sendromlar (AKS) miyokard iskemisi ve infarktüsü ile uyumlu semptomları tanımlamaktadır (9). Geleneksel olarak erken tanısı akut göğüs ağrısı, EKG değişiklikleri ve miyokarda özgü serum belirteçlerinin kanda yükselmesine dayanmaktadır (11). Özgün belirteçler olarak sıklıkla myoglobin, kreatin kinaz miyokardiyal bandı ve troponin kullanılmaktadır. Bu belirteçler kanda ancak miyokardiyal nekroza ilerleyen geri dönüşümsüz evrede belirlenebilirken, geri dönüşümlü iskemik evrede duyarlılıklarının yetersiz kalmasıyla kullanımları sınırlanmaktadır (12,13). Son yayınlar İskemi Modifiye Albumin (İMA)'in miyokardiyal iskemiyi en iyi yansıtabilen belirteçler arasında olduğunu göstermektedir (14-16). İMA'in bu geleneksel belirteçler ile birlikte değerlendirilmeye alınmasının, miyokardiyal iskemik tanısız duyarlılığını % 70 oranında arttırdığı rapor edilmiştir (15).

İMA ile ilgili yapılmış olan çalışmalar halen çoğunlukla AKS erken tanı ve risk sınıflaması üzerine yoğunlaşmakta, ancak bildiğimiz kadarıyla literatürde bu molekülün referans aralıkları ilgili çalışma bulunmamaktadır. İskemik kalp hastalıklarının erken evrede tespitinde umut vadeden bu molekülün referans aralıklarının belirlenerek biyolojik varyasyon bileşenleri ile birlikte değerlendirilmesinin klinik açıdan yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Belirtilen nedenlerle alışmamızda AKS erken tanı ve risk sınıflamasında kullanımı gittikçe yaygınlaşan ve FDA onayı (2005) almış ilk kardiyak iskemi belirteci olma özelliği taşıyan İskemi Modifiye Albumin'in olası biyolojik varyasyonu, referans değişim değeri ve seçilen popülasyonda referans aralık değerlerini belirlemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Analit Konsantrasyonlarına Ait Toplam Varyasyonlar

Klinik laboratuvarlarda elde edilen test sonuçları kesin değerler olmayıp belli oranlarda değişebilen varyasyonlara sahiptir. Bu toplam varyasyon; preanalitik, analitik ve biyolojik kaynaklı varyasyonun yansımasıdır. Bu varyasyonların tümü rastgeledir ve bu nedenle normal dağılım gösterdiği kabul edilmektedir. Gözlenen normal (Gaussian) veri dağılımında bu varyasyonları açıklamak için standart sapmanın (SD; standard deviation) kullanılması uygun olmaktadır (17).

Bağlamı dışında SD'nin içerik olarak anlamı sınırlanmakta ve veri dağılımı içine yayılması, ortalamaya bölünmüş SD'nin 100 ile çarpımı sonucu (SD/ortalama*100) yüzde olarak ifade edilen varyasyon katsayısının (CV; coefficient of variation) hesaplanmasıyla sağlanmaktadır. Veri grubunun toplam varyasyonuna katkıda bulunan bu çoklu varyasyon kaynakları arasındaki matematiksel ilişki varyanslardaki sapmalarla ifade edilmektedir. Toplam varyasyon kaynak bileşenleri arasındaki ilişki anlaşılması zor görünmekle beraber kavramsal olarak basit bir yolla elde edilmektedir (17).

Toplam varyasyon (SD_T), analitik varyasyon (SD_A) ve biyolojik varyasyon (SD_B) olarak tanımlandığında aşağıdaki formülle hesaplanabilmektedir:

$$\boxed{SD_T^2 = SD_A^2 + SD_B^2} \quad \text{veya} \quad \boxed{SD_T = (SD_A^2 + SD_B^2)^{1/2}}$$

Bileşenlerin özdeş olduğu kabul edildiğinde formül;

$$\boxed{CV_T^2 = CV_A^2 + CV_B^2} \quad \text{veya} \quad \boxed{CV_T = (CV_A^2 + CV_B^2)^{1/2}}$$

halini almaktadır (17).

Belli bir birey için analit konsantrasyonlarına ait varyasyon ölçümleri üç kaynaktan elde edilmektedir;

1) **Preanalitik varyasyon**; analitik faz öncesinde gerçekleşmektedir ve kaynakları iki bölümde incelenmektedir. a) Postür, gıda veya ilaç alımı, egzersiz gibi bireysel faktörler, b) turnike uygulanması, örnek toplanması ve taşınması ile örneğin analiz öncesi depolanma süresi gibi uygulamaya ait faktörlerden etkilenmektedir. İlki gerçek varyasyonları yansıtmaması nedeniyle çok önemli biyolojik kaynaklardır. İkinci kaynak ise örnek toplanma ve incelenme zamanı, taşınma sıcaklığı, santrifüj hızı ve antikoagülan kullanımı gibi etkileşimleri içermektedir (18). Tüm süreç basamaklarını kapsayan iyi bir eğitim ve standart prosedürlerin uygulanmasında gösterilen kararlı tutumla bu varyasyon kaynakları azaltılabilmektedir. Preanalitik varyasyon kaynaklarının belirlenmesi ve kullanımdaki bir test için en az seviyeye indirilmesi bütün laboratuvarların sorumluluğundadır ve kalite kontrolün görevlerinden biridir (17). Laboratuvarlar tarafından en aza indirilmiş varyasyon düzeyi ile oluşturulduğu kabul edilen referans değerlerin klinik kullanımındaki yararlılık, preanalitik varyasyonun yüksek olması ile sınırlanmaktadır (19).

2) **Analitik varyasyon (CV_A)**; bireyde zaman içinde gözlenen analit değerlerinin toplam varyasyonuna katkıda bulunmaktadır. Toplam analitik hata, ölçüm belirsizliği (I: Imprecision) ve doğruluktan sapma (B: Bias) olarak ifade edilen analitik özelliklere ait tahminlerin birlikte değerlendirilmesiyle belirlenebilmektedir. Bu analitik özellikler CV_A 'un ana kaynakları olarak kabul edilmektedir (20). I, öngörülen koşullar altında elde edilen bağımsız ölçüm sonuçları arasındaki yakınlık derecesi olarak tanımlanmakta ve rastgele hatayı yansıtmaktadır. Laboratuvar pratiğinde I, tekrarlı analizler ve dağılımın SD veya CV olarak hesaplanmasıyla belirlenmektedir. Belirsizlik, tüm analitik yöntemlerin doğasında bulunmaktadır. I, büyük ölçüde yöntem bağımlıdır ve kullanılacak yöntemin dikkatli seçimiyle azaltılabılırsa de hiçbir zaman sıfır olmamaktadır (20). Rastgele hata

kaynaklı I; yöntem seçimi, birey içi standart sapmalar, analiz hataları veya teknik hatalar gibi herhangi bir teste ait ölçüm yöntemi özelliğidir (21,22). Bu hataların normal bir dağılım içinde ortalama bir değere denk gelmesi beklenmektedir. Rutin kullanıma girmeden önce teste ait I özelliğinin tespit edilmesi ve laboratuvarlara özgü değerlerin belirlenmesi önerilmektedir (23).

B sistematik hatayı göstermekte ve beklenen ölçüm sonuçlarıyla gerçek değer arasındaki fark olarak tanımlanmaktadır. Uygulamada ise gözlenen değer tahminleri ile gerçek değer arasındaki farkı yansıtmaktadır. Genellikle bu gerçek değer tahmini dış kalite değerlendirmeleri veya test yeterlilik programlarıyla bir grup laboratuvar tarafından elde edilmiş olmaktadır (20). Sabit B değerlerinin ölçüm sonuçlarına önemli bir etkisi olmazken, B'daki değişimler özellikle yöntemin yeniden kalibrasyonunda önem taşımakta ve seri ölçüm sonuçlarına ait CV_A 'un temel kaynağı olmaktadır.

Analit için I ve B hedefleri tanı, tarama ve izlem gibi kullanım gerekliliğine bağlı olarak farklılık göstermektedir (17,24,25). Bu nedenle analitik özelliklerin tespit edilmesi ve en aza indirilmesi klinik kullanımdaki herhangi bir test için önemi devam eden bir görevdir (24,25).

3) Biyolojik varyasyon (BV); toplam varyasyonun bir diğer komponentidir. Bu doğal BV'nun homeostatik ayar noktası etrafında rastgele dalgalanmalar şeklinde oluştuğu kabul edilmektedir. Tek bir bireyin homeostatik ayar noktası etrafında meydana gelen ve rastgele olan dalgalanmalar **birey içi biyolojik varyasyon (CV_I)**, bireyden bireye değişim gösteren homeostatik ayar noktaları arasındaki farklılıklar ise **bireyler arası biyolojik varyasyon (CV_G)** olarak tanımlanmaktadır (20).

Hem analitik, hem de biyolojik kaynaklar, tek bir ölçümün toplam varyasyonuna en önemli katkıyı sağlamaktadır. Preanalitik kaynaklar ise biyolojik kaynaklı varyasyona dahil bir parça olarak kabul edilmektedir (26).

2.2. Biyolojik Varyasyon

Laboratuvar tıbbında incelenen kimyasal vücut bileşenlerinin BV'ü üç şekilde tarif edilebilmektedir: hayat boyu varyasyon, günlük, aylık ya da mevsimsel olabilen öngörülebilir döngüsel varyasyon ve rastgele varyasyon (17). Bireyde hayat boyu oluşan biyolojik varyasyon doğum, yaşlanma, gebelik, menopoz ve diğer fizyolojik koşullar gibi doğasında var olan değişikliklerle ilişkili olmaktadır. Klinik laboratuvarların ilgi alanındaki pek çok analit yaşlanma sürecine dahil doğal biyolojik faktörler nedeniyle bireyin hayatı boyunca değişkenlik göstermektedir. Bu değişiklikler fizyolojik olarak yenidoğan, çocukluk, ergenlik, erişkinlik veya yaşlılık dönemi gibi yaşam döngüsü içindeki kritik noktalarda daha fazla oluşabilmektedir (25). Öngörülebilir döngüsel varyasyon, gece-gündüz ritmi ya da mevsimsel faktörlerin etkisiyle düzenli zaman aralıklarında meydana gelen salınımlarla belirlenmektedir. Yaygın kullanılan bir kısım analitin öngörülebilir biyolojik döngü veya ritimlere sahip olduğu bilinmektedir (17). Kortizol, progesteron ve D vitamini gibi döngüsel ritimler gösteren analitlere ait örneklerin klinik amaca uygun bir zamanda toplanması önerilmektedir (27). Bu dönemlere ait öngörülebilir değerlerin bilinmesi laboratuvar verilerinin yorumlanması açısından da önem taşımakta ve döngüsel ritimlerin benzerlik göstermesi referans değerlerini de anlamlı hale gelmektedir (20). Ancak döngü boyunca tüm olası örnek toplama zamanları için referans değerlerin üretilmesi mümkün değildir. Bu nedenle bir bireyden farklı zamanlarda alınan örneklerle günlük, aylık ya da mevsimsel ritimler belirlenebilmekte ve seri ölçüm sonuçları arasındaki bu fark, döngüsel biyolojik varyasyonun değerlendirilmesine katkı sağlamaktadır (17).

Bu varyasyon türleri dışında bireyin homeostatik ayar noktası etrafında dalgalanmalar göstererek analitleri etkileyebilen ve çoğu zaman dikkate alınmayan CV_I ile, bireysel homeostatik ayar noktaları arasındaki farklılıkları yansıtan CV_G bulunmaktadır. CV_I aynı bireyden, CV_G ise farklı bireylerden elde edilen değerler arasındaki ortalama varyasyon

katsayısını ifade etmektedir. CV_I bireye dayalı referans değerler, CV_G popülasyona dayalı ve kesitsel referans değerler için önem taşımaktadır (8,25).

Pek çok analit değeri yaş, cinsiyet, ırk, gebelik gibi biyolojik özellikler, coğrafi yerleşim ve mevsimler gibi çevresel faktörlerin yanısıra patolojik süreçlerin etkisiyle değişkenlik göstermektedir. Bu özelliklere göre tabakalanmış birey gruplarına özgü referans değerlerin belirlenmesi ve bu yolla preanalitik ve analitik koşulların kontrolü ve standardizasyonu ile bireyler arası farklılıklar ve CV_G en aza indirilebilmektedir. Ancak, CV_I biyolojik özelliklerin sınıflandırılması ya da preanalitik ve analitik koşulların kontrol edilmesiyle azaltılamamaktadır. BV bileşenlerine ait elde edilen bu değerler ise popülasyona dayalı referans değerlerin alt, orta veya üst sınırında hatta dışında bile olabilmektedir (20).

Varyasyon analitik belirsizliğin bir sonucu olarak birey düzeyinde ve birey grupları içinde gerçekleşebilmektedir. CV_I ; her bir birey için tek ve belirli bir değer olarak tanımlanmış olup, önemi laboratuvar tıbbı tarafından kabul edilmiştir (23). Varyasyonun bu türü pek çok analit için ölçülebilir ve uygulanabilir olması sayesinde analitik belirsizliğin aksine tekraren hesaplama gerektirmemektedir (28,29). CV_I 'un derecesi bireyin kendi içinde de değişkendir. Sodyum, klor ve kalsiyum gibi güçlü homeostatik düzenlenme altındaki analitlerde daha düşük CV_I gözlenirken; zayıf homeostatik düzenlenme altındaki üre, kreatin kinaz ve trigliserit gibi analitler daha yüksek CV_I değerlerine sahiptir (17,20,30). Üriner analitler ise daha yüksek CV_I değerleri gösterme eğilimindedir. CV_I , hücre tipinin yarılanma ömrüyle de ilişkili olmaktadır (17). Tanı amacıyla izlemi gereken bireylerde, BV bileşenlerinin varlığı ve derecesinin tam olarak anlaşılması önemli hale gelmektedir (31). Her iki bileşen de genellikle Gaussian dağılım göstermekte ve yaş, cinsiyet, kilo, sirkadiyen ritim, egzersiz, beslenme düzeni, mevsimler, etnik köken ve hastalıklar gibi faktörlerden etkilenmektedir (8,25,30,31). Laboratuvar sonuçları açısından CV_I , dikkate alınması gereken birçok faktörden etkilenmektedir.

Açlık/tokluk durumu ile postür gibi bazı analize bağlı faktörler standardize edilebilmektedir. CV_I'da mevsimsel etkiler, yaş, gebelik ve obeziteye bağlı değişimler gözlenirken, cinsiyet sabit faktör olarak kabul edilmektedir (5). CV_I, sağlık ve hastalıkta genellikle benzerse de bazen farklılıklar gösterebilmektedir (32,33). Bu gereksinimler doğrultusunda derlenmiş çeşitli BV verileri literatürde yer almaktadır (32,34).

BV'un bir diğer bileşeni olan CV_G tek bir bireye ait verilerin, farklı birey grupları ve popülasyona dayalı referans aralıkları ile karşılaştırılmasına dayanmakta ve tıbbi karar verme sürecinde önem taşımaktadır. Tek bir bireye ait sonuçlardaki değişikliklerin değerlendirildiği klinik çalışmalar için geçerli olmamaktadır (35).

BV test sonuçlarının doğru olarak yorumlanmasında son yıllarda önem kazanmış kavramlardan biridir. Epidemiyolojik yararı dışında laboratuvar uygulamalarında;

1. Popülasyona dayalı referans değerleri kullanımındaki yararlılığın değerlendirilmesi,
2. Bireyin ardışık sonuçları arasındaki değişimlerin anlamlı olup olmadığına karar verilmesi,
3. Bireysel serilerin oluşturulması için gereken analiz sayısının belirlenmesi,
4. Analitik performans açısından kalite özelliklerinin belirlenmesi,
5. Analit için en uygun analiz örneğinin (plazma, serum, ilk idrar gibi) seçilmesi,
6. Tanı veya izlem gibi klinik amaca en uygun teste karar verilmesi,
7. Sonuç raporlarında analitler için en aydınlatıcı birime yer verilmesi,
8. Geliştirilen yeni prosedürlerin ve laboratuvar içi verilerin doğrulanması amacıyla kullanılmaktadır (17, 36).

BV'un doğası, bileşenlerinin elde edilmesi ve uygulanmasıyla ilgili veriler Fraser'in kitabında detaylı olarak tarif edilmiştir (17).

2.2.1. Biyolojik Varyasyon ve Analitik Kalite

Laboratuvar çalışmalarının tüm yönlerini kapsayacak şekilde tasarlanmış bir kalite sistemi çerçevesinde, toplam kalite hizmetinin korunmasını amaçlayan analitik kalite kontrolleri büyük önem taşımaktadır. Genel hizmet üretim süreci için ulaşılabilecek maliyet etkin analitik kalite düzeyinin, laboratuvar sonuçlarının klinik kullanımı ile uyum göstermesi beklenmektedir. Bu açıdan arzu edilen ya da ihtiyaç duyulan analitik kalite düzeyi eldesi üç ana unsurun döngüsel etkileşimine dayalı olmaktadır. Bu üç ana unsur; analitik kalite özelliklerinin belirlenmesi, oluşturulması ve kontrolüdür (37).

Laboratuvar bilgisi talep eden klinik durum şartlarında talebin karşılanması amacıyla çalışılması gereken yeni bir test prosedürü gibi başlangıç süreçlerinde bu döngünün şekillendirilmesi mümkün olabilmektedir. Arzu edilen seviyeye yakın analitik kalite düzeyi en uygun ölçüm yönteminin seçilmesiyle elde edilebilmektedir. Talep edilen bilgi, yeterli düzeyde kalite özellikleri taşıyan analitik performansla üretilmişse, analitik işlemin kararlılığını izlemek için döngünün sürekliliği sağlanmakta ve yeterli bir kontrol sistemi ile korunmaktadır (38).

Belirli bir zamanda herhangi bir analitin ölçülebilir miktarının “bilinmeyen” gerçek bir değeri bulunmakta ve ölçüm işlemi analit değerinin bir tahminini vermektedir. Tahmin değeri ile gerçek değer arasındaki farkı yansıtan B , CV_A 'un önemli bir kaynağı kabul edilmekte ve rastgele varyasyon bileşenlerini de içermektedir. Herhangi bir durum ve zamanda homeostatik ayar noktasıyla belirlenen tahmin değeri, kararlı durum dengesinin sonucu olarak, bireysel homeostatik ayar noktası etrafında salınım gösteren CV_I 'un yansımaları olmaktadır. Bu nedenle herhangi bir zamanda ölçülen miktar değeri hem analitik, hem de BV 'dan etkilenen homeostatik ayar noktasının tahmini olarak kabul edilmektedir (38).

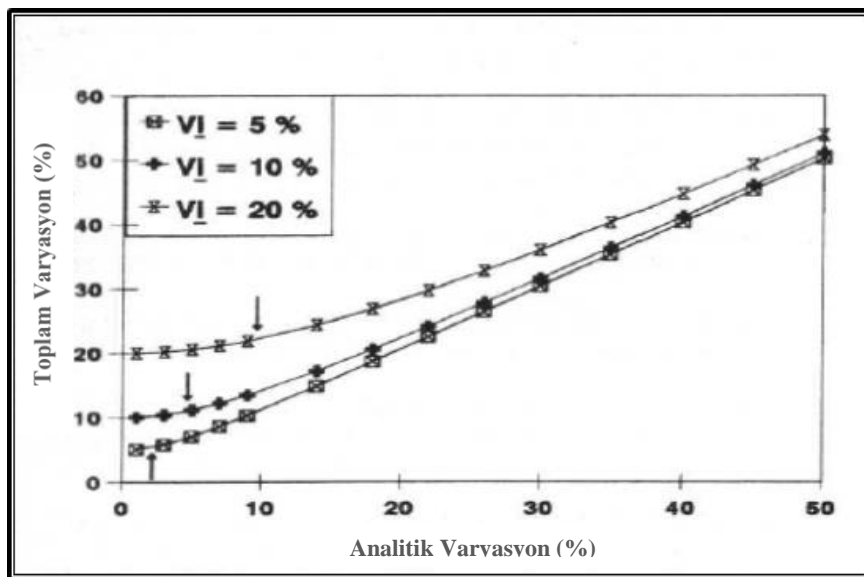
Kalite kontrolün amacı rutin analizlerden elde edilen sonuçlarda kalitenin belli düzeyde sağlanması olmaktadır. Bu ise oluşabilecek hataların bilinen ve tercihen

belirtilen sınırlar içinde olması gerektiği anlamına gelmektedir. Kalite sistemi tasarımı yanlış red veya hata tespiti olasılığı için kullanılan belirli performans özelliklerinin bilinmesi, iyi tanımlanmış performans hedef ve kontrollerinin belirlenmesi ile sağlanabilmektedir (39). Russell'ın (40) öncelikli laboratuvar içi standart sapma (SD_w : within laboratory SD) kullanımı önerisine rağmen, klinik biyokimyadaki yaygın kalite kontrol uygulamaları SD_w ile birlikte sıklıkla laboratuvarlar arası standart sapmayı (SD_B : between laboratory SD) da içeren toplam standart sapmayı (SD_T) kullanmaktadır (40,41). Kalite kontrolün orijinal uygulamaları Henry ve Segalove (42,43) tarafından SD_T limitleri kullanılarak modifiye edilen ve Levey ve Jennings tarafından kullanılan SD_w ile karakterizedir (42,43). SD_w ve SD_T limitleri arasındaki seçimin kalite kontrol sisteminin performans özellikleri üzerine bir etkisi olması beklenmektedir. B'nin gözlenmesinde zaman periyodundaki farklılıklar nedeniyle seçilen limitler hata dağılımının şeklini bir miktar etkilemekte ve SD_T limitleri seçildiğinde Gaussian dağılım varsayımı daha fazla olmaktadır (39).

Aynı örnekten tekraren yapılan ölçümlerde yöntemin aynı sonucu verebilme gücü olarak tanımlanan kesinlik (P: precision), çalışılan yöntemlerin gün içi (laboratuvar içi/ çalışma içi) ve günler arası (laboratuvarlar arası/çalışmalar arası) değerlendirmeleri ve internal kalite kontrol (İKK) uygulamaları ile takip edilmektedir. İKK ile bir laboratuvarda analitik testlerin kesinlik ve doğruluk performansı izlenmekte ve kurulmuş olan yöntem bazal durumdan sapmalar ile değerlendirilmektedir. Klinik laboratuvarlar İKK amacıyla Levey Jennings tarafından oluşturulan standart sapma grafiklerini ve bu grafiklerin doğru yorumlanabilmesi için İKK'ne büyük katkılar sağlayan J.O. Westgard'ın belirlediği uyarı ve reddetmeyi içeren çok kurallı kalite kontrolünü kullanmaktadır. Çok kurallı kalite kontrolü bir dizi karar verme kriterini içermekte ve analitik sonuçları değerlendirmektedir. Amacı analiz sırasında oluşabilecek hataları tespit etmek ve hastaya hatalı sonuç vermeyi engellemektir. Bu yöntem ile hatanın rastgele veya sistematik olduğu anlaşılmaktadır (44).

Biyolojik temelli analitik hedefler biyokimya, hematoloji ve mikrobiyoloji gibi laboratuvar tıbbının çeşitli alt disiplinleri ile ilgili tüm alanlara uygulanmakta ve hesaplanabilmektedir (45). Bu biyolojik yaklaşımı tartışmadan önce laboratuvar test sonuçlarının rasyonel kullanıldığı farklı tıbbi şartları da dikkate almak gerekmektedir. Bu şartlar sistematik olarak hastalığı doğrulamak veya dışlamak üzere yapılan tek hasta testini, izlem amacıyla tekrarlanan testleri veya epidemiyolojik çalışmalar nedeniyle oluşturulan popülasyonun test edilmesini kapsamaktadır. Genellikle izlem durumunun en sıkı analitik kalite özelliklerini gerektirdiği kabul edilmektedir. Çoğu durumda sonuçların beklenen kullanımına göre, bir laboratuvarın farklı analitik kalite özelliklerine sahip farklı ölçüm yöntemleriyle aynı miktarı ölçecek olması mümkün olmamaktadır (25,46).

Toplam varyasyon mümkün olan en düşük düzeyde tutulmalı, gerçek değere en yakın tahminler yapılmalı, dolayısıyla tıbbi karardaki analitik etkilerin azaltılmasında süreklilik sağlanmalıdır. Yeterli standardizasyonla preanalitik varyasyonun en aza indirildiği varsayıldığında, bireysellik karakterize CV_I 'u azaltmak için herhangi bir müdahale mümkün olmamaktadır. Toplam varyasyonun azaltılmasında kalan tek yol CV_A 'u düşürmektir. CV_A , CV_I 'un yarısına eşit veya küçük olduğunda total varyasyon BV 'dan sadece %10 kadar yüksek olacaktır (25,46) (Şekil.1).



Şekil.1. Farklı CV_I değerleri için hesaplanan CV_A ve toplam varyasyondaki değişimler. [Oklar $CV_A \leq 0.5 \times CV_I$ eşitliğine göre arzu edilen CV_A hedeflerini göstermektedir ($V_I=CV_I$)].

CV_A bu sınırın altında ise toplam varyasyonda önemli bir azalma olmayacak ve yüksek CV_A değerleri olduğunda toplam varyasyon değerleri de artış gösterecektir. Bu nedenle $CV_A \leq 0.5 \times CV_I$ olması BV'ya dayalı geçerli, evrensel ve gerçekçi analitik hedefler olarak kabul edilmektedir (25)

Laboratuvarda analiz için ihtiyaç duyulan analitik kalite tanımlamasının BV verileriyle oluşturulması hedeflenmektedir. Zayıf homeostatik düzenlenme altındaki analitlerin daha büyük BV verilerine sahip olması nedeniyle değerlendirmelere uygun analitik kalite özelliklerinin kullanılması önerilmektedir (47).

BV açısından analitik kalite hedefleri 1) İstenen sınırlar, 2) Optimum sınırlar, 3) Minimum sınırlar olarak üç başlık altında toplanmaktadır (48) (Tablo.2).

Tablo.1. Biyolojik varyasyon açısından analitik kalite hedefleri (B_A: Hedef Bias).			
	Arzu Edilen	Optimum	Minimum
BV katsayılarına göre	$CV_A < 0.5 \times CV_I$	$CV_A < 0.25 \times CV_I$	$CV_A < 0.75 \times CV_I$
	$B_A < 0.25 \times (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$	$B_A < 0.125 \times (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$	$B_A < 0.375 \times (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$

Biyolojiye dayalı analitik hedeflerin pratikte uygulanabilmesi için BV değerlerinin bilinmesi gerekmektedir. BV verilerinin üretilmesi için deneysel modeller önerilmiş ve çeşitli analitlere ait çok sayıda uygulama rapor edilmiştir (2,3,49,50). Birçok araştırmacı tarafından uygulanan protokollerde zamana özgü referanslar ile bazı detaylarda farklılıklar bulunmaktadır (50,51). Yayımlanan değerlendirmelerde yer verilen örneklem grupları tamamen homojen olmamakla birlikte BV için bildirilen değerler çoğu zaman kabul edilebilir bir uyum göstermektedir. CV_I 'un farklı bireyler arasında kısmen önemli farklılıklar göstermesi nedeniyle her analit için hastanın örnekleme dönemine ait analitik özelliklerin dikkate alınması gerektiği belirtilmektedir. Bu uygulama açıkça pratik olmamasına rağmen eğer kabul edilirse sınırları esnek olmayan bu analitik hedeflerin iyileştirilmesi amaçlanmaktadır (52). Ortalama BV değerlerini tahmin

etmede bir çeşit ağırlıklı ortalama değer ya da benzer bir matematiksel yaklaşım kullanımıyla, bireyler arası ve farklı yöntemler arası tahminlerde kabul edilir bir uzlaşma sağlanabileceği bildirilmiştir (50,53,54).

Tanı ve izlemin genel ihtiyaçlarını karşılaması açısından CV_I ve CV_G temelinde kalite özelliklerinin oluşturulması Dünya çapında katılımı Stockholm konferansında kabul edilmiştir (23). Basit bir yolla bireyden tanı amaçlı talep edilen tek bir test ve popülasyona dayalı referans aralıklar veya kesit değeri ile karşılaştırılan sonuçlar, laboratuvar içi B'nin en aza indirilmesi ön koşulunu taşımaktadır.

İzlem amacıyla art arda istemi yapılan testler ve CV_A için başlıca hedef I'nin azaltılmasıdır. I ve B için tolerans sınırları olarak kalite özellikleri kullanımı kayda değer bir yarar sağlamaktadır. Ayrıca aynı popülasyonla çalışan laboratuvarlar sistematik hatayı yansıttığı kabul edilen B'nin, BV bileşenler toplamının dörtte birinin altında tutulması durumunda $[B < (CV_I + CV_G)/4]$, referans aralıkları kullanabilir olmakta ve bu toplamın sonuç değeri arzu edilen B olarak kabul edilebilmektedir (55).

BV verileri, analitik kalite sonuçları için kabul edilebilir toplam hatayı belirlemede objektif bir kriter olarak kullanılabilir. Elde edilen CV_I ve CV_G değerleri ve aşağıdaki formüller kullanılarak maksimum analitik belirsizlik (I_{max}), maksimum analitik (doğruluktan) sapma (B_{max}) ve toplam kabul edilebilir hata (TE_{max}) hesaplanabilmektedir (25,56).

$$\begin{aligned} I_{max} &= 0.5 \times CV_I \\ B_{max} &= 0.25 \times (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} \\ TE_{max} &= B_{max} + (1.65 \times I_{max}) \end{aligned}$$

TE analitik kalite özellikleri CLIA 88' de yer alan öneriler doğrultusunda değerlendirildiğinde $B < 0,33 \times TE$ olması arzu edilmektedir (57).

2.2.2. Biyolojik Varyasyon Bileşenlerinin Belirlenmesi ve Çalışma Prosedürleri

BV çalışmalarında en önemli unsur, bir bireyde zamana ait değişimlerin sayısal olarak ölçüldüğü CV_I 'dur. Popülasyona dayalı referans aralıkların ürünü olan tek örnekli kesitsel varyans, BV bileşenlerinin ayrı ayrı hesaplanmasına imkan tanımamaktadır. Böyle bir hesaplama bir grup referans bireyden belli bir süre boyunca elde edilen örneklerin tercihen saptanmış aralıklarla tekrarlandığı deneysel bir tasarım gerektirmektedir. Örneklerin çeşitli hacimlere ayrılması ve her bir örneğin tekraren incelenmesi önerilmektedir. Bu tür bir çalışma tamamlandığı ve ayrı ayrı varyasyon tahminleri elde edildiği zaman, birey grubunda gözlemi yapılan analite özgü kesitsel değişiklikler saptanabilmektedir (6). Varyasyon bileşenlerinin değerlendirilmesi için önerilen bu yöntem ardışık ölçümler arasındaki anlamlı değişiklikleri belirleyebilmekte ve klinisyenin bu konudaki algısına yön verebilmektedir. Yapılan çalışmalar analitin seri ölçümleri arasındaki değişikliklerin klinik değerlendirmesinde çeşitli kriterlerin kullanıldığını göstermiştir. Gözlenen ardışık ölçümler arasındaki farklılık dağılımını tanımlamak için daha objektif bir yöntem analit konsantrasyonlarındaki CV_I 'un değerlendirilmesi olmaktadır (1,58,59).

Üzerinde önemle durulması gereken konu, kabul edilebilir bir yaklaşımla bazal değerleri belirlemede ne kadar numune sayısının gerektiğidir. Fraser ve Harris analitik tekrarlanabilirlik özelliği, analitin BV'ü ve uygulanan istatistiksel yöntemlere bağlı olarak varyasyon bileşenlerinin kısa dönemde küçük bir gruptan toplanan nispeten az sayıda numune ile elde edilebileceğini öne sürmüşlerdir (29,60).

BV çalışmalarında preanalitik ve analitik varyasyonun azaltılmasına özen gösterilerek ve referans aralık çalışmalarına göre daha az sayıda sağlıklı birey kullanılarak referans birey grubu oluşturulabilmekte, böylece elde edilen veriler farklı laboratuvarlar tarafından kolayca değerlendirilebilmektedir. Laboratuvarlar arası CV_A azaltmak için ise örnekler toplandıktan sonra dondurulup, aynı çalışma içinde yer alan örnekler arasından rastgele seçilen bir örneğin, çift (duplike) çalışılması önerilmektedir (17). Stabil olmayan analitlere

ait örneklerin toplandıktan hemen sonra analiz edilmesi önerilmektedir. Kontrol materyalleri ile üretilebilen laboratuvarlar arası varyasyon bileşeni, CV_I değerlendirmesine dahil edilebilmektedir (25). Popülasyona dayalı referans değerlerin oluşturulmasında olduğu gibi verilerin uç değerleri belirlenmektedir. Uç değerlerin CV_I 'da bulunup bulunmadığının belirlenmesi için en büyük varyansın, varyans toplamına oranının değerlendirildiği ve kritik cetvel değeri ile karşılaştırıldığı Cochran testi önerilmektedir (25). Eğer preanalitik varyasyon az ise iç içe geçmiş varyans analizleri (Nested ANOVA) kullanılarak CV_I , CV_G ve CV_A 'un ortalama tahminleri oluşturulabilmektedir. Bu analizler en az 8 bireyde günlük veya haftalık periyotlarla gerçekleştirilebilmektedir. Örneklerin toplanması arasındaki süre BV 'un derecesini etkileyebilmektedir. Örnek toplanma aralıkları uzadığında daha çok CV_A ve doğal BV etkilenmektedir (20,61).

BV bileşenlerine ait veriler birkaç farklı yolla oluşturulabilmektedir (25). Bu verilerin elde edilmesi amacıyla geliştirilmiş deneysel yöntem, geniş referans grup bireylerinden toplanan tek örnek yerine küçük bir grupta yer alan bireylerin her birinden toplanan örnek sayısı dışında popülasyona dayalı referans değerlerin üretilmesiyle oldukça benzerlik göstermektedir. Bu deneysel yöntemin aşağıda belirtilen basamaklar kullanılarak standardize edilmesi önerilmektedir:

- 1) Az sayıda (8-20) referans birey seçilmesi,
- 2) İdeal olarak, sağlıklı görünümde, alışılmamış bir diyet veya hayat tarzı, ilaç alımı ya da aşırı alkol tüketimi olmayan bireylerden oluşması,
- 3) Preanalitik varyasyonu en aza indirmek için örneklerin günün aynı saatinde, aç karnına ve oturarak, aynı kan alma uzmanı tarafından ve aynı özellikte tüpler kullanılarak alınması,
- 4) Daha sonra toplanan örneklerin stabilite açısından aynı koşullarda depolanması,
- 5) Tüm örnekler toplandığında çözündürme ve karıştırma işlemleri gibi incelemele aşaması için hazırlanması ve rastgele seçilen belli bir analitik miktarın çift çalışılması,

6) Verilerin uç değerler bakımından değerlendirilmesi,

7) Preanalitik varyasyon etkisinin azaltılmasıyla CV_A , CV_I , CV_G tahminlerini elde etmek amacıyla iç içe geçmiş varyans analizlerinin yapılması.

Önerilenler dışında farklı deneysel tasarımlar da bulunmakta ve bu tasarımlara uygulanan istatistiksel yöntemler detaylı olarak tanımlanmaktadır (25).

2.2.3. Sağlıklı Popülasyonda Biyolojik Varyasyon

Güvenilir BV modeli anlayışı, laboratuvar testlerinin en iyi şekilde kullanımının sağlanmasında ve uygun klinik stratejilerin geliştirilmesinde büyük önem taşımaktadır. BV'un belirlenmesi biyokimyasal analitler için önemli bir özellik haline gelmekte ve konuyla ilgili çalışmalar ağırlıklı olarak sağlıklı bireylerde yürütülmektedir (62).

Yapılan epidemiyolojik çalışmaların çoğu BV özellikleri taşımayan ve geleneksel olmayan hastalık risk belirteçlerini ölçmektedir. Rapor edilen BV çalışmaları kısa dönemleri temsil etmekte ve verilerin nasıl kullanılması gerektiği konusunda çok az fikir birliği oluşmaktadır. 1956'da Williams analitin bireysel farklılık özelliğini araştırdığı deneylerinde, sağlıklı bir bireye ait ölçümlerin normal kabul edilen referans sınırlar içinde nadiren bulunduğunu, bazen de hiç bulunmadığını göstermiş ve daha önce tekraren örneklenmiş küçük birey gruplarında bazı biyokimyasal verilerde beklenmedik varyasyonlar kaydetmiştir (62,63). 1960 yılında, Schneider kesitsel dağılım örneklerinde ayrı varyans bileşenleri olarak CV_A , CV_I ve CV_G 'u açıkça göstermiştir (64). Sakkinen ve arkadaşları (65) yaptıkları 6 ay gibi uzun süreli bir çalışmada 12 prokoagülan, fibrinoliz ve inflamasyon testine ait tekrarlanan ölçümlerle hesapladıkları CV_A , CV_I ve CV_G değerlerini rapor etmişlerdir. Tüm testler için CV_A sonuçları kabul edilebilir düzeylerde ($CV_A < 0,5 \times CV_I$) bulunmuş ve CV_I toplam dağılımla orantılı olarak geniş bir aralık göstermiştir (65).

Laboratuvarlarda sıkça ölçülen çoğu analitin BV'u ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır (34,66,67,68). Bu çalışmalardan bazılarında serum ve 24 saatlik idrardaki birçok analit değerlerinin CV_I 'u incelenmiştir (66). Genel olarak birey sayısı, kullanılan yöntem, popülasyon ve çalışmaya ait zaman ölçeği değişse de CV_I tahminlerinin birbirine yakın olduğu gözlenmiştir. Buna karşın CV_I değerlerinin daha çok tekrar sayılarından etkilendiği belirtilmiştir (66). Benzer çalışmalarla hemostatik mekanizmaların yaşlanma süreci boyunca azaldığı ve BV'un yaşla birlikte arttığı gösterilmiş, ancak BV'nun genç ve yaşlı popülasyonda farklı olduğuna dair fazla sayıda kanıt bulunamamıştır (67).

David ve arkadaşları (68) üç yıl boyunca laboratuvarında yaygın kullanılan 34 analitin olası BV'ünü araştırmışlar ve analitlerin cinsiyetler arası farklılıklarını incelemişlerdir (68). Serumda kurşun, ferritin, albumin, kreatinin, ALT ve GGT'nin kadınlarda, LDH ve fosfatın ise erkeklerde anlamlı derecede ($p<0,01$) yüksek CV_I gösterdiği bulunmuştur. Ferritin her iki cinsiyette yaklaşık olarak aynı standart sapmayı gösterse de, kadınlarda gözlenen yüksek CV_I değerleri grup ortalamasındaki düşüklüğe bağlanmıştır. Kadınlar menstrüel siklus boyunca kan kaybedilmesi veya gebelikte demir kullanımının artması nedeniyle değişken ferritin düzeylerine sahip olabilmektedir. Azalmış depo demirinin ferritinde de azalmaya yol açarak ortalamayı etkilediği düşünülmüştür (68). Tek bir ölçümle elde edilen CV_I , analit değerlerinin CV_G dağılımlarını etkilemekte ve CV_I 'daki artış bu dağılımı daha düz ve geniş hale getirmektedir. Daha fazla bireydeki bu sonuçlar sadece tek ölçüme dayandırılan dağılımlara göre kesitsel değerler altında veya üstünde olabilmektedir (68). Borel ve arkadaşları da erkeklerle karşılaştırıldığında kadınlarda ferritin için yüksek CV_I değerleri elde etmişlerdir (69).

Harding ve Fraser (70) kan asit-baz dengesinin değerlendirilmesinde kullanılan pH, pCO_2 , bikarbonat, baz açığı ve kapiller mesafedeki total CO_2 için CV_I ve CV_G değerlerini sağlıklı bireylerde incelemişlerdir (70). Baz açığı ve pH değerlerinin bireyler arasında çok az farklılık gösterdiğini ve popülasyona dayalı RA kullanımının yararlı olacağını, pCO_2 , bikarbonat ve total CO_2 miktarının daha belirgin bireysel farklılıklar göstermesi nedeniyle belirlenmiş RA kullanımının sınırlı olabileceğini vurgulamışlardır (70).

Erden ve arkadaşları (71) serbest T3, serbest T4 ve TSH düzeylerinde olası BV'u araştırmak üzere 46 sağlıklı bireyden, 2 hafta aralıkla 4 örnek toplamışlardır. TSH, serbest T3, serbest T4'ün anlamlı düzeyde CV_I gösterdiğini ve özellikle TSH için popülasyona dayalı referans değerlerin kullanılabilirliğinin sınırlı olabileceğini vurgulamışlardır (71).

BV bileşenleri ve laboratuvarlar için oldukça yararlı içerikleri ile ilgili en son ve en kapsamlı derleme Carmen Ricos ve arkadaşları tarafından sağlanmıştır (72). Bu veri

tabanında başta laboratuvarlarda sıklıkla ölçümü yapılan analitlere ait CV_I ve CV_G değerleri olmak üzere nadiren ölçülen analitlere ait ek verilere de yer verilmiştir. Geniş içeriğiyle bu bilgi kaynağının tüm laboratuvarlar tarafından kullanılması önerilmektedir. Yeni sonuçların değerlendirilmesinde karşılaştırma sağlayabilecek BV verileri ile hedef analitik kalite verileri de Westgard QC web sitesinde yer almaktadır (28).

2.2.4. Biyolojik Varyasyon ve Hastalıklar

BV çalışmalarının büyük çoğunluğu sağlıklı popülasyon üzerine yoğunlaşmış olmakla beraber, bir kısmı da hasta birey verileriyle oluşturulmuştur. Günümüz laboratuvar uygulamalarında, sağlıklı bireylerle oluşturulmuş BV bileşenlerine ait veriler, hastalıkla ilgili tıbbi karar vermede rehber olarak kullanılabilir. Bununla birlikte sağlık ve hastalıkta BV verilerinin benzer olup olmadığına açıklık getirecek herhangi bir veri tabanı sunulmamıştır.

Ricos ve arkadaşları (32) 15 bilimsel dergide yer almış 45 yayından elde edilen ve 34 hastalığa ait yaklaşık 66 parametreyi içeren bir veri tabanı hazırlamışlardır (32). Vakaların çoğunda hastalık grubundaki CV_I değerlerinin sağlıklı grupla aynı düzeyde olduğu gözlenmiştir. Çalışılan analitlere ait hasta bireylerden elde edilen CV_I dağılımlarının, sağlıklı bireylerde gözlenen CV_I dağılımının içinde yer aldığı belirtilmiştir. Parametrelerin kullanılabilir ölçümlerinin az sayıda olması ve çalışma yöntemlerinin farklılıklar göstermesi nedeniyle bu veriler sabit istatistiksel karşılaştırma için kullanılmamıştır. Gözlenen farklılıkların klinik uygulamalar üzerindeki etkisinin az olduğu ve çoğu durumda hastalığa özgü anlamlı farklılıkları belirlemenin gerekmediği vurgulanmıştır (73,74).

Sağlıklı bireylerden elde edilmiş BV verilerinin büyük kısmının daha önce savunulan kronik stabil hastalık durumları da dahil genel kullanımda uygulanabilir olması önemli bir bulgudur. Bununla beraber; karaciğer hastalarında α -fetoprotein, Paget hastalığı, kronik

renal yetmezlik ve kronik karaciğer hastalarında alkalen fosfataz, meme kanserli olanlarda CA15.3, transplantasyon sonrası ve böbrek hastalarında kreatinin, diyabetik hastalarda HbA1c değerleri için hesaplanan CV₁ ölçümlerinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (75-86).

Braga ve arkadaşları'nın (87) üç yıl önce diyabetik grupla uzun dönemli yapılan çalışmalardan derledikleri yayında, HbA1c'nin birey içi varyasyon gösterdiği rapor edilmiştir (87). Aynı çalışmada uygun protokol ve istatistiki değerlendirme ile özel ve izlenebilir bir test kullanılarak HbA1c'nin BV'unun belirlenmesine ihtiyaç duyulduğu vurgulanmıştır (87).

Son yayınlar hastalarda, kardiyak troponin, C-reaktif protein, interlökin-6 gibi pro-inflamatuar sitokinlerin, vitamin konsantrasyonları ve hemostatik değişkenlik ölçümlerinin klinik yararı üzerinde BV'un etkisini tanımlamışlardır (88-92).

2.3. Klinik Laboratuvarlarda Referans Aralık Kavramı

Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1958 yılında yapılmış olan sağlık tanımı günümüzde halen kabul görmektedir. Sağlığı sadece hastalık durumunun yokluğu şeklinde değil, “fiziksel, zihinsel, sosyal ve toplumsal olarak tam bir iyilik hali” olarak tanımlamaktadır (93).

Klinik laboratuvarlar; sağlık durumunun değerlendirilmesinde doğrudan klinisyenlere ve hastaya, dolaylı olarak da sağlık hizmeti sağlayıcılarına, sağlık hizmeti harcamalarını karşılayanlara ve resmi kurumlara hizmet vermektedir. Bu nedenlerden dolayı, sağlık durumu değerlendirmesi ve klinik kararların verilmesinde laboratuvar test sonuçları kritik önem taşımaktadır. Karar sınırları olarak adlandırılan bu değerler, kişinin sağlıklı popülasyon içinde olup olmadığı kararı yanında, hastalık aşamaları hakkında bilgi sağlayan karar düzeyleri de olabilmektedir (94).

Bazı hastalık tablolarıyla hastanın durumunun uyumlu olup olmadığının araştırılması ya da sağlıklılık derecesinin belirlenmesi için referans değerleri kullanılmaktadır. Geçmişte “normal değer” olarak kullanılmış olan terminoloji (95), günümüzde yerini “referans aralığı” terimine bırakmıştır (93). 1988 yılında “Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu” (International Federation of Clinical Chemistry-IFCC) “normal değerler” teriminin karışıklık yarattığını ve kullanılmaması gerektiğini belirtmiştir (96). Bunun yerine referans aralığı ve bununla ilişkili olarak referans birey, referans sınırı ve gözlenen değer gibi terimleri önermektedir (97).

Referans değer, referans bireyde ölçümle belirlenen belli bir sayısal değeri ifade etmektedir. **Referans sınırları**, referans bireylerin ölçüm değerlerinden oluşan referans değerler dağılımında, gözlenen aralık sınırlarını belirleyen değerlerdir. Bu sınırlar, aralık yüzdeleriyle belirlenmiş olup, alt referans sınırı ile üst referans sınırı olarak tanımlanmaktadır. Alt ve üst referans sınırlar arasında kalan merkezi alan ise, “**Referans Aralığı (RA)**” olarak ifade edilmektedir. **Gözlem değeri**; tıbbi durum kararının

verilmesinde referans değerlerle, referans dağılımla, referans sınırları veya aralıklarıyla karşılaştırılan, bireyin gözlendiği herhangi bir zamana ait ölçümün sayısal değeri olmaktadır (98).

RA'lar analit düzeyinde hastalık var ya da yok tanısı, hastalık yoksa risk grubunda yer alıp almadığı, risk grubunun izlenmesi, komplikasyon riski, ilaç tedavisi gibi tıbbi kararlarda başvuru değeri aralıklarıdır (99). Yalnızca sağlıklı bireylerin belirlenmesi için değil, belli bazı durumların fizyoloji veya patolojisini temsil etmek üzere de yapılabilmektedir (94). RA'lar sağlık ve hastalıkla ilgili klinik değerlendirmede büyük önem taşımaktadır. Biyokimyasal test sayısının gün geçtikçe artması ve çeşitlenmesi, üretilen verilerin yorumlanmasını dolayısıyla RA'nı klinik açıdan daha önemli hale getirmektedir (100).

Klinik laboratuvarın test sonuçlarında yer alan RA, çoğunlukla sağlıklı bireylerden elde edilmektedir. Karşılaştırma için veri tabanı oluşturma işlevine sahip referans verilerin elde edileceği referans grup bireylerinin seçimi özel önem taşımaktadır. Sağlıklı ya da özel tanımlı koşullar içindeki referans toplulukları oluşturulurken bireylerin seçiminde üç temele dayanan altı yöntem önerilmektedir:

- ❖ Direkt - İndirekt Örneklem
- ❖ Test Öncesi (Priori) - Test Sonrası Örneklem (Posteriori)
- ❖ Rastgele - Rastgele Olmayan Örneklem

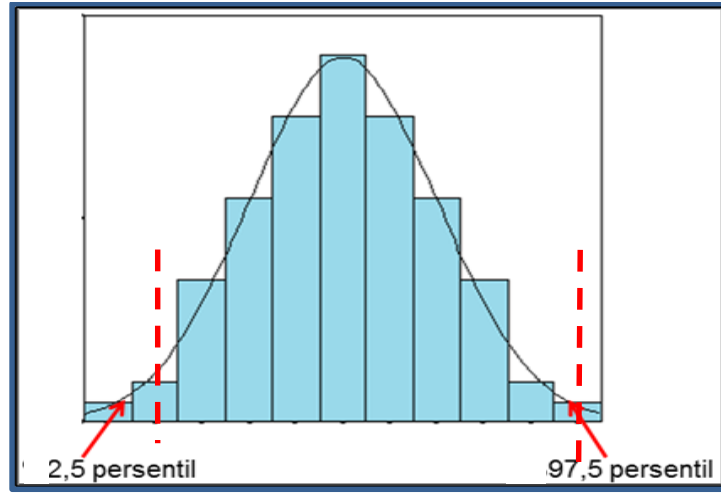
RA'lar belirlenirken çalışmanın amacına göre bu örneklem stratejilerinden biri, diğerlerine tercih edilebilmektedir. **Direkt örneklem yöntemi**, bireylerin seçiminde tüm toplum için tanımlanmış kriterleri; **indirekt örneklem** ise bireylerden bağımsız, belli kurallara uyum gösteren test sonuçlarını belirleyici olarak seçmektedir. **Rastgele örneklemde** tüm grup üyelerinin, referans grup için belirlenmiş olan kriterleri sağladığı düşünülerek örnekler toplanmakta ve analiz edilmektedir. **Rastgele olmayan örneklemde** referans grup oluşturmak için popülasyonda yer alan bireyler arasından önceden

belirlenmiş olan kriterlere uyum gösterenler seçilmektedir. **Test öncesi (priori) örnekleme**de, bireyler oluşturulan örneklem içinden sağladıkları kriterlere göre direkt yöntemle, **test sonrası (posteriori) örnekleme** ise test sonuçları arasından kriterlere uyan sonuçlara sahip bireylerin seçilmesiyle indirekt olarak belirlenmektedir (101).

Sağlıklı bireylerde RA'lar, Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan "Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi" (Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI, eski adıyla National Committee for Clinical Laboratory Standards-NCCLS) ve IFCC önerilerine göre hesaplanabilmektedir (98). Referans grubu oluşturan sağlıklı bireyler, CLSI C28-A3 standartlarına uygun olarak hazırlanmış anket formu verilerine göre değerlendirmeye alınmaktadır (101). Bu öneriler doğrultusunda hazırlanmış RA belirleme aşamaları Tablo.2'de verilmiştir (102).

Tablo.2. Referans Aralık Belirleme Aşamaları
1. RA saptama yolunun belirlenmesi
2. Referans bireylerin seçilme yönteminin belirlenmesi
3. Standart anket formunun oluşturulması
4. RA saptanacak analit özelliklerinin belirlenmesi
5. Laboratuvar koşullarının hazırlanması
6. Analitik kontrolün değerlendirilmesi ve devamlılığının sağlanması
7. Belirlenmiş kriterlere göre veri toplanması
8. Verilerin istatistiksel analizinin değerlendirilmesi
9. İstatistiksel yöntemle göre RA'ın hesaplanması

Referans değerler aralığı, %2,5 ve %97,5 düzeyleri arasında kalan %95'lik alanı, merkezi alan olarak kabul etmektedir. İstatistiksel anlamıyla, normal dağılım ya da Gaussian dağılıma uyan veriler grubu, epidemiyoloji yönünden değerlendirildiğinde, %95 merkezi alanda yer alan değerler sağlıklılık değerleri, kalan %5'lik alanda yer alan değerler ise sağlık dışı değerler olarak yorumlanmaktadır (103) (Şekil.2).



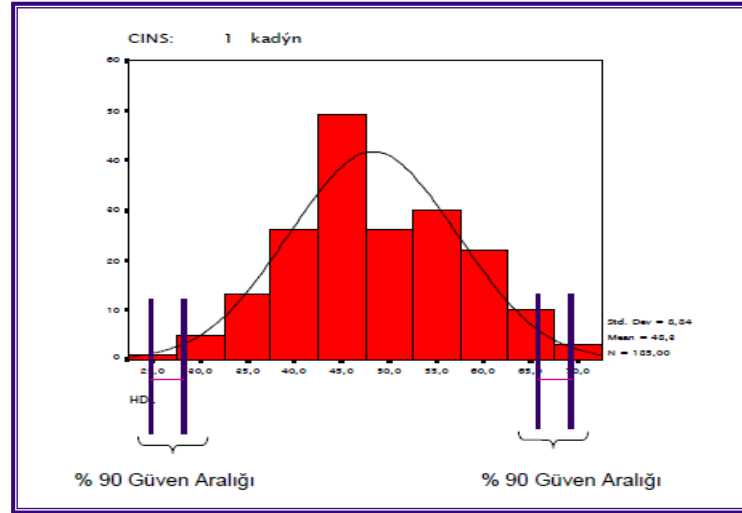
Şekil.2. %95 'lik merkezi alanı gösteren örnek histogram.

Referans düzeyler tek değer olarak değil, RA olarak kullanılmaktadır. RA sınırları verilirken hangi yüzdelikler arasının kabul edildiği belirtilmektedir. Tanımlanan yzdelikteki değer o yzdelikteki konsantrasyonu göstermektedir. Referans verilerin dağıldığı %95'lik merkezi alandaki sonuçlar RA'ı temsil etmektedir. Bu nedenle alt sınır 2,5'uncu yüzdelik, st sınır 97,5'uncu yüzdelik değeri olarak alınarak referans dağılımın her iki ucundan %2,5'luk veri hesap dışı bırakılmaktadır. IFCC sıklıkla bu yüzdelikler arasındaki RA'ın kullanılmasını önermektedir (96,98,104).

RA'ın hesaplanmasında iki istatistiksel yöntem kullanılmaktadır: 1) Parametrik yöntemde, referans grup verilerinin olasılık dağılımının ‘‘Gaussian/Normal’’ dağılıma uyum gösterdiği kabul edilmektedir. Hesaplamalarda parametrik istatistiki yöntemler tercih edilmektedir. 2) Parametrik olmayan yöntemde ise, referans grup verilerinin,

olasılık dağılım grafiğinin Gaussian dağılıma uymadığı kabul edilmekte ve non-parametrik istatistik yöntemlerden yararlanılmaktadır (105). Referans dağılımlar şematik olarak histogram grafikleri ile değerlendirilebilmektedir. Referans dağılımda aşırı uç değerlerin belirlenmesi için “D/R (Dixon/Reed) kuralı” önerilmektedir. D/R oranına göre karar için kestirim değeri 1/3 olarak kabul edilmektedir (106). “D değeri” aşırı uç olup olmadığı test edilen değerle ona en yakın değer arasındaki farkı vermektedir. R değeri ise test edilen gözlemler de dahil tüm verilerin en az ve en çok değeri arasındaki fark aralığı olmaktadır. Bu tanımlara göre $D \geq R / 3$ ise test edilen değer uç değer olarak kabul edilerek hesap dışı bırakılmaktadır (93,98)

Hesaplanan RA’ın güvenilirliğini arttırmak ve belirsizlik derecesini azaltmak için alt ve üst sınırlarına ait güven aralıklarının hesaplanması gerekmektedir (106). Bu sınırlar da % 90 veya % 95 güvenle hesaplanmakta ve “% 90 veya % 95 Güven Aralığı (GA)” olarak adlandırılmaktadır (Şekil.3) (107). Örneklemdaki birey sayısı arttıkça CV_G azaldığı için güven aralığı da daralmakta ve referans değerler aralığı daha güvenli olmaktadır (108).



Şekil.3.Gaussian dağılımda hesaplanmış alt ve üst referans aralıklarının % 90 güven aralıklarını gösteren örnek histogram.

2.3.1. Popülasyona ve Bireye Dayalı Referans Aralık Kavramı

Popülasyona (topluma) dayalı RA'lar, belirli kriterlere göre seçilen bireyler grubundan elde edilen verilerden oluşmaktadır. Bireye dayalı RA ise, bireyin önceden tanımlanmış durumlarında elde edilen kişisel değerleri ifade etmektedir (109).

RA, 1973 yılında aynı birey ya da belirtilen tanıma uygun karşılaştırılabilir bireyler grubundan elde edilen belli sayıdaki değerler topluluğu olarak tanımlanmıştır (110). Bu tanımla uyumlu olarak, bireye dayalı RA kavramı IFCC tarafından desteklenmiştir. IFCC'nin referans değerler ile ilgili onaylı önerilerinde, RA'nın bir birey ya da birey gruplarından elde edilebileceği belirtilmektedir (111).

Klinik laboratuvar testleri için normal kabul edilen aralıklar genellikle çok sayıda sağlıklı bireye ait tek ölçüm sonuçlarının toplam dağılımı kullanılarak hesaplanmaktadır. Bu popülasyona dayalı referans değerler aralığının bireysel değerler aralığından daha geniş olduğu varsayıldığında bireydeki erken değişiklikleri tespit etmede duyarsız olabilmektedir (94).

Laboratuvar verileri sağlık ve hastalık durumuna göre birkaç gün, hafta ya da ay aralıklarla, ölçümü yapılan analitlerin serum konsantrasyonlarında meydana gelen değişiklikleri yansıtmakta ve gözlem aralığında yer alması beklenen bir tahmin aralığı üretmektedir. Bu tahmin aralığı analite ait referans değerlerin yanısıra günümüzde bireyin yeni ve eski sonuçlarına da dayanmaktadır. Mevcut gözlem aralığında o analit için bireye ait tüm sonuçlar kullanılarak bireysel bir seri üretilebilmektedir. Bir birey için, belirlenen bir zaman aralığında ardışık gözlemler yapılarak zamansal seriler de oluşturulabilmektedir (112). Bu zaman aralıkları, sağlıklı bireylerde döngüsel biyolojik ritimler ve hasta bireylerde tanının klinik seyri dikkate alınarak günlük, haftalık ya da aylık gözlemler olarak belirlenebilmektedir. Böbrek yetmezliğine sahip hasta grubunda glomeruler filtrasyon hızı ve böbrek fonksiyon testlerinin takibi amacıyla bireysel seriler oluşturulabilmekte ve klinik seyir ile tedaviye yanıt açısından

değişimleri izlenebilmektedir (113).

Genellikle tüm toplumu yansıtan RA'lar kullanılıyor olsa da bireye ait yaş, cinsiyet, özgeçmiş, sağlık sorunları gibi özelliklerin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Önceki çalışmalar yaşlı nüfusta sakatlık, düşme ve ölüm riskini arttırabilen yaşla ilişkili olarak azalmış homeostatik mekanizmalar gözlenmiştir (109). Bu nedenle sağlık durumundaki değişikliklerin değerlendirilme kapasitesi ve tanı doğruluğu bu nüfusta özellikle önemli hale gelmektedir. Belirli bir popülasyondan elde edilen RA'lar bireysel analitik test değerlerinin karşılaştırılması, laboratuvar sonuçlarının preanalitik varyasyon, CV_A ve BV'dan etkilenmesi gibi bazı kısıtlamalar taşımaktadır (25).

Geleneksel popülasyona dayalı RA'lar, klinisyen hasta hakkında çok az objektif bilgi sahibi olduğunda yararlı olmaktadır. Hastanın tıbbi geçmişi bilindiği ve ölçülen analitlerin bireysel farklılıklar gösterdiği bazı vakalarda bu popülasyona dayalı RA'ın kullanımı sınırlanmaktadır. Bu sebeple kişiselleştirilen bir yaklaşımla bireye dayalı RA'ı kullanımı daha uygun olmaktadır. Referans örneklem değerlendirmesi kararlı durumda elde edildiği varsayılarak tek bir kişiye ait seri ölçüm sonuçlarına dayandırılmaktadır (114).

Popülasyona dayalı RA'lar, genetik çeşitlilik, çevresel ve ölçüme bağlı faktörler yanında BV'dan da büyük ölçüde etkilenmektedir. Bir kısım biyokimyasal analit için bireye dayalı RA popülasyona dayalı RA'a göre daha dar sınırlar içinde kontrol edilmektedir (115). Bir testin belirli bir şahıs için normal değerinin ne olduğu, test o kişiye daha önce uygulanmamışsa bilinmemektedir. İdeali, bu değer in önceden bilinmesi olmaktadır. Bireye ait test değerlerinde meydana gelen önemli değişiklikler, referans sınırlar aşılmadığı sürece hastalık lehine değerlendirilmemektedir. Bazen bu değişiklikler şahısta meydana gelen önemli gelişmelerin erken sinyali olabilmektedir. Değişiklikler BV'dan daha büyük bir fark gösterdiğinde değerli olmaktadır. Bireyin daha önce sağlıklı zamanında elde edilmiş sonuçları bireysel referans değerler olarak kullanılabilir (105).

Harris ve arkadaşları 1975 yılında bireysel RA'la ilgili kuramsal temelleri ve istatistiksel yöntemleri tanımlamışlardır (116). Ancak bu temel ve yöntemlere ait uygulamaların yaygınlaştırılmasında halen zorluklarla karşılaşılabilir. Bilgi teknolojisinin gelişmesi büyük miktarda veri arşivine ve kullanım sürecinin hızlandırılmasına olanak sağlamaktadır. Diğer yandan, test standardizasyonunda iyileşme sağlanması ve izlenebilirlik kavramının uygulanması, sonuçların stabilitesini ve çoğu analit için yer ve zamana göre karşılaştırılabilirliğini arttırmaktadır. Belirtilen ana hatlar teorisinin pratik kullanıma dönüştürülmesine izin vermektedir. Bu deneysel model oldukça basittir ve herhangi bir stabil sağlıklılık döneminde ve izlem amacıyla aynı bireyden çeşitli numunelerin toplanmasını gerektirmektedir. Verilen analit için bu örnekler üzerindeki ölçüm sonuçları, bireye ait zamansal bir seri üretecek ve gelecekteki sonuçlara temel oluşturarak değerlendirilecektir (116). Zamansal serilerin genellikle periyodik salınımlar, rastgele dalgalanmalar ve kısa ya da uzun vadeli değişikliklerden oluştuğu kabul edilmektedir. Sistemik varyans ve döngüsel bileşenler tespit edildiği ve ortadan kaldırıldığında zaman serinin kararlı olduğu öngörülmektedir (117).

Bireye ait zamansal serilerin analizi, bireye ve seriye ait dönem özelliklerini tanımlamak, tekrarlanan ölçüm sonuçlarının birbirleriyle uyumunu (otokorelasyon) gözlemek, kalite sürecini kontrol etmek, laboratuvar verilerine açıklanabilir bir model oluşturmak için uygun bir istatistiksel çerçeve sağlamaktadır (7).

Otokorelasyon kavramı bir serinin herhangi bir dönemdeki değeriyle, bir önceki veya bir sonraki dönemde elde edilen değerlerinin paralellik göstermesi durumu olarak tanımlanmaktadır. Uygulamada en çok zaman serilerinde ortaya çıkan otokorelasyon, zaman periyodunun büyüklüğü veya küçüklüğüne göre değişebilmektedir. Periyod aralığı uzadıkça otokorelasyonun azalması beklenmektedir. Yaygın olarak en kısa zaman serisi sadece iki ölçüm olduğunda elde edilebilmektedir. Bir önceki ölçümle farklılığın istatistiksel anlamlılığı hem kalite kontrol hem de referans değişim sınırı (delta kontrol

/kritik farklar) gibi yorumlayıcı tanısal alanlardan kaynaklanmaktadır. Aynı kısıtlayıcı kriterleri uygulayarak, benzer birey örneklerindeki varyasyon dağılımından seçilen ardışık ölçümler arasındaki fark için CV_1 'a dayalı özgün sınırlar geliştirmek mümkündür (7,118). Otokorelasyon etkeni de değerlendirilip, seçilen grupta CV_1 'un ortalamaları kullanılarak sadece birkaç ölçümle bireye dayalı RA oluşturulabilmektedir. Öngörülen veya tahmin edilen aralıklar, klasik referans değer kavramına dayanan mevcut istatistiksel tolerans aralığı ya da daha iyi bir ifade ile kapsama aralığına eşdeğer bireysel RA olmaktadır (119).

Sağlığı tanımlamada ve hastalıkla ayırımını yapmada bireye dayalı RA, özellikle popülasyona dayalı RA'nı oluşturmak için gerekli olan yeterli sayıda sağlıklı birey örneğinin toplanmasının zor olduğu tıbbi alanlarda kullanılabilir. Bazı analitler için popülasyona dayalı RA kullanımı daha iyi olarak değerlendirilmekle beraber, diğer bazı analitler için bireye dayalı RA, klinik olarak anlamlı değişikliklerin saptanmasında popülasyona dayalı RA'lardan daha duyarlı olmaktadır. Analit için hangi RA kullanımının uygun olduğu, verilen analitin CV_A ve BV verilerine dayanan referans değişim sınırlarıyla belirlenebilmektedir. Elde edilen CV_A ve BV verileri ve seri analit ölçümleri ile bireye dayalı RA değerleri oluşturulabilmektedir (25).

2.4. Referans Değişim Değeri ve Bireysellik İndeksi

İlk kez 1983 yılında tanımlanan Referans Değişim Değeri, (RCV; Reference Change Value) bir bireye ve belli oranda benzer tüm bireylere ait iki ardışık test sonucu arasındaki farklılıkların anlamlı olup olmadığının belirlenmesini ifade etmektedir (60). Bazen her iki sonuç değeri popülasyona dayalı RA içinde kalsa bile bu farklılıklar anlamlı olabilmektedir (120,121).

İzlem gerektiren durumlarda bireye ait analit konsantrasyonlarında meydana gelen değişikliklerin belirlenmesi amacıyla tekraren örnekleme ve ölçümlerin yapılması yaygın bir klinik uygulamadır. Gözlem değerleri arasındaki farklılıklar için hesaplanan yüzde değişimin daha doğru ve objektif yorumlanması amacıyla Harris ve Yasaka tarafından RCV kavramı geliştirilmiştir (60). İki ardışık test sonucu arasında hesaplanan yüzde (%) değişim [$\% \text{değişim} = (|\text{İlk test sonucu} - \text{sonraki test sonucu}| * 100) / \text{ilk test sonucu}$] > RCV bulunması durumunda farklılıklar anlamlı olmaktadır. İzlem gerektiren klinik endikasyonlar açısından bu kavramının laboratuvar uygulamalarında yer alması önerilmektedir. RCV, karşılaştırma aracı olarak popülasyona dayalı RA yerine bireye ait önceki gözlem değerlerinden elde edilen bireye dayalı RA'ı kullanmaktadır (122).

İyi tanımlanmış olan klinik bulgular çerçevesinde, çalışılan referans grupta homojenliğin, izlem döneminde stabilitenin ve kullanılan analitik yöntemde kontrolün sağlanması ile anlamlı kabul edilen değişimler, laboratuvar hatalarından ayırt edilerek belirlenebilmekte ve klinik durum hakkında daha doğru bilgiler elde edilebilmektedir. Ardışık test sonuçları düşünüldüğünde RCV kavramı CV_A , CV_I ve seçilen anlamlılık olasılığına bağlı olmaktadır (123).

Yüzde olarak ifade edilen RCV'nin hesaplanması için önerilen standart denklem;

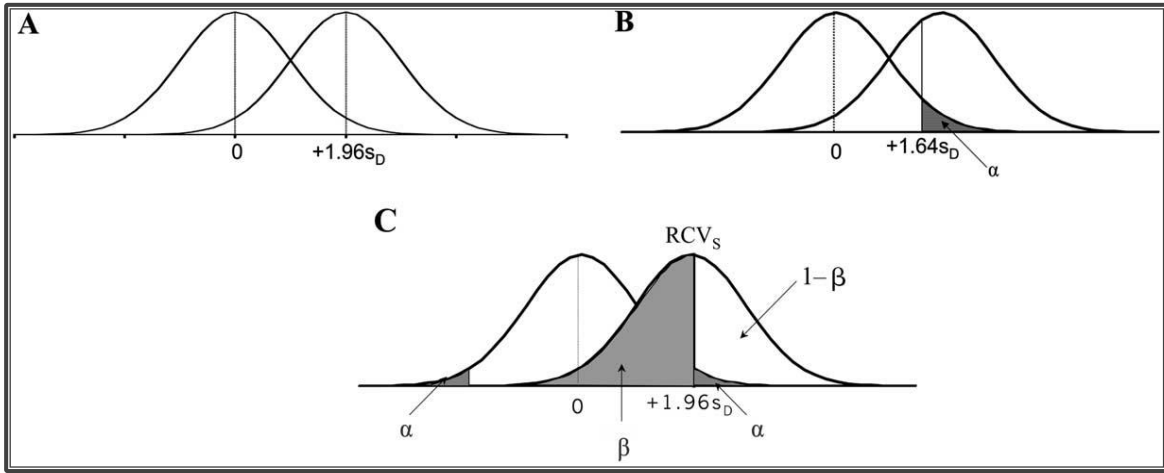
$$RCV (\%) = Z_p \times 2^{1/2} \times (CV_I^2 + CV_A^2)^{1/2}$$

şeklindedir (123) (Z_p : istatistiksel anlamlılığı belirlemek için seçilen olasılık değerini -%95 için 1.96 gibi-, $2^{1/2}$: iki ölçümün hesaba dahil edildiğini ifade eden sabit değeri, CV_A : analitik varyasyon katsayısını, CV_I : birey içi varyasyon katsayısını göstermektedir) (57).

Geniş Z_p değerlerinin kullanılması, istatistiksel fonksiyonun gücünü ve hesaplanan RCV'ni arttırarak, anlamlı değişikliklerin saptanabilirliğini arttırmaktadır. Gerçek farklılıkların tespit edilebilme gücü, üç değişkenle (tip 1 hata, birey sayısı ve farkın büyüklüğü) ilişkili olarak arttırılabilmektedir (124). RCV, izlemi yapılan bireyde ardışık iki test sonucu arasındaki anlamlı değişikliği, tip 1 hatanın (α) belirlenmesi yoluyla göstermektedir. Bu hata tipi, sonuçlar arasında gerçekte anlamlı bir farklılık yokken, farkın anlamlı olduğunu savunan “yalancı pozitif sonuç olasılığı” temsil etmekte ve Z_p değeri ile belirlenmektedir (73). Çoğu araştırmacı yalancı pozitif sonuç olasılığını kontrol altında tutmak amacıyla RCV'ne başvurmakta, ancak sadece α 'nın değerlendirmeye alınmış olması, BV ve I nedeniyle bireyde meydana gelen gerçek patolojik değişimlerin ihmal edilmesiyle sonuçlanabilmektedir. RCV'nin daha kapsamlı değerlendirmelerine tip 2 hatanın da dahil edilmesi önerilmektedir (73,125). Klinik uygulamada belirlenen yüzde değişimlerin, hesaplanan RCV'den küçük çıkması durumunda anlamlı farklılıklar atlanmakta ve bu durum “yalancı negatif sonuç olasılığı” olarak tanımlanan tip 2 hatayı (β) temsil etmektedir (Şekil.4) (73).

Analit konsantrasyonlarında meydana gelen gerçek farklılıkların tespit edilebilme olasılığı, o test için “güç ($1 - \beta$)” anlamına gelmekte ve bu kavram güç fonksiyonu ile açıklanabilmektedir (Şekil.4). Güç fonksiyonları, verilen kararların doğruluğunu ölçmek ve örneklem sayısını belirlemek için kullanılmaktadır. Araştırmanın sağlığı açısından test gücünün ($1 - \beta$) 0.80'den yüksek olması beklenmektedir. α kontrol edilebilirken, örneklem büyüklüğü, α değeri ve örneklem dağılımına büyük ölçüde bağlı olan β değişkenlik gösterebilmektedir (73). Westgard ve Groth farklı kontrol kuralları ile İKK'de hatanın belirlenmesi için güç fonksiyonları üzerinde önemle durmuşlardır (126,127).

Bir örneğin test edilmesi büyük oranda BV, CV_A ve preanalitik varyasyonla ilişkili rastgele varyasyona bağlı olmaktadır. Test edilen analit konsantrasyonları, kararlı durum dengesi süresince bireyin homeostatik ayar noktası etrafında simetrik olarak dağılmakta ve bu stabil koşulda yapılan ölçümler arasındaki farklılıkların anlamlı olmadığı ve Gaussian dağılım gösterdiği belirtilmektedir. Eğer iki test sonucu arasında belirlenen patolojik değişimlerin 1.96xSD'ya ve hesaplanan değişim değeri ile aynı ortalamaya sahip olduğu kabul edilirse bu durum için de Gaussian dağılım grafiği çizilebilmektedir. Bu nedenle ardışık test sonuçlarına ait hesaplanan RCV için, kararlı durum koşullarında ortaya çıkan farklılık dağılımları ile gelişen patolojik süreçler sırasında meydana gelen farklılık dağılımları arasında sonuçların değerlendirilmesi açısından bir ilişki kurulabilmektedir (Şekil.4) (73).



Şekil.4. Aynı standart sapmaya sahip 'kararlı durum' ve 'patolojik süreçte' analit değerlerinde gözlenen değişimleri yansıtan iki dağılımın karşılaştırılması

Şekil 4A, SD'ları aynı, ancak ortalamaları farklı olan kararlı durum ve patolojik süreçlere ait iki RCV sonuç dağılımını göstermektedir. Bu koşullarda dağılım eğrileri çakışmakta ve α 'nın belirlenmesi, farklılıkları tespit etmede β 'yi ve istatistiksel gücü etkilemektedir. Pratik kullanımda yalancı pozitif sonuçların sıklıkla %5 olasılık gibi düşük oranda belirlenmesi uygun olmaktadır. Bu ise sayısal olarak daha geniş ölçüm farklılıkları gösterme şansının sadece %5 olduğu anlamına gelmektedir. Eğer değişim

artma ya da azalma şeklinde tek yönlüyse 0.05 olasılık için tüm α düzeyleri eğrinin bir ucuna yerleşmekte ve Z_p değeri 1.64 olarak belirlenmektedir (Şekil.4B). Değişim iki yönlü olduğunda ise α düzeyleri 0.025 olasılığa sahip parçalar halinde eğrinin her iki ucunda yer almakta ve Z_p değeri 1.96 olarak seçilmektedir (Şekil.4C) (73). Şekil 4C’de belirtilen;

(α); gerçekte anlamlı olmayan farkların anlamlı kabul edilmesini [yalancı pozitif (YP)],

(β); gerçekte anlamlı farkların anlamlı kabul edilmemesini [yalancı negatif (YN)],

(1- α); gerçekte anlamlı olmayan farkların anlamlı kabul edilmemesini [gerçek negatif (GN)] (Testin anlamlılık düzeyi),

(1- β); gerçekte anlamlı farkların anlamlı kabul edilmesini [gerçek pozitif (GP)]

(Anlamlı farkın belirlenebilme olasılığı “Testin Gücü”) ifade etmektedir.

Test sonuçlarında gözlenen farkların anlamlı olup olmaması açısından var olan gerçek durum ile değerlendirme sonrasında verilen karar arasında kurulan ilişki ile de durum açıklanabilmektedir (Tablo.3) (73).

Tablo.3. Gerçek durum – karar ilişkisi			
		Testin anlamlı farkı belirleme olasılığı “Güç”	
		Farklar Anlamlı Değil (H_0H)	Farklar Anlamlı (H_1H)
Karar	(H_0H) Kabul	Doğru Karar (1 - α)	Tip 2 Hata (β)
	(H_1H) Kabul	Tip 1 Hata (α)	Doğru Karar (1 - β)

Laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan bir kısım analit ölçümünde sabit CV_A değerleri gözleendiği ve bazı patolojiler dışındaki klinik durumların çoğunda elde edilen CV_I verilerinin, sağlıklı birey verileriyle benzerlik gösterdiği bildirilmektedir (128). Patolojik süreçlere ait sonuçların değerlendirilmesinde daha önce sağlıklı bireyler için düşük sınırlarda belirlenmiş olan RCV’nin kullanılması, YP sonuç olasılığında artış

gözlenmesine neden olabilmektedir. Bu sorun; böbrek hastalığı tanısıyla serum kreatinin konsantrasyonları izlenen bireylerde olduğu gibi, hastalık süreciyle ilişkili analitler için CV_I ve RCV 'nin birlikte saptanmasıyla ele alınabilmektedir (32).

RCV , popülasyona dayalı RA veya klinisyenlerin ortak görüşlerine dayanan karar sınırlarından farklıdır. RCV 'nin hangi klinik durumlarda kullanılabileceği sorusu, büyük ölçüde analitin bireyselliği ile cevaplanabilmektedir (125).

Sağlıklı durumda bireyin homeostatik ayar noktası, referans sınırlardan çok uzak değilse herhangi bir değişikliğin tespit edilebilme olasılığı, bireyde büyük değişiklikler meydana geldiğinde artmakta ve bu durum olağan kabul edilmektedir. 40 yıl önce Harris sağlıklı referans bireylerden elde edilen popülasyona dayalı RA dağılımlarını, gözlem değerleri dağılımlarıyla karşılaştırmıştır (129). BV 'la ilgili yayınlanmış verilere ait değerlendirmelerde, $CV_I > CV_G$ olması durumunda, referans bireyler grubu değerlerinden elde edilen popülasyona dayalı RA dağılımının, bir bireye ait değerler dağılımını daha fazla oranda kapsadığı belirtilmiş ve çoğu klinik değerlendirmede tüm bireyler için popülasyona dayalı RA kullanımının yararlı olacağı vurgulanmıştır (129). Ancak bu durumun tıbbi laboratuvarlarda incelenen analitlerin çoğu için yaygın olmadığı gözlenmiştir. Çoğu analit için $CV_I < CV_G$ olduğu gösterilmiş ve analitlerin bireysellik özelliğine dikkat çekilmiştir.

Bireyselliğin kantitatif ölçümü Harris (130) tarafından önerilen **Bireysellik İndeksi (II; index of individuality)** olarak tanımlanmaktadır ve bu indeks değeri aşağıda belirtilen denklemle elde edilmektedir:

$$II = (CV_I^2 + CV_A^2)^{1/2} / CV_G$$

Çoğu otoanalizörün yaygın bulgusu $CV_A < CV_I$ olduğundan, II denklemi sıklıkla " $II = CV_I / CV_G$ " olarak sadeleştirilmekte ve bu oran daha duyarlı görünmektedir. Bu

indeksin kullanılması iki farklı durum değerlendirmesine izin vermektedir: $II > 1.4$ olması durumu, analitin düşük bireyselliğe sahip olduğunu göstermektedir. İndeks değeri 1.4'ten büyük analitler (örneğin; demir ve potasyum) için popülasyona dayalı RA kullanımının uygun olacağı belirtilmektedir. 0.6'nın altında indeks değerine sahip analitlerin (örneğin; üre, kreatinin, ALP) ise yüksek oranda bireysellik göstermesi nedeniyle anlamlı kabul edilen değişikliklerin belirlenmesinde, popülasyona dayalı RA'lar yerine bireye dayalı RA veya RCV değerlendirmeleri kullanımının daha yararlı olacağı vurgulanmaktadır. $0.6 > II > 1.4$ olması halinde ise popülasyona dayalı RA'ın dikkatli kullanılması önerilmektedir (20). II değerinin 0.48'in altında olması durumunda bireye dayalı RA'ın, değişimin saptanabilirliğini arttığı belirtilmiştir (125). Popülasyona dayalı RA sınırları dışına düşen gözlenen değer tekrarlandığında II'nin önemli bir etkisi olmaktadır. Düşük II'ne sahip analitler için, tekrarlanan gözlem değerlerinin birbirine yakın olması beklendiğinden, yalancı pozitif sonuçlar üzerinde herhangi bir etki yaratmamaktadır.

İki test sonucu arasındaki anlamlı farkları tespit etmek için hesaplanan RCV, bireydeki gerçek değişime eşdeğerse, bu değişimin belirlenme olasılığı sadece % 50 olmaktadır. Bu nedenle değişimin RCV ile belirlenmesi olasılığını arttırmak için II kavramının değerlendirmelere dahil edilmesi uygun olmaktadır. Değerlendirmelere sağlanan bu destekle, RCV'nin gücü ve popülasyona dayalı RA'nın kullanım yararı belirlenmektedir. Popülasyona dayalı RA'dan optimum yararın sağlanması ve gereğine uygun kullanılması için her bir analitin, CV_A , CV_I ve CV_G değerlerinin ve dolayısıyla II'nin bilinmesi önerilmektedir (128).

2.5. İskemi Modifiye Albumin ve Klinik Önemi

Plazma proteinlerinin %60'ını oluşturan insan serum albümini, kanda en fazla bulunan proteindir ve karaciğerde sentezlenmektedir. Plazma onkotik basıncının ayarlanmasında önemli rolü olan albumin, kan pH'sının ayarlanmasında da tampon görevi görmektedir. Aminoasit (aa) deposu gibi görev yaparak karaciğerin protein sentez aktivitesini desteklemekte ve organik veya inorganik yapıdaki bir çok maddenin taşınmasında görev almaktadır. Temel yapısı, 585 aa'lık primer zincir, 17 disülfid köprüsü ve bir serbest sistein aa'ndan meydana gelmektedir (131,132).

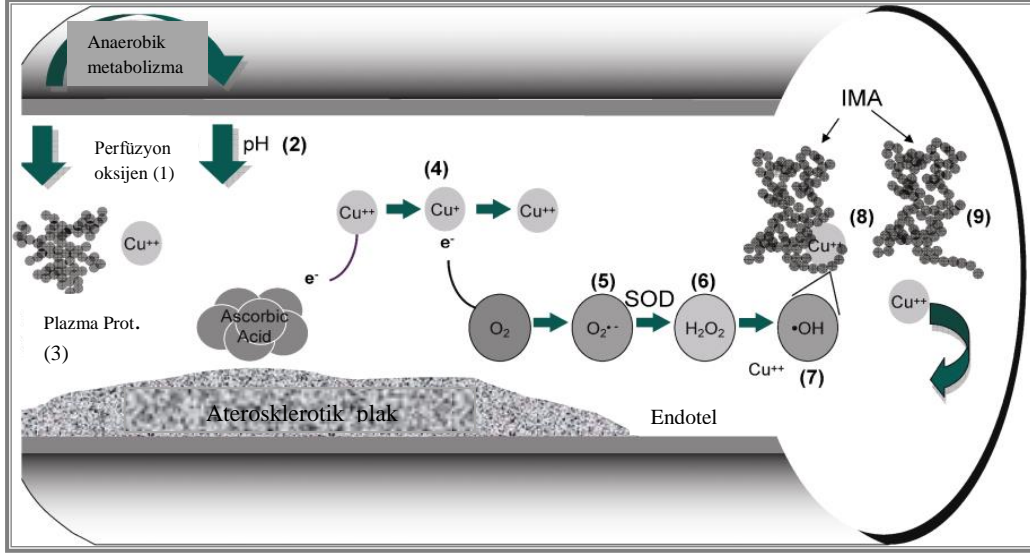
Normal şartlarda, albuminin N-terminal ucunda Asp-Ala-His-Lys aa zinciri yer almakta ve bu bölge kobalt, bakır ve nikel gibi geçiş metalleri için yüksek affiniteli bir bağlanma bölgesi özelliği taşımaktadır. Bu aa dizisinin varlığı HPLC, LC-MS ve HNMR yöntemleri ile belirlenmiş ve diğer metal iyonlarına oranla kobalt (Co⁺²) için güçlü bağlanma kapasitesi sergilediği gözlenmiştir (133).

İskemi ve reperfüzyon durumunda, özellikle serbest radikal üretimi ve hasarı nedeniyle meydana gelen hücresel değişimlerin, bir veya daha fazla aa'in silinmesi ya da N-asetilasyonu yoluyla N-terminal uca yapısal modifikasyonlara neden olduğu gösterilmiştir (133). Bu modifikasyonlar, albuminin kobalta bağlanma kapasitesinde azalmayla sonuçlanmakta ve oluşan yeni molekül İskemi Modifiye Albumin (İMA) olarak adlandırılmaktadır (134,135).

Reaktif oksijen türleri (ROS: Reactive Oxygen Species) üretiminin arttığı oksidatif stresle gelişen iskemi-reperfüzyon hasarının ilerlemesi halinde proteinler ve yağlar gibi bazı biyomoleküllerde biyokimyasal değişikliklerle sonuçlanmaktadır (136,137). İMA de oksidatif stres zemininde indüklenen protein modifikasyonu göstermektedir (138).

Asidozla ilişkili iskemide, yeterli oksijen desteği dokulara sağlanamadığından, anaerobik hücresel metabolizma meydana gelmekte, laktik asit ortamda artarken, Na-K ATPaz pompası çalışmadığı için ortamdaki ATP azalmaktadır. Zweier ve arkadaşlarının

yaptığı çalışmada, kardiyak fonksiyon bozuklukları sonucunda meydana gelen iske mi durumunda kan dolaşımında serbest radikallerin arttığı gösterilmiştir (139) (Şekil.5).



Şekil.5. İske mi durumunda İMA ve okside metallerin reaksiyonu (Gaze DC, 2009).

Bakır (Cu^{2+}) ve demir fizyolojik olarak kanda oldukça bol bulunan moleküllerdir ve dolaşımında albumin, transferrin, seruloplazmin gibi taşıyıcılarına bağlı olarak ya da intrasellüler ortamda serbest halde bulunmaktadır. Vücudun herhangi bir bölgesinde iskeminin başlamasından kısa bir süre sonra, intrasellüler ortamda yer alan veya taşıma proteinlerine bağlı bakır ve demirler, dolaşıma salınmakta ve serbest konsantrasyonlarında artma meydana gelmektedir (140). Bu redoks aktif metal iyonlarının ortamdaki oksijene olan etkileri sonucunda reaktif oksijen zararlı ürünleri oluşmaktadır. Dolaşımda bulunan askorbik asit gibi indirgeyici maddelerin varlığında Cu^{2+} bir elektron alarak Cu^+ 'ya indirgenmekte ve bu haldeki bakırlar, ortamdaki oksijen moleküllerinin süperoksit radikallerine dönüşmesine neden olmaktadır. Süperoksit dismutaz enzimi, dokularda oldukça fazla bulunan ve süperoksitleri hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene çeviren bir enzimdir. Normalde bu oluşan H_2O_2 ikinci bir enzim olan katalaz enzimi ile su ve oksijene çevrilerek zararsızlaştırılmaktadır. Demir ve bakır gibi redoks reaktif okside metaller

varlığında süperoksit/ metal / H₂O₂ arasında meydana gelen fenton reaksiyonları etkisiyle oldukça yüksek reaktif ve potansiyel olarak zararlı serbest hidroksil (OH⁻) radikalleri ve okside metal iyonları ortamda artmaktadır (141). Oluşan bu serbest OH⁻ radikalleri protein, nükleik asitler ve lipidlerin hasara uğramasında önemli rol oynamaktadır.

Albumin gibi biyolojik moleküllerin metal bağlayan kısımları, spesifik fenton reaksiyonları sonucunda bölgesel bir zarara uğramaktadır. Böylece açığa çıkan ve ortamdaki indirgeyici ajanlarla okside olan bu metal atomları, bu zincir reaksiyonun oluşmasını sürekli tetiklerken albumin tarafından bağlanmaya çalışmakta ve bağlı albumin de bir taraftan İMA oluşturmaya devam etmektedir (141,142).

Arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu ile bu doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi, hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. Hücre rejenerasyonu ve toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekmektedir. Ancak iskemik dokunun reperfüzyonu, paradoksal olarak dokuda sadece iskeminin yol açtığı hasara göre çok daha ciddi bir hasara neden olmaktadır (143,144). Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan ROS ve türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır (145,146).

İskemi/reperfüzyon (İ/R) gelişmesine bağlı miyokardiyal hasar, kalbin kasılma fonksiyonunun kaybı, aritmiler ve irreversible miyosit hasarını içermektedir (147,148). Bu İ/R hasarının nedeni hala tartışılmakla birlikte, iskemideki elektrofizyolojik anormallikler [özellikle, kalsiyum (Ca²⁺) ve potasyum (K⁺) için iyonik dengesizlik] ve reperfüzyonda aşırı serbest radikal üretimi, geçerli hipotezler olarak kabul edilmektedir (149,150). Bunlara paralel olarak koroner endotelial hücreler, lökositler, trombositler, ve kardiyak miyositler de hasar oluşumunda önemli rol oynamaktadır (151). İskemik dönemde damar endotelinde oluşan metabolik ve yapısal değişiklikler nedeniyle damar

duvarına yerleşik aterom plağının erozyonu ve rüptürü ile sonuçlanan klinik tablolar Akut Koroner Sendromlar (AKS) olarak bilinmektedir. Bu durum plak boyutu, vasküler anatomi ve kollateral dolaşımın derecesine bağlı olarak kardiyomiyosit hasarına ve iskemiye izleyen ilerleyici doku nekrozuna yol açmaktadır (152).

Akut miyokard iskemisinin tanısı; göğüs ağrısı, EKG değişiklikleri ve miyokarda özgü serum belirteçlerinin kanda yükselmesine dayanmaktadır (153). Göğüs ağrısının miyokardiyal etiolojisini belirlemede düşük değerlendirme eşiği gerekmektedir. Çünkü, AKS başvuruları sıklıkla atipiktir ve gözden kaçırılan tanılar hastalar için önemli riskler taşımaktadır. Kabul anında çekilen EKG'nin duyarlılığı %50' nin üzerine çıkamamaktadır. Miyokard hasarının tespitinde, EKG bulgularının yeterli olmaması, biyokimyasal parametrelerin, erken tanı ve müdahalede önemini arttırmıştır. Günlük pratikte en sık kullanılan parametreler; kreatin kinaz (CK), kreatin kinaz myokard bandı (CK-MB), aspartat aminotransferaz (AST) ve laktat dehidrojenaz (LDH) gibi kardiyak enzimler ile miyoglobin ve troponinler gibi kardiyak proteinlerdir (154). AST, LDH ve oksijen bağlayıcı protein olan miyoglobin, miyokarda özgül olmamaları ve erken tanı imkanı vermemeleri nedeni ile artık kullanımlarını yitirmektedir. CK-MB'nin miyokard için özgüllüğü orta derecede olmasına karşın iskemiye hızlı bir cevap verememektedir. Yapısal protein olarak da, kardiyak troponin T (cTnT) ve troponin I (cTnI) kullanılmaktadır. cTnT ve cTnI miyokarddan salındıkları için özgüllükleri yüksektir, ancak salınımları iskeminin geç döneminde olmaktadır. İskeminin erken dönemde belirlenmesi, miyokardiyal perfüzyondaki kritik azalmanın önlenmesine erken müdahale ile sonuçlanacaktır (155). Miyokard iskemisi tanısı ve AKS'lu hastaların risk sınıflamasında kullanılan CK-MB ve troponin gibi geleneksel biyobelirteçlerin, ancak belli derecede nekroz geliştiğinde saptanabilir olmaları nedeniyle etkinlikleri sınırlanmaktadır (156).

Miyokardiyal iskemi evresindeki hastalar hastaneye başvuru anında akut göğüs ağrısı, non spesifik EKG ve normal seviyede kardiyak belirteç bulgularına sahip olmaları

nedeniyle tanısal zorluk taşımaktadır. Bu hasta grubu yüksek koroner risk altında olmalarına rağmen yeterli kanıt bulunamadığından genellikle taburcu edilmektedir. Ayrıca nekroz belirteçlerinin bir çoğu zaman bağımlıdır ve sıklıkla başvuru anında yanlış negatif sonuç vermektedir. Bu nedenle miyokardiyal iskeminin tanısal olarak erken ve güvenilir dışlanmasında standart nekroz belirteçlerinin yararı sınırlanmaktadır. Bu durum, hasarı geri dönüşümsüz nekroz evresine ulaşmadan iskemik evrede belirleme yeteneğine sahip yeni belirteçleri, klinik açıdan hasarın ilerlemesine müdahale etme ve önleme olanağı tanımları nedeniyle önemli hale getirmektedir (14,134,157)

Bu koşullar altında ideal bir miyokardiyal iskemi belirtecinin miyakarda özgün olma, erken ve hızlı salınma, geç evrede de hastalığın tespitine olanak sağlayacak kadar kanda yüksek seviyelerde kalma ve tekrarlayan iskemik atağın belirlenebilmesi için kısa sürede normal seviyeye dönme özelliği taşıması, aynı zamanda kolay, hızlı ve ucuz test edilebilir olması beklenmektedir (158).

İMA ile ilgili yapılan ilk çalışmalar, kardiyak troponinler aracılığıyla konan Akut Miyokard İnfarktüsü (AMİ) kesin tanısı tahminlerinin erken ölçüm yeteneğine dayanmaktadır. AKS' lu hastalarla denenmiş ve başvuru anında seri örneklemeden faydalanılarak yapılmış ilk çalışmada; AMİ tanısı alanlarda kardiyak troponinin tanısal duyarlılığı %23.9 iken, İMA'nın %39.1 bulunmuştur (159).

Akut göğüs ağrısıyla acil servise başvuran hasta grubuyla Sinha ve arkadaşlarının yaptıkları diğer bir çalışmada; başvuru anında çekilen EKG değişiklikleri ve alınan kan örneklerindeki İMA ve TnT düzeyleri birlikte değerlendirilmiştir (160). Tüm hasta grubunda EKG (%45) ve TnT (%20) ile karşılaştırıldığında, iskemi kaynaklı göğüs ağrısında İMA'nin duyarlılığı tek başına %82 bulunmuş; her iki parametreyle birlikte değerlendirildiğinde duyarlılığın %90'ın üzerine çıktığı görülmüştür (160).

AKS semptomlarına sahip bir başka hasta grubunun değerlendirilmesinde İMA'nin rolü miyogloblin, CK-MB ve cTnT ile karşılaştırılmıştır. İMA test sonuçlarının iskemiyle

uyum gösterdiği ve miyokardiyal iskemi tanısal duyarlılığının diğer üç belirtecin kombinasyonu ile kıyaslandığında üç belirtecin biraradaki duyarlılığından (%57) tek başına daha yüksek (% 80) olduğu belirlenmiştir (14). Aynı hasta grubunda İMA, EKG değişiklikleri ile de karşılaştırılmış ve negatif EKG bulgularına sahip ancak koroner iskemili 20 hastanın 16'sında yüksek İMA seviyeleri tespit edilmiştir (14).

David Bar ve arkadaşları 2001 yılında Perkütan Koroner Anjioplasti (PKA) ile geçici iskemi gelişen hasta kanlarında, İMA konsantrasyonunun ilk birkaç dakikada artmaya başladığını gözlemişlerdir. Anjioplasti ile reperfüzyonun sağlanmasından yaklaşık 6 saat sonra İMA kan konsantrasyonlarının, normal değerler seviyesine indiği tespit edilmiştir (135).

Yaklaşık bir yıl boyunca acil servise AKS semptomları; göğüs ağrısı, dispne, senkop veya aritmi ile başvuru; EKG, kardiyak belirteçler (miyogloblin, CK-MB ve cTnT) veya koroner anjiyografi ile instabil anjina, AMİ ve Koroner Arter Hastalığı tanıları almış hasta grubunda bakılan İMA değerlerinin % 93 duyarlılık ve % 91.8 negatif prediktif değere sahip olduğu görülmüştür (161).

Yapılan çalışmaların çoğunda İMA'nin iskemi başlangıcından itibaren birkaç dakika içinde hızlı bir artış gösterdiği, 6-12 saat boyunca kanda belirlenebilir olduğu ve yaklaşık 24 saat içinde normal seviyelere döndüğü bildirilmiştir (157,162). Buna ilaveten farklı çalışmalardan elde edilen bulgular, İMA sonuçlarının miyokardiyal iskemi negatif (-) ve pozitif (+) hasta tanılarını büyük oranda doğrulamaktadır (163) .

Bununla birlikte İMA değerlerinin kullanımında bir takım sınırlamalar bulunmaktadır. Bu belirtecin sadece kardiyak iskemiyeye özgü olmadığı düşünülmüş, siroz, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, gelişmiş kanserler, inme ve son dönem böbrek hastalığı olan hastaların bir çoğunda artmış İMA seviyeleri bildirilmiştir (164). Ayrıca, İMA değerlerinde kas iskemisi sonrasında bir azalma olduğu gözlenmiştir (165,166). İskelet kası iskemisi sonrasında laktat konsantrasyonlarında meydana gelen artışın, gerçek İMA değerlerini ve

tanısal duyarlılığını azalttığı (in vivo ve in vitro olarak) gösterilmiştir. Bu nedenlerle artmış laktat konsantrasyonu ile ilişkili kontrolsüz diyabet, sepsis ve böbrek yetmezliği olan hastalarda negaif İMA değerlerinin yorumlanmasında dikkatli olunması önerilmektedir (165,166)

İMA; diğer belirteçlere göre miyokarda özgüllüğünün yüksek, hasar seviyesi ve şiddeti ile yakından ilişkili olması, iskemiye hızlı ve erken cevabı yanında kanda uzun süre yüksek seviyelerde kalması ile geç başvuru anında da kardiyak iskemi belirlenmesine olanak sağlamaktadır. AKS risk sınıflamasında kullanımı gittikçe yaygınlaşmakta ve FDA onayı almış ilk kardiyak iskemi belirteci olma özelliğini taşımaktadır (136).

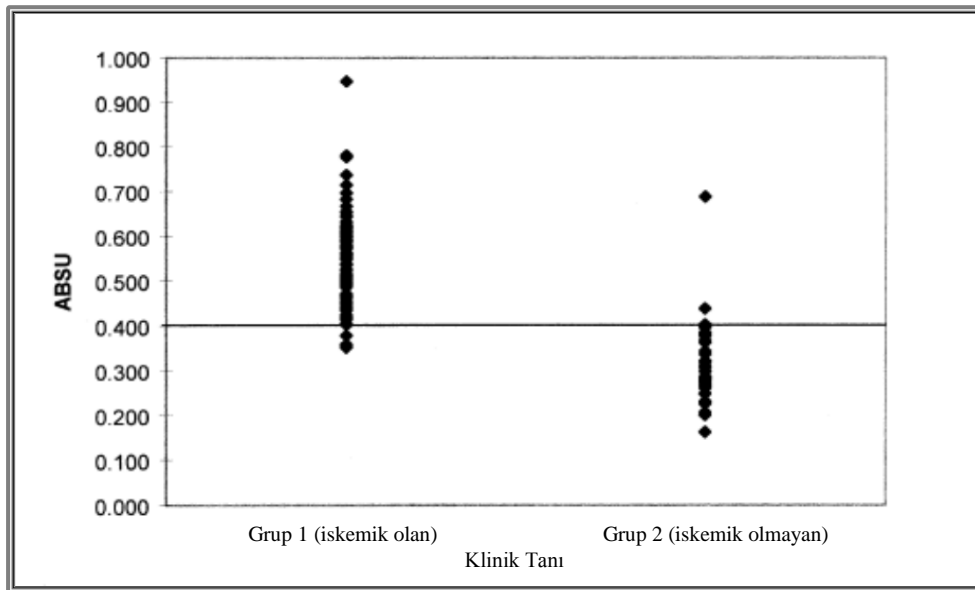
2.5.1. Albumin- Kobalt Bağlanma Testi

Kanda İMA tayini kobaltın albumine azalan bağlanma kapasitesinin kolorimetrik yöntemle ölçümü prensibine dayanmakta ve bu yöntem Albumin- Kobalt Bağlanma (ACB: Albumin- Cobalt Binding) testi olarak adlandırılmaktadır. ACB testi spektrofotometrik olarak albumine bağlanmamış kobalt miktarını ölçerek İMA düzeylerini indirekt olarak yansıtmaktadır. İlk olarak hasta serum örneğine miktarı belli olan kobalt eklenmekte, ardından ilave edilen dithiotreitol (DTT)'nun serbest kobalt iyonlarına bağlanmasıyla oluşan kolorimetrik değişim 470 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (163)

İskemik olmayan hasta serumunda albuminin N terminal ucuna bağlanan kobalt, az miktarda serbestleşerek DTT ile renkli bir ürün oluşturmak üzere reaksiyona girerken; tersine iskemik hasta serumunda kobalt, N terminal uca bağlanmak yerine daha fazla miktarda serbestleşerek DTT ile reaksiyona girmekte ve daha koyu bir renk oluşturmaktadır. İskemik durumda fazla oranda serbest kalan kobalt, dolayısıyla absorbans miktarı mevcut İMA düzeyi ile orantılı olmaktadır (163).

Miyokardiyal iskeminin hüresel nekroz gelişmeden önce belirlenmesi olgu yönetim kararlarını sonuçlandırmada önemli bir değerlendirme ölçüsü niteliğindedir. Miyokard iskemisi evresi, tanısında halen karşılaşılan zorluklar nedeniyle EKG, ekokardiyografi ve laboratuvar değerlendirmeleri gibi destek yöntemlerle karar vermek durumunda kalan klinisyenin kişisel yeterliliğine bağlı olmaktadır (135). EKG bulgularının normal olduğu ve iskemiye işaret eden parametrelerin kanda belirlenemediği durumlarda miyokard iskemisinden hemen sonra oluşan klinik semptomları değerlendirmek zorlaşmaktadır.

Elektif PKA sonrası koroner arterin geçici olarak tıkanıdığı hastalarda nekroz öncesi iskemi evresinde artmış ACB test düzeyleri doğrunabilmektedir (135). Bhagavan ve arkadaşları miyokard iskemili hastalarda troponin seviyelerinden önce artan ACB düzeylerini göstermişlerdir (163). Bar ve ark, ACB testinin myokardiyal iskemiye belirlemedeki potansiyelini incelemişlerdir (167). Klinik olarak objektif miyokard iskemisi kanıtlarıyla AMİ ve Unstabil Anjina gibi AKS'ni içeren 99 kişiye Grup 1' de yer verilmiştir. Akut göğüs ağrısı ile sağlık merkezine başvuran ancak miyokard iskemisi bulguları göstermeyen ve klinisyenlerce kardiyak olmayan göğüs ağrısı olarak tanımlanmış 40 kişilik hasta grubu Grup 2' yi oluşturmuştur (167). Grup 1'de İMA seviyelerinin belirgin olarak Grup2'den yüksek olduğu gösterilmiştir (Şekil.6).



Şekil.6. İskemik olan (Grup1) ve olmayan (Grup 2) grupta elde edilen İMA konsantrasyonları (167).

AKS semptom ve belirtilerinin başlangıcından itibaren 3 saat içinde acil servise başvuran geniş hasta grubunda yapılmış çok merkezli bir çalışmada; ACB testinin başvurudan sonraki ilk 6-24 saat içindeki (-) ve (+) cTnI sonuçlarını öngörebilme yeteneği incelenmiştir (136). Başvuru anında bütün cTnI sonuçları (-) olduğu için 6-24 saatlik üst referans sınırın üzerinde bir veya daha fazla (+) cTnI sonuçlarına sahip hastalar değerlendirmeye alınmıştır. ACB testi için optimum cut off değerinde; duyarlılık %70, özgüllük %80 ve negatif prediktif değer %96 bulunmuştur (136). Göğüs ağrısı şikayeti ile acil servise başvurup düşük ACB test düzeyi, normal EKG bulguları ve Tn düzeylerine sahip olanlarda kardiyak tanılardan uzaklaşıldığı gözlenmiştir (168).

Hücre nekrozu öncesi miyokard iskemisinin saptanması, klinik kararların verilmesinde önemli bir ölçüt olmaktadır. Bugüne kadar miyokard iskemisi tanısı koymada zorluklarla karşılaşmış ve doğrulamak için standart bir kriter henüz belirlenmemiştir (168).

Miyokardiyal iskemiye belirlemede tanısal altın standart olmadığı gibi, herhangi bir testin tanısal geçerliliğinin belirlenmesinde zorluklarla karşılaşmaktadır. Buna ek olarak; aday yöntemlerin başlangıç doğrulamaları gerçekleştirilmesine rağmen rutin kullanıma girmiş bir test halen bulunmamaktadır (159).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu

“ İskemi Modifiye Albumin Düzeylerinde Biyolojik Değişkenliklerin Saptanması, Referans Değişim Değeri ve Türk Toplumundaki Referans Değerlerin Hesaplanması ” adlı çalışmamız Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu’nun 28.06.2011 tarihli 2011-14/13 nolu kararı ile onaylanmıştır (EK:1).

Bu çalışma, her biri sağlıklı bireylerden oluşan referans grubu (RG) ve biyolojik varyasyon grubu (BVG) olmak üzere iki grupta yürütülmüştür. Referans grup; “Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu (IFCC) bünyesinde yer alan Referans Aralıkları Komitesi (C-RIDL) tarafından gerçekleştirilen Referans Aralıkları Belirleme Çalışmasına Katılım; Çok Merkezli Referans Aralık Belirleme Çalışması” adlı çalışmada yer alan protokole göre belirlenmiştir. RG için Ekim 2011 ve Ocak 2012 tarihleri arasında herhangi bir sistemik hastalığı, allerjisi ve enfeksiyonu olmayan ve hastanede tedavi görmeyip, laboratuvara sadece kontrol amacıyla kan vermek için başvuran bireylerden ya da bu çalışma için verilen ilan ile gönüllü olan Uludağ Üniversitesi personeli ve öğrencilerinden oluşan popülasyondan; NCCLS /C28-A3 prosedürüne uygun olarak hazırlanan anket formundan yararlanılarak cinsiyet ve yaş dağılımları normalize edilmiş bireyler seçilmiştir (EK.2). RG, 24-52 yaş aralığında bulunan 130 kadın ve 130 erkek gönüllüden oluşmaktadır. BVG bireyler, RG bireyler arasından rastgele seçilmiştir ve 24-50 yaş aralığında yer alan 11 kadın ve 10 erkekten oluşmuştur.

3.2. Örnek Toplanması

Diürnal değişimi azaltmak ve standardizasyonu sağlamak için RG bireylerden, 12-14 saat açlık sonrası sabah 08.30-10.00 saatleri arasında vakumlu antikoagülansız 2 adet kuru tüpe (Becton Dickinson: BD) kan örneği alınmıştır. Alınan kan örnekleri 20-30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2000 g'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve ayrılan serumlar çalışılacağı güne kadar -80 °C de saklanmıştır. BVG bireylerin her birinden 12-14 saat açlık sonrası sabah 08.30-10.00 saatleri arasında 0.,1.,2.,7.,14.,21. ve 28. günlerde olmak üzere 1 aylık periyotta toplam yedi kez vakumlu antikoagülansız bir adet kuru tüpe kan örneği alınmıştır. Alınan kan örnekleri aynı şekilde 20-30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2000 g'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve aynı gün içinde çalışılmıştır.

Analitik varyasyonun değerlendirilmesi amacıyla CV_A hesaplamaları için 5 gönüllü bireye ait kontrol grubu serumlarından düzey I ve düzey II olarak iki ayrı serum havuzu oluşturulmuştur. Ardışık 5 gün boyunca günde üçer kez çalışılarak ACB testi ile İMA düzeyleri belirlenmiştir.

3.3. Araç ve Gereçler

1. Santrifüj, "Sanyo Mistral 2000 R" (İngiltere)
2. Santrifüj, "Hettich Rotofix 32" (Almanya)
3. Karıştırıcı (vorteks), "Electro-mag SPEED M16" (Almanya)
4. Çalkalayıcı (shaker), "Behringwerke AG" (Almanya)
5. Otomatik pipet (100 µL), "Rainin Pipet-Lite SL100" (A.B.D)
6. Otomatik pipet (200 µL), "Rainin Pipet-Lite SL200" (A.B.D)
7. Otomatik pipet (1000 µL), "Rainin Pipet-Lite SL1000" (A.B.D)

8. Otomatik pipet (200–1000 µL), “Eppendorf” (Almanya)
9. Derin dondurucu (–80°C), “Sanyo” (Japonya)
10. Buzdolabı, “Arçelik” (Türkiye)
11. Tartı, “Metler PJ 3000” (İsviçre)
12. Otoanalizör “Architect.C.8000” (ABD)
13. Kuru Tüp “Becton Dickinson: BD” (Türkiye)

3.4. Kimyasal Malzemeler

1. Cobalt (II) Chloride Hexahydrate “Sigma” (ABD) Kat.no: C8661/25 gr
2. DL-dithiothreitol “Sigma” (ABD) Kat.no:43817/1 gr
3. Sodyum klorür (NaCl) “Fluka Biochemica” (İngiltere) Kat no: 1184875

3.6. Yöntem

ACB test prosedürü:

RG ve BVG bireyler için İMA serum düzeylerinin belirlenme çalışması

spektrofotometrik ölçüme dayanan ACB test yöntemiyle yapılmıştır. Tüm bireylerin serum albümin değerleri otoanalizörle ölçülmüştür.

Reaktifler:

1. Kobalt klorür (1gr/L)
2. Dithiotreitol (DTT, 1.5 gr/L)
3. %0.9 NaCl çözeltisi

Kullanılan reaktif ve serum örneklerinin ölçüm için gereken miktarları ve izlenen adımlar Tablo.4’de verilmiştir.

Tablo.4. Albumin- Kobalt Bağlanma testi analiz aşamaları.

	Kör tüpü	Numune tüpü
<u>Hasta serumu</u>	200 µl	200 µl
<u>Kobalt klorür</u>	50 µl	50 µl
<p>Hazırlanan tüpler vorteksle karıştırılarak 10 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.</p>		
<u>DTT</u>		50 µl
<p>İlave yapılan tüpler vorteksle karıştırılarak 2 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.</p>		
<u>%0.9 NaCl</u>	1000 µl	1000 µl
<p>470 nm 'de hem kör hem de numune tüplerinin absorbansları ölçülmüş, aralarındaki fark o örneğe ait İMA değeri olarak absorbans ünitesi (ABSU) birimiyle verilmiştir.</p>		

Albumin ile İMA düzeyleri arasında negatif korelasyon bulunduğu için albumine göre düzeltilmiş İMA değerleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

Düzeltilmiş İMA değeri (dİMA)

$$= \text{Örnek İMA (ABSU)} \times \frac{\text{Örnek Albumin (g/dL)}}{\text{Grubun median albumin konsantrasyonu (g/dL)}}$$

3.7. Hesaplamalar ve Kullanılan Formüller

A) BV hesaplamalarında;

1. Tüm grup ve her iki cinsiyete ait CV_I ve CV_G değerleri Fraser ve Harris'e göre hesaplandı. Hesaplamalar Nested ANOVA kullanılarak yapıldı. Elde edilen değerlerin % 95 GA alt ve üst sınırları,

$$\frac{(n-1) s^2}{x^2_{sağ}} < \sigma^2 < \frac{(n-1) s^2}{x^2_{sol}}$$

formülü kullanılarak hesaplandı.

2. Bir bireyden tekrarlı ölçümlerle elde edilen sonuçlar varyansının, benzer bireylerden aynı şartlarda elde edilen sonuç varyanslarından anlamlı farklılık gösterip göstermediği Cochran C testi ile değerlendirildi.

$$C_j = \frac{S_j^2}{\sum_{i=1}^N S_i^2}$$

[C_j : J veri serisi istatistiği; S_j : J veri serisinin standart sapması; N : Veri serisi içinde kalan data serileri S_i : Data serisi i'nin standart sapması]

Hesaplanan C değeri, C kritik tablo değeri ile karşılaştırıldı ($C_{hesap} < C_{kritik}$) ve varyansların homojenliğini değerlendirmek üzere;

“ H_0 : Varyanslar homojendir , $C_{hesap} < C_{kritik}$ (p=0.05)

H_1 : Varyanslar homojen değildir, $C_{hesap} > C_{kritik}$ (p<0.05)” hipotezleri kuruldu.

3. CV_A hesaplamaları için CLSI EP15-A2 kılavuzunda yer alan formüller kullandı (Tablo.5).

4. Analitik kalite özelliklerinin hesaplanması için;

$$I_{max} = 0.5 \times CV_I$$

$$B_{max} = 0.25 \times (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

$$TE_{max} = B_{max} + (1.65 \times I_{max}) \text{ formüleri kullanıldı.}$$

Tablo.5. Analitik Varyasyon (CV_A) hesaplamasında kullanılan fomüller şeması.

FORMÜLLER	FORMÜL AÇIKLAMASI	
$\sum_{i=1}^3 x_i = x_1 + x_2 + x_3$	Gün içi (Gİ) toplamın (İMA 1, 2. ve 3. ölçüm)	A
$\bar{x}_d = \frac{\sum_{i=1}^3 x_i}{3}$	Gün içi ortalaması	B
$x_1 - \bar{x}_d$	1. ölçümün ortalamadan farkı	C
$(x_1 - \bar{x}_d)^2$	1. ölçümün ortalamadan farkının karesi..... [C ²]	D
$x_2 - \bar{x}_d$	2. ölçümün ortalamadan farkı	E
$(x_2 - \bar{x}_d)^2$	2. ölçümün ortalamadan farkının karesi.....[E ²]	F
$x_3 - \bar{x}_d$	3. ölçümün ortalamadan farkı	G
$(x_3 - \bar{x}_d)^2$	3. ölçümün ortalamadan farkının karesi.....[G ²]	H
$\sum_1^3 (x_i - \bar{x}_d)^2 = (x_1 - \bar{x}_d)^2 + (x_2 - \bar{x}_d)^2 + (x_3 - \bar{x}_d)^2$	Gün içi kareler toplamı [D+F+H]	I
$sd_{nm}^2 = \frac{\sum_{i=1}^3 (x_i - \bar{x}_d)^2}{2}$	Standart Deviasyon (SD).....[I/2]	İ
$\bar{x}_d - \bar{x}$	Gün içi ort.nın günler arası ort.dan farkı[B-M]	J
$(\bar{x}_d - \bar{x})^2$	Gün içi ort.nın günler arası ort.dan farkının karesi.....[J ²]	K
$\bar{x} = \frac{\bar{x}_1 + \bar{x}_2 + \bar{x}_3 + \bar{x}_4 + \bar{x}_5}{5} = \text{_____}$	Günler arası (GA) ortalaması	L
$sd_{nm, average}^2 = \frac{sd_{nm1}^2 + sd_{nm2}^2 + sd_{nm3}^2 + sd_{nm4}^2 + sd_{nm5}^2}{5} = \text{_____}$	Günler arası SD kareleri toplamının ortalaması	M
$s_r = \sqrt{sd_{nm, average}^2} = \text{_____}$ $s_r = \text{_____}$	Laboratuvar içi / Gün içi tekrarlanabilirlik	N
$s_b^2 = \frac{\sum_{d=1}^4 (\bar{x}_d - \bar{x})^2}{4} = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x})^2 + (\bar{x}_2 - \bar{x})^2 + (\bar{x}_3 - \bar{x})^2 + (\bar{x}_4 - \bar{x})^2}{4} = \text{_____}$	Farkların kareleri toplamının ortalaması	O
$s_1 = \sqrt{\frac{n-1}{n} \cdot s_r^2 + s_b^2}$ $s_1 = \sqrt{\frac{2}{3} \cdot s_r^2 + s_b^2} = \text{_____}$	Laboratuvar içi / Günler arası SD	P
Gün içi ve Günler arası% Varyasyon Katsayısı(CV) hesaplama		
\sqrt{I}	Gün içi SD karekökleri	R
(R/B) x100	Gün içi Varyasyon Katsayısı(% CV)	S
(S x S)	Gün içi % CV kareleri	T
$\sqrt{\text{Gün içi CV kareler toplamı} / 5}$	Gün içi ortalama % CV	U
(P / L) x 100	Günler arası % CV	V

*CLSI EP15-A2

B) RA hesaplamalarında;

1. Histogramlar çizildi.

2. Cinsiyetler arası fark olup olmadığı “z testi” ile değerlendirildi. RG için z değeri

$$z = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\left[\left(\frac{s_1^2}{n_1} \right) + \left(\frac{s_2^2}{n_2} \right) \right]^{1/2}}$$

formülü kullanılarak hesaplandı (z_{hesap}). [$(\bar{x}_1$ ve \bar{x}_2); kadın ve erkek ortalama İMA, (s_1 ve s_2); kadın ve erkek SD değerlerini, (n_1 ve n_2); kadın ve erkek referans birey sayısını ifade etmektedir.]

Elde edilen z_{hesap} değeri, Harris ve Boyd tarafından önerilen şekilde hesaplanan z^* (z_{kritik}) değeri ile karşılaştırıldı.

$$z^* = 3x [(n_1 + n_2)/240]^{1/2}$$

$z_{hesap} > z_{kritik}$ bulunması nedeniyle nedeniyle cinsiyetler arası fark olduğu görülerek RA'lar her iki cinsiyet için ayrı ayrı hesaplandı.

3. Dağılımlar kontrol edilerek, D/R kuralıyla uç değerlerin varlığı araştırıldı.

4. Non-parametrik yöntem ile üst ve alt RA değerleri hesaplandı.

5. Alt ve üst RA'nın %90 GA'ı hesaplandı.

RG bireylerde;

1. dİMA değerleri= Örnek İMA (ABSU) x $\frac{\text{Örnek Albumin Konstr. (g/dL)}}{\text{Grubun median Albumin Konstr.(g/dL)}}$

2. Referans değişim değeri (RCV) = $Z_p \times 2^{1/2} \times (CV_I^2 + CV_A^2)^{1/2}$

3. Bireysellik İndeksi (II) = $(CV_I^2 + CV_A^2)^{1/2} / CV_G$ formülleri kullanıldı.

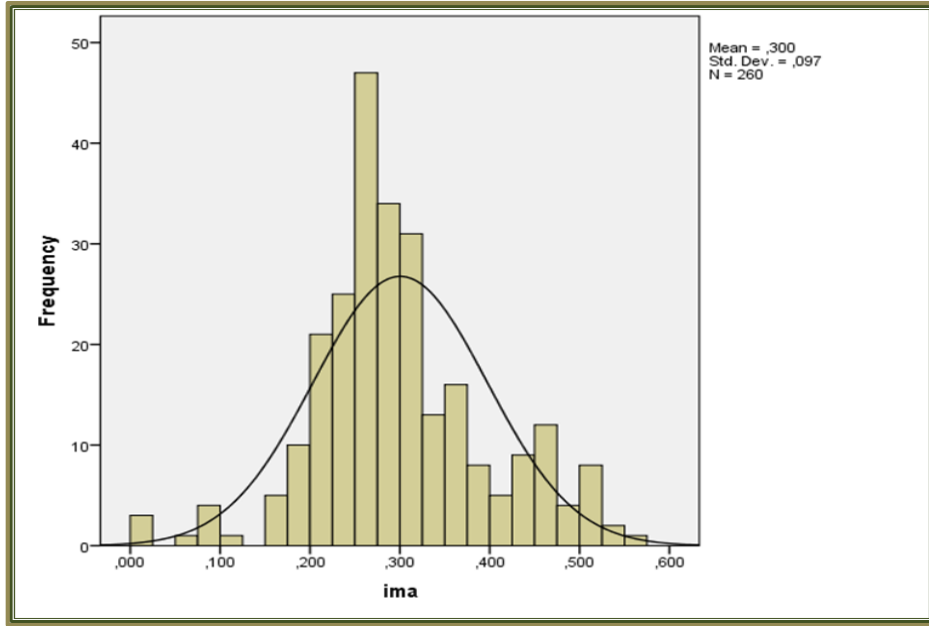
4. BULGULAR

4.1. Referans Aralıklar

RA'lar test öncesi örneklem ve rastgele olmayan yöntem ile C28-A3 standartlarına uygun olarak hazırlanan anket formuna göre seçilmiş referans bireylerden elde edildi. Referans bireyler yaş aralığı 24-51 (ort.37,SD: 7.5) olan 130 erkek ve yaş aralığı 24-52 (ort.38, SD:7.25) olan 130 kadından oluşan iki alt gruba ayrıldı.

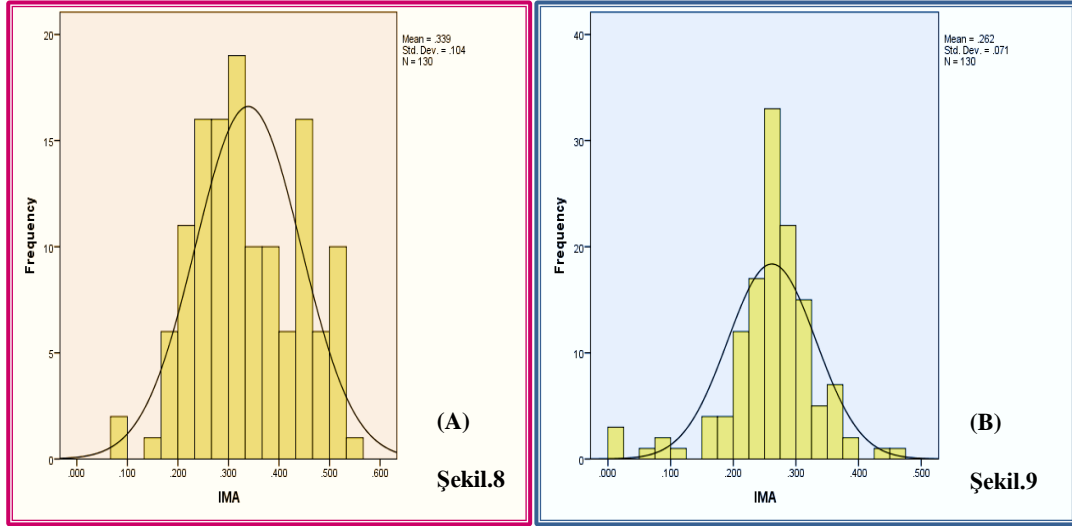
RG'ta İMA değerleri 0.022- 0.554 ABSU (erkek: 0.022-0.462 ABSU, kadın: 0.085-0.554 ABSU) , albumin değerleri ise 3.5- 5.12 g/dL (medyan: 4,36 g/dl) arasında değişim gösterdi.

RG verileri SPSS 20' ye aktarıldı ve tüm grup histogram grafiği çizildi (Şekil.7).



Şekil.7. Referans grup bireylerde elde edilen İMA değerleri histogramı.

Cinsiyetler kodlanarak kadın ve erkek olmak üzere iki dosyaya ayrıldıktan sonra dağılımların normalliği test edildi. Her iki cinsiyet ayrı ayrı için histogram grafikleri çizildi. Verilerin erkeklerde normal olmayan dağılım, kadınlarda normal dağılım gösterdiği belirlendi (Şekil.8 ve 9).



Şekil.8 ve 9. Referans grup Kadın (A) ve Erkek (B) bireylere ait İMA değerleri histogramları.

Cinsiyetler arası fark olup olmadığı istatistiksel “z testi” ile değerlendirildi. Kadın ve erkek bireyler verilerine ait ortalama, bu ortalamaların %95 GA’nda alt ve üst sınırları, standart sapma, standart hata, en küçük ve en büyük değerlerini içeren istatistiksel değerlendirmeleri yapıldı (Tablo.6)

Tablo.6. Erkek, kadın ve tüm grupta İMA için elde edilen istatistik değerleri.								
	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Ortalamalar için %95 GA		En küçük	En büyük
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Erkek (n2)	130	0,262	0,071	0,006	0,249	0,274	0,022	0,462
Kadın (n1)	130	0,339	0,104	0,009	0,321	0,357	0,085	0,554
Toplam	260	0,300	0,097	0,006	0,289	0,312	0,022	0,554

Elde edilen istatistik verileri kullanılarak z_{hesap} ve z_{kritik} değerleri sırasıyla 7.03 ve 3.12 bulundu. $z_{hesap} > z_{kritik}$ bulunması nedeniyle kadın ve erkek bireyler için RA ayrı ayrı ve nonparametrik yöntemle hesaplandı.

D/R kuralına göre uç değerlerin olmadığı belirlendi ve çalışmaya tüm veriler dahil edildi.

%95 merkezi alanlar belirlenerek alt ve üst RA ile %90 GA’ı hesaplandı (Tablo.7).

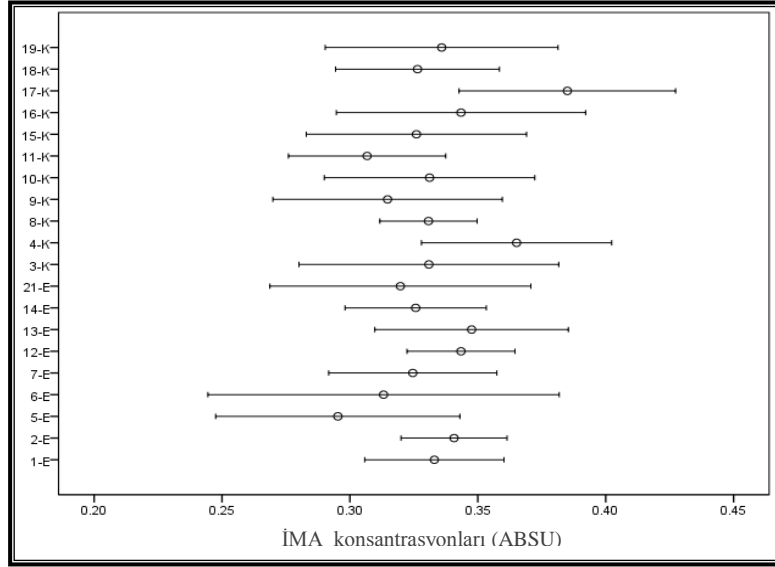
Tablo.7. Referans grupta İMA için belirlenen Referans Aralık değerleri ve %90 Güven Aralığında alt ve üst sınırları.				
	N	İMA RA (ABSU)	%90 GA Alt Sınır	%90 GA Üst Sınır
Kadın	130	0.166 – 0.530	0.141 – 0.192	0.504 – 0.555
Erkek	130	0.023 – 0.397	0.022 – 0.124	0.360 – 0.462
Tüm Grup	260	0.079 – 0.511	0.023 – 0.161	0.493 – 0.533

4.2. Biyolojik Varyasyon

BDG bireylerden bir aylık periyotta yedi kez alınan seri kan örneklerindeki İMA değerleri ACB testi kullanılarak spektrofotometrik ölçümle elde edildi. BDG bireylerin otoanalizörle (Architect.C.8000) elde edilen albümin konsantrasyonları 4.2 - 5.1 g/dL (ortalama: 4.5 g/dL) arasında değişim gösterdi. Ölçülen absorbans üniteleri üzerinden dİMA değerleri hesaplandı (Tablo.8).

Tablo.8. BVG'da İMA için elde edilen absorbans değerleri.									
	Cinsiyet	Yaş	0.gün	1.gün	2.gün	7.gün	14.gün	21.gün	28.gün
1	E	28	0,374	0,370	0,315	0,314	0,342	0,316	0,300
2	E	24	0,345	0,368	0,321	0,330	0,328	0,319	0,374
3	K	29	0,337	0,408	0,342	0,229	0,336	0,360	0,304
4	K	26	0,331	0,415	0,353	0,367	0,323	0,342	0,425
5	E	45	0,258	0,303	0,287	0,259	0,293	0,262	0,405
6	E	32	0,271	0,390	0,282	0,204	0,309	0,311	0,425
7	E	37	0,353	0,312	0,323	0,273	0,385	0,316	0,310
8	K	35	0,311	0,343	0,315	0,323	0,360	0,352	0,311
9	K	50	0,296	0,318	0,296	0,259	0,291	0,331	0,412
10	K	43	0,392	0,351	0,295	0,274	0,316	0,309	0,381
11	K	43	0,269	0,336	0,297	0,284	0,308	0,288	0,365
12	E	31	0,344	0,347	0,324	0,305	0,352	0,375	0,357
13	E	41	0,343	0,407	0,323	0,290	0,339	0,396	0,335
14	E	29	0,334	0,297	0,293	0,377	0,340	0,304	0,335
15	K	43	0,300	0,327	0,293	0,319	0,321	0,427	0,295
16	K	43	0,360	0,406	0,293	0,313	0,267	0,375	0,390
17	K	34	0,368	0,390	0,409	0,318	0,379	0,364	0,467
18	K	40	0,312	0,315	0,304	0,303	0,314	0,336	0,401
19	K	43	0,258	0,367	0,368	0,320	0,323	0,307	0,408
20	E	50	0,132	0,366	0,357	0,375	0,327	0,332	0,390
21	E	36	0,311	0,226	0,293	0,379	0,297	0,352	0,380

Her birey için ortalama ve absölu sınırların temel alındığı dağılım grafikleri SSPS 'de çizildi (Şekil.10). Bu şekilde hem varyans hem de ortalama açısından aşırı uçlar olup olmadığı görsel olarak değerlendirildi. Varyans açısından aşırı olan dağılımlar Cochran's C Test ile analiz edildi. D/R kuralına göre aşırı uç bulunan örnekler (20 nolu erkek birey) listeden çıkarılarak değerlendirme dışı bırakıldı.



Şekil.10. BVG bireylerde elde edilen İMA değer aralıkları.

Bir bireyde tekrarlı ölçümlerle elde edilen sonuçlar varyansının, benzer bireylerden aynı şartlarda elde edilen sonuç varyanslarından anlamlı farklılık gösterip göstermediği Cochran C testi ile değerlendirildi. % 95 anlamlılık düzeyinde her birey için hesaplanan C değerleri (C_{hesap}) 0,009-0,120 aralığında bulundu ve toplam 20 birey ve 7 tekrar sayısı için hedef tablo değeri ($C_{tablo}=0,1602$) ile karşılaştırıldı (Tablo.9). $C_{hesap} < C_{tablo}$ bulunması nedeniyle H_0 hipotezine göre varyansların homojen olduğu kabul edildi (Tablo.9'da sütunlar tekrar, satırlar birey sayısını ifade etmektedir).

Tablo.9. Cochran testi için kritik değerler tablosu (Sütunlar bir bireydeki tekrar sayısını satırlar ise çalışmaya dahil edilen birey sayısını ifade etmektedir).

0,05 anlamlılık düzeyi için kritik değerler														
Df	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	17	37	145	∞
2	.9985	.9750	.9392	.9057	.8772	.8534	.8332	.8159	.8010	.7880	.7341	.6602	.5813	.5000
3	.9669	.8709	.7977	.7457	.7071	.6771	.6530	.6333	.6167	.6025	.5466	.4748	.4031	.3333
4	.9065	.7679	.6841	.6287	.5895	.5598	.5365	.5175	.5017	.4884	.4366	.3720	.3093	.2500
5	.8412	.6838	.5981	.5441	.5065	.4783	.4564	.4387	.4241	.4118	.3645	.3066	.2513	.2000
6	.7808	.6161	.5321	.4803	.4447	.4184	.3980	.3817	.3682	.3568	.3135	.2612	.2119	.1667
7	.7271	.5612	.4800	.4307	.3974	.3726	.3535	.3384	.3259	.3154	.2756	.2278	.1833	.1429
8	.6798	.5157	.4377	.3910	.3595	.3362	.3185	.3043	.2926	.2862	.2462	.2022	.1616	.1250
9	.6385	.4775	.4027	.3584	.3286	.3067	.2901	.2768	.2659	.2568	.2226	.1820	.1446	.1111
10	.6020	.4450	.3733	.3311	.3029	.2823	.2666	.2541	.2439	.2353	.2032	.1655	.1308	.1000
12	.5410	.3924	.3264	.2880	.2624	.2439	.2299	.2187	.2098	.2020	.1737	.1403	.1100	.0833
15	.4709	.3346	.2758	.2419	.2195	.2034	.1911	.1815	.1736	.1671	.1429	.1144	.0889	.0667
20	.3894	.2705	.2205	.1921	.1735	.1602	.1501	.1422	.1357	.1303	.1108	.0879	.0675	.0500
24	.3434	.2354	.1907	.1656	.1493	.1374	.1286	.1216	.1160	.1113	.0942	.0743	.0567	.0417
30	.2929	.1980	.1593	.1377	.1237	.1137	.1061	.1002	.0958	.0921	.0771	.0604	.0457	.0333
40	.2370	.1576	.1259	.1082	.0968	.0887	.0827	.0780	.0745	.0713	.0595	.0462	.0347	.0250
60	.1737	.1131	.0895	.0765	.0682	.0623	.0583	.0552	.0520	.0497	.0411	.0316	.0234	.0167
120	.0998	.0632	.0495	.0419	.0371	.0337	.0312	.0292	.0279	.0266	.0218	.0165	.0120	.0083
∞	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000

Homojen dağılım gösteren veriler üzerinden Nested ANOVA kullanılarak CV_I ve CV_G değerleri, BVG ve cinsiyetler için ayrı ayrı hesaplandı ve % 95 GA alt ve üst sınırları belirlendi (Tablo.10).

Tablo.10. İMA'nın BVG ve her iki cinsiyet için hesaplanan CV_I ve CV_G değerleri ve %95 GA alt ve üst sınırları.			
İMA		%95 GA Alt Sınır	%95 GA Üst Sınır
CV_I Tüm Grup	13.3	10.1	19.5
CV_I Kadın	13.1	9.1	22.3
CV_I Erkek	13.6	9.2	26.1
CV_G Tüm Grup	13.5	8.7	29.8
CV_G Kadın	12.7	8.2	27.9
CV_G Erkek	12.3	7.9	27.1

4.3. Analitik Varyasyon CV_A

Sağlıklı bireylerden hazırlanan Düzey I ve Düzey II havuzlarının CV_A hesaplamaları için Tablo.5'de yer alan formül akışı izlenerek her iki düzey için gün içi ve günler arası CV_A değerleri hesaplandı (Tablo.11)

Tablo.11. Düzey I ve Düzey II kontrol serumlarının gün içi ve günler arası CV_A değerleri.

		DÜZEY I					DÜZEY II					
		ÖLÇÜMLER	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün
		İMA-1	0,237	0,249	0,348	0,349	0,364	0,643	0,647	0,717	0,744	0,691
		İMA-2	0,315	0,327	0,325	0,315	0,345	0,717	0,74	0,71	0,785	0,741
FORMÜLLER	Formül Açıklaması	İMA-3	0,267	0,336	0,372	0,383	0,343	0,65	0,598	0,768	0,675	0,783
A	Gün içi (Gİ) ölçümlerin toplamını (İMA 1.,2. ve 3. ölçüm)		0,819	0,912	1,045	1,047	1,052	2,01	1,985	2,195	2,204	2,215
B	Gün içi toplamın ortalaması		0,273	0,304	0,348	0,349	0,35	0,67	0,661	0,731	0,734	0,738
C	1. ölçümün Gİ ortalamasından farkı		-0,036	-0,055	0,0	0,0	0,014	-0,027	-0,014	-0,014	0,01	-0,047
D	1. ölçümün Gİ ortalamasından farkının karesi.....[C ²]		0,00120	0,00302	0,00000	0,00000	0,00020	0,00073	0,00020	0,00020	0,00010	0,00221
E	2. ölçümün Gİ ortalamasından farkı		0,042	0,023	-0,023	-0,034	-0,005	-0,047	0,079	-0,021	0,051	0,003
F	2. ölçümün Gİ ortalamasından farkının karesi.....[E ²]		0,00170	0,00053	0,00053	0,00116	0,00003	0,00221	0,00624	0,00044	0,00260	0,00001
G	3. ölçümün Gİ ortalamasından farkı		-0,006	0,032	0,024	0,034	-0,007	-0,02	-0,063	0,037	-0,059	0,045
H	3. ölçümün Gİ ortalamasından farkının karesi[G ²]		0,00004	0,00102	0,00058	0,00116	0,00005	0,00040	0,00397	0,00137	0,00348	0,00203
I	Gün içi farklar kareleri toplam[D+F+H]		0,00294	0,00457	0,00111	0,00232	0,00027	0,00334	0,01041	0,00201	0,00618	0,00424
İ	Gİ Standart Deviasyon (SD),.....[I/2]		0,00147	0,00228	0,00055	0,00116	0,00135	0,00167	0,00520	0,00100	0,00309	0,00212
J	Gün içi ort.nın günler arası ort.dan farkı.....[B-L]		-0,051	-0,02	0,024	0,025	0,026	-0,036	-0,045	0,025	0,028	0,032
K	Gün içi ort.nın günler arası ort.dan farkının karesi.....[J ²]		0,00260	0,00040	0,00576	0,00063	0,00068	0,00130	0,00203	0,00063	0,00078	0,00102
L	Günler arası (GA) ortalama				0,325					0,706		
M	Günler arası SD kareleri toplamın ortalaması				$\frac{0,00681}{5} = 0,0014$					$\frac{0,01309}{5} = 0,0026$		
N	Laboratuvar içi / Gün içi tekrarlanabilirlik				0,03692					0,05116		
O	Farkların kareleri toplamın ortalaması				0,0025					0,0014		
P	Laboratuvar içi / Günler arası SD				$\sqrt{0,0025} = 0,05$					$\sqrt{0,0027} = 0,05$		
R	Gün içi SD karekökleri		0,03831	0,04779	0,02352	0,03406	0,03674	0,04085	0,07213	0,03167	0,05560	0,04606
S	Gün içi Varyasyon Katsayısı (%CV)		14,035	15,721	6,757	9,759	10,498	6,098	10,913	4,332	7,574	6,241
T	Gün içi % CV kareleri		196,970	247,143	45,663	95,237	110,204	37,180	119,083	18,770	57,373	38,952
U	Gün içi ortalama %CV				$\sqrt{695,218/5} = 11,79$					$\sqrt{271,358/5} = 7,36$		
V	Günler arası % CV				$(0,05 / 0,324) \times 100 = 15,38$					$(0,05/0,706) \times 100 = 7,08$		

BV ve CV_A verileri kullanılarak İMA değerlerine ait RCV ve II hesaplandı. $CV_A > CV_I$ bulunması nedeniyle II hesaplanırken sağlıklı birey değerlerine en yakın değerleri gösteren kontrol materyalinin (düzey 1) günler arası CV_A değeri (15.38) kullanıldı. Cinsiyetler için ayrı ayrı hesaplanan BV verileri kullanılarak, kadın ve erkek bireyler için RCV ve II değerleri hesaplandı. (Tablo.12).

Tablo.12. İMA için hesaplanan RCV ve II değerleri.		
RCV_{TÜM GRUP}	$= 1.96 \times \sqrt{2} \times [(13.3)^2 + (15.38)^2]^{1/2} =$	56.36
RCV_{kadın}	$= 1.96 \times \sqrt{2} \times [(13.06)^2 + (15.38)^2]^{1/2} =$	55.93
RCV_{erkek}	$= 1.96 \times \sqrt{2} \times [(13.63)^2 + (15.38)^2]^{1/2} =$	56.96
II_{TÜM GRUP}	$= [(13.3)^2 + (15.38)^2]^{1/2} / 13.5 =$	1.50
II_{kadın}	$= [(13.06)^2 + (15.38)^2]^{1/2} / 12.7 =$	1.58
II_{erkek}	$= [(13.63)^2 + (15.38)^2]^{1/2} / 12.3 =$	1.67

ACB test performansı açısından İMA için analitik kalite özellikleri değerlendirildi (Tablo.13).

Tablo.13. Belirlenen analitik kalite özellikleri.		
I_{max}	$= 0.5 \times 13.3 =$	6.65
B_{max}	$= 0.25 \times [(13.3)^2 + (13.5)^2]^{1/2} =$	4.73
TE_{max}	$= 4.73 + (1.65 \times 6.65) =$	15.71

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

BV bileşenlerine ait veriler tıbbi laboratuvarlarda yaygın olarak ölçümü yapılan yaklaşık 250 analit için kullanılabilir. Ricos ve arkadaşları (72) tarafından oluşturulan bu veriler, Westgard'ın web sayfasında yayınlanmıştır (28). Bu verilerin kalite sistemi içine entegrasyonu laboratuvar uygulamalarının her üç düzeyinde gerçekleşmektedir. Preanalitik süreçte BV; uygun örnekleme aralığına karar verilmesi, analize en uygun örneğin seçimi ve örnek stabilitesinin tanımlanması için temel sağlamaktadır. Analitik süreçte BV kaynaklı hedefler, laboratuvar performansının değerlendirilmesi ve İKK prosedürlerinin tasarlanması için gerekmektedir. Post analitik süreçte ise bireydeki seri ölçüm sonuçlarının, CV₁ değerlerinden elde edilen RCV veya delta kontrollerle yorumlanması ve doğrulanması için kullanılmaktadır (169).

Son yıllarda klinik biyokimya uygulamaları klasik ortalama ve aralık kavramlarından uzaklaşmakta ve günümüzde bireysel gözlemlere dayanan kontrollerin kullanılmasına daha sık yönelmektedir. Bir bireyde analitlerin periyodik olarak ölçümü, sağlık gözetimi amacıyla yürütülen laboratuvar uygulamalarının önemli ve kabul edilebilir bir parçası olmaktadır. Farklı bireyler seçilerek fazla sayıdaki analitlerin her biri için daha kısa veya uzun aralıklı incelemelerle bu tür kontroller oluşturulabilmektedir. Sağlık gözetiminin temel amacı bireyin sağlık durumundaki değişiklikleri ve eğilimleri tespit ederek olası hastalıkları önlemek ve müdahale etmek olduğundan, sağlıkta kontrolün sağlanmasında elde edilen bu bilgilerin yararlı olacağı belirtilmektedir (170).

Klinisyenler laboratuvar sonuçlarının yorumlanmasında çeşitli yaklaşımlar kullanmaktadır. Bu yaklaşımlar eldeki sonuçların önceden belirlenmiş bir kesit değeri, referans değerleri ya da varsa bireyin önceki test sonuçlarıyla karşılaştırılarak değerlendirilmesini içermektedir (8). Her birinin avantajlı yanları olmasına rağmen bu karşılaştırmalar görüldüğü kadar basit olmamaktadır. Bir dağılım yerine tekil değer olarak elde edilen her bir sonucun doğal rastgele varyasyonla ilişkili olduğu

hatırlanmalıdır. Bu rastgele varyasyon ise laboratuvar aktivitesini yansıtan preanalitik varyasyon, CV_A ve bireyin kendi içinde ve bireyler arasında değişim gösteren rastgele BV'ü içermektedir (171). Klinisyenlerin seri sonuçlar arasındaki farkın büyüklüğünü etkileyebilecek bu olası varyasyonu dikkate alması gerekmektedir. Laboratuvarın da, istenen örneklerin toplanma koşulları ve BV'un olası önemli kaynakları gibi bilgileri klinisyene sunması önerilmektedir (172).

Laboratuvarlarda incelenen çoğu analit için CV_I 'un, bireyin kendi içinde değişkenlik gösterebileceği ve yüksek oranda doğal varyasyona uğrayabileceği düşünülmektedir. RA sınırları içinde bulunan bir gözlem değeri, bireyin klinik durumu açısından anlamlı bir sapmayı temsil edebilirken, popülasyona dayalı RA dışında yer alan bir başka değer bireydeki yüksek CV_I nedeniyle bireyde meydana gelen doğal rastgele varyasyon olarak tanımlanabilmektedir (170).

Çalışmamızda BVG'na ait CV_I ve CV_G değerleri sırasıyla % 13.3 ve % 13.5 olarak elde edilmiştir. Değerlerin birbirine yakın bulunması molekülün önemli ölçüde doğal varyasyona uğramadığı ve belirgin bireysel özellik taşımadığı şeklinde yorumlanabilir. Ayrıca bu veriler, analit için belirlenmiş olan popülasyona dayalı RA'nın klinik açıdan İMA değerlerinde meydana gelecek anlamlı değişimleri doğru olarak yansıtabileceğini düşündürmektedir.

Her iki cinsiyete ait BV verileri çalışmamızda ayrı ayrı da hesaplanmıştır. CV_I ve CV_G değerleri sırasıyla kadınlarda 13.1, 12.7; erkeklerde 13.6, 12.3 bulunmuştur. CV_G değerleri arasında anlamlı farklılık olmasa da kadın bireylerde erkek bireylere göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu farklılığın kadınlarda fizyolojik nedenlerle ortaya çıkan hormonal dalgalanmaların analit özelliklerini etkilemesinden kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz. CV_I değerlerinin erkek bireylerdeki yüksekliği cinsiyet farklılık özelliği olarak kabul edilebilir.

Doğal BV bileşenleri hakkındaki sayısal veriler, laboratuvar tıbbının ilgilendiği çoğu analitin bireysellik özelliğine dikkat çekmektedir. Belirgin bireysellik, toplum taraması veya tıbbi durum kararlarının neden başarıyla uygulanamadığına ışık tutmakta ve popülasyona dayalı RA'nın yeniden değerlendirilme gerekliliğini doğurmaktadır. Bireysellik, bireye dayalı RA'nın doğru olarak kullanılmasında da önem verilmesi gereken bir özellik olmaktadır (20).

II değerimiz CV_A 'un da hesaplama dahil edilmesiyle 1.5 bulunmuştur. Elde edilen indeks değerinin >1.4 olması, bu moleküle ait belirlenen RA değerlerinin kullanımının yararlı olacağını düşündürmektedir. Kadın ve erkek bireylerin sırasıyla 1.58 ve 1.67 olarak bulunan II değerleri tüm grup için hesaplanan indeks değeri (1.5) ile uyum göstermektedir. Düşük II'ne sahip çoğu analitin belirgin bireysellik özelliği taşıması nedeniyle, BV temelinde RA değerlerinin oluşturulmasında tabakalandırma yaklaşımına yer verilmesi gerekliliği vurgulanmaktadır. Bu yaklaşımın bilimsel temeli ise II sayısal değerini arttırmak ve bu yolla popülasyona dayalı RA kullanımını yaygınlaştırmaktır. CV_A hesaba katılmadığında en sade haliyle CV_I / CV_G olarak belirtilen II'nin sayısal değerini arttırmak için tek yol, CV_G 'un azaltılmasıdır ki bu da ancak tabakalandırma uygulamalarıyla mümkün olabilmektedir (20).

Petersen ve arkadaşları (173) tarafından yapılan bir çalışmada tek bir ölçümle bireysel ayar noktalarında saptanan değişimi yansıtan II değerinin, RA kullanım yararlılığı üzerinde herhangi bir etki göstermediği belirtilmiştir (173). Bununla beraber referans sınırlar dışına düşen bir ölçüm doğrulama amacıyla tekrarlandığında II etkisinin önemli hale geldiği, iki veya daha fazla sayıdaki ölçüm sonucunun II'ne yüksek oranda bağlı olduğu vurgulanmıştır. Tekrarlanan ölçümlerle elde edilen düşük II değerlerinin yalancı pozitif sonuçlar üzerine sınırlı bir etkisi bulunmuşken, indeksin yüksek bulunmasının yalancı pozitif sonuçları önemli ölçüde azaltacağı belirtilmiştir (173).

Christenson ve arkadaşları (174) tarafından yapılan bir çalışmada İMA stabilitesinin +4°C ile -20°C’de iki saat olduğu, dondurulma sıcaklığı ne olursa olsun dört saat sonra değerlerde önemli bir artışın gözlemlendiği belirtilmiştir. Meydana gelen bu türde bir değişimin ACB test kapasitesini etkileyebileceği düşünülmüştür (174). Bir başka çalışmada taze analiz örneklerine ait değerler yüksek bildirilmesine karşın -20°C’ de dondurulan örneklerin stabil olduğu gözlenmiştir (175). Bu nedenle çalışmamızda bütün analiz aşamaları ve serum örnekleri için standardizasyonun sağlanmasına ve korunmasına özen gösterilmiştir. ACB test performansını etkileyebilecek analitik gereksinimler açısından, kullanılan reaktifler her analiz günü için taze hazırlanmış ve taze kan örnekleri ile yapılan analizlerin üç saat içinde tamamlanması sağlanmıştır. Buna rağmen kontrol grubu serumlarında CV_A değerimiz % 15.38 olarak elde edilmiştir. CV_A değerlerimizin manuel analiz yönteminden de etkilenmiş olabileceğini düşünmekteyiz. Kullanılan ACB testi, iskemi etkisiyle değişime uğramış albumin, dolayısıyla İMA miktarlarının doğrudan ölçümüne olanak tanımamaktadır. Albümine bağlanabilen kobalt miktarının serum albüminin düşük konsantrasyonlarında (<2 g/dL) daha az; yüksek konsantrasyonlarında (> 5.5 g/dL) daha fazla olması beklenmektedir (161). Ayrıca İMA test sonuçlarının yorumlanmasında farklı dİMA değerleri [serum albümin konsantrasyonu (g/dl) x 23 + İMA (U/ml) – 100] de tarif edilmekte ve otoanalizörle elde edilen ölçümler kit üreticilerinin sunduğu birim (U/ml) cinsinden verilmektedir (161). Çalışmamızda albümin konsantrasyonları 4.2 – 5.1 g/dL aralığında değişim göstermiş, manuel yöntemle elde edilen değerler spektrofotometrik ölçüm birimi (ABSU) cinsinden sunulmuş ve dİMA değerleri olarak verilmiştir. İmmun yöntemler gibi umut veren analizlerle bu belirtecin direk tayininde gelişme sağlanabileceği düşünülmektedir (172). Modern otoanalizör sistemleri ile müdahale edilebilir CV_A kaynakları da en aza indirilebilecektir.

Govender ve arkadaşları (176) 17 sağlıklı bireyde yürüttükleri çalışmalarında İMA’nın BV bileşenlerini incelemişlerdir (176). Beş hafta boyunca haftada bir kez olmak üzere

alınan kan örneklerindeki İMA değerlerini ACB test yöntemiyle ancak oto analizörle çalışarak elde etmişlerdir. Bizim çalışmamızda CV_I , CV_G ve CV_A değerleri bu çalışmaya göre daha yüksek bulunmuş ve yine manuel analiz tekniğine bağlı olduğu düşünülmüştür.

2012 yılında Róraas ve arkadaşları (177) tekrar sayıları, toplam örnek ve birey sayısının yanısıra kullanılan yöntemle göre değişen CV_A 'ların ve güven aralıkları genişliğinin, CV_I ve farklı çalışma modelleri için belirlenen ölçüm güvenilirliğine etkisini araştırmışlardır (177). CV_A değişiklikleri, toplam örnek ve birey sayısı ile tekrar sayılarının, CV_I tahminleri üzerindeki etkisini ölçmek için, farklı modellere göre değişen CV_A ile CV_I 'nin %95 GA'nı hesaplamışlardır. Bu faktörlerin etkisinin CV_A / CV_I oranı ile değiştiği gözlenmiş, CV_I ile ilişkili olarak CV_A ne kadar yüksek ise o kadar geniş GA'ı elde edilmiştir (177).

Aynı çalışmada ayrıca değişen CV_A / CV_I oranının CV_I 'un belirlenme gücü üzerine etkisi incelenmiştir (177). CV_I ' a göre düşük CV_A değerleri, deneyin gücünü belirlemede önemli bulunmuştur. CV_A / CV_I oranı ile örnek, birey ve tekrar sayıları arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla deneysel tasarımlar yapılmıştır (Tablo.14). Örneğin; CV_I 'un en iyi belirlenme gücüne toplam birey sayısı 20; bir bireyde çalışılan örnek sayısı 4, 6, 8 veya 10; CV_A / CV_I oranı 1 ve yapılan tekrar sayısı 2, 3 veya 4 olduğunda erişilmiş ve diğer koşullar aynı iken sadece CV_A / CV_I oranının artması gücün azalmasına neden olmuştur (Tablo.14 kesikli çerçeve). Yüksek CV_A / CV_I oranı ile genellikle %80'nin üzerindeki güce çok sayıda örnek ve birey ile erişilemediği, sadece tekrar sayılarının arttırılmasıyla, ölçümlerin gücünde artış sağlandığı görülmüştür (177).

Tablo.14. Farklı CV_A / CV_I oranları için çeşitli örnek, birey ve tekrar sayılarından oluşan farklı çalışma modellerinde CV_I 'un belirlenme gücü (177)

Toplam Bireyler	Örnek Sayısı	Analitik varyasyon / bireyiçi biyolojik varyasyon (CV_A / CV_I) oranı											
		1			1.5			2			3		
		Tekrarlar			Tekrarlar								
		2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4
10	2	0.65	0.87	0.95	0.32	0.55	0.70	0.19	0.33	0.46	0.11	0.15	0.20
	4	0.94	1.00	1.00	0.59	0.87	0.97	0.33	0.60	0.79	0.15	0.26	0.38
	6	0.99	1.00	1.00	0.76	0.97	1.00	0.44	0.76	0.92	0.18	0.34	0.51
	8	1.00	1.00	1.00	0.86	0.99	1.00	0.54	0.87	0.97	0.22	0.41	0.62
	10	1.00	1.00	1.00	0.92	1.00	1.00	0.63	0.93	0.99	0.25	0.49	0.71
15	2	0.80	0.96	0.99	0.43	0.69	0.84	0.24	0.41	0.58	0.12	0.19	0.26
	4	0.99	1.00	1.00	0.74	0.96	0.99	0.42	0.74	0.90	0.18	0.32	0.49
	6	1.00	1.00	1.00	0.89	1.00	1.00	0.57	0.89	0.98	0.23	0.45	0.65
	8	1.00	1.00	1.00	0.96	1.00	1.00	0.69	0.96	1.00	0.29	0.55	0.76
	10	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	1.00	0.78	0.98	1.00	0.32	0.63	0.84
20	2	0.88	0.98	1.00	0.51	0.79	0.91	0.28	0.51	0.67	0.14	0.22	0.31
	4	1.00	1.00	1.00	0.83	0.99	1.00	0.52	0.83	0.95	0.22	0.39	0.58
	6	1.00	1.00	1.00	0.95	1.00	1.00	0.68	0.96	1.00	0.28	0.53	0.75
	8	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	1.00	0.79	0.99	1.00	0.34	0.65	0.85
	10	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.88	1.00	1.00	0.39	0.74	0.92

Çalışmamızda toplam 20 birey, her bir bireyde 0., 1., 2., 7., 14., 21. ve 28. günlerde elde edilen 7 örnek sayısı, aynı örnekte yapılan 2 tekrar sayısı şeklinde bir tasarım modeli ortaya çıkmıştır. Belirtilen koşullarda CV_A / CV_I oranımız 1.17 olarak elde edilmiş ve tablo verileriyle karşılaştırıldığında çalışmamız için CV_I 'un belirlenme gücü %90'ın üzerinde bulunmuştur (Tablo.14 düz çerçeve). Çalışma modelimizde tekrar sayılarının artırılmasıyla istenen düzeyde güce ulaşmak mümkün görünmektedir.

Róraas ve arkadaşları (177) yaptıkları çalışmayı optimize etmek amacıyla aynı dönemde toplanan örnekleri seri halinde analiz etmişlerdir. CV_I hesaplanırken kişi başına farklı zamanlarda toplanan örnek sayısının, incelenen birey sayısından daha önemli olduğu belirtilmiştir (177). Üst üste toplanan örnekler arasındaki sürenin tanımlayıcı bir faktör olması nedeniyle CV_I değerlerinin gün içi, günler arası ya da haftalar arası varyasyon şeklinde zaman aralığı belirtilerek verilmesi önerilmiştir. Zaman aralığının yönü ve homojenliğin, testin gücü ile GA'nın hesaplanmasını etkilemeyeceği, ancak sonucun yorumlanmasını etkileyebileceği düşünülmüştür (177). Verilen bilgiler doğrultusunda

sonuçlarımızın güvenilirliğini arttırmak amacıyla BVG'nu oluşturan birey sayısının ve her bir bireyde çalışılan örnek sayısının, literatürde de yer verilen önerilerle uyum sağlamasına özen gösterdik. Bu nedenle elde ettiğimiz sonuçların literatür bilgileriyle karşılaştırılabilir olduğunu düşünmekteyiz.

Elde ettiğimiz veriler doğrultusunda İMA için $CV_A > CV_I$ olduğu görülmüştür. CV_A ve CV_I 'un yüksek bulunması ile ilgili birkaç farklı görüş ileri sürülmüştür (178). CV_I 'un analitik bileşenlerden büyük olması durumunda, tekrarlanan analizlerle yöntemin aynı sonucu verebilme gücü olarak tanımlanan analitik kesinlikte (P) sağlanan iyileştirmeye testin klinik yararlılığında kısmi artış beklenebilmektedir. İyileşme sağlandığı kabul edilen P'le bireye ait seri test sonuçlarındaki doğal varyasyonun etkisi azalmakta, sonuçlar arasındaki değişikliğin anlamlı olma olasılığı artmaktadır (17). Bu durum popülasyona dayalı RA dağılımını daraltmakta ve tanının doğruluğunu arttırmaktadır. P'in rakamsal değeri arttıkça, BV kısma daha fazla miktarda CV_A eklenecektir. İdeal P değerleri ise ancak " $CV_A < 0,5 \times CV_I$ " olması durumunda sağlanmaktadır (17).

CV_I , toplam varyasyonun sadece az bir kısmı olsa dahi, analitik bileşenlerden daha küçük ise, aynı bireyde gözlenen gün-gün değişimler B tarafından gizlenebilmektedir. Diyet, fiziksel aktivite ve kan alım tekniğinin sıkı kontrolü ile CV_I azaltılabilmektedir. Rutin klinik durumlarda müdahale edilebilir olanlar dışındaki kısıtlamaların uygulamaya konması mümkün olmamaktadır. Çünkü birçok laboratuvar incelemesi hastanın klinik durumundaki değişiklikleri tespit etmek için yapılmaktadır. Ölçümlerde tespit edilen belirgin değişikliğin büyüklüğü, fizyolojik dalgalanmaların ve B'nin büyüklüğüne göre değerlendirilmelidir (178).

Klinik laboratuvarlarda kullanılan testler için performans hedefleri I, B ve TE olarak geliştirilmiştir. TE için, bütün hata kaynakları birleşiminin kabul edilebilir sınırlar içinde yer alması hedeflenmektedir. Bu ise klinisyen açısından ideal olanıdır çünkü; TE'ya hangi kaynağın yol açtığına bakılmaksızın yanlış sunulmuş bir laboratuvar raporu istenmeyen

sonuçlar doğuracaktır (179). Elde ettiğimiz BV verileri (CV_I ve CV_G) kullanılarak ACB test performansı için analitik kalite özellikleri hesaplanmıştır. Kullandığımız manuel analiz yöntemine ait I_{max} değeri 6.75 bulunmuştur. Oto analizörle planlanan çalışmalarda bu değerin % 9'u aşmaması kit üreticileri tarafından uygun analitik kalite özelliği olarak kabul edilmektedir (180). B_{max} değeri 4.73 olarak elde edilmiş ve CLIA 88 nerileriyle ($B < 0.33 \times TE$) uyum göstermiştir ($4.73 < 5.18$) (57). Homojen bir popülasyon bölgesinde küçük B'a sahip laboratuvarların aynı RA'nı kullanması ve laboratuvarlar arası sonuçların karşılaştırılabilir özellik taşıması uygun olmaktadır (17).

Çalışma modelimizde 1 aylık sürede günler (0, 1, 2, 7, 14, 21 ve 28. gün) ve haftalar arası (1-4 hafta) orta-uzun dönemli CV_I tahminleri belirlenmiştir. Elde ettiğimiz veriler izlenen periyotta günler arası CV_I değerleri olarak nitelendirilebilmektedir. Costongs ve arkadaşları (181) tarafından laboratuvarlarda yaygın kullanımda olan 28 parametre için 62 sağlıklı bireyde bir gün içinde saatler, 16 bireyde bir hafta içinde günler arasındaki kısa dönem ve 274 bireyde 6 ay içinde aylar arasındaki uzun dönem biyolojik kaynaklı varyasyonlar değerlendirilmiş ve RA değerlendirmesinde CV_I verilerinin göz önünde bulundurulması gerektiği belirtilmiştir (181).

Laboratuvar verilerinin daha iyi kullanımı amacıyla geleneksel popülasyona dayalı RA'nın teorik kavram ve pratik uygulamalarının yeniden gözden geçirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Klinik laboratuvarlarda incelenen biyokimyasal parametrelerin BV temelinde değerlendirilmesi, popülasyona dayalı RA'nın oluşturulması ve uygulamada kullanımının anlaşılması açısından önem taşımaktadır. Öngörülebilir döngüsel biyolojik ritimlere ait ayrıntılı bilgi, laboratuvar verilerinin yorumlanması ve örneklerin klinik amaca uygun zamanda toplanması için gerekmektedir (20).

İMA molekülüne ait RA değerleri tüm grup için 0.079 – 0.511 ABSU bulunmuştur. Cinsiyetler arasında bulunan istatistiksel farklılık nedeniyle RA'lar her iki cinsiyet için ayrı ayrı hesaplanmış ve kadın bireylerde 0.166 – 0.530 ABSU, erkek bireylerde 0.023 – 0.397

ABSU olarak elde edilmiştir. RA değerlerinin kadınlarda erkeklere göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. İMA'nın miyokardiyal iskemi belirteci olarak rutin kullanıma girmesi durumunda, analite ait bu cinsiyetler arası farklılık özelliğinin, karar verme aşamasında dikkate alınması uygun bir değerlendirme yaklaşımı olacaktır. RA'nın yaş ve cinsiyet gibi faktörlere göre tabakalandırılarak elde edilip kullanılması yaygın bir uygulama haline gelmektedir. Verilerin bu yolla elde edilmesi, popülasyona dayalı RA'nın kullanımını ve yararlılığını arttırmaktadır (20).

Popülasyona dayalı RA'lar genellikle laboratuvar içi doğrulama kriteri olarak kullanılmakta ve RA içinde yer alan sonuçları normal kabul ederek, herhangi bir müdahale olmaksızın bildirmektedir. Analitler güçlü homeostatik düzenlenme altında olduğunda CV_I dağılımı CV_G dağılımından daha dar olmakta ve seri test sonuçlarının popülasyona dayalı RA ile karşılaştırılması bireyin sağlık durumu açısından yararlı bilgi sağlamamaktadır. Laboratuvarda yaygın olarak kullanılan pek çok analit için bu geçerlidir ancak seri analizlerde sağlık durumu değerlendirmesi için başka kriterlere ihtiyaç duyulmaktadır (182).

RCV, laboratuvarlar tarafından elde edilen sonuçların doğrulanmasında önemli bir kriter olarak değerlendirilmektedir. Ardışık gözlemlere dayanan sonuçların her ikisi de RA içinde yer alabilirken aralarındaki fark klinik açıdan önemli olabilmektedir. Seri ölçüm sonuçlarındaki değişiklikler yalnızca RCV aşıldığında anlamlı olmaktadır (182). Yüzde değişimler delta kontrol ve laboratuvar içi doğrulama ile değerlendirilebilir hale gelmiştir. Test sonuçlarının ilk onaylanma sürecinin gerçekleştirildiği laboratuvar içi doğrulama uygulaması önemli bir ilgi ve tartışma alanı olmaktadır. Elde edilen delta kontroller ölçümlerde yanılma veya büyük hataları yakalamak için kullanılmaktadır. CV_A ve özellikle BV bileşenlerine ait veriler değerlendirilirken bu RCV tekniğinin sınırlı kullanımı ve dezavantajlı yönlerinin hatırlanması önerilmektedir (182).

Cooper ve arkadaşları (183) bu basit RCV yaklaşımında karşılaşılan bazı sınırlamalara dikkat çekmektedir (183). Klinisyenlerin fazla miktarda istatistik bilgisine maruz bırakıldığı, seçilen olasılık için kullanılan z değerinin, alınan tıbbi kararların kısmen reddedilmesine yol açtığı, BV tahminlerinin bireyin sağlık durumuna, RCV değerlerinin büyük oranda analiz edilme sıklığına bağlı olduğu üzerinde durulmaktadır. Konuyla ilgili doğru uygulamanın ortak bir terminoloji ve gelişmiş laboratuvar bilgi yönetim sistemi gerektirdiği belirtilmektedir (183). Fraser ve arkadaşlarına (184) göre ise neonatal dönem, arteriyel kan ve spinal sıvı analitleriyle ilişkili bazı durumlarda CV₁ değerlerinin bilinmesi pratik anlamda olası görünmemektedir (184). BV verilerinin uluslararası veya standart olmayan, farklı immunokimyasal ölçüm sistemleriyle elde edilmiş analit verilerinden derlenmemesi gerektiği belirtilmektedir (185). Günden güne belirsizlik gibi orta düzey koşullarda elde edilen kesinlik değeriyle ilişkili olarak çoğu analit için serum veya plazma ile kontrol materyallerinin birbirinin yerine kullanılmasında eksiklik bulunmaktadır (186). Çoğu analit ve ölçüm sistemi için orta düzey koşullarında saptanan kesinliğe ait varyasyon katsayısı, analit miktarı ile değişkenlik göstermektedir (187). Sıklıkla verilen analitler için bireyler arasında farklı CV₁ değerleri gözlenmekte ve buna ilaveten CV₁ ile ilgili yayınlanmış çalışma verilerinin uyumsuz olduğu belirlenmektedir (188). Sonuçta herhangi bir CV₁ tahmininin, bu biyolojik yaklaşıma yeterli açıklama getiremeyeceği ve çoğu bireyin RCV tespiti için uygun olmayacağı ifade edilmektedir (189).

Çalışmamızda RCV, % 95 olasılıkla 56.36 (kadın ve erkek için sırasıyla 55.93, 56.96) bulunmuştur. Hesapladığımız yüzde değişimler, RCV'ni aşmamış ve ölçüm sonuçları arasındaki farklılıklar anlamlı kabul edilmemiştir. Kullandığımız 'z' değeri, seçilen olasılık için uygun standart sapma değerini vermekte ve istatistiksel tablolarda yer almaktadır. % 95 (p<0.05) anlamlılık düzeyi için sıklıkla 1.96; % 99 (p<0.01) yüksek anlamlılık düzeyi için ise 2.58 değeri kullanılmaktadır (182). % 95 anlamlılık düzeyi klinik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan bir eşik iken bu düzeye ait bulgular klinik uygulamalar için pratik

ve istenen ölçüde olmayabilir. Klinik karar verme süreci, öngörülen müdahalelerin yarar/zarar değerlendirmesine dayanmaktadır. Bu süreçte klinisyenler laboratuvar sonuçlarına ağırlık vermektedir. İki sonuç arasındaki farkın anlamlılığını belirlemek doğruluğu kesin olmayan bir yöntemdir.

% 80 olasılıkla rastgele olmayan sonuçların benzerliği klinik tablolarla ilişkilendirilen birçok durumda olgu yönetimi açısından yeterli bir kanıt olarak kabul edilebilmektedir. Bununla birlikte %50 anlamlılık düzeyi gerçek değişimin başladığı uygun bir eşik olarak yararlı olabilmektedir (172).

Smellie (172), yaptığı gözlemlere dayanarak sonuçlar arasındaki farklar için % 50, % 80 veya % 90 anlamlılık düzeylerinin, tek başına % 95 anlamlılık düzeyinden daha uygun olabileceğini ifade etmiştir (172). Bu görüşler doğrultusunda çalışma verilerimizle % 50, % 80 ve % 90 anlamlılık düzeyi için RCV değerlerini hesapladık ve sırasıyla; 19.26, 36.8 ve 47.44 olarak elde ettik. Bu değerlerin bir arada kullanımının ve karşılaştırılabilir literatür verileri içinde yer almasının yararlı olacağı kanısındayız.

CV_I dağılım modeli kullanımının delta kontrol yönteminden daha komplike olduğu açıktır. Bu model CV_I dağılımını dikkate almakta ve tek bir referans değişikliğin seçilmesini sağlamaktadır. Bu ise referans nüfusa eş yüzdede farklılığın anlamlı olacağına ilişkin kararın verilmesini kolaylaştırmaktadır. Örneğin laboratuvar sonuç kalitesinin izlenmesi amacıyla ardışık değerler arasındaki değişikliği kullanan delta kontrol prosedürlerinde sınır %50'lik değerdeki ılımlı eşiğe yakın olacaktır (25,190).

BV sayısal verileri seri laboratuvar sonuçlarında gözlenen değişikliklerin anlamlı olup olmadığına karar vermek amacıyla da kullanılmaktadır. RCV, sonuçların laboratuvar içi doğrulamasında yararlı bir araç olarak önerilmekte ve bu değişimlerin dikkate alınarak yalancı pozitif sonuçların azaltılması hedeflenmektedir. Bu aşamada birkaç nokta vurgulanmalıdır. Bunlardan ilki CV_I 'nun, RCV'ne en önemli katkıyı sağladığı ve bu nedenle hassas olması gerektiğidir. Farklı araştırmacıların farklı popülasyonlardan

bağımsız olarak elde ettikleri değerler ortalamasıyla derlenmiş CV_I veri tabanı literatürde ve internet ortamında yer almaktadır (182,191). Heterojenliğin azaltılması için popülasyona özgü CV_I değerlerinin geliştirilmesi daha yararlı olmaktadır (192). Diğeri ise pek çok analit için bu CV_I değerleri sağlıkta ve hastalıkta benzerlik gösterdiği halde ulaşılabilir verilerin çoğunun sağlıklı bireylerden elde edilmiş olmasıdır (32). Akut tablolarda analitlerin bir kısmı artmış CV_I değerlerine sahipken, stabil durumdaki kronik hastalıkta birçok analite ait artmış CV_I ve RCV değerleri gösterilmiştir (24,32,182,192). Benzer durumda RCV'ni belirlemek için CV_I değerlerinin uygun olmayan kullanımı yalancı pozitif sonuçları doğuracaktır. Bu ise akut tablolar için RCV'nin mevcut veri tabanında yer alan CV_I değerleri kullanılarak hesaplanmaması gerektiği anlamına gelmektedir. RCV hesaplanmasının gereklilik arz etmesi halinde bu sorunun, akut ve kronik hastalıklar süresince artmış CV_I değerlerine sahip analitlerin liste halinde sunulmasıyla çözümlenebileceği ileri sürülmektedir (191).

Laboratuvarlarda kullanılan çok sayıda analit için yayımlanan CV_I değerleri, farklı zaman aralıklarıyla planlanan çalışmalardan elde edilmiş değerler ortalamasıdır. Bazı analitler için belirlenmiş zaman aralıkları ve elde edilen CV_I değerleri arasında direkt ilişki saptanamamasına rağmen, uzun zaman aralıklarıyla CV_I 'da artma gözlenmiştir. CV_I daha kısa zaman aralıklarıyla elde edildiğinde bu analitler için hesaplanan RCV'nin yalancı negatif sonuçlar doğurması ve tedavide potansiyel bir ihmalle sonuçlanması olasıdır (24). RCV'nin iki ardışık sonuç arasındaki değişimin doğruluğunu veya istatistiksel olarak anlamlılığını değerlendirmek için yararlı bir araç olduğu açıktır. RCV'nin doğru yorumlanması sağlık durumu, testlerin zamanlaması ve bireysel izlemi tanımlayan klinik bilgilere bağlanmaktadır. Yalancı pozitif sonuçları ayırt edecek ve aynı zamanda yalancı negatif sonuçlara engel olacak bir dengeye ulaşılması gerekmektedir (171).

Çalışmamızda CV_I 'a ait varyans dağılımları Cochran testi ile değerlendirilmiş ve dağılımın homojenlik gösterdiği belirlenmiştir ($p=0.05$). RCV sonuçlarının çoğu varyans

homojenlik testi (Cochran) değerlendirmesini de içermektedir. Eğer CV_I heterojen ise RCV hesaplanmasında kullanılan değişim dağılımları, yanlış tahminler üretebilmektedir. Bununla birlikte bir çok olağan klinik durumda CV_I tahmin edilemediğinden bireyde rastgele değişim varyanslarının aynı olduğu düşünölmektedir (193).

RCV hesaplanmasında kullanılan CV_I tahminlerinin güvenilirliğini arttırmak amacıyla, örneklerin tekrar sayısının en az iki veya daha fazla olması önerilmektedir. Ayrıca bireysel değişimlerdeki CV_G 'un güvenilir tahminler üretebilmesi nedeniyle referans popölyasyonun da geniş tutulması gerektiği vurgulanmaktadır (194).

CV_I 'a , CV_A 'un eklenmesiyle elde edilen toplam varyasyon tahminleri, klinik açıdan yararlı RCV hesaplanmasına olanak sağlayabilir. Klinik karar vermede RCV'nin sınırlı kullanımından yakınılmaktadır (195). RCV'nin neden sadece birkaç laboratuvar tarafından rapor edilebildiği ve bu raporların neden sadece birkaç klinisyence kabul gördüğü, veri üretimindeki karmaşıklıklar ve sunumunda karşılaşılan zorluklarla açıklanabilir (190).

Bu alandaki gelişmeler, bireysel verilerin bilgisayarda depolanması ve yeniden kullanımına olanak sağlayan teknolojik başarıların yanı sıra farklı sağlık durumlarına ait farklı bileşenleri içeren CV_I çalışmalarına bağlı olacaktır. Kısa veya eşit olmayan aralıklı gözlemler için süreklilik gösteren seriler gibi uygulama sorunlarıyla başa çıkmada bu teorik modellerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır (7).

BV verileri ile popölyasyona dayalı RA'nın klinik yararlılığına dikkat çekilirken aynı zamanda RA'nın yaş ve cinsiyet özelliklerine göre tabakalandırılmasının gerekliliği vurgulanmaktadır (20). Test sonuçlarının laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan popölyasyona dayalı RA ve bireye ait önceki sonuçlar göz önünde bulundurularak birlikte değerlendirilmesi önerilmektedir (7). Ardışık ölçüm sonuçları arasındaki değişimlerin anlamlılığı incelenmekte ve laboratuvarlarda sıklıkla ölçümü yapılan çoğu analitin bireysellik özelliği ön plana çıkarılmaktadır (20). Elde edilen BV verileri belli bir olasılıkla bireysel homeostatik ayar noktalarına ait tahminlerin üretilebilmesi için gereken

örnek sayısının belirlenmesi ve analize en uygun örneğin toplanması gibi örnek kalitesinin sağlanmasına ve testlerin potansiyel kullanımına yönelik verilen kararlara katkı sağlamaktadır. BV; analitik sürecin iyileştirilmesi, laboratuvar sonuçlarının doğrulanması ve hastanın durumu ile ilgili klinik prognozun belirlenmesinde ihtiyaç duyulan bilgilerin edinilme yolunu açacaktır (169).

Uzamış iskemi miyokardiyal hücre ölümüne yol açabilmekte ve infarktüs öncüsü olarak nitelendirilmektedir. Bu nedenle iskeminin erken evrede tespiti, oluşabilecek yıkıcı sonuçların önlenmesi için bir zorunluluk olmaktadır. Mevcut iskemi belirteçleri, pozitif olarak saptandıkları aşamada hücre ölümünün başlamış olduğu varsayıldığından bu gereksinimi karşılayamamaktadır. Bu amaca hizmet edebilecek bir kardiyak belirtece ihtiyaç duyulmakta ve İMA potansiyel ve umut vaad eden bir aday olmaktadır. Geline bu noktada akla özellikle pozitif bir İMA bulgusunun nasıl yorumlanacağı sorusu gelmektedir. ACB testi iskemiye belirleyici değerleri ve spesifitesinin düşük izlenmesine rağmen, şüpheli AKS vakalarını sınıflandırma aracı olma ve özellikle AKS'u ekarte etme potansiyeline sahiptir. Erken dönemde kardiyak iskemiye yüksek oranda dışlama özelliği ile klinik kullanımının desteklenmesi ve çalışmamızda elde ettiğimiz referans aralık ve biyolojik varyasyon verileri de dahil olmak üzere İMA'ya ait elde edilen tüm verilerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

EKLER

EK:1

U.Ü. Araştırma Etik Kurulu Onayı



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ ARAŞTIRMA ETİK KURULU
Görükle Yerleşkesi, 16059 Nilüfer/ BURSA

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	İşkemi Modifiye Albumin Düzeylerinde Biyolojik Değişkenliklerin Saptanması, Referans Değişim Değeri ve Türk Toplumundaki Referans Değerlerinin Hesaplanması
	ARAŞTIRMA SORUMLULARI	Prof.Dr.Yeşim Özarda
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Dr.Gül Özlem Tuncer
	ARAŞTIRMANIN TAHMİNİ SÜRESİ	2 yıl
	KATILACAK GÖNÜLLÜ SAYISI	400
	DESTEKLEYİCİ KURULUŞ	-
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ / NİTELİĞİ	İnsanlardan elde edilen materyallerin (kan, idrar, doku vb) veya rutin tanı yöntemlerinin kullanıldığı araştırma / Uzmanlık Tez çalışması

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Dili
		ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	23.06.2011
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (sağlıklı kontrol grubu-1.grup)	23.06.2011	Türkçe
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (sağlıklı kontrol grubu-2.grup)	23.06.2011	Türkçe
	ARAŞTIRICILAR İÇİN TAAHHÜTNAME FORMU	23.06.2011	Türkçe


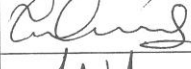
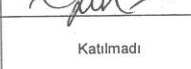
KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2011-14/13 Tarih : 28 Haziran 2011
	Fakültemiz Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Yeşim Özarda'nın sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; 1- Araştırmanın yapılmasının uygun olduğuna. 2- Etik Kurul kaşesi bulunan "Onam" formunun kullanılması ve bu formun gönüllüye çalışma hakkında sözlü bilgi verilmesi sonrasında eksiksiz bir şekilde doldurulmasına. 3-Araştırmanın başlama tarihinin bildirilmesi ve araştırma tamamlandığında özet bir sonuç raporunun hazırlanarak kurulumuza iletilmesine. 4- Araştırma protokolünde ve başvuru formunda yapılacak tüm değişiklikler için Etik Kuruldan izin alınması gerektiğinin sorumlu araştırmacılara iletilmesine oybirliği ile karar verildi.

ETİK KURUL BİLGİLERİ							
ÇALIŞMA ESASI İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU							
ÜYELER							
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza	
Prof. Dr. Mine Sibel GÜRÜN Başkan	Farmakoloji	U.Ü.T.F. Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H		
Prof.Dr.Betül Berrin SEVİNİR Başkan Yardımcısı	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	U.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H		
Prof.Dr.Engin ULUKAYA Üye	Biyokimya	U.Ü.T.F. Tıbbi Biyokimya AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	Kongrede	
Doç.Dr.Necdet KARLI Üye	Nöroloji	U.Ü.T.F. Nöroloji AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H		
Doç.Dr.Elif BAŞAĞAN MOĞOL Üye	Anesteziyoloji	U.Ü.T.F. Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H		
Doç.Dr.Murat CİVANER Üye	Deontoloji	U.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H		
Yrd.Doç.Dr.Bülent EDİZ Üye	Biyostatistik	U.Ü.T.F. Biyostatistik ve Tıbbi Bilişim AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	Sınavda	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ ARAŞTIRMA ETİK KURULU
Görükle Yerleşkesi, 16059 Nilüfer/ BURSA

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

Doç.Dr.Şaduman BALABAN ADIM Üye	Patoloji	U.Ü.T.F. Tıbbi Patoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	Katılmadı
Yrd.Doç.Dr.Pınar VURAL Üye	Psikiyatri	U.Ü.T.F. Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç.Dr.Tuna GÜLTEN Üye	Tıbbi Genetik	U.Ü.T.F. Tıbbi Genetik AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr.Çiğdem Mine YILMAZ Üye	Hukuk	U.Ü.Hukuk Fakültesi	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Ecz.Zeynep Gözde TUNCER Üye	Eczacı	UÜ.SUAM	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Ahmet GÖREN Üye	Sağlık mesleği mensubu olmayan üye	Serbet Meslek	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	Katılmadı

* Araştırma ile İlişkili
** Toplantıda Bulunma

Referans Aralık Belirleme Anket Formu

REFERANS ARALIK ÇALIŞMASI ANKET FORMU				
DAHİL EDİLME KRİTERLERİ				
1. Bugün kendinizi iyi hissediyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	EVET	<input type="checkbox"/>	HAYIR
2. 18 yaşın üstünde misiniz?	<input type="checkbox"/>	EVET	<input type="checkbox"/>	HAYIR
DIŞLANMA KRİTERLERİ				
1. İnsülin ya da oral ilaçla tedavi edilen Şeker Hastalığınız var mı?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
2. Kronik karaciğer ya da böbrek rahatsızlığınız var mı?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
3. Ciddi bir hastalığı gösteren kan sonuçlarınız var mı?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
4. Geçtiğimiz 4 hafta içinde hastanede yattınız ya da hastalık geçirdiniz mi?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
5. Geçtiğimiz 3 ay içinde kan bağışında bulundunuz mu?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
6. HBV, HCV veya HIV taşıyıcılığınız var mı?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
7. Hamile misiniz ya da 1 yaş altı çocuğunuz var mı?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
8. Son 12 hafta içinde bir araştırma ürünü ile ilgili bir çalışmaya/araştırmaya katıldınız mı?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
KİMLİK BİLGİSİ				
İSİM:			Tarih:	
YAŞ:			Kan Grubu:	
CİNSİYET:	<input type="checkbox"/>	Erkek	<input type="checkbox"/>	Kadın
Doğum Yeri:			Numune alım zamanı:	
Yerleşim Yeri:			Anne D. Yeri:	
Ağırlık(kg):			Baba D. Yeri:	
Boy(cm):			Bel çevresi(cm):	
Şu an aç mısınız?	<input type="checkbox"/>	Evet	<input type="checkbox"/>	Hayır
Son gıda alım zamanı:				
TIBBİ GEÇMİŞ				
Her gün kullandığınız bir ilaç var mı? (tansiyon, kolesterol, kan sulandırıcı, hormon hapi vb.) Evet ise; belirtiniz:	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
Vejeteryan mısınız?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
Özel bir diyet uyguluyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
Evet ise; ne tür?				
Geçtiğimiz 4 hafta içinde hastalandınız mı?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
Evet ise; tanınız ve zamanı?				
Yüksek tansiyonunuz var mı?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
Mesleki olarak zararlı kimyasallara maruz kalıyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
Evet ise; ne tür ?				
Doktor kontrolünde misiniz?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
Evet ise; niçin?				
Son 6 ay içinde hastanede yattınız mı?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
Evet ise; ne zaman ve ne sebeple?				
Ailenizde kalıtsal sağlık sorunları var mı?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
Evet ise; ne tür?				
Geçtiğimiz 4 hafta içinde aspirin ya da ağır kesici kullandınız mı?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
Herhangi bir nedenle önerilmiş diyet hapi, mide ilacı, antiasit ya da alerji ilacı kullanıyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
Evet ise; belirtiniz.				
Vitamin ilacı ya da bitkisel takviye kullanıyor musunuz?.	<input type="checkbox"/>	HAYIR	<input type="checkbox"/>	EVET
Evet ise; nedir?				

KADINLAR İÇİN					
Menstrüel düzeninizi nasıl tanımlarsınız? <input type="checkbox"/> Düzenli <input type="checkbox"/> Biraz düzensiz <input type="checkbox"/> Düzensiz					
Hormon replasman tedavisi alıyor musunuz? <input type="checkbox"/> HAYIR <input type="checkbox"/> EVET					
Emzirme döneminde misiniz? <input type="checkbox"/> HAYIR <input type="checkbox"/> EVET					
Hamile misiniz? <input type="checkbox"/> HAYIR <input type="checkbox"/> EVET					
Oral kontraseptif ya da implant kullanıyor musunuz? <input type="checkbox"/> HAYIR <input type="checkbox"/> EVET					
Son adet tarihiniz: _____					
ALKOL					
Alkol kullanıyor musunuz? <input type="checkbox"/> HAYIR <input type="checkbox"/> EVET					
1: Son 48 saat içinde alkol aldınız mı? <input type="checkbox"/> HAYIR <input type="checkbox"/> EVET					
Evet ise; alkolün cinsi ve miktarını belirtiniz. _____ gr/48 saat					
2: Haftada ne kadar içerirsiniz? <input type="checkbox"/> HIÇ İÇMEM					
Bira _____ bardak					
Şarap _____ kadeh					
Rakı _____ bardak (6 bardak= 1 şişe)					
Bu alışkanlık kaç ay/ yılı için geçerli?					
3: Ortalama günlük tüketilen alkol miktarı*,** _____ gr/gün					
*Lütfen alkolü içecek hacmini etanol miktarına dönüştürün. gr etanol elde etmek için, alkol içeriği oranı ile alkol hacmini çarpın. Ör: 500 ml Bira (%4 alkol)=500x0,04=20gr; 200 ml şarap (%12 alkol)=200x0,12=24 gr 80 ml rakı (% 45 alkol)=80x0,45=36 gr etanol. **Eğer her gün içmiyorsanız tahmini haftalık miktarı 7 'ye bölün.					
SİGARA					
Sigara kullanıyor musunuz? <input type="checkbox"/> HAYIR <input type="checkbox"/> EVET					
1: Günde kaç tane sigara içerirsiniz?					
2: Kaç yıldır sigara içiyorsunuz?					
EGZERSİZ					
Düzenli egzersiz yapıyor musunuz? <input type="checkbox"/> HAYIR <input type="checkbox"/> EVET					
Evet ise; sporun cinsi: _____ Sıklığı: _____ saat/ gün _____ saat/ hafta					
Geçtiğimiz hafta içinde 30 dk veya daha uzun süreyle kalp atışınızın hızlandığı veya nefesinizin fazla zorlandığı fiziksel aktivitede bulundunuz mu? <input type="checkbox"/> HAYIR <input type="checkbox"/> EVET					
BESLENME TARZI					
Aşağıdaki besin maddelerini hangi sıklıkta tüketiyorsunuz?					
kırmızı et	1: hiç	2: nadiren	3: arasıra	4: sıklıkla	5: hergün
balık	1: hiç	2: nadiren	3: arasıra	4: sıklıkla	5: hergün
sebze	1: hiç	2: nadiren	3: arasıra	4: sıklıkla	5: hergün
yağlı gıda	1: hiç	2: nadiren	3: arasıra	4: sıklıkla	5: hergün
tuzlu gıda	1: hiç	2: nadiren	3: arasıra	4: sıklıkla	5: hergün

KAYNAKLAR

1. SKENDZEL LP. How physicians use laboratory tests. J Am Med Assoc, 239: 1077-1080, 1978.
2. FRASER CG. Biological variation in clinical chemistry. An update: collected data,1988- 1991. Arch Pathol Lab Med, 116: 916- 923, 1992.
3. FRASER CG. Databases for facilitating work on setting quality specifications: biological variation. Uppsala J Med Sci, 98: 415- 416, 1993.
4. NCCLS. C28-A: How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline, 1995.
5. COSTONGS GM, JANSON PC, BROMBACHER PJ. Effects of biological and analytical variations on the appropriate use of “reference intervals” in clinical chemistry. Proposal of a scheme for longitudinal assessment of laboratory values. J Clin Chem Clin Biochem, 22: 613- 621, 1984.
6. COX DR, SOLOMON PJ. Components of variance. Boca Raton, FL: Chapman and Hall/CRC, 2003.
7. QUERALTO JM. Intraindividual reference values. Clin Chem Lab Med, 42: 765- 777, 2004.
8. RICOS C, CAVA F, GARCIA-LARIO JV, HERNANDEZ A, IGLESIAS N, SİMÓN M, JIMÉNEZ CV, MİNCHİNELA J, PERİCH C, DOMENECH MV, ALVAREZ V. The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. Scand J Clin Lab Invest, 64: 175- 184, 2004.
9. VAN DE WERF F, ARDISSİINO D, BETRIU A, COKKINOS DV, FALK E, FOX K, FİLİPPATOS G, HUBER K, KASTRATİ A, ROSENGREN A, STEG PG, TUBARO M, VERHEUGT F, WEİDİNGER F, WEİS M. Management of acute myocardial infarction inpatients presenting with ST-segment Elevation The Task Force on the Management of Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. Eur Heart J, 24: 28- 66, 2003.
10. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verileri, 2013, (<http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=16162>).
11. RAJAPPA M, SHARMA A. Biomarkers of cardiac injury: an update. Angiology, 56: 677- 691, 2005.

12. BROGAN Jr GX, HOLLANDER JE, MCCUSKEY CF, THODE HC JR, SNOW J, SAMA A, BOCK JL. Evaluation of a new assay for cardiac troponin I vs. creatine kinase-MB for the diagnosis of acute myocardial infarction. *Acad Emerg Med*; 4: 6-12, 1997.
13. GOMEZ MA, ANDERSON JL, KARAGOUNIS LA, MUHLESTEIN JB, MÍGUEL A. MOODERS FB. An emergency department-based protocol for rapidly rulling out myocardial ischemia reduces hospital time and expense: results of a randomized study (ROMIO). *J Am Coll Cardiol*, 28: 25- 33, 1996.
14. ANWARUDDIN S, JANUZZI Jr JL, BAGGISH AL, LEWANDROWSKI EL, LEWANDROWSKI KB. Ischemia-modified albumin improves the usefulness of standard cardiac biomarkers for the diagnosis of myocardial ischemia in the emergency department setting. *Am J Clin Pathol*, 123: 140- 145, 2005.
15. ROY D, QUILES J, ALDAMA G, SÍNHA M, AVANZAS P, COLLINSON P, ARROYO-ESPLÍGUERO R, GAZE D, CARLOS KASKI J. Ischemia modified albumin for the assessment of patients presenting to the emergency department with acute chest pain but normal or non-diagnostic 12-lead electrocardiograms and negative cardiac troponin T. *Int J Cardiol*, 97: 297- 301, 2004.
16. KANG SY, SUH JT, LEE WI. Clinical usefulness of ischemia modified albumin in acute coronary syndrome. *Korean J Lab Med*, 25: 306- 311, 2005.
17. FRASER CG. *Biological variation: from principles to practice*. AACC Press, 6th ed., Washington, 2001.
18. YOUNG DS. *Effects of pre-analytical variables on clinical labotary tests*. Washington, DC; AACC Press, 1993.
19. BURNETT D. *Understanding accreditation in laboratory medicine*. London: ACB Venture Publications, 1996.
20. FRASER CG. Inherent biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med*, 42: 758- 764, 2004.
21. BAND JM, ALTMAN DG. Measurements error. *BMJ*, 313(7059): 744, 1996.
22. HARRIS EK. Statisical principles underlying analytic goal-setting in clinical chemistry. *Am J Clin Pathol*, 72 (Suppl.2): 374- 382, 1979.

23. PETERSEN PH, FRASER CG, KALLNER A, KENNY D. Editors: strategies to set global quality specifications in laboratory medicine. Proceedings of an international consensus conference in which guidelines incorporating within-subject variation were developed. *Scand J Clin Lab Invest*, 59(7): 475- 585, 1999.
24. RICOS C, ALVAREZ V, CAVA F, GARCIA-LARIO JV, HERNANDEZ A, JIMEÂNEZ CV, MINCHINELA J, PERICH C, SIMOÂN M. Current databases on biological variation: Pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest*, 59: 491- 500, 1999.
25. FRASER CG, HARRIS EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 27: 409- 437, 1989.
26. WATKINS DM, LAWRY EY, MANN GV, HALPERIN M. A study of serum beta lipoprotein and total cholesterol variability and its relation to age and serum level in adult human subjects. *J Clin Invest*, 33: 874- 883, 1954.
27. RICOS C, ARBÓS MA. Quality goals for hormone testing. *Ann Clin Biochem*, 1- 21, 1990.
28. WESTGARD QC. Biologic Variation Database, the 2012 update.
<http://www.westgard.com/biodatabase-2012-update.htm>
29. FRASER CG. Improved monitoring of differences in serial laboratory results. *Clin Chem*, 57(12): 1635- 1637, 2011.
30. FRASER CG. Age-related changes in laboratory test results. Clinical implications. *Drugs Aging*, 3: 246- 257, 1993.
31. RUAUX CG, CARNEY PC, SUCHODOLSKI JS, STEINER JM. Estimates of biological variation in routinely measured biochemical analytes in clinically healthy dogs. *Vet. Clin. Pathol*, 41(4): 541- 547, 2012.
32. RICOS C, IGLESIAS N, GARCIA-LARIO JV, SIMON M, CAVA F, HERNANDEZ A, PERICH C, MINCHINELA J, ALVAREZ V, DOMENECH MV, JIMENEZ CV, BIOSCA C, TENA R. Within-subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences. *Ann Clin Biochem*, 44(4): 343- 352, 2007.
33. CARLSEN S, PETERSEN PH, SKEIE S, SKADBERG O, SANDBERG S. Within-subject biological variation of glucose and HbA(1c) in healthy persons and in Type 1 diabetes patients. *Clin Chem Lab Med*, 49(9): 1501- 1507, 2011.

34. SEBASTIAN-GAMBARO MA, LIRON-HERNANDEZ FJ, FUENTES- ARDERIU X. Intra- and inter-individual biological variability data bank. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 35: 845- 852, 1997.
35. MONACH PA. Repeating tests: different roles in research studies and clinical medicine. *Biomarkers Med*, 6(5): 691- 703, 2012.
36. LACHER DA, HUGHES JP, CARROLL MD. Estimate of biological variation of laboratory analytes based on the third national health and nutrition examination survey. *Clin Chem*, 51(2): 450- 452, 2005.
37. PETERSEN PH, BLAABJERG O, IRJALA K, ICEN A, BJORO K. Elements of analytical quality. *Uppsala J Med Sci*, 99: 19- 39, 1994.
38. FRANZINI C. Relevance of analytical and biological variations to quality and interpretation of test results: examples of application to haematology. *Ann Ist Super Sanita*, 31(1): 9- 13, 1995.
39. WESTGARD JO, FALK H, GROTH T. Influence of a Between-run Component of Variation, Choice of Control Limits, and Shape of Error Distribution on the Performance Characteristics of Rules for Internal Quality Control. *Clin Chem*, 25(3): 394- 400, 1979.
40. RUSSELL CD. Quality control charts in the clinical laboratory. *Am J Clin Pathol*, 64: 281, 1975.
41. RUSSELL CD, DEBLANC HH, WAGNER HN. Components of variance in laboratory quality control. *Johns Hopkins Med J*, 135: 344, 1974.
42. LEVEY S, JENNINGS ER. The use of control charts in the clinical laboratory. *Am J Clin Pathol*, 20: 1059, 1950.
43. HENRY RJ, SEGALOVE M. The running of standards in clinical chemistry and the use of the control chart. *J Clin Pathol*, 5: 305, 1952.
44. İNAL TC. İnternal Kalite Kontrol Kuralları ve Yorumlanması. Editörler: TAGA Y, ASLAN D, GÜNER G, KUTAY F.Z. *Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi, Biyokimya Derneği Yayınları (ISBN:975-97069-2-X), Ankara, sayfa 156- 161, 2000.*
45. TONKS DB. A study of the accuracy and precision of clinical chemistry determinations in 170 Canadian Laboratories. *Clin Chem*, 92: 217- 233, 1963.

46. FRASER CG. Analytical goals are applicable to all. *J Int Fed Clin Chem*, 2: 84- 86, 1990.
47. FRASER CG, PETERSEN PH, LIBEER JC, RICÓS C. Proposals for setting generally applicable quality goals solely based on biology. *Ann Clin Biochem*, 34: 8- 12, 1997.
48. ASLAN D. Klinik Laboratuvarlarda Analitik Kalite Yönetimi Kurs Kitabı (olguya dayalı) İzmir, Türk Biyokimya Derneği Yayınları, İzmir, sayfa 7- 15,2010.
49. FRASER CG. The application of theoretical goals based upon biological variation in proficiency testing. *Arch Pathol Lab Med*, 112: 404- 415, 1988.
50. CHITTO G, FABI A, FRANZINI C, GALLETTA G, LEONARDI A, MARELLI M, MORELLI AM. Variabilità biologica intra-individuo: rassegna della letteratura, contributo sperimentale e considerazioni critiche. *Biochim Clin*,18: 673- 690,1994.
51. CHOUDHURY N, LYONS WALL PM, TRUSWELL AS. Effect of time between measurements on within-subject variability for total cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol in woman. *Clin Chem*, 40: 710- 715, 1994.
52. FRASER CG. Analytical goals are targets, not unflexible criteria of acceptability. *Am J Clin Pathol*, 89: 703- 705, 1988.
53. QUERALTO JM, BOYD JC, HARRIS EK. On the calculation of reference change values, with examples from a long-term study. *Clin Chem*, 39: 1398- 1403, 1993.
54. SMITH SJ, COOPER GR, MYERS GL, SAMPSON EJ. Biological variability in concentrations of serum lipids: sources of variation among results from published studies and composite predicted values. *Clin Chem*, 39: 1012- 1022, 1993.
55. GOWANS EMS, PETERSEN PH, BLAABJERG O, HORDER M. Analytical goals for the acceptance of common reference intervals for laboratories throughout a geographical area. *Scan J Clin Lab Invest*, 48: 757- 764, 1988.
56. JENSEN AL, KJELGAARD-HANSEN M. Method comparison in the clinical laboratory. *Vet Clin Pathol*, 35: 276- 286, 2006.
57. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988. U.S. Code 201. Public Law, 100- 578, 1988.
58. SKENDZEL LP, BARNETT RN, PLATT R. Medically useful criteria for analytic performance of laboratory tests. *Am J Clin Pathol*, 83: 200- 205, 1985.

59. ELION-GERRITZEN WE. Analytic precision in clinical chemistry and medical decisions. *Am J Clin Pathol*, 73: 183- 195, 1980.
60. HARRIS EK, YASAKA T. On the calculation of a 'reference change' for comparing two consecutive measurements. *Clin Chem*, 29: 25- 30, 1983.
61. SOLBERG HE. Subject-based reference values. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 222: 7-10, 1995.
62. WILLIAMS RJ. Biochemical individuality. Austin: University of Texas, 1956.
63. CAUDILL SP, BOONE DJ. Analytical variance and definition of a reference change as a function of calcium concentration. *Clin Chem*, 32: 308- 313, 1986.
64. SCHNEIDER AJ. Some thoughts on normal, or standard, values in clinical medicine. *Pediatrics*, 26: 973- 984, 1960.
65. SAKKINEN PA, MACY EM, CALLAS PW, CORNELL ES, HAYES TE, KULLER LH, TRACY RP. Analytical and Biologic Variability in Measures of Hemostasis, Fibrinolysis and Inflammation: Assessment and Implications for Epidemiology. *Am J Epidemiol*, 149 (3): 261- 267, 1999.
66. RICOS C, JIMENEZ CV, HERNANDEZ A, SIMON M, PERICH C, ALVAREZ V, MINCHINELA J, MACIÁ M. Biological variation in urine samples used for analyte measurements. *Clin Chem*, 40: 472- 477, 1994.
67. FRASER CG, CUMMINGS ST, WILKINSON SP, NEVLLLE RG, KNOX JDE, HO O. Biological Variability of 26 Clinical Chemistry Analytes in Elderly People. *Clin Chem*, 35(5): 783- 786, 1989.
68. DAVID A. LACHER, JEFFERY PH, MARGARET DC. Division of Health and Nutrition Examination Surveys. Biological Variation of Laboratory Analytes Based on the 1999–2002 National Health and Nutrition Examination Survey National Health Statistics Reports. Number 21, March 1, 2010.
69. BOREL JB, SMITH SM, DERR J, BEARD JL. Day-to-day variation of iron status indices in healthy men and women. *Am J Clin Nutr*, 54: 729- 735, 1991.
70. HARDING PJ, FRASER GC. Biological variation of blood acid-base status: Consequences for Analytical Goal-Setting and Interpretation of Results. *Clin Chem*, 33(8): 1416- 1418, 1987.

71. ERDEN G, BARAZI A.Ö, TEZCAN G, YILDIRIMKAYA M. Sağlıklı Türk Bireylerde TSH, Serbest T3, Serbest T4 Düzeylerinin Biyolojik Varyasyonu ve Referans Değişim Değerleri. *Turk J Med Sci*, 38(2): 153- 158, 2008.
72. RICOS C, GARCIA-LARIO JV, ALVAREZ V, CAVAL F. Biological variation database, and quality specifications for imprecision, bias and total error (desirable and minimum). The 2004 update. [http:// www.westgard.com/guest26.htm](http://www.westgard.com/guest26.htm) (accessed September 2004).
73. IGLESIAS N, PETERSEN PH, JENSEN E, RICOS C, JOERGENSEN P. Reference change values and power functions. *Clin Chem Lab Med*, 42: 415- 422, 2004.
74. BIOSCA C, RICOS C, LAUZURICA R, GALIMANY R. Reference change value concept combining two delta values to predict crises in renal posttransplantation. *Clin Chem*, 47: 2146- 2148, 2001.
75. BIOSCA C, RICOS C, LAUZURICA R, PETERSEN PH. Biological variation at long-term renal post-transplantation. *Clin Chim Acta*, 368: 188- 191, 2006.
76. TRAPE´ J, BOTARGUES JM, PORTA F, RICOS C, BADAL JM, SALINAS R, SALA M, ROCA A. Reference change value for α -fetoprotein and its application in early detection of hepatocellular carcinoma in patients with hepatic disease. *Clin Chem*, 49: 1209- 1211, 2003.
77. ALVAREZ L, RICOS C, PERIS P, GUANABENS N, MONEGAL A, PONS F, BALLESTA AM. Components of biological variation of biochemical markers of bone turnover in Paget’s bone disease. *Bone*, 26: 571- 576, 2000.
78. BIOSCA C, RICOS C, JIMENEZ CV, LAUZURICA R, GALIMANY R. Are equally spaced specimens collection necessary to assess biological variation? Evidence from renal transplant recipients. *Clin Chim Acta*, 301: 79- 85, 2000.
79. FRASER CG, WILLIAMS P. Short-term biological variation of plasma analytes in renal disease. *Clin Chem*, 29: 508- 510, 1983.
80. GION M, CAPPELLI G, MIONE R, VIGNATI G, FORTUNATO A, SARACCHINI S, BIASIOLI R, GULISANO M. Variability of tumor markers in the follow-up of patients radically resected for breast cancer. *Tumor Biol*, 14: 325- 333, 1993.
81. GION M, CAPPELLI G, MIONE R, PISTORELLO M, MEO S, VIGNATI G, FORTUNATO A, SARACCHINI S, BIASIOLI R, GIULISANO M. et al. Evaluation of critical differences of CEA and CA 15.3 levels in serial samples from patients operated for breast cancer. *Int J Biol Markers*, 9: 135- 139, 1994.

82. HO"ZEL WGE. Intra-individual variation of some analytes in serum of patients with insulin-dependent Diabetes Mellitus. *Clin Chem*, 33: 57- 61, 1987.
83. HO" ZEL WGE. Intra-individual variation of some analytes in serum of patients with chronic renal failure. *Clin Chem*, 33: 670- 673, 1987.
84. HO" LZEL WG, BEER R, DESCHNER W, GRIESMACHER A, MULLER MM. Individual reference ranges of CA 15-3, MCA and CEA in recurrence of breast cancer. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 221: 93- 101, 1995.
85. SAMBASIVAN AS, LEPAGE N, FILLER G. Cystatin C inpatient variability in children with chronic kidney disease is less than in serum creatinine. *Clin Chem* 51: 2215- 2216, 2005.
86. TRAPE J, ALIART M, BRUNET M, DERN E, ABADAL E, QUERALTO' JM. Reference change value for HbA1c in patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Clin Chem Lab Med*, 38: 1283- 1287, 2000.
87. BRAGA F, DOLCI A, MOSCA A, PANTEGHINI M. Biological variability of glycated hemoglobin. *Clinica Chimica Acta*, 411: 1606- 1610, 2010.
88. WU AH, LU QA, TODD J, MOECKS J, WIANS F. Short- and long-term biological variation in cardiac troponin I measured with a high-sensitivity assay: implications for clinical practice. *Clin Chem*, 55: 52- 58, 2009.
89. PICOTTE M, CAMPBELL CG, THORLAND WG. Day-to-day variation in plasma interleukin-6 concentrations in older adults. *Cytokine*, 47: 162- 165, 2009.
90. BANFI G, DEL M. Biological variation in tests of hemostasis. *Semin Thromb Hemost*, 35: 119- 126, 2009.
91. TALWAR DK, AZHARUDDIN MK, WILLIAMSON C, TEOH YP, MCMILLAN DC, ST J O'REILLY D. Biological variation of vitamins in blood of healthy individuals. *Clin Chem*, 51: 2145- 2150, 2005.
92. MACY EM, HAYES TE, TRACY RP. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin Chem*, 43: 52- 58, 1997.
93. HOROWITZ GL. Establishment and Use of Reference Values. Editor: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Tietz Textbook. *Clin Chem Mol Diagnostics*. 5th ed. St. Louis (Missouri): Elsevier Saunders, p: 85- 127, 2012.

94. LALELİ Y. Referans kavramı, ulusal referans politikası ve hasta verilerinin kullanımı. Turk J Biochem, 28(4): 225- 227, 2003.
95. GRÄSBECK R, SARIS NE. Establishment and use of normal values. Scand J Clin Lab Invest, 26(110): 62- 63, 1969.
96. SOLBERG HE. Approved recommendation on the theory of reference values: Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. J Clin Chem Clin Biochem, 25: 645- 656, 1987.
97. ÖZARDA Y, ASLAN D. Referans Aralıkları Hesaplama Kursu Kitabı (olguya dayalı), İzmir, Aralık 2010.
98. NCCLS. C28-A: How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline. 1995.
99. HENNY J, PETIT CLERC C, FUANTES-ARDERIU X, PETERSON PH, QUERNALTO JM. Multicentric reference values for some quantities measured with Elecsys 2010 analyser. Clin. Chim. Acta, 334: 143-146, 2003.
100. YOUNG DS. Determination and validation of reference intervals. Arc Patho Lab Med, 116: 704- 709, 1992.
101. HORN PS, PESCE AJ. Reference intervals: an update. Clin Chem Acta, 334: 5- 23, 2003.
102. CLSI. Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline -Third Edition. CLSI document C28-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
103. PETITCLERC C. Normality: The unreachable star? Clin Chem Lab Med, 42: 698- 701, 2004.
104. BURTIS CA, ASHWOOD ER. Tietz Fundamental of Clinical Chemistry, 2nd Edition, USA Saunders Company, 251- 258, 1994.
105. LALELİ Y, ACBAY A. Referans Aralık Analizi. Editörler: Tağa Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ. Tıbbi laboratuvarlarda standardizasyon ve kalite yönetimi. Ankara, s: 124- 137, 2000.
106. KAPLAN LA, PESCE AJ. Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation, 5e. 5th ed. Mosby, 2009.

107. NAUS AJ, BORST A, KUPPENS PS. Determination of n-dimensional reference ellipsoids using patient data. *J Clin Chem Clin Biochem*, 20: 75- 80, 1982.
108. ASLAN D. Referans Aralıkların Hesaplaması. Editörler: Gezer S, Güner G, Tuncel P, Klinik Laboratuvarlarda Yöntem Seçimi Değerlendirilmesi ve Laboratuvara Uygulanması Kurs Kitabı. İzmir, s: 80- 119, 2000.
109. MORGAN DB. The impact of ageing-present and future. *Ann Clin Biochem*, 20: 257- 261, 1983.
110. DYBKAER R, GRASBECK R. Theory of reference values (editorial). *Scand J Clin Lab Invest*, 32: 1- 7, 1973.
111. SOLBERG HE. International Federation of Clinical Chemistry. Scientific committee, Clinical Section. Expert Panel on Theory of Reference Values and International Committee for Standardization in Haematology Standing Committee on Reference Values. Approved recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *Clin Chim Acta*, 165: 111- 118, 1987.
112. LINDSEY JK. Models for repeated measurements. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 1999.
113. FAUVEL JP, HADJ-AISSA A, BURON F, MORELON E, DUCHER M. Performance of estimated glomerular filtration rates to monitor change in renal function in kidney transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant*, Eylül 2013.
114. HARRIS EK. Review of statistical methods of analysis of series of biochemical test results proceedings. *Ann Biol Clin*, 36: 194- 197, 1978.
115. WINKEL P, STATLAND BE. Using the subject as his own referent in assessing day-to-day changes of laboratory test results. Editor: Hercules DM, Hieftje GM, Snyder LR, Evenson MA, *Contemp Topics Anal Clin Chem*, Plenum Press, New York and London, vol 1: 287- 317, 1977.
116. HARRIS EK. Some theory of reference values. I. Stratified (categorized) normal ranges and a method for following an individual's clinical laboratory values. *Clin Chem*, 21: 1457- 1464, 1975.
117. CHATFIELD C. The analysis of time-series. An introduction. London: Chapman and Hall, 1984.
118. DRAPPER N.R, SMITH H. Applied Regression Analysis. 2nd ed. New York: John Wiley&Sons,1981.

119. POULSEN OM, HOLST E, CHRISTENSEN JM. Calculation and application of coverage intervals for biological reference values. *Pure Appl Chem*, 69: 1601-1611, 1997.
120. JENSEN AL, AAES H. Critical differences of clinical chemical parameters in blood from dogs. *Res Vet Sci*, 54: 10- 14, 1993.
121. JENSEN AL, HOUE H, NIELSEN CG. Critical difference of some bovine haematological parameters. *Acta Vet Scand*, 33: 211- 217, 1992.
122. PADRO-MIQUEL A, RIGO-BONNIN R, FUENTES-ARDERIU X. Significance of a change between two consecutive measured values. *Scand J Clin Lab Invest*, 72: 169- 172, 2012.
123. FRASER CG, PETERSEN PH, LYTKEN LARSEN M. Setting analytical goals for random analytical error in specific clinical monitoring situations. *Clin Chem*, 36: 1625- 1628, 1990.
124. GLANTZ SA. *Primer of Biostatistics*. 3rd ed. New York: McGraw-Hill Medical Pub Division, p: 440, 1992.
125. IGLESIAS N, PETERSEN PH, RICOS C. Power function of the reference change value in relation to cut-off points, reference intervals and index of individuality. *Clin Chem Lab Med*, 43: 441- 448, 2005.
126. WESTGARD JO, GROTH T, ARONSSON T, FALK H, DE VERDIER CH. Performance characteristics of rules of internal quality control: probabilities for false rejection and error detection. *Clin Chem*, 23: 1857- 1867, 1977.
127. WESTGARD JO, GROTH T. Power functions for statistical control rules. *Clin Chem*, 25: 863- 869, 1979.
128. FRASER CG. The application of theoretical goals based on biological variation data in proficiency testing. *Arch Pathol Lab Med*, 112: 404- 415, 1988.
129. HARRIS EK. Effects of intra- and interindividual variation on the appropriate use of normal ranges. *Clin Chem*, 20: 1535- 1542, 1974.
130. HARRIS EK. Statistical aspects of reference values in clinical pathology. *Prog Lin Pathol*, 8: 45- 66, 1981.
131. SUGIO S, KASHIMA A, MOCHIZUKI S, NODA M, KOBAYASHI K. Crystal structure of human serum albumin at 2.5Å resolution. *Protein Eng*, 12: 439- 446, 1999.

132. SMI A, OTHANI W, KOBAYASHI K, OHMURA T, YOKOYAMA K, NISHIDA M, SUYAMA T. *Biotechnol Blood Proteins*, 227: 293- 298, 1993.
133. BAR-OR D, CURTIS G, RAO N, BAMPOS N, LAU E. Characterization of the Co^{+2} and Ni^{+2} binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin. *Eur J Biochem*, 268(1): 42- 47, 2001.
134. LIPPI G, MONTAGNANA M, GUIDI GC. Albumin cobalt binding and ischemia modified albumin generation: an endogenous response to ischemia? *Int J Cardiol*, 108: 410- 411, 2006.
135. BAR-OR D, WINKLER JV, VANBENTHUYSEN K, HARRIS L, LAU E, HETZEL FW. Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: a preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin, and troponin I. *Am Heart J*, 141(6): 985- 991, 2001.
136. APPLE FS, WU AH, MAIR J, RAVKILDE J, PANTEGHINI M, TATE J, PAGANI F, CHRISTENSON RH, MOCKEL M, DANNE O, JAFFE AS. Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome. *Clin Chem*, 51(5): 810- 824, 2005.
137. VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, CRONIN MT, MAZUR M, TELSER J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39(1): 44- 84, 2007.
138. BAR-OR D, RAEL LT, LAU EP, RAO NK, THOMAS GW, WINKLER JV, YUKL RL, KINGSTON RG, CURTIS CG. An analog of the human albumin N-terminus (Asp-Ala-His-Lys) prevents formation of copper-induced reactive oxygen species. *Biochem Biophys Res Commun*, 284(3): 856- 862, 2001.
139. ZWEIER JL. Measurement of superoxide-derived free radicals in the reperfused heart: evidence for a free radical mechanism of reperfusion injury. *J Biol Chem*, 263: 1353- 1357, 1988.
140. CHEVION M, JIANG Y, HAR-EL R, BERENSHTEIN E, URETZKY G, KITROSSKY N. Copper and iron are mobilized following myocardial ischemia: Possible predictive criteria for tissue injury. *Proc Natl Acad Sci*, 90: 1102- 1106, 1993.
141. WARDMAN P, CANDEIAS LP. Fenton Centennial Symposium. Fenton Chemistry: An Introduction. *Radiation Research*, 145: 523- 531, 2006.

142. MARX G, CHEVION M. Site-specific modification of albumin by free radicals. *Biochem J*, 236: 397- 400, 1986.
143. ZIMMERMAN BJ, GRANGER DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am*, 72: 65- 83, 1992.
144. LAUSSAC JP, SAKAR B. Characterization of the copper (II) and nickel (II) transport site of human serum albumin. Studies of copper (II) and nickel (II) binding to peptide 1-24 of human serum albumin by ¹³C and ¹H NMR spectroscopy. *Biochemistry*, 2831- 2838, 1984.
145. WILHELM J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr*, 137: 1- 53, 1990.
146. BAL W, CHRISTODOULOU J, SADLER P, TUCKER A. Multi-metal binding site of serum albumin. *J Inorganic Biochem*, 70: 33- 39, 1998.
147. DHALLA NS, ELMOSELHI AB, HATA T, MAKINO N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, 47: 446- 456, 2000.
148. SOKOLOWSKA M, KREZEL A, DYBA M, SZEWCZUK Z, BAL W. Short peptides are not reliable models of thermodynamic and kinetic properties of the N-terminal metal binding site in serum albumin. *Eur J Biochem*, 269: 1323- 1331, 2002.
149. REITER RJ, TAN DX. Melatonin: A novel protective agent against oxidative injury of the ischemic-reperfused heart. *Cardiovascular Research*, 58: 10- 15, 2003.
150. GROSS GJ, KERSTEN JR, WARLTIER DC. Mechanisms of postischemic contractile dysfunction. *Ann Thorac Surg*, 68: 1898- 1904, 1999.
151. JORDAN JE, ZHAO ZQ, VINTEN-JOHANSEN J. The role of neutrophils in myocardial ischemia- reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, 43: 860- 878, 1999.
152. COLLINSON PO, GAZE DC. Biomarkers of cardiovascular damage and dysfunction. *Heart, Lung and Circulation*, 16: 71- 82, 2007.
153. RUDRADEV P, NAVEEN KG, GURPREET SW. Diagnosis of Acute Myocardial Infarction, *Supplement To Jap1*, 59: 8- 13, 2011.
154. LEWANDROWSKI K, CHEN A, JANUZZI J. Cardiac Markers for Myocardial Infarction, *Am J Clin Pathol*, 118 (1): 93- 99, 2002.

155. PANTAZOPOULOS I, PAPADIMITRIOU L, DONTASA I, DEMESTIHA T, IAKOVIDOUC N, XANTHOS T. Ischemia modified albumin in the diagnosis of acute coronary syndromes. *Resuscitation*, 80: 306- 310, 2009.
156. KOULOURIS S, TZEIS S, MANOLIS AS. New biochemical markers of ischemia: The diagnostic and prognostic role of brain natriuretic peptide, C-reactive protein, ischemia modified albumin & myeloperoxidase. *Hospital Chronicals*, 31- 38, 2006.
157. LIPPI G, MONTAGNANA M, SALVAGNO GL, GUIDI GC. Potential value for new diagnostic markers in the early recognition of acute coronary syndromes. *CJEM*, 8: 27- 31, 2006.
158. MORROW DA, DE LEMOS JA, SABATINE MS, ANTMAN EM. The search for a biomarker of cardiac ischemia. *Clin Chem*, 49: 537- 539, 2003.
159. WU AH, MORRIS DL, FLETCHER DR, APPLE FS, CHRISTENSON RH, PAINTER PC. Analysis of the Albumin Cobalt Binding (ACB) test as an adjunct to cardiac troponin I for the early detection of acute myocardial infarction. *Cardiovasc Toxicol*, 1(2): 147- 151, 2001.
160. SINHA M, ROY D, GAZE D, COLLINSON P, KASKI JC. Role of 'ischemia modified albumin', a new biochemical marker of myocardial ischaemia, in the early diagnosis of acute coronary syndromes. *Emerg Med J*, 21: 29- 34, 2004.
161. LEE YW, KIM HJ, CHO YH, SHIN HB, CHOI TY, LEE YK. Application of albumin-adjust ischemia modified albumin index as an early screening marker for acute coronary syndrome. *Clin Chim Acta*, 384: 24- 27, 2007.
162. WORSTER A, DEVEREAUX PJ, HEELS-ANSDELL D, GUYATT GH, OPIE J, MOOKADAM F, HILLET SA. Capability of ischemia modified albumin to predict serious cardiac outcomes in the short term among patients with potential acute coronary syndrome. *CMAJ*, 172: 1685- 1690, 2005.
163. BHAGAVAN NV, LAI ME, RIOS PA, YANG J, ORTEGA-LOPEZ AM, SHINODA H, HONDA SA, RIOS CN, SUGIYAMA CE, HA CE. Evaluation of Human Serum Albumin Cobalt Binding Assay for the Assessment of Myocardial Ischemia and Myocardial Infarction. *Clin Chem*, 49: 581- 585, 2003.
164. CARREIRO-LEWANDOWSKI E. Update on cardiac biomarkers. *Lab Med*, 37: 598- 605, 2006.
165. ROY D, QUILES J, SHARMA R, SINHA M, AVANZAS P, GAZE D, KASKI JC. Ischemia-modified albumin concentrations in patients with peripheral vascular disease and exercise-induced skeletal muscle ischemia. *Clin Chem*, 50: 1656- 1660, 2004.

166. ZAPICO-MUNIZ E, SANTALO-BEL M, MERCE-MUNTANOLA J, MONTIEL JA, MARTINEZ-RUBIO A, ORDONEZ-LLANOS J. Ischemia-modified albumin during skeletal muscle ischemia. *Clin Chem*, 50: 1063- 1065, 2004.
167. BAR-OR D, LAU E, WINKLER JV. A novel assay for cobalt albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report. *J Emerg Med*, 19(4): 311- 315, 2000.
168. IMMANUEL S, SANJAYA AI. Albumin Cobalt Binding (ACB)Test: Its role as a novel marker of acute coronary syndrome. *Acta Med. Indones J*. 38: 92- 96, 2006.
169. RICOS C, ALVARES V, CAVA F, GARCIA-LARIO JV, HERNÁNDEZ A, JIMÉNEZ CV, MINCHINELA J, PERICH C, SIMÓN M. Integration of data derived from biological variation into quality management system. *Clinica Chemica Acta*, 346: 13- 18, 2004.
170. HARRIS EK, COOIL BK, GEORGE SHAKARJI G, WILLIAMS GZ. On the Use of Statistical Models of Within-Person Variation in Long-Term Studies of Healthy Individuals. *Clin Chem*, Vol.26, No.3: 383- 391, 1980.
171. OMAR F, VAN DER WATT GF, PILLAY TS. Reference change values: how useful are they? *J Clin Pathol.*, Vol.1, No.4: 426- 427, 2008.
172. SMELLIE WSA. What is a significant difference between sequential laboratory results? *J Clin Pathol*, 61: 419- 425, 2008.
173. PETERSEN PH, SANDBERG S, FRASER CG, GOLDSCHMIDT H. Influence of index of individuality on false positives in repeated sampling from healthy individuals. *Clin Chem Lab Med*, 39(2): 160- 165, 2001.
174. CHRISTENSON RH, DUH SH, SANHAI WR, WU AH, HOLTMAN V, PAINTER P, BRANHAM E, APPLE FS, MURAKAMI M, MORRIS DL. Characteristics of an Albumin Cobalt Binding Test for assessment of acute coronary syndrome patients: a multicenter study. *Clin Chem*, 47(3): 464- 470, 2001.
175. BEETHAM R, MONK C, KEATING L, BERGER JR, KENDALL J. Effects of storage at -20 degrees C on ischemia-modified albumin results. *Ann Clin Biochem*, 43(Pt6): 500- 502, 2006.
176. GOVENDER R, GREEF J DE, DELPORT R, BECKER PJ, VERMAAK WJ. Biological variation of ischemia modified albumin in healthy subjects. *Cardiovascular Journal of Africa* Vol.19, No.3: 141- 144, 2008.

177. RØRAAS T, PETERSEN PH, SANDBERG S. Confidence Intervals and Power Calculations for Within-Person Biological Variation: Effect of Analytical Imprecision Number of Replicates, Number of Samples, and Number of Individuals. *Clinical Chemistry*, 58(9): 1306- 1313, 2012.
178. VAN STEIRTEGHEM AC, ROBERTSON EA, YOUNG DS. Variance Components of Serum Constituents in Healthy Individuals. *Clin Chem* 24(2): 212- 222, 1978.
179. KROUWER JS. Setting Performance Goals and Evaluating Total Analytical Error for Diagnostic Assays. *Clin Chem*, 48(6): 919- 927, 2002.
180. ACB® Test Reagent Pack, COBAS MIRA® Plus. Package insert, August 2002.
181. COSTONGS GMPJ, JANSON PCW, BAS BM. Short-Term and Long-Term Intra-Individual Variations and Critical Differences of Clinical Chemical Laboratory Parametres. *Clin Chem Clin Biochem*, 23: 7- 16, 1985.
182. FRASER GC, STEVENSON HP, KENNEDY IMG. Biological variation data are necessary prerequisites for objective autoverification of clinical laboratory data. *Accred Qual Assur*, 7: 455- 460, 2002.
183. COOPER G, DEJONGE N, EHRMEYER S, YUNDT-PACHECO J, JANSEN R, RÍCOS C, PLEBANI M. Collective opinion papper on findings of the 2010 convocation of experts on laboratory quality. *Clin Chem Lab Med*, 49: 793- 802, 2011.
184. FRASER GC, LIPPI G, PLEBANI M. Reference change values need some improvement but are invaluable tools in laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med*, 5: 963- 964, 2012.
185. FUENTES-ARDERIU X. Biological variation of non-SI traceable biological quantities. *Clin Chem Lab Med*, 44: 1497, 2006.
186. FUENTES-ARDERIU X, GON Á LEZ-DE-LA-PRESA B. Interchangeability of estimates of day-to-day imprecision between commercial control materials and serum pools. *Clin Chem*, 48: 573- 574, 2002.
187. SÁNCHEZ- ÁLVAREZ J, CANO-CORRES R, FUENTES-ARDERIU X. Heteroscedasticity and homoscedasticity, and precision profi les in clinical laboratory sciences. *Clin Chim Acta*, 412: 2351- 2352, 2011.
188. FUENTES-ARDERIU X. Variability of the biological variation. *Scand J Clin Lab Invest*, 62: 561- 564, 2002.

189. FUENTES-ARDERIU X, PADRO-MIGUEL A, RIGO-BONIN R. Disadvantages of using biological variation data for reference change values. *Clin Chem Lab Med*, 50(5); 761, 2012.
190. BOYD JC, HARRIS EK. Utility of reference change values for the monitoring of inpatient laboratory data. Editör: Zinder O. Optimal use of the clinical laboratory. 5th International meeting clinical laboratory organization and management, Haifa 1985, Karger: Basel, 111- 122, 1986.
191. RICOS C, ALVAREZ V, CAVA F, GARCIA-LARIO JV, HERNANDEZ A, JIMENEZ CV, MINCHINELA J, PERICH C, SIMON M. Desirable specifications for total error, imprecision, and bias, derived from biological variation, <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>, 2006.
192. IGLESIAS CANADELL N, PETERSEN PH, JENSEN E, RICÓS C, JØRGENSEN PE. Reference change values and power functions. *Clin Chem Lab Med*, 42: 415-422, 2004.
193. KAIRISTO V, VIRTANEN A, UUSIPAIIKKA E, VOIPIO-PULKKI LM, NANTO V, PELTOLA O, IRJALA K. Method for determining reference changes from patients' serial data: example of cardiac enzymes, *Clin Chem*, 39: 2298- 2304, 1993.
194. KAIRISTO V, KOURI T, VIRTANEN A, UUSIPAIIKKA E, KOIVULA T, NANTO V. Estimation of reference change limits using patient data. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 55(222): 37- 41, 1995.
195. MAGID E, PETERSEN PH, CHRISTENSEN M. A note on the theory of reference changes. *Scand J Clin Lab Invest*, 52(208): 95- 104, 1992.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitim dönemimin her aşamasında bilgi ve deneyimlerini içtenlikle aktaran, ilgi, anlayış ve duyarlılıkla yaklaşan ve her konuda örnek ve destek olan Değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Yeşim ÖZARDA'ya titizlikle yürüttüğü tez danışmanlığı, özenle verdiği emeği ve sağladığı sosyal ve bilimsel katkılarından dolayı gönülden teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım.

Değerli Biyokimya Anabilim Dalı Başkanım Sayın Prof. Dr. Esmâ GÜR ve Değerli Hocalarım Sayın Prof. Dr. Melahat DİRİCAN, Prof. Dr. Asuman TOKULLUGİL, Prof. Dr. Zehra SERDAR, Prof. Dr. Engin ULUKAYA ve Prof. Dr. Emre SARANDÖL'e doktora eğitimime sağladıkları katkılarından ve üzerimdeki emeklerinden dolayı çok teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım.

Tez dönemimde bilgi ve deneyimlerini paylaşan, yardım ve desteğini esirgemeyen Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Diler ASLAN'a verdiği emek ve katkılarından dolayı çok teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım.

Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Değerli Hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet CANSEV'e anlayışla verdiği desteği, emeği ve katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

Değerli Dostum Sayın Doç. Dr. Arzu YILMAZTEPE ORAL'a her konuda ilgi, sabır ve sevecenlikle paylaştığı deneyimleri ve içtenlikle verdiği desteği için çok teşekkür ederim ve sevgilerimi sunarım.

Uludağ Üniversitesi Mediko Sosyal ve Gençlik Danışma Merkezi'nde birlikte çalıştığım Sevgili Hekim Arkadaşlarıma, Sağlık, İdari ve Yardımcı görevdeki Personeline eğitimim sırasında gösterdikleri anlayış ve verdikleri destek için çok teşekkür ederim.

Sevgi, güven, ilgi ve destekleri ile hayatımın her döneminde yanımda oldukları için;

Canım ANNEM'e, Canım BABAM'a ve Canım KARDEŞİM'e sonsuz sevgilerimi ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Biyokimya Anabilim Dalı'nda görev yapan Asistan Arkadaşlarıma ve Personeline, Uludağ Üniversitesi Tıbbi Tahliller, Eğitim ve Araştırma Merkez ve Acil Laboratuvarı Çalışanlarına tüm yardımları ve sağladıkları olanaklardan dolayı teşekkür ederim.

Çalışmamda gönüllü olarak yer almayı kabul eden ve yardımcı olan herkese teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

19.02.1974 yılında İzmir’de doğdum. İlkokul eğitimime Zonguldak İlkokulu’nda başladım ve Bursa Atatürk İlkokulu’nda bitirdim. Ortaokul ve Lise eğitimimi Bursa Kız Lisesi’nde tamamladım. 1991 yılında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde başladığım tıp eğitiminden 2000 yılında mezun oldum. 2001-2003 yılları arasında Afyon ili Bolvadin İlçesi’ne bağlı Kemerkaya Beldesi Sağlık Ocağı’nda Pratisyen Hekim olarak görev yaptım. 2008-2011 yılları arasında Anadolu Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi’nde Sağlık Kurumları İşletmeciliği eğitimi aldım. Halen 2003 yılında göreve başladığım Uludağ Üniversitesi Sağlık, Kültür ve Spor Daire Başkanlığı Mediko Sosyal ve Gençlik Danışma Merkezi’nde Kurum Hekimi olarak çalışmaktayım.