

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KOCAELİ BÖLGESİ
SERBEST T3, SERBEST T4 VE TSH DÜZEYLERİNİN
POPULASYONA DAYALI REFERANS
ARALIKLARININ BELİRLENMESİ**

İlhami ŞAHİN

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Biyokimya Programı İçin Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ
2020

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KOCAELİ BÖLGESİ
SERBEST T3, SERBEST T4 VE TSH DÜZEYLERİNİN
POPULASYONA DAYALI REFERANS
ARALIKLARININ BELİRLENMESİ**

İlhami ŞAHİN

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Biyokimya Programı İçin Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Doç. Dr. Fatma Ceyla ERALDEMİR

KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Proje No:2019/196

KOCAELİ
2020

ÖZET

Kocaeli Bölgesi Serbest T3, Serbest T4 ve TSH Düzeylerinin

Popülasyona Dayalı Referans Aralıklarının Belirlenmesi

Amaç: Çalışmamızda Kocaeli bölgesi için Tiroid Stimüle Edici Hormon (TSH), Serbest Triiyodotironin (sT3) ve Serbest Tiroksin (sT4) testlerinin referans aralıklarını belirlemeyi amaçladık. Referans aralıkları belirlerken hem direkt (prospektif) yöntemi hemde indirekt (retrospektif) yöntemi kullanarak ayrı ayrı hesaplayarak test kiti üreticisi firmaların temin ettiği referans aralıkları ile uyumunu veya farkını karşılaştırıp bölgemiz için tiroid hormonları hakkında fikir elde etmeyi hedefledik.

Yöntem: Prospektif yöntemle olan çalışmamızdaki referans bireyleri Kocaeli ili Aile Sağlığı Merkezleri ve Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne gelen, tiroid fonksiyonları açısından sağlıklı olduklarını beyan eden, dışlama kriterlerimize uygun, onam formları alınmış, 18 yaşından büyük 450 kişiyle elde ettik. Retrospektif yöntemle oluşturulan referans aralıklar için gerekli olan verileri Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi laboratuvar bilgi sistemininden elde ettik. Elde edilen verilerin dağılımlarını inceleyerek normal dağılım gösteren sT3 testinin referans aralıklarını parametrik yöntem ile, normal dağılım göstermeyen TSH ve sT4 testlerinin referans aralıklarını ise non-parametrik yöntem kullanarak hesapladık.

Bulgular: Prospektif ve retrospektif çalışmalardan elde ettiğimiz referans aralıkları karşılaştırdığımızda birbiri ile uyumlu sonuçlar elde etmemize rağmen prospektif yöntemle elde edilen referans aralıkların daha dar aralığa sahip olduğu görüldü. Gerek prospektif gerekse retrospektif çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile kit üreticisi firmanın temin ettiği referans aralıklar karşılaştırıldığında özellikle TSH testi için önemli düzeyde farklılık olduğunu tesbit ettik. Çalışmamızın sonuçlarına göre TSH testinin üst limiti çok daha düşük seviyelerdeydi.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları uluslararası kuruluşların her laboratuvarın kendi referans aralığını belirlemesi gerektiği yönündeki önerilerini destekler niteliktedir. Prospektif yöntemin çeşitli faktörlerle uygulanamadığı durumlarda retrospektif yöntemin de kit üreticisi firmaların temin ettiği referans aralıklarını kullanmaktan daha sağlıklı olduğu görüşündeyiz.

Anahtar Kelimeler: sT3, sT4, TSH, direkt, indirekt, referans aralık

ABSTRACT

Determination of Population Based Reference Intervals of Kocaeli Region

Free T3, Free T4 And TSH Levels

Objective: In this study, our purpose is analyzing the reference intervals of Thyroid Stimulating Hormone (TSH), Free Triiodotironin (fT3) and Free Tiroksin (fT4) tests in Kocaeli district. We aimed to have an idea about thyroid hormones for our district by comparing the consistency or the difference with reference intervals provided by producer firms of test kit by calculating one by one both using direct (prospective) and indirect (retrospective) methods.

Method: For this analysis of prospective studies we enrolled 450 reference persons who visited Kocaeli Family Health Centers and Kocaeli University Research and Application Hospital and declares himself as having healthy thyroid functions and suitable for exclusion criteria, filled consent forms, and above 18 years old. We obtained the necessary data for the reference intervals created with the retrospective method from the laboratory information system of Kocaeli University Research and Application Hospital. We calculated reference intervals of fT3 test which is normally distributed by parametric method and TSH and fT4 tests which are non-normally distributed by non-parametric method.

Results: Comparing the reference periods based on prospective and retrospective studies, although there are compatible results with each other the findings reveal that the reference values obtained by direct method has partially limited period. Especially TSH test was noticeably low in accordance with the determined upper limit when we compare the findings of both prospective and retrospective studies and the reference intervals provided by kit producer firm.

Conclusions: The findings of our study supports the suggestions of international organisations of every laboratory should determine its own reference intervals. In case of the absence of prospective methods, using retrospective method is more healthier than using reference intervals provided by kit producer firms.

Keywords : fT3, fT4, TSH, direct, indirect, reference interval

TEŞEKKÜR

Bilim uzmanlığı eğitimi ve tez süreci boyunca bilgi ve deneyimiyle bana her türlü desteği veren karşılaştığım sorunların çözümünde bana yol gösteren değerli tez danışmanım sayın Doç. Dr. Fatma Ceyla Eraldemir'e en derin saygılarımı sunar teşekkür ederim.

Gerek çalışma hayatımda gerekse uzmanlık eğitimim sırasında kendisinden çok şey öğrendiğim bilgisini ve hoşgörüsünü esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı Başkanı sayın Prof. Dr. Hale Maral Kır'a, Uzmanlık eğitimim sırasında tanıdığım saygı duyduğum desteğini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Meltem Dillioğlugil'e teşekkürlerimi sunarım.

Herhangi bir sorun ile karşılaştığımda yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı araştırma görevlileri sayın Özgür Doğa Özsoy'a sayın Esra Acar'a sayın Fatih Hunç'a öğrencilik dönemini beraber geçirdiğimiz sayın Ezginur Kocakır ve sayın Şule Koç'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca eğitim döneminde bana desteklerini ve sabırlarını esirgemeyen eşime ve çocuklarıma teşekkür ederim.

10.07.2020

İlhami ŞAHİN

Orjinallik Bildirimi

Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bilim Uzmanlığı olarak hazırlayıp sunduğum “Kocaeli Bölgesi Serbest T3, Serbest T4 ve TSH Düzeylerinin Popülasyona Dayalı Referans Aralıklarının Belirlenmesi” başlıklı tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, şekil, tablo ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimde yer alan deneysel çalışmalar/araştırmalar bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yapılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususlar bir intihal programı (Turnitin vb.) kullanılarak test edilmiş olup, doğruluğunu beyan ederim.

10 /07 / 2020

Adı Soyadı
İlhami Şahin

İmza

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
ORJİNALLİK BİLDİRİMİ	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGE VE KISALTMALAR	x
TABLolar	xi
ŞEKİLLER	xii
1.GİRİŞ	
1.1. Sağlık Tanımı	1
1.2. Tiroid Bezi	1
1.3. Tiroid Hormonları Sentez ve Sekresyonu	1
1.4. Tiroid Hormonlarının Taşınması ve Etki Mekanizması	4
1.5. Tiroid Hormonlarının Denge Mekanizması	5
1.6 Tiroid Hormonlarının Yaşa Özgü Farklılıkları	6
1.7. Tiroid Fonksiyon Bozuklukları ve Sebepleri	6
1.8. Tiroid Fonksiyon Testlerinin Değerlendirilmesi	9
1.9. Tiroid Fonksiyon Testlerindeki Değişim ve Gelişmeler	9
1.10. Referans Aralıklarının Bölgesel Düzeyde Belirlenme Gerekliği	12

1.11. Referans Aralık Belirlemede Kullanılan Tanımlar	13
1.12. Referans Aralık Belirleme Sistematığı	14
1.13. Referans Bireylerin Seçimi	15
1.14. Preanalitik ve Analitik Evrelerin standardizasyonu	19
1.15. Referans Değer Verilerinin Analizi	20
1.16. Referans Aralıkların Hesaplanması	22
2. AMAÇ	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Çalışma Planı	24
3.2. Kullanılan Cihaz ve Kitler	26
3.3. Test Ölçüm Yöntemi	27
3.4. Verilerin Elde Edilmesi ve İstatistiksel Analiz	29
4. BULGULAR	30
4.1. Prospektif Çalışma Sonuçları	30
4.2 Retrospektif Çalışma Sonuçları	36
4.3 Referans Aralık Değerleri	42
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
7. KISITLILIKLAR	52
8. KAYNAK DİZİNİ	53
9. ÖZGEÇMİŞ	58
EKLER	
EK-1. Etik Kurul Onayı	57
EK-2. Aydınlatılmış Onam Formu	59

SİMGELER ve KISALTMALAR

- TRH** : Tirotropin Salgılatıcı Hormon
- TSH** : Tiroid Stimüle Edici Hormon
- TPO** : Tiroid Peroksidaz
- TG** : Tiroglobulin
- T3** : Triiyodotironin
- T4** : Tiroksin
- PIP** : Fosfatidilinositol 4,5-bifosfat
- IP3** : İnositol 1,4,5-trifosfat
- DAG** : 1,2-diaçilgliserol
- TSH-R:** Tiroid Stimüle Edici Hormon reseptörü
- cAMP** : Siklik adenzin monofosfat
- hCG** : İnsan koryonik gonadotropin
- FSH** : Folikül uyarıcı hormon
- LH** : Lüteinleştirici hormon
- TBG** : Tiroid bağlayıcı globülin
- TPO-Ab:** Tiroid Proksidaz Antikorları
- TG-Ab** : Tiroglobulin Antikorları
- FDH** : Ailesel disalbüminemik hipertiroksinemi
- ft4** : Serbest T4
- ft3** : Serbest T3
- KKH** : Koroner Kalp Hastalığı
- IFCC** : Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu
- CLSI** : Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü

TABLolar

Tablo 4.1 Prospektif verilerin tanımlayıcı istatistik tablosu.....	30
Tablo 4.2. Prospektif verilerin normal dağılım test tablosu.....	32
Tablo 4.3. Prospektif sT3 Cinsiyet değerleri.....	33
Tablo 4.4. Prospektif sT3 Cinsiyetler arası Bağımsız Örneklem t-testi.....	33
Tablo 4.5. Prospektif hTSH ve sT4 cinsiyet arası farkın anlamlılığı.....	34
Tablo 4.6. Retrospektif verilerin tanımlayıcı istatistik tablosu.....	37
Tablo 4.7. Retrospektif verilerin normal dağılım test tablosu.....	38
Tablo 4.8. Retrospektif sT3 Cinsiyet değerleri.....	39
Tablo 4.9. Retrospektif sT3 Cinsiyetler arası Bağımsız Örneklem t-testi.....	39
Tablo 4.10. Retrospektif hTSH ve sT4 cinsiyet arası farkın anlamlılığı.....	40
Tablo 4.11. Prospektif çalışma ve firma referans aralık değerleri.....	42
Tablo 4.12. Retrospektif çalışma ve firma referans aralık değerleri.....	43
Tablo 4.13. Cinsiyetlere göre Prospektif referans aralıkları.....	43
Tablo 4.14. Cinsiyetlere göre Retrospektif referans aralıkları.....	44

ŞEKİLLER

Şekil 1.1	Tiroid hormonlarının yapısı.....	1
Şekil 1.2	Tiroid hormonlarının sentez ve sekrestonu.....	3
Şekil 4.1.	Prospektif yöntem hTSH veri dağılımı.....	31
Şekil 4.2.	Prospektif yöntem sT3 veri dağılımı.....	31
Şekil 4.3.	Prospektif yöntem sT4 veri dağılımı.....	32
Şekil 4.4.	Prospektif yöntem(Kadın-Erkek) sT3 veri dağılımı.....	34
Şekil 4.5.	Prospektif yöntem(Kadın-Erkek) hTSH veri dağılımı....	35
Şekil 4.6.	Prospektif yöntem(Kadın-Erkek) sT4 veri dağılımı.....	35
Şekil 4.7.	Retrospektif yöntem hTSH veri dağılımı.....	37
Şekil 4.8.	Retrospektif yöntem sT3 veri dağılımı.....	37
Şekil 4.9.	Retrospektif yöntem sT4 veri dağılımı.....	38
Şekil 4.10.	Retrospektif yöntem(Kadın-Erkek) sT3 veri dağılımı....	40
Şekil 4.11.	Retrospektif yöntem(Kadın-Erkek) sT4 veri dağılımı....	41
Şekil 4.12.	Retrospektif yöntem(Kadın-Erkek) hTSH veri dağılımı..	41

1.GİRİŞ

1.1. Sağlık Tanımı

Dünya Sağlık Örgütü, sağlığı “hastalık ve sakatlığın olmaması yanında fiziksel, ruhsal ve sosyal olarak iyi olma durumu” olarak tanımlamıştır.

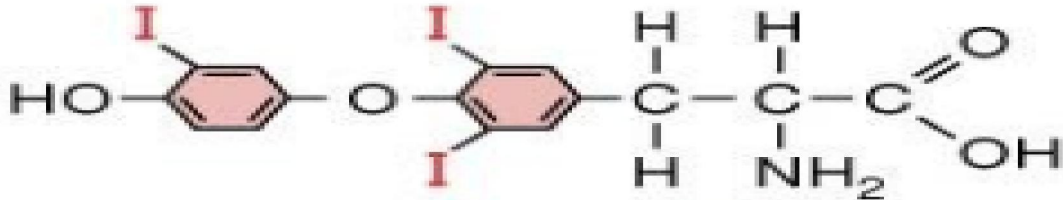
1.2.Tiroid Bezi

Endokrin bezlerin en büyüğü olan tiroid bezi trakea'nın hemen önünde sağ ve sol lobdan oluşan 15- 20 gr ağırlığında bir salgı bezidir. Salgıladığı hormonlar aracılığı ile büyüme ve gelişmede temel etkiye sahiptir.

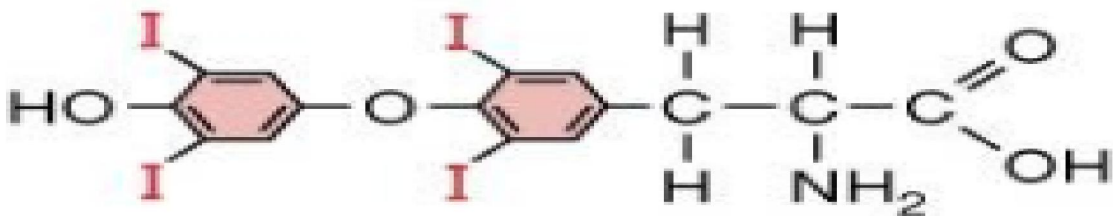
1.3. Tiroid Hormonları Sentez ve Sekresyonu

Tiroid hormonları, Hipotalamus-Hipofiz-Tiroid aksı kontrolünde; Hipotalamus kaynaklı Tirotropin Salgılatıcı Hormon (TRH) ve Hipofiz kaynaklı Tiroid Stimulan Hormon (TSH) kontrolü altında olacak şekilde tiroid bezinde sentezlenir ve kana salıverilir. Tiroid bezinden salınan bu hormonlar Tiroksin (T4) ve Triiyodotironin'dir (T3). (Şekil 1.1)

Triiyodotironin



Tiroksin



Şekil 1.1 Tiroid hormonlarının yapısı

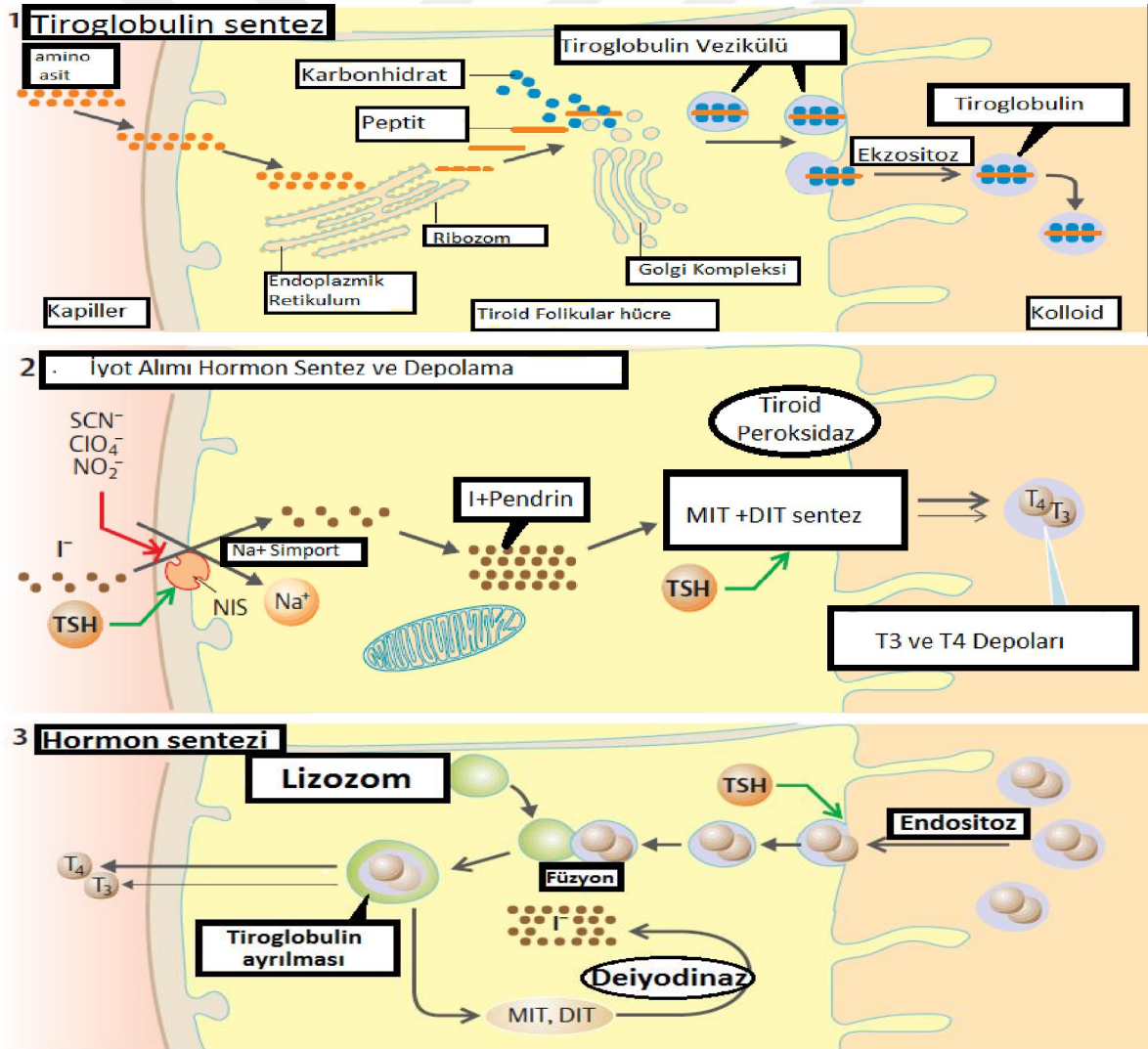
TRH, hipotalamusun periventriküler çekirdeğindeki sekretuar nöronlardan salınarak ön hipofiz bezi üzerindeki TRH reseptörlerine bağlanır. Bu reseptörler G-protein bağlı reseptörlerdir ve G-proteinin aracılık ettiği bir sinyal kaskadınının uyarılmasına sebep olur. Bu uyarılma, fosfolizpaz C nin aktivasyonuna yol açarak fosfatidilinositol 4,5 bifosfat'ın (PIP) hidrolizini gerçekleştirir. PIP'un hidrolizi sonucu inositol 1,4,5-trifosfat (IP3) ve 1,2-diaçilgliserol (DAG) oluşur. Bu ikinci habercilerden IP3 endoplazmik retikulum'dan kalsiyum salınımını uyararak hücre içi kalsiyum artışına, DAG ise protein kinaz C'nin aktivasyonunu sebep olur. Tüm bu değişimler gen aktivasyonunu sağlayarak TSH'ın transkripsiyonunun gerçekleşmesini sağlar (Mallya ve Ogilvy-Stuart 2018).

TSH glikoprotein yapıda iki peptit zincirinden oluşan bir hormondur. Peptit zincirlerinden biri; insan koryonik gonadotropin (hCG), folikül uyarıcı hormon (FSH) ve lüteinleştirici hormon (LH) gibi glikoprotein yapıdaki hormonlarla aynı homolojiye sahip olan α -zinciri iken diğeri hormonun biyolojik özgülüğünden sorumlu olan β -zinciridir. Beta alt birimi 118, alfa alt birimi ise 92 amino asit içermektedir (Roelfsema ve Veldhuis 2013).

Hipofizde sentezlenen TSH dolaşım yoluyla tiroid bezine ulaşır ve tiroid foliküler hücrelerinin TSH reseptörlerine (TSH-R) bağlanır. TSH-R, G-protein bağlı bir reseptördür ve TSH bağlanmasıyla aktive olur. Bu aktivasyon hücre içi siklik adenosin monofosfat (cAMP) seviyelerinin artmasına yol açar. Tiroid bezinin foliküler hücrelerindeki cAMP artışı, Tiroid Peroksidaz (TPO) enziminin aktivasyonunu ve Tiroglobulin (TG) sentezini uyarır. Tiroid Stimule Edici Hormon'un TSH-R'üne bağlanması ayrıca sodyum / iyodür pompası (Na / I-taşıyıcı) yoluyla iyot alımını uyarır ve iyodürün foliküler hücreye konsantrasyon gradientine ters olarak girmesine olanak sağlarken aynı anda pozitif yüklü bir sodyum iyonunun alımı ile elektron dengesi korunmuş olur. İyodür molekülü hücre içine girdikten sonra, pendrin adı verilen iyodür klorür taşıyıcı protein aracılığıyla foliküler hücrenin apikal membranı ile kaynaşmış veziküllere taşınır. Veziküller içinde, iyodür oksitlenir ve TPO enzimi yoluyla TG'in tirozin kalıntılarına kovalent olarak bağlanır. Bu kovalent bağların oluşumu, T3 ve T4 hormonlarının yapı taşları olan monoiodo tirozin (MIT) kalıntılarını oluşturur(Shahid ve ark, 2020).

Tiroglobulin tiroid hormonu üretimi için gerekli olan tirozin amino asit kalıntıları içerir ve foliküler hücrelerin lümeninde bulunur. Tiroglobulin 660 kDa ağırlığında, 5496

aminoasit kalıntısı içeren glikoprotein yapısında moleküldür. Hücrenin apikal membranı üzerinde bulunan TPO iyodür'ü aktif iyot'a dönüştürür, iyot iyodiaz enzimi aracılığı TG'deki tirozin kalıntılarına bağlayarak MIT ve diiyodotirozin (DIT) molekülleri oluşturulur. Tiroidperoksidaz daha sonra TG molekülü içinde T3 ve T4 hormonlarını üretmek için MIT ve DIT kalıntılarını birleştirir. T3 bir MIT ve bir DIT molekülünün birleştirilmesiyle üretilirken, T4 iki DIT molekülünün birleştirilmesiyle meydana gelir. TSH reseptörünü uyardığında, oluşan ve içerisinde T3 ve T4 ihtiva eden TG foliküler lümenden veziküllere alınır. Bu veziküller lizozomlar ile birleşerek proteolize uğrar. Bu proteoliz sonucu T4 ve T3 hormonları ile az oranda MIT ve DIT açığa çıkar. T3 ve T4 hormonları dolaşıma salınırken MIT ve DIT yapısında bulunan iyotlar deiyodiaz ile ayrılarak tekrar kullanımı sağlanır. Bu üretimin % 85-90'ı T4, % 10-15'i T3 ten oluşmaktadır (Şekil 1.2)



Şekil 1.2 Tiroid hormonlarının sentez ve sekresyonu (Color Atlas of Physiology Agamemnon Despopoulos, Stefan Silbernagl 2003)

T3 ve T4 hormon seviyelerinde bir artış olduğunda, sırasıyla TRH ve TSH salınımının azaltılması için hipotalamusa ve ön hipofize giderek reseptörlerine bağlanır ve gen üretim bölgelerini baskılayarak üretimi azaltıcı etki meydana getirirler. T3 ve T4 hormon seviyeleri azaldığında, TRH ve TSH genleri üzerindeki baskı ortadan kalkar. TRH ve TSH üretiminin artmasıyla da T3 ile T4 hormonlarının üretiminde artış meydana gelir (Nunez ve ark, 2017, Sorisky 2016) .

Tiroid hormonlarının sentezi için gerekli olan iyot minerali; gelişmemiş ülkelerde görülen tiroid fonksiyon bozukluklarının en sık sebeplerindendir. İyot tiroid hormon sentezi için gerekli olduğundan, gebelik dönemindeki iyot eksikliğinin fetüs üzerine etkileri doğumdan sonra konjenital hipotiroidizm olarak kendini gösterecektir. Rutin tarama yapıp gerekli tedavi sağlanamassa bebeklik döneminden itibaren kısa boy, zeka geriliği gibi semptomlar görülebilmektedir. Erken dönem iyot takviyesi ile tablo önlenmektedir. İyottan zengin olan deniz ve süt ürünleri gibi besinlerin yanında iyotlu tuzlarının kullanılmasıyla iyot eksikliği sorunu dünya genelinde büyük ölçüde çözülmüş durumdadır (Shaid ve ark, 2020).

Tiroid hormonlarının sentezinde yeterli iyot alımının yanı sıra; magnezyum, demir, selenyum ve koenzim Q10 düzeylerinin de önemli olduğu belirtilmektedir. Koenzim Q10'nun tiroid bezi vasküleritesini etkilemekte olduğu bilinmektedir. Tiroid hormonlarının klinik değerlendirmesi yapılırken koenzim Q10, magnezyum, selenyum, demir seviyelerinin de göz ardı edilmemesi gereklidir. Demir TPO sentezi için önemliyken, magnezyum-ATP konsantrasyon gradientinin tersi yönünde iyot alınımında, selenyum tiroid hormonlarının sentezi sırasında reaktif oksijen türlerinin meydana getirebileceği hücre hasarına karşı tiroid hücrelerini korumak için selenoproteinler yoluyla etki eder. Dolaşımda ve dokulardaki biyolojik olarak aktif form olan T3 hormonunun büyük çoğunluğu selenyum bağımlı iodoironin deiyodinaz enzimi tarafından katalize edilmiş bir reaksiyon ile T4 den sentezlenir (Moncayo ve ark, 2017).

1.4 Tiroid Hormonlarının Taşınması ve Etki Mekanizması

Dolaşımdaki T3 ve T4 hormonlarının % 99'undan fazlası taşıyıcı proteinlere bağlı olarak bulunur. T3 ve T4 hormonlarını taşıyan bu proteinler % 75 civarında tiroid bağlayıcı globülin (TBG), % 20 civarında transtiretin (diğ er adıyla prealbumin) ve % 5 civarında albümindir. Sadece çok küçük bir yüzde serbest hormon olarak bulunur. Bu oran T3 için % 0,2 - 0,4 arasında iken T4 için bu oran % 0,03 civarında denge halindedir (Gornall ve ark, 1980). Dolaşımdaki T3'ün yaklaşık % 80 'i T4'ün deiyodinasyonundan elde edilirken % 20 si doğrudan tiroid bezinden salgılanır. Hedef bölgeye ulaşıldığında T3 ve T4 hormonları difüzyon veya taşıyıcı aracılı transport yolu ile hedef hücrelere girmek için taşıyıcı proteinlerinden ayrılırlar. Hedef hücre çekirdeğinde bulunan tiroid reseptörleri olan; alfa veya beta reseptörlerine bağlanarak bazı transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu sağlarlar. Bu aktivasyon hücreye özgü T3-T4 yanıtının oluşmasını sağlar (Benhadi ve ark, 2010).

Tiroid hormonları, kalp, merkezi ve otonom sinir sistemi, kemik ve gastrointestinal sistem dâhil olmak üzere vücuttaki hemen hemen her organ ve sistemi etkiler. T3 biyolojik etkinliğ e sahip başlıca tiroid hormonudur. Neredeyse tüm dokularda metabolik aktiviteyi arttırıcı yönde etki eder. Enerji gerektiren taşıyıcı proteinlerle hücre içine girerek mitokondrideki reseptörlerine bağlandığında katabolik etki ile ATP üretiminde bir artışa neden olur. ATP üretimi, reaksiyonlarının yan ürünü olarak artan ısı seviyesi vücut ısısında bir artışa neden olurken; hücre çekirdekdeki reseptörlerine bağlanan T3, gen aktivasyonu sağlayarak hücresel yanıtın oluşmasını sağlamaktadır. Tiroid hormonu kalpte beta reseptörleri üzerinden kalp hızında bir artışa sebep olurken, gastrointestinal sistemde motilite artışına neden olmaktadır.

Tiroid hormonları yetişkinlerde metabolik aktivite regülasyonu için gerekli iken, bebeklerde uygun beyin fonksiyon gelişimi, nörolojik gelişim için gereklidir; nörogenez, nöronal migrasyon, nöronal ve glial hücre farklılaşması, miyelinasyon ve sinaptogenez üzerinde etkileri gösterilmiştir. Hamilelik sırasında annenin tiroid hormonu eksikliği; bebekte intrauterin döneminden başlayarak nöropsikiyatrik sendrom ve kretinizm gelişimine neden olabilmektedir. Tiroid hormonu ayrıca vücudun katekolaminlere duyarlılığını arttırarak sempatik etkide artışa neden olur. Birçok vitamin sentezi ve kullanımını arttırıcı yönde etkileri vardır. Fizyolojik düzeylerde protein sentezini arttırırken, yüksek düzeylerinin protein sentezini azalttığı bilinmektedir (Mughal ve ark, 2018).

1.5 Tiroid Hormonlarının Denge Mekanizması

Sağlıklı kişilerde tiroid hormon sentezi hipotalamus-hipofiz-tiroid eksenini tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir. Tiroid hormonları kanda belirli konsantrasyonu aştığında; hem hipotalamus'a hem de hipofiz bezine negatif geri besleme mekanizmasıyla etki ederek, tiroid hormon sentez döngüsünü durdurup homeostatik dengeyi sağlarlar. TSH ile tiroid hormonlarının ilişkisi ters yönlüdür. TSH salgısı, tiroid hormonu seviyelerindeki küçük dalgalanmalara karşı çok hassastır ve anormal TSH seviyeleri, gerçek tiroid hormonu anormallikleri oluşmadan önce erken tiroid fonksiyon bozukluğu ile ilgili bilgi vermektedir (Gornall ve ark, 1980).

1.6 Tiroid Hormonlarının Yaşa Özgü Farklılıkları

Tiroid hormonlarının tüm organlar ve sistemler üzerinde etkileri vardır ve optimal fonksiyon için uygun seviyelerde olmaları gereklidir. Yenidoğan ve çocukluk dönemi metabolizma hızı yüksek olduğundan dolayı tiroid hormon seviyelerinin yaşa paralel olarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

TSH'nin biyolojik olarak aktif olmayan izoformlarının nispeten daha yüksek seviyeleri nedeniyle TSH düzeylerinin yaşla birlikte artabileceğini de belirtmek önemlidir (Estrada ve ark. 2014). Tiroid hastalığı olmayan veya tiroid oto antikorları negatif olan bireylerde, uzun süreli gözlemler sonunda serbest T4 seviyelerinde değişiklik olmadan artmış TSH düzeyleri meydana gelebilmektedir. Bu artışın; TSH biyoaktivitesinin azalması veya TSH-sT4 ayar noktasında yaşa bağlı değişikliklerden kaynaklandığı öne sürülebilir (Mammen ve ark.2017). Ayrıca yaşlılarda hipotalamus-hipofiz-tiroid ekseninde ve periferik tiroid hormon metabolizmasında karmaşık değişiklikler tanımlanmıştır. Patolojik koşulların dışlanmasıyla, yaşlanma süreci; azalmış iyot emilimi ve organizasyonu ile TSH'a daha düşük bir cevap verebilme kapasitesi ile karakterize edilmiştir ve bu durum da yaşlılarda tiroid hormon üretiminin azalmasına neden olmaktadır (Rozing ve ark, 2010).

1.7 Tiroid Fonksiyon Bozuklukları ve Sebepleri

Tiroid disfonksiyonu, popülasyonun % 3 - % 21'ini etkileyen yaygın bir durumdur; tiroid fonksiyon bozuklukları kadınlarda ve ilerleyen yaşlarda daha sık görülmektedir (Canaris ve ark.2000). Tiroid fonksiyon bozukluğunun en önemli nedenlerinden birinin iyot eksikliği olduğu bilinmektedir. İyot eksikliği iyot alımındaki yetersizliğin yanında iyot metabolizmasını bozabilen ksenobiyotikler sebebiyle de meydana gelebilmektedir. Tiroid hormonlarının üretimi için gerekli olan tek halojenli (iyot) moleküller tiroid hormon fizyolojisini ksenobiyotiklere karşı savunmasız hale getirmektedir. Ksenobiyotiklerde klorin ve bromin kalıntıları bulunabilir. Halojen ile süstitüe edilmiş fenolik kısımlar doğal

tiroid hormonlarını taklit edebilir ve böylece hormon üretimi, geri beslenme, dağılımı, hücelere giriş ve hücre içi metabolizma işlemlerini (deiodinasyon, konjugasyon) reseptörler düzeyinde antagonist veya analoglar olarak etkileyebilirler (Mughal ve ark, 2018).

Tiroid bezi hastalıkları ise genellikle oto antikorların üretimi ile karakterizedir ve otoimmün mekanizmalar ile gelişir. Hashimoto tiroiditi, kronik lenfositer tiroidit, kronik guatröz tiroidit ve kronik atrofik tiroidit gibi farklı şekillerde isimlendirilen Kronik Otoimmün Tiroidit (KrOT); TPO Antikorları (TPO-Ab) ve TG Antikorlarının (TG-Ab) pozitif bulunmasıyla karakterizedir. Tiroid otoantikorlarının üretimi ve kişinin bu otoantikorların hasarına karşı rejenerasyon kapasitesinin aşılması sonucu tiroid bezinin işlevinin bozulmasına bağlı olarak gelişir. Bu durum iyot eksikliği bulunan bölgeler dışında primer hipotiroidinin en sık nedeni olarak kabul edilmektedir (Atmaca ve ark, 2016).

Tüm bu sebeplerin yanında, plazmada tiroid hormonlarının büyük bir bölümü TBG 'e bağlı olarak taşındığından, TBG seviyelerinde meydana gelebilecek değişiklikler (örn.akut hastalıklar; hamilelik; androjenler, glukokortikoidler, östrojen, tamoksifen, opiatlar) tiroid disfonksiyonu olmamasına rağmen, anormal tiroid hormon seviyeleri ölçümüne neden olabilmektedir. TBG miktarındaki değişiklikler kadar etkili olmasa da, transtiretin ve albümin miktarındaki değişikliklerin de tiroid hormonları seviyeleri üzerine etkili olduğu bazı durumlarla karşılaşılabilir. Ailesel disalbüminemik hipertiroksinemi'de (FDH) total T4 (serbest T4'te değişken yükselmelerle) artar. FDH, klinik olarak ötiroid deneklerde T3'e (T4'e değil) karşı afinitesi artmış bir albümin varyantı ile ilişkili nadir bir otozomal dominant durumdur (Soh ve Aw 2019).

Tiroid hormonlarının yetersiz salgılanması sonucunda gelişen hipotiroidiler de hipotalamus-hipofiz-tiroid aksının herhangi bir bölümü kaynaklı oluşabilir. Oluşum kaynağına göre de primer, sekonder veya tersiyer nedenler olarak tanımlanırlar. Hipotiroidi tiroid bezi kaynaklı ise primer hipotiroidi olarak adlandırılır. İyot eksikliği, otoimmün tiroid hastalığı, atrofik tiroidit, tiroidektomi, ilaçlar, boyun bölgesine radyoterapi uygulanması, radyoaktif iyot tedavisi, tiroid bezi gelişiminde veya tiroid hormon sentezinde konjenital bozukluklar nedeniyle gelişebilir. Hipotiroidi TSH salgısının yetersizliği sonucu gelişmiş ise sekonder hipotiroidi olarak adlandırılır. Hipofiz tümörleri, hipofiz cerrahisi, radyoterapi, infiltratif hastalıklar, Sheehan sendromu en sık sekonder hipotiroidi nedenlerindedir. Hipotalamusta sentez edilen ve salınan TRH yetersizliği sonucu gelişen hipotiroidi tersiyer hipotiroididir ve nadir görülür.

Bazı hastalarda serbest tiroid hormon düzeyleri normal sınırlarda iken TSH seviyeleri yüksek izlenebilir. Bu duruma subklinik hipotiroidi adı verilmektedir. İyot eksikliği ve otoimmün tiroid hastalığı (Hashimoto tiroiditi) en sık hipotiroidi nedenleridir. Buna göre, aşikâr hipotiroidizm dendiğinde düşük serbest T4 seviyeleri yanında yüksek konsantrasyonlarda TSH seviyeleri ile karakterize durumu ifade etmekte iken; TSH seviyeleri yüksek olduğu halde serbest T4 düzeyleri normal seyrediyor ise bu durum subklinik hipotiroidiyi tanımlamaktadır.

Hipotiroidik hastalarda; halsizlik, yorgunluk, kilo alma, unutkanlık, konsantrasyon zorluğu, cilt kuruluğu, saçlarda dökülme, üşüme, kabızlık, seste kabalaşma, düzensiz ve yoğun adet kanamaları, infertilite, kas sertliği, kas ağrıları, karpal tünel sendromu, depresyon, demans, bradikardi, refleks gevşemesinde yavaşlama görülebilir. Fizik muayenede kuru ve soluk cilt, seyrek kaba saçlar, boğuk kaba ses görülebilmektedir.

Hipertiroidi ise tiroid hormonları olan T3 ve T4 ün aşırı sentezi sonucu kan seviyelerindeki artışı ifade etmektedir. Hipertiroidi sebepleri arasında Basedow-Graves hastalığı (toksik diffüz guatr), Toksik adenom, Toksik multinodüler guatr, tiroiditler (tiroid bezi ilhitabı), aşırı iyot alımı veya hipofiz bezi tümörleri gösterilebilir. Graves hastalığı tiroid, göz, deri olmak üzere pek çok sistemi etkileyen nedeni tam olarak bilinmeyen otoimmün bir hastalıktır. Genç yaşta görülen tirotoksikozun en sık nedenidir. Graves hastalığı her yaşta görülebilmesine rağmen sıklıkla genç kadın hastalarda ortaya çıkar. Kadınlarda erkeklere göre 5 kat daha sık görülür. Hipertiroidizmin en sık görülen nedenidir ve nüfusun yaklaşık % 0.05'ini etkiler. Tiroid bezi genellikle diffüz olarak büyümüştür. Graves hastalığı genetik yatkınlık gösteren bir hastalık olduğu bilinen, spontan remisyon ve rekürrenslerle seyreden bir hastalıktır (Bolognesi ve Rossi 2006).

Hipertiroidi'yi düşündürülen belirti ve bulgular arasında halsizlik, sinirlilik, çarpıntı, kilo kaybı, nefes darlığı, sıcağa tahammülsüzlük, iştah artışı, terleme, yumuşak dışkılama veya diyare, ekzoftalmi, kas ağrıları, kuvvetsizlik, titreme olarak sayılabilir.

Subklinik hipertiroidi ise baskılanmış TSH seviyeleri ve normal düzeydeki tiroid hormonları (T3-T4) ile karakterizedir. Bilinen tiroid rahatsızlığı bulunmayan kişilerle yapılan çalışmalarda toplumda % 3-16 arasında prevelans gösterdiği bildirilmektedir ve bu kişilerin hipertiroidi hastası olma potansiyeli yaş ilerledikçe artmaktadır (Marqusee ve ark.1998).

Subklinik tiroid disfonksiyonu; referans aralıklar içerisinde seyreden serbest T4 ile referans aralıklar dışında seyreden TSH seviyeleri ile tanımlanır. Subklinik hipotiroidizmin hipertansiyon, hiperlipidemi, ateroskleroz ve koroner arter hastalığı riskinde artış ile ilişkisi, subklinik hipertiroidizmin ise atriyal fibrilasyon ve koroner arter hastalığı riskinde artış ile ilişkisi yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Rodondi ve ark, 2010).

1.8 Tiroid Fonksiyon Testlerinin Değerlendirilmesi

Tiroid hormon bozukluğu tanısı semptomatik bulgularla beraber laboratuvar test sonuçlarına bağlıdır. Troid hastalığının belirti ve semptomları özellikle subklinik hipo veya hipertiroidi için belirleyici ve spesifik değildir. Bu sebeple laboratuvar sonuç referans aralıklarının güvenilirliği hasta sonuçlarının yorumlanabilmesi için hayati önem taşımaktadır. Tiroid fonksiyon bozukluklarının tanı ve tedavisi için, sistemik tiroid fonksiyonunun göstergesi olarak en hassas ve özgül belirteci olan testin TSH olduğu bilinmektedir. TSH ölçümlerinin, tiroid fonksiyon bozukluklarının teşhis ve tedavisinin izlenmesinde altın standart olarak kabul edilebilmesi için; TSH ölçümlerinin yorumlanmasında iyi tanımlanmış referans aralıkları kullanılmalıdır (Okosieme ve ark, 2016).

TSH ile tiroid hormonları arasındaki ilişki yaş, sigara içme, TPO antikoru vb. gibi bir dizi faktörden etkilenir. Gözlemsel çalışmalardan elde edilen son veriler, yaşlı insanlarda serum TSH düzeylerinin arttığını göstermektedir. Bu nedenle, yaşlı bireylerde çok hafif TSH yükselmeleri subklinik tiroid fonksiyon bozukluğunu yansıtmayabilir, aksine yaşlanmanın normal bir sonucu olabilir. Buna rağmen, yaşa özel aralıklar rutin klinik kullanımda değildir. Yaşlı hastalar genellikle tek tip serum TSH referans aralığı (genellikle 0.4-4.5 mU / L) kullanılarak genç hastalarla benzer şekilde değerlendirilir. Tiroid hormonu gereksinimleri de yaşla birlikte değişmektedir. Osteoporoz ve atrial fibrilasyonu olan yaşlı bireyler, replasman tedavisi sonucu oluşan tiroid hormonu fazlalığına daha duyarlıdır. Bu nedenle yaşlı popülasyonda tiroid fonksiyon testi sonuçlarının yorumlanmasında bu özellikler göz önünde bulundurulmalıdır. Yaşlılarda tiroid fonksiyon bozukluklarının; bilişsel işlev disfonksiyonu, kardiyovasküler hastalık riskinde artış ve dolayısıyla yaşam

süresinde azalma ile ilişkili olabileceği yönünde çalışmalar devam etmektedir (Jonklaas ve Razvi 2019).

1.9 Tiroid Fonksiyon Testlerindeki Değişim ve Gelişmeler.

Tiroid fonksiyon testi adı altındaki ilk ölçümlere 1950'lerde total T4 için dolaylı test geliştirilmesiyle başlanmıştır. O zamandan beri, radyoimmüno ve sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometresi bazlı test teknolojisinin sürekli gelişimi; T3, T4, TSH, tiroid hormonu bağlayıcı proteinler, TG'in ve teşhis amaçlı çeşitli oto antikorların (TG-Ab, TPO-Ab) rutin laboratuvar ortamında doğru ve hassas ölçüm sonuçlarının hekimlere hızlı bir şekilde ulaşmasına olanak sağlamıştır. TSH ölçüm teknolojilerindeki araştırma ve gelişmelerin sonucu olarak alfa alt birim ile çapraz bağlanmaları saf dışı bırakarak, interferans oranı minimize edilmeye çalışılmıştır (Roelfsema ve Veldhuis 2013). TSH testlerinin duyarlılığındaki artışlar, tiroid fonksiyon bozukluklarının özellikle subklinik formlarının tanısı ile ilişkili çok daha düşük TSH seviyelerinin belirlenebilmesi ihtiyacından kaynaklanmaktadır (Spencer 2017).

Geçmişte, tiroid hormon testlerinin çoğu toplam tiroid hormonu seviyeleri ölçülerek değerlendirilmiştir. Günümüzde biyolojik olarak aktif hormonlar olan serbest tiroid hormonlarının test edilmesi, toplam tiroid hormon testlerinin yerini almıştır. Güncel ölçümlerde Serbest T4 (sT4) test sayıları toplam T4 test istemlerinin % 90'ını oluşturmaktadır. Kan dolaşımında sT3 ve sT4 pikomolar, toplam tiroid hormonları (T3 ve T4) ise nanomolar seviyelerinde bulunmaktadır. Düşük düzeyleri nedeniyle serbest tiroid hormonlarının doğru ve kesin olarak ölçülmesi daha zordur.

Tiroid fonksiyon bozukluğu tanısı hem TSH hem de sT4 ölçümleri gerektirdiğinden, her ikisini de aynı anda ölçmek en verimli görünebilir (tek aşamalı yaklaşım). Bununla birlikte, TSH tiroid fonksiyon bozukluğunun hassas bir göstergesidir, çünkü sT4'teki küçük değişiklikler TSH'da büyük değişiklikler meydana getirir. Hipofiz ve hipotalamik hastalığı beklenmeyen poliklinik hastalarıyla ilgili daha önceki çalışmalar TSH normal olduğunda sT4 ölçmenin genellikle gereksiz olduğunu göstermiştir. Bu nedenle çoğu kılavuz iki aşamalı bir yaklaşım önermektedir. Bu öneriye göre önce TSH ölçülmeli, TSH referans aralığının dışındaysa veya anormal TSH sekresyonu şüphesi varsa ardından sT4 ölçülmelidir (Garber ve ark, 2012).

Troid metabolizması harici bozukluklar anormal sT3 seviyelerine neden olabilmektedir. Tiroid bağlayıcı proteinlerin seviyeleri normalken, dolaşımdaki sT3 seviyeleri total T3 seviyelerinin % 0,2 - 0,4'ü arasında iken T4 için bu oran % 0,03 civarında denge halindedir. Özellikle değişen TBG ve düşük albümin konsantrasyonları söz konusu olduğunda tiroid hormonlarının bağlanma oranı düşecek ve total seviyeleri değişmediği halde dolaşımdaki serbest T3 ve serbest T4 seviyeleri yüksek olarak görülecektir. Bu sorunu aşmak için taşıyıcı protein seviyelerinin düşük olduğu durumlarda tiroid hormonlarının serbest seviyeleri yanında total seviyelerinin de değerlendirilmesi gereklidir.

Bazı nontiroidal hastalıkların ve bazı ilaç tedavilerinin tiroid hormon düzeylerini etkileyebileceği bilgisi önem arz etmektedir. Örneğin antikonvulsan ilaç tedavilerinden biri olan fenitoin tedavisinde hepatik metabolizmanın hızlanması sT3 seviyelerinde azalmaya neden olabilir (Liewendahl ve ark. 1978). Salisilat ve anti enflamatuar ilaçlar da tiroid hormonlarıyla, hormon bağlanma bölgeleri için yarışır. Dolayısıyla dolaşımdaki miktarları aynı olan tiroid hormonlarının hücre ve dokular üzerindeki etkileri azalacaktır. Heparin tedavisi gören hastalarda sT3 ve sT4 seviyeleri yüksek bulunabilir. Heparin kullanımı dolaşımdaki serbest yağ asitlerinin artışına bağlı olarak TBG'den daha fazla miktarda sT3 ve sT4 salınımına neden olabilmektedir (Wenzel 1981).

Tiroid hormonları ve TSH'nin ekstra tiroidal etkilere sahip olduğu da gösterilmiştir. Tiroid hormonları, kardiyovasküler sistem ve glikoz homeostazı üzerine olumlu etkileri vardır. TSH in vitro glikoz oksidasyonunu uyarabilir; vücut kitle indeksi, sistolik ve diyastolik kan basınçları ve kardiyovasküler sistem üzerinde olumsuz etkileri olan serum lipit seviyelerini düşürebilir. Hipotiroidili hastalara yapılan troid hormon replasman tedavisi sonucu yüksek serum lipit seviyelerinde iyileşme sağlanan hastaların varlığı; serum lipit seviyeleri değerlendirilirken tiroid hormon seviyelerinin de değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir (Rizos ve ark, 2011).

TSH ve sT4 testlerinin referans aralıkları tiroid hastalıklarının tanı ve tedavisi için hayati önem taşımaktadır. Ancak son yıllarda iyi belirlenmiş referans aralıklarında bile yeniden değerlendirmelere ihtiyaç duyulup duyulmadığı konusunda tartışmalar mevcuttur. Bu tartışmaların nedeni; troid hormonlarının referans aralığı içerisindeki değişimlerinin, kronik hastalıkların veya ölümlerin ortaya çıkmasını sağlayacak düzeyde etkileri olduğu yönünde çalışmaların varlığıdır. Tiroid fonksiyon bozukluğu olmayan kişilerde prospektif çalışmalar yapılmış ve bu çalışmalarda troid fonksiyonları normal olmakla birlikte üst

sınıra yakın bireylerde kardiyovasküler hastalıklar, kanser veya kronik böbrek hastalığı riskinin arttığı yönünde bulgular olduğu görülmüştür. Referans aralığın alt sınırına yakın normal tiroid hormonu değerleri olan bireylerde ise diyabet gibi kronik metabolik hastalık riskinde artış olduğu yönünde sonuçlar elde edilmiştir (Bano ve ark, 2019).

Tüm bu hassas ölçümlere rağmen normal olan TSH düzeyleri, tüm dokularda normal düzeyde etki edeceği anlamına gelmemektedir. Artmış TSH değerleri hem azalmış tiroid hormon seviyelerine hem de tiroid hormonlarının dokulara olan etkisinde bir azalmaya işaret ediyor olabilir. Tiroid hormonlarını değerlendirmeden önce hastaların normal hipofiz fonksiyonlarına sahip olup olmadığı hayati önem taşımaktadır. Hipotalamus-hipofiz işlevleri sağlam olan hastalarda TSH ölçümü; hipotiroidi veya hipertiroidiyi tesbit veya dışlamak, tiroid bezi kaynaklı hipotiroidide T4 replasman tedavisi veya hipertiroidide antitiroid tedavisini izlemek, tiroid bezi nodüllerinde veya toksik olmayan guatrda uyarıcı TSH etkisinin T4 supresyonunu izlemek ve TRH uyarma testine verilen yanıtı kontrol etmek amacıyla yapılabilmektedir. Tiroid hormonlarının ölçümünde daha duyarlı ve kesin yöntemler ortaya çıktıkça, tiroid fonksiyon durumunun belirlenmesi için bu testlerin kullanımı giderek daha da yaygınlaşmaktadır.

1.10 Referans Aralıklarının Bölgesel Düzeyde Belirlenme Gerekliği

Test kiti üreticisi olan ve test çalışma cihazı temin eden firmalar, çalıştıkları laboratuvarlara kendi belirledikleri referans aralık değerlerini sunmaktadır. Fakat referans aralıkları; sosyo-ekonomik duruma, coğrafik konuma ve ırka bağlı farklılıklar gösterebilmektedir. Büyük çoğunluğu global olan firmaların, laboratuvarlara sunduğu referans aralıklarının bölgesel popülasyona uygunluğunun test edilmesi veya her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi gerekliği Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi (National Committee for Clinical Laboratory Standards: NCCLS) ile Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu (The International Federation of Clinical Chemistry: IFCC) tarafından önerilmektedir. Referans aralık belirleme

çalışmalarında IFCC bünyesinde yer alan Referans Aralıkları ve Karar Sınırları Komitesinin (C-RIDL; Committe of Reference Intervals and Decision Limits) önerileri dikkate alınmaktadır. Aynı şekilde referans bireylerinin secimi de NCCLS ve IFCC'nin ilgili dokümanlarında standardize edilmiştir (CLSI documents EP09-A3 2013). Tiroid forksiyon testleri için; iyot kullanım düzeyi veya çevresel etkiler nedeniyle değişebilecek referans aralıklarının yanlış tanımlanması veya kendi bölgesini temsil etmeyen referans guruplarından elde edilen referans aralıkların kullanılması sonucu, özellikle subklinik tiroid fonksiyon bozukluklarını tanımlaması ile ilgili sorunlar doğacaktır. Örneğin yaşla birlikte artması normal kabul edilen TSH düzeyleri, iyi tanımlanmamış referans aralıklarıyla birlikte yorumlandığında gereksiz ve hatta zarar verici sonuçları olan ilaç kullanımlarına neden olacaktır. Bu sebeplerle her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi önem arz etmektedir.

1.11 Referans Aralık Belirlemede Kullanılan Tanımlar

Bir bireyden tetkik amaçlı alınan laboratuvar çalışma örneklerinin; klinik olarak anlam ifade edebilmesi; bu test sonuçlarının iyi tanımlanmış protokollere uygun şekilde belirlenmiş referans aralıkları ile birlikte rapor edilmesine bağlıdır. Referans aralık belirleme çalışmaları ve uygulamalar; IFCC, Referans Değerler Teorisi Uzman Paneli ve Uluslararası Hemotolojide Standardizasyon Konseyi'nin katkılarıyla önerilmiş ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) başta olmak üzere uluslararası sağlık kuruluş ve sağlık örgütleri tarafından kabul görmüş tanımlar, ilkeler ve prosedürlerle standardize edilmiştir (NCCLS C28-A2-2000).

Bu tanımlar ve açıklamaları aşağıda sıralanmıştır:

-Referans birey; Referans aralığının belirlenmesi hedeflenen test için sağlık durumunun gerekliliğine göre iyi tanımlanmış kriterlere göre seçilen birey.

-Referans popülasyonu; Referans bireylerin seçildiği tüm referans bireylerden oluşan topluluk

-Referans örnek grubu; Referans popülasyondan seçilmiş deneklerden oluşan örnek grubu.

-Referans değeri; Referans bireyden gözlem veya ölçümler sonucu elde edilen veri.

-Referans dağılımı; İstatistiksel metotlarla test edilebilen referans değerlerin oluşturduğu dağılım.

-Referans sınır; Referans dağılımdan türetilen ve açıklayıcı amaçlar için kullanılan bir değer.

-Referans aralığı; Alt referans sınırından üst referans sınırına kadar olan değer aralığı olarak tanımlanır. Genellikle belirli yüzdelik değerlerle sınırlanan merkezi aralığı ifade eder.

-Gözlemlenen değerler; Test edilen bireylerin laboratuvar test sonuçlarıdır. Gözlemlenen değerler referans değerler, referans dağılımlar, referans sınırlar veya referans aralıklarıyla karşılaştırılarak değerlendirilebilir.

1.12 Referans Aralık Belirleme Sistematiği

Referans aralık belirleme çalışmalarında hedeflenen teste özel kabul ve ret kriterleri belirlenerek test için sağlıklı referans birey tanımı yapılmalıdır. Referans bireylerden oluşan referans topluluk belirlenmeli, bu topluluktan referans örnek gurubu seçilmelidir. Seçilen örnek gurubundan elde edilen veriler kullanılarak önce referans dağılımları sonra referans sınırlar ve referans aralıklar belirlenmelidir.

Referans aralık belirleme protokolü CLSI tarafından belirlenmiş şekline göre sıralanırsa;

- Çalışılması hedeflenen test için tıbbi ve bilimsel literatürden gerekli araştırmaların yapılması gereklidir. Şayet tamamen yeni bir test ile çalışma yapılacaksa literatür taraması anlamlı olmayacağı için laboratuvar araştırması yapılması gerekmektedir.
- Hedeflenen referans birey tanımı için kabul veya ret kriterlerinin belirlendiği iyi tasarlanmış bir anket formu oluşturulmalıdır.
- Referans bireylerin çalışmaya katılmaları için yazılı onam formu oluşturup formu doldurmaları sağlanmalıdır.
- Potansiyel referans bireyleri, anket sonuçları ve diğer kriterlere göre sınıflandırıp; gerek sağlık, gerekse diğer dışlama kriterleri ışığında çalışma için uygun olmayan bireyleri çalışma dışı bırakılmalıdır.

- Hesaplanmak istenen güven aralığı göz önüne alınarak gerekli referans birey sayısına karar verilmelidir.
- Seçilen referans bireylere, test için numune verme şartları hakkında bilgi verilmelidir. Numuneler standart ve uygun koşullarda alınmalı, laboratuvar kurallarına göre işlem den geçirip gerekli koşullarda saklanmalı ve standardize edilmiş şartlarda çalışılmalıdır.
- Sonuçları iyi tanımlanmış koşullar altındaki metodolojiye göre analiz ederek referans değerleri elde edilmelidir.
- Referans değerlerini sağlıklı bir şekilde inceleyebilmek için histogram hazırlanmalıdır. Olası hatalı veriler veya aykırı uç değerler belirlenerek çalışma dışı bırakılmalıdır.
- Elde ettiğiniz veriler eşliğinde referans aralıkları belirlenmelidir.
- Belirlenen tüm prosedürler belgelenmelidir.

1.13 Referans Bireylerin Seçimi

Referans bireylerin seçiminde ilk önce direkt yöntem mi yoksa indirekt yöntem mi kullanılacağına karar verilmelidir. Burada sözü edilen direkt ve indirekt yöntem ile bunlarla ilişkili birkaç tanım CLSI belgelerinde tanımlanmıştır.

-Direkt Yöntem; Referans bireylerin çalışmaya başlamadan önce seçildiği yöntemi ifade etmektedir. Direkt yöntemde referans birey kriterleri (kabul, ret, yaş, cinsiyet, açlık-tokluk, alım zamanı vb.) tam olarak belirlenip bu kriterler uygulanarak örnekler alınırsa bu yöntem Test öncesi örneklem (Priori) olarak ifade edilir. Buna karşılık seçilen referans bireylerden örnekler alınıp testler çalışıldıktan sonra referans birey kriterleri uygulanıp, örnekler arasından seçim yapılırsa; bu yöntem Test sonrası örneklem (Posteriori) olarak ifade edilmektedir. Çalışmada Priori veya Posteriori yönteminin kullanılmasını test edilmesi istenen analit belirler. Daha önce tam bir standardizasyona kavuşmamış, literatür bilgisi az olan yeni bir analit çalışılacaksa bu analitin çalışılmasında Posteriori yöntemin izlenmesi gerekebilir.

-İndirekt Yöntem; Direkt yöntemin uygulama zorluğu olduğu durumlar vardır. Bu durumlarda daha önce çalışılmış ve laboratuvar bilgi sistemlerinde hazır olarak bulunan verileri kullanarak yapılan hesaplama yöntemi ise İndirekt yöntem olarak tanımlanmıştır.

-Referans bireylerin direkt veya indirekt yöntemle seçilmesini etkileyen faktörler arasında laboratuvarların büyüklüğü ve bütçe sağlayıp sağlayamamaları önemli yer tutmaktadır. Bunun yanında çalışılacak yaş gurubunun (pediatrik veya geriatrik) zorlukları dolayısıyla indirekt yöntem seçilebilmektedir. Direkt yöntemle seçilen bireyler çalışmaya başlanmadan önce kabul ve ret kriterleri tam olarak belirlenebildiğinden dolayı tam anlamıyla çalışma kriterlerine uygun olduğu öngörülen bireylerden oluşmaktadır (Siest ve ark, 2013). Referans bireylerin seçimi numunelerin alınması, saklanması, çalışılması ve verilerin elde edilmesindeki zorluklardan sonra, elde edilen referans aralıkları daha güvenilir olarak hesaplanabilir (Solberg 1987).

İndirekt yöntemle seçilen bireyler için bu durum bir sorun olarak görülebilir. Bu bireylerin çalışılacak test için gerekli kriterleri taşıyıp taşımadığı tam anlamıyla net değildir. Sağlıklı olduğu tam olarak belirlenemeyen bireylerden elde edilen verilerin ayıklanması için çeşitli istatistiki yaklaşımlar mevcuttur. Verilerin sıklık dağılım eğrilerinde dağılım eğrisinin aşırı uçları istatistiki metotlar ile çalışma dışı bırakılarak patolojik veriler büyük oranda ayıklanabilir (Hoffmann 1963). Bu sorunu çözmek için aşırı uç değerleri atmanın yeterli olmadığı durumlar için farklı teknikler geliştirilmiştir. Bunlardan biri Bhattacharya metodudur. Bu yöntemde dikkat edilmesi gereken veri sayısının yüksek olması ($n \approx 8000$) gerekliliğidir (Bhattacharya 1967).

İndirekt yöntemle referans aralık belirleme çalışmalarında hastane bilgi sistemlerinden veriler alınırken tüm verileri kullanmak yerine yoğun bakımlar, onkoloji bölümleri, kadın doğum bölümleri gibi aşırı uç verilerin olma ihtimali daha yüksek olduğu bölümler çalışmaya dahil edilmeyerek daha sağlıklı veri tababına ulaşılacağı gerçeği göz ardı edilmemelidir.

Kabul ve ret kriterleri her test için aynı olmak zorunda değildir. Referans belirleme çalışmalarında kullanılan olası dışlama kriterleri sıralanırsa;

- Alkol kullanımı veya madde bağımlılığı
- Sigara kullanımı
- Yakın zamanda geçirilmiş ameliyat
- Yakın zamanda kan donörü olma veya kan transfüzyonu yapılması
- İlaç kullanımı

- Vitamin kullanımı
- Kronik rahatsızlıklar (hipertansiyon, diyabet vb.)
- Obezite veya aşırı zayıflık
- Gebelik, emzirme veya menstürel durum gibi faktörler sayılabilir.

Referans bireylerin seçiminde çalışılması hedeflenen teste özgü dışlama ve kabul kriterleri yanında, gruplara ayırma kriterleri de belirlenmelidir. Gruplara göre referans aralık belirlerken, genellikle kullanılan yaş ve cinsiyete göre gruplara ayırmak gerekmektedir. Bazı çalışmalar bu gruplamanın haricinde farklı gruplamaları gerekli kılabilir.

- Gebeliğin dönemi
- Menstürel dönem
- Mevsimsel dönem
- Numunenin alınış saati

gibi çalışılan teste özgü gruplama çalışmaları yapılabilmektedir. Bu tamamen çalışılan test çeşidine ve bu etkenler sonucu oluşan farkların istatistik ve klinik olarak bir anlam ifade edip etmemesine bağlıdır. Bir çalışmada dışlanan bireyler için farklı bir referans aralık belirlemek gerekebilir. Bunun en önemli örneği gebelik sürecidir. Bu süreçteki denekler birçok çalışmada çalışma dışı bırakılırken; gebelik dönemi için ayrı bir referans aralık belirleme gerekliliği hayati öneme sahiptir.

Referans bireyler belirlenirken tüm bireylerin genç ve sağlıklı olması gibi bir durum test sonuçları açısından uygun değildir. Referans bireyler, belirlenen yaş gurubu ve cinsiyet için homojen sayıda dağılmalıdır. Yaş veya cinsiyete özgü gruplara ayrılarak referans aralık oluşturulmaması bile, bu guruplar arasındaki küçük farkları görmek; yaşa veya cinsiyete özgü daha büyük hasta popülasyonlarıyla çalışılmaya temel oluşturabilir. Unutulmaması gereken büyük popülasyonlarda daha çok veriyle çalışmanın gruplar arası farkı anlamlı kılabilceği ihtimalidir.

Bilimsel çalışmalar yapılırken diğer bir konu gönüllü onam formudur. Onam formları hastaları bilgilendirici olmalı, hasta veya sağlıklı bireyleri korkuya sevk etmemelidir. Bu konuda gönüllülük esası temel dayanak olmalıdır. Onam formlarında yaş, kilo, boy,

cinsiyet gibi verilerin yanında, dışlama kriterleri de eklenmiş olabilir. Hasta mahremiyeti göz önünde bulundurulmalı, hasta bilgileri kesinlikle paylaşılmamalıdır. Anormal değerlerin tespiti durumunda; hastaya geri dönüp, bilgi vermek amacıyla iletişim bilgileri onam formlarına eklenmelidir.

Referans aralığı iki referans sınır arasında kalan aralıktır ve genellikle verilerin % 95 ini bulandıran alanı ifade eder. Verilerin alt ve üst sınır dışında % 2,5 lik kısımları bulunmaktadır.

Bazı test sonuçları için (örneğin glukolize hemoglobin, kolesterol vb.) referans aralık gerekli değildir. Bu test değerlerinin belli sınır değerleri vardır. Laboratuvarların bu testler için referans aralık doğrulamasına gerek yoktur. Bu test sınıflaması dışındaki testler için referans aralık belirlemesi gereklidir ve her laboratuvar kendine özgü farklı sebeplerden dolayı farklı yöntemlerle referans aralık oluşturabilir. Bunlardan birincisi referans aralık belirlenmek istenen test yeni bir testtir ve literatür çalışması yeterli değildir. Literatür bilgisi sınırlı olan testler için kabul veya ret kriterleri, referans gurupları, numune alım saati vb. gibi etkenler laboratuvar çalışmalarıyla belirlenebilir. İkincisi laboratuvarların kendi bölgelerinin coğrafik, genetik, beslenme alışkanlığı veya çevresel faktörler gibi etkenleri göz önüne alarak kendi referans aralıklarını belirleme gereksiniminden kaynaklanır.

Üçüncü olarak ise kit üreticisi firmaların verdiği referans aralıkların, test çalışılan laboratuvarların kendi bölgesel popülasyonlarında kullanımının uygun olup olmadığını test etmek için yapılabilir. Test kiti üretici firmaların verdikleri referans aralıklarının uygunluğunu test etmek, referans aralık belirlemeden daha kolay ve daha az maliyetlidir. İzlenmesi gereken yöntemin aşamalarından ilki 20 kişilik referans birey gurubu oluşturulmasıdır. Bu kişilerden elde edilecek verilerden en fazla iki tanesi üretici firma referans aralığı dışında, diğerleri referans aralığı içinde ise üretici firma referans aralıklarının laboratuvarın kendi referans aralığı olarak kullanmasında sorun olmayacağı söylenebilir. Şayet ikiden fazla sonuç üretici firmanın verdiği referans aralığı dışında ise, ikinci 20 kişilik referans birey grubu oluşturup, bunlardan elde edilen sonuçların iki veya daha azının referans aralık dışında diğerlerinin referans aralığı içinde olması durumunda üretici firma referans aralıklarının laboratuvarların kendi referans aralığı olarak kullanılması kabul edilebilmekte, ikiden fazla değer yine firma referans aralığı dışında ise analitik prosedürler tekrar gözden geçirilerek laboratuvarların kendi referans aralıklarını belirlemesi gerekmektedir.

Günümüzde laboratuvarların kendi referans aralıklarını belirleme gerekliliği önerilse de hala birçok laboratuvar bu yaklaşımdan uzaktır. Laboratuvarlar gerek maliyet, gerekse zaman kısıtlamaları gibi nedenlerle üretici firma kit prospektüslerinde verilen referans aralıklarının kendi bölgelerine uygunluğunu test ederek kullanımı yolunu tercih etmektedir.

Referans aralık belirleme çalışmalarında referans bireylerin referans toplumu tam olarak yansıtacak şekilde seçilmesi önemlidir. Farklı bir konu ise referans bireylerinin sayısıdır. CLSI bu konu hakkında parametrik olmayan yöntemlerle % 90 güven aralığında hesaplama yapmanın her bir gurup (cinsiyet, yaş) için en az 120 bireye gereksinim duyduğu yönünde tavsiyede bulunmuştur. Bu sayı % 95 güven aralığı için 153 birey % 99 güven aralığı için ise 198 bireydir (Lilnet 1987).

Ulusal Klinik Biyokimya Akademisi (NACB) kılavuzlarında tiroid fonksiyon testleri için referans aralık belirleme çalışmalarında, referans birey seçiminde bazı kriterleri tavsiye etmiştir. Bu tavsiye; Referans birey sayısının; kendisi veya ailesinde tiroid fonksiyon bozukluğu öyküsü olmayan, TPOAb ve TGAb negatif olan en az 120 kişiden oluşması gerekliliğini ifade etmektedir (Chaker ve ark, 2016).

1.14 Preanalitik ve Analitik Evrelerin standardizasyonu

Referans belirleme çalışmalarında analiz öncesi veya analiz aşamalarında standardizasyon ve tekrarlanabilirlik kriterleri için dikkat edilmesi gereken hususlar vardır. **-Preanalitik evre;** biyolojik veya metodolojik etkenler olarak ayrılabilir. Biyolojik etkenler; referans bireylerin açlık veya tokluk durumları, numune almadan önceki fiziksel aktivite ve dinlenme durumları, numune alınırken içinde buldukları kaygı durumu, örneklerin alınma saati (sirkadiyen ritim gösteren test çalışmalarında), örneklerin alınma mevsimi gibi etmenler iken; metodolojik etkenler örneklerin alım şekli, turnikenin bağlanma süresi ve şekli, kan alımında kullanılan ekipmanlar (enjektör, kateter, vacutainer), kan alınan örnek tüplerinin çeşidi, numunelerin laboratuvarlara ulaştırılma şekli ve zamanı, fibrinleşmesi gereken numuneler için bekleme süresi, santrifüjleme (süresi, sıcaklığı, hızı), hemen çalışılmayacaksa saklama koşulları olarak sayılabilir.

Toplam test çalışma süreci içerisindeki en yüksek hata olasılığına sahip bu aşamaların doğru şekilde tanımlanması önemlidir (Sciacovelli ve ark, 2014).

-Analitik evre; numunelerin çalışma aşamasındaki standardizasyon aşamasıdır. Bu evrede dikkat edilmesi gereken durumlar arasında testin çalışıldığı cihazın kalibrasyon ve kontrollerinin önemi aşikardır. Direkt yöntemle referans aralık hesaplanırken çalışmaya başlanmadan önceki kalibrasyon ve kontrollerin değerleri yeterli olabilirken; indirekt yöntemle yapılacak çalışmalarda verilerin arşivden toplandığı süre boyunca kesintisiz kalibrasyon ve kontrol değerlerinin uygunluğu gerekmektedir. İdeal olan testleri mümkün olduğunca toplu ve kısa sürede çalışmak ve olası uygulama farklılıklarını ortadan kaldırmaktır. Bu aşamada kullanılan cihaz farklılıkları önemlidir. Farklı tip cihazlardan elde edilecek referans aralıkları ölçüm tekniklerine göre farklı olabilecektir (Barhanovic ve ark.2019). Analitik evre için standart, ilke ve tanımlar NCCLS C24 bölümünde tanımlanan şekil temel alınarak yapılmaktadır.

1.15 Referans Değer Verilerinin Analizi

Referans bireylerden elde edilen verilerden referans aralıklar hesaplanmadan önce aşılması gereken birkaç basamak vardır. Bunlardan ilki verilerin dağılım şeklidir. Verilerin dağılım şekline göre sonraki aşamalar belirlenmektedir. Veriler önce normal dağılıma uyup uymadıklarına göre ayrılmalıdır. Normal dağılıma uymayan veriler çeşitli yöntemlerle (örneğin logaritmik, üssel veya karekök) transforme edilerek normal dağılıma uygunlukları sağlanmaya çalışılabilir. Bu işlemler sonunda normal dağılıma uyan veriler için parametrik yöntem, uymayan veriler için ise non-parametrik yöntemler uygulanır. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediklerinin en kolay yolu histogram oluşturmaktır. Verilerin çok olduğu çalışmalarda bu aşılması gereken bir sorun gibi görülebilir. Günümüzde istatistik programları bu sorunu kolaylıkla çözmemizi sağlamaktadır. Çarpıklık ve diklik katsayılarına dayalı testlerden olan Kolmogorov-Smirnov testi, verilerin normal dağılım gösterip göstermediği değerlendirilmektedir (Bircan ve ark, 2003). Histogram incelenirken dağılımın bimodal veya polimodal olması; birden fazla alt grubun bulunduğu veya aykırı uç değer topluluğunun göstergesi olarak değerlendirilmektedir.

-Parametrik yöntem; Tüm verilerin normal dağılıma uyduğu ve homojen varyasyon gösterdiği kabul edilen veriler için uygulanan yöntemdir.

-Non-Parametrik yöntem; Verilerin normal dağılım göstermediği sağa veya sola çarpıklık gösteren veriler için uygulanması gereken yöntemdir.

Verilerin parametrik veya non-parametrik oluşu gerek ölçüm hatası kaynaklı, gerekse hastalık kaynaklı aşırı uç değerlerin çalışmadan dışlanması tekniklerinde farklı uygulamaları gerektirebilir. Bu uygulamalar içinde en önemlisi histogram değerlendirmesidir. Normal dağılıma sahip parametrik veriler için birçok istatistiksel metot vardır. Günümüzde parametrik veriler için aşırı uç veriler standart sapmadan (SD) faydalanılarak tespit edilebilir. Ortalama değerinin 3SD veya 4SD uzağında olan veriler çalışma dışı bırakılabilir(Özarda 2015). Non-Parametrik yöntemde ise aşırı uç değer saptanması için, Dixon metodu, Blok prosedürü, Grubbs T istatistiği, Boxplot çizimlerinde cut-off bulma yaklaşımı (Tukey metodu) gibi istatistiksel yöntemler kullanılmaktadır. Dixon tarafından önerilen Dixon (D) Aralık istatistiği, D/R kuralı uygulanarak yapılır. Burada D değeri en uç değer ile onun yanındaki değer arasındaki farkı, R ise tüm veriler içerisinde en büyük değer ile en küçük değer arasındaki aralık olan ranji ifade etmektedir. En uçtaki verinin çalışmaya dahil edilebilmesi için D/R değerinin 1/3 ten büyük olmaması gereklidir. D/R değeri 1/3 ten büyük ise çalışma dışı bırakılır, her çalışma dışı bırakılan veriden sonra bu işlem tekrar edilerek uç değerler ayıklanmış olur. (Dixon 1953). Çalışma verilerinde iki veya daha fazla aşırı uç veri varsa; en uçtaki aşırı değer yanındaki değer uç değer maskelenmesine neden olabilmektedir. Bu tür durumlarda uç gruptaki değerlerden veri ortalamasına en yakın olanında bu işlem yapılmalı, kendinden önce gelen değerle arasındaki fark 0.33 ten büyükse uç değerler grubu toplu olarak çalışma dışı bırakılmalı, fark 0.33 ten küçük ise uç değerler grubu çalışmaya dahil edilmelidir. Alternatif olarak tüm aykırı değerleri birlikte dikkate alan Blok prosedürü metodu da kullanılabilir (Barnett ve Lewis 1984).

Referans aralık hesaplarırken normal dağılımlarına bakılıp aşırı uç değerler çalışma dışı bırakılınca, dikkat edilmesi gereken diğer durum; gruplar arası fark olup olmasının değerlendirilmesidir. Gruplara ayırmada ilk gözlem yine histogram değerlendirmesidir. Bimodal veya multimodal histogramlı verilerin alt gurupları olduğu aşikârdır. Bunun

yanında güncel istatistiki metotlar bu sorunun çözümünde hayli kaktı sağlamaktadırlar. İstatistiki hesaplamalar, farkın anlamlılığını belirlemiş ve bu fark klinik olarak yarar sağlayıp, fizyolojik olarak tam anlamıyla sınıflandırılabilirse; gruplama gerekli olabilir. En yaygın kullanılan yöntem ortalama ve SD'lerinin farkının anlamlı olduğu alt grup değerlendirmesidir.

1.16 Referans Aralıkların Hesaplanması

- **Parametrik yöntem;** veriler normal dağılıma uygundur ve homojen varyasyon gösterirler. Parametrik verilerin referans aralıklarının hesaplanmasında aritmetik ortalama ve SD'dan yararlanılarak formüle edilebilir.

Alt sınır olan 2,5 lik yüzdilik: Ortalama – 1,96 x SD

Üst sınır olan 97,5 lik yüzdilik: Ortalama + 1,96 x SD

Bu iki değer arasında kalan sınırlar %95 güven aralığında referans aralık değerlerini vermiş olur.

-**Non-Parametrik yöntem;** veriler normal dağılıma uymazlar. Dikkat edilmesi gereken; referans aralığı hesaplanacak her grup için veri sayısının 120 den az olmaması gerekliliğidir. Non-parametrik yöntemde en sık kullanılan metot CLSI klavuzlarında tavsiye edilen yüzde tahmini yöntemidir. Bu yöntemle alt ve üst değerler kesin olarak elde edilebilir. Veriler büyükten küçüğe doğru sıralanır ve aşağıdaki formül uygulanır.

Alt değer = 0,025 x (n+1)

Üst değer = 0,975 x (n+1)

Burada “n” veri sayısını göstermektedir. Hesaplama sonucu her zaman tam sayıyı vermeyebilir, bu durumda sayı yuvarlanarak tam sayı elde edilir (örneğin hesaplama sonucu 18,5 çıkarsa 19 a yuvarlanır ve referans aralık sınır değeri 19. sıradaki değerdir). Bu hesaplama sonunda % 2,5 alt ve üst değerler belirlenip % 95 güven aralığında referans değerler elde edilmiş olur (Yılmaz 2019).

2. AMAÇ

Çalışmamızda Kocaeli bölgesi için tiroid fonksiyon testleri (T3,T4 ve TSH) referans aralıklarını; iki farklı referans aralık belirleme yöntemi kullanarak belirlemek amaçlandı. Prospektif (direkt) yöntemle Kocaeli ili Aile Sağlığı Merkezleri ve Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesine farklı sebeplerle gelen, tiroid fonksiyonları açısından sağlıklı olduklarını beyan eden, dışlama kriterlerimize uygun, onam formları alınmış, 18 yaşından büyük 450 bireyle yürütüldü. Retrospektif (indirekt) yöntemle oluşturulan referans aralıklar ise Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarı bilgi sistemi kullanılarak 01-Mart-2018 ile 28-Şubat-2020 tarihleri arasında Aile hekimliği birimine müracaat eden, sT3, sT4 ve hTSH test sonuçları olan birey sonuçlarından elde edildi. Her iki yöntemle elde edilen referans aralıkların karşılaştırması ve bu veriler doğrultusunda, hali hazırda kullanılan kit üretici firmaların kullanıcılarına sunduğu referans aralıkları ile karşılaştırmak ve böylece bölgemiz hakkında tiroid fonksiyonları açısından daha doğru yorum yapabilmek ve çalışma sonuçlarımıza göre kullanımda olan referans aralıklarını güncellemek hedeflendi.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 19.06.2019 tarih, 2019/196 nolu onayı ile Sağlık Bilimleri Enstitüsü kararı ile yapılmıştır. Direkt yöntemle yapılan çalışmada referans bireyler çalışma hakkında bilgilendirilerek aydınlatılmış onam formları alınmıştır.

3.1 Çalışma Planı

Bu çalışma prospektif ve retrospektif yöntemlerin ikisi ile ayrı ayrı hesaplanıp, karşılaştırmaları yapılmış referans aralık çalışmasıdır. CLSI'nın EP28-A3C tavsiyeleri doğrultusunda Kocaeli bölgesinin sT3, sT4, TSH testlerinin referans aralıklarının hesaplanabilmesi için gerekli literatür araştırması yapıldı. Aydınlatılmış onam formları hazırlandı, dışlama ve kabul kriterleri belirlendi. Prospektif çalışma için gerekli hasta sayısı belirlendi. Gerekli yaş ve cinsiyet homojenitesi için çalışmanın 200 kadın 200 erkek referans bireyle yapılması kararına varıldı. Kadın ve erkek bireylerin yaş aralığının 18'den büyük olmasına ve her yaş grubu (1. Grup;18-28 yaş, 2. Grup; 29-38 yaş, 3. Grup; 39-48 yaş, 4. Grup;49-58 yaş, 5. Grup; 59 yaşından büyük olanlar) için aynı sayıda birey olması gerekliliğine karar verildi.

Çalışmaya katılan bireylerin tiroid fonksiyonları açısından sağlıklı oldukları, dışlama kriterlerine uydukları, ailelerinde ve kendilerinde tiroid fonksiyon bozukluğu geçmişi bulunmadığı kabul edilse bile subklinik tiroid fonksiyon bozukluğu olabileceği bilinmektedir. Bu sorunu aşmak ve bu bireyleri tespit edip dışlayabilmek için önce TSH çalışılmasına; TSH sonucu diğer hastalara göre göreceli olarak yüksek olanlara ($> 2,5$) Anti -TPO antikor çalışılmasına; sonucu pozitif olanların çalışma dışı bırakılmasına karar verildi. Anti-TPO sonucu negatif olan örnekler ile Anti-TG antikor testi çalışılmasına; sonucu pozitif çıkanların çalışma dışı bırakılmasına, negatif olanların ise çalışmaya dahil edilmesine kadar verildi. Böylelikle Anti-TPO veya anti-TG antikorundan herhangi biri pozitif çıkacak birey çalışma dışı bırakılmış oldu. Bu sebeple hesaplama katılacak toplam 400 bireye ait sonuç elde edebilmek için, çalışmaya 450 bireyle başlanmasının uygun olacağına karar verildi.

Retrospektif çalışma için Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Laboratuvar bilgi sisteminde 01-Mart-2018 ile 28-Şubat-2020 tarihleri içerisinde Aile hekimliği biriminden sT3, sT4, TSH test sonuçları olan hastalar CLSI'nın EP28-A3C önergelerine uygun şekilde çalışmaya dahil edilerek çalışma grubu oluşturuldu. Retrospektif referans aralık belirleme çalışmalarında test sonuçlarının sorunlu olabileceği düşünülen birimlerin (onkoloji, yoğun bakımlar vb.) çalışmaya dâhil edilmemesi önerilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda diğer birimlere göre daha sağlıklı veriye sahip olduğunu gözlemlediğimiz, yeterli sayıda veriye sahip olan Aile hekimliği biriminin verilerini kullanıldı. Birden fazla test sonucu olan kişilerin sonuçları çalışmaya dahil edilmedi.

Prospektif çalışma için gerekli referans bireylerin Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarı kan alma birimine veya Kocaeli İli İzmit ilçe Aile Sağlığı Merkezlerine başvuran, dışlama kriterlerine uygun gönüllülerden seçilmesine karar verildi. Referans bireylerle yüz yüze görüşme yapılarak, çalışma hakkında bilgi verildi. Dışlama ve kabul kriterleri değerlendirilip, çalışmaya katılacak bireylerden onam formları alındı.

DIŞLAMA KRİTERLERİ

- Ailede Tiroid öyküsü
- Yakın zamanda hastalık hikâyesi
- Kronik hastalık varlığı
- Yakın zamanda transfüzyon veya donör olma
- Gebelik ve emzirme
- İlaç bağımlılığı
- Ameliyat: Son 3 ay içinde
- Açlık ve tokluk durumu
- Obezite, kilo artışı veya kilo kaybı veya iştahsızlık
- Sigara (>20/gün), alkol bağımlılığı

- Hipotansiyon veya hipertansiyon durumu
- Vitamin kullanımı
- Oral kontraseptifler
- Halsizlik, Sinirlilik, Uykusuzluk, yorgunluk, kas güçsüzlüğü,
- Soğuğa veya sıcağa karşı tahammülsüzlük
- Donuk duygu durumu, hatırlama güçlüğü, titreme

Tiroid fonksiyon testlerinin sirkadiyen ritim göstermesi göz önüne alınarak numuneler 12 saat açlıktan sonra 08.30-10.00 saatleri arasında, içerisinde antikoagulan veya farklı bir etken madde olmayan kırmızı kapaklı biyokimya tüplerine alındı. Gerekli fibrinleşmenin sağlanması için bir süre bekletilen numuneler 1800 g'de 15 dk. santrifüj edilerek serumları elde edildi. Elde edilen serumlar porsiyon ve kimliklendirme işlemlerinden sonra çalışma gününe kadar -80 °C dereceli soğutmalı dondurucuda muhafaza edildi. Çalışma günü tam çözülmenin sağlanması için 1-2 saat arası oda sıcaklığında bekletildi. Vorteks işleminden geçirilip çalışmaya hazır hale getirildi.

3.2 Kullanılan Cihaz ve Kitler

Çalışmamızda gerek Retrospektif gerekse Prospektif veriler Beckman Coulter UniCel DxI 800 immunoassay sistem cihazında, orijinal kitler kullanılarak yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Cihaz kalibrasyon ve internal kontrolleri Beckman Coulter tarafından temin edilen orijinal kalibratör ve kontrollerle yapılmaktadır. Eksternal kalite kontrolleri ise BIO-RAD firmasının External Quality Assurance Services(EQAS) Immunoassay Program kontrolü ile yapılmaktadır.

3.3 Test Ölçüm Yöntemi

-TSH; TSH analizi Access Immunoassay Sistemleri kullanılarak, insan serumundaki TSH seviyelerinin kantitatif tayinine yönelik paramanyetik partiküllü bir kemilüminesans immünoanalizidir. Bu test 3ncü jenerasyon olduğu için hipersensitive TSH (hTSH) test sonuçları sağlar. Access hTSH testi sandviç yöntemle analiz esasına dayanan immünoenzimatik bir testtir. Keçi anti hTSH alkalın fosfataz konjugatı, tamponlanmış protein çözeltisi ve immobilize fare monoklonal anti hTSH antikoru kaplı paramanyetik partiküller içeren reaksiyon kabına bir örnek eklenir (Keçi anti fare antikoru; fare anti-

hTSH antikorunu immobilize etmek için kullanılır). Keçi anti hTSH alkalın fosfataz konjugatı hTSH üzerindeki farklı bir antijenik bölgeyle reaksiyona girerken, hTSH katı faz üzerindeki immobilize monoklonal anti-hTSH'a bağlanır. Bir reaksiyon kabındaki inkübasyonun ardından maddeler katı faza bağlanır ve bağlanmamış maddeler yıkanır. Daha sonra kemilüminesans substrat Lumi-Phos* 530 kaba eklenir ve reaksiyonun oluşturduğu ışık bir luminometre kullanılarak ölçülür. Işık üretimi, örnekteki insan TSH konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Örnekteki analit miktarı daha önce hesaplanmış olan çok noktalı bir kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanır.

-sT3; sT3 analizi insan serumunda, Access Immunoassay Sistemleri kullanılarak yapıldı. Access Free T3 testi, sT3 seviyelerinin kantitatif tayinine yönelik paramanyetik partikül bir kemilüminesans immünoanalizidir. Access Free T3 testi, kompetitif bağlanma içeren immünoenzimatik bir testtir. Alkalın fosfatazla birleşmiş anti-T3 monoklonal antikor konjugatı içeren reaksiyon kabına bir örnek eklenir. İnkübasyon sırasında, örnekteki serbest T3, anti-T3 antikoruyla reaksiyona girer. Daha sonra streptavidin ve biyotinize T3 analoguyla kaplı partiküller karışma eklenir. Anti-T3 antikor üzerindeki boş bağlanma bölgeleri, T3 analogu aracılığıyla partikülle birleşir. Bir reaksiyon kabındaki inkübasyonun ardından, maddeler katı faza bağlanır ve bağlanmamış maddeler yıkanır. Daha sonra kemilüminesans substrat Lumi-Phos* 530 kaba eklenir ve reaksiyonun oluşturduğu ışık bir luminometre kullanılarak ölçülür. Işık üretimi, örnekteki sT3 konsantrasyonuyla ters orantılıdır. Örnekteki analit miktarı daha önce hesaplanmış olan çok noktalı bir kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanır.

-sT4; sT4 analizi insan serumunda, Access Immunoassay Sistemleri kullanılarak yapıldı. Access Free T4 testi, sT4 seviyelerinin kantitatif tayinine yönelik paramanyetik partikül bir kemilüminesans immünoanalizidir. Analiz iki adımlıdır, ilk adımda; reaksiyon kabına, biyotin, örnek, tamponlanmış protein çözeltisi ve streptavidin kaplı katı fazla birleşmiş monoklonal anti-T4 antikor eklenir. Bu ilk inkübasyon sırasında, biyotikle birleşmiş anti-T4 antikor örnekteki katı faza ve sT4'e bağlanır. Bir reaksiyon kabındaki inkübasyonun ardından, maddeler katı faza bağlanır ve bağlanmamış maddeler yıkanır. İkinci adımda; reaksiyon kabına tamponlanmış protein çözeltisi ve T3 alkalın fosfataz konjugatı eklenir. T3 alkalın fosfataz konjugatı boş anti T4 antikor bağlanma bölgelerine bağlanır. Bir reaksiyon kabındaki inkübasyonun ardından, maddeler katı faza bağlanır ve bağlanmamış maddeler yıkanırken, manyetik bir alanda tutulur. Daha sonra kemilüminesans substrat Lumi-Phos* 530 kaba eklenir ve reaksiyonun oluşturduğu ışık bir luminometre kullanılarak ölçülür. Işık üretimi örnekteki sT4 konsantrasyonuyla ters

orantılıdır. Örnekteki analit miktarı daha önce hesaplanmış olan çok noktalı bir kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanır.

-Anti-TPO; Anti-TPO analizi insan serumunda, Access Immunoassay Sistemleri kullanılarak yapıldı. Access TPO antikor (TPOAb) testi, seviyelerinin kantitatif tayinine yönelik paramanyetik partikül bir kemilüminesans immünoanalizdir. Access TPOAb analizi ardışık iki-adımlı (“sandwich”) immünoenzimatik testtir. TPO proteiniyle kaplı paramanyetik partiküller içeren bir reaksiyon kabına örnek ilave edilir. Serum veya plazma TPOAb'si TPO'ya bağlanır. Protein A-alkalin fosfataz konjugatı eklenir ve TPOAb'ye bağlanır. İkinci inkübasyondan sonra, bağlanmayan maddeler yıkanırken, katı faza bağlanan maddeler manyetik bir alanda tutulur. Daha sonra kemilüminesans substrat Lumi-Phos* 530 kaba eklenir ve reaksiyonun oluşturduğu ışık bir luminometre kullanılarak ölçülür. Işık üretimi örnekteki TPOAb konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Örnekteki analit miktarı daha önce hesaplanmış olan çok noktalı bir kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanır.

-Anti-TG; Anti-Tg analizi insan serumunda, Access Immunoassay Sistemleri kullanılarak yapıldı. Access Tg antikor (TgAb) testi, seviyelerinin iki basamaklı immünoenzimatik (“sandviç”) olarak kantitatif tayinine yönelik paramanyetik partikül bir kemilüminesans analizdir. Tg proteiniyle kaplı paramanyetik partiküller içeren bir reaksiyon kabına örnek ilave edilir. Serum TgAb'si Tg'e bağlanır. Reaksiyon kabındaki inkübasyonun ardından, katı faza bağlanan maddeler manyetik bir alanda tutulurken bağlanmamış maddeler yıkanıp uzaklaştırılır. Tg-alkalin fosfataz konjugatı eklenir ve TgAb'ye bağlanır. İkinci inkübasyonun ardından, katı faza bağlanan maddeler manyetik bir alanda tutulurken bağlanmamış maddeler yıkanıp uzaklaştırılır. Daha sonra kemilüminesans substrat Lumi-Phos* 530 kaba eklenir ve reaksiyonun oluşturduğu ışık bir luminometre kullanılarak ölçülür. Işık üretimi örnekteki TgAb konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Örnekteki analit miktarı daha önce hesaplanmış olan çok noktalı bir kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanır.

3.4 Verilerin Elde Edilmesi ve İstatistiksel Analiz

Toplam 450 referans birey örneği ile TSH testi çalışıldı. TPO veya Tg'e karşı oto antikorlarının gelişmesi sonucu hormonal denge bozukluğunun başlangıç süreci olan subklinik dönemde vücut; T3 ve T4 hormon seviyelerinin yeterli düzeyde sentezlenebilmesi için TSH hormon seviyesini artırma eğilimine girer. Bu sebeple TPO veya Tg oto antikorlarının pozitif olma ihtimali daha yüksek olan; sonuç değeri görece

olarak daha yüksek ($>2,5$ $\mu\text{IU/ml}$) olan 97 örnekle önce Anti-TPO çalışıldı. Anti-TPO sonuçları pozitif olan 16 örnek çalışma dışı bırakıldı. Anti-TPO sonucu negatif olan 81 örnekle ile Anti-Tg testi çalışıldı sonucu pozitif olan 6 örnek çalışma dışı bırakıldı. Sonuç olarak TPO veya Tg oto antikorundan herhangi biri pozitif olan örnekler çalışma dışı bırakılırken iki test sonucuda negatif olan sonuçlar çalışmaya dahil edildi.

Numunesi yetersiz olan veya pipetleme sorunu veya farklı nedenlerde sonuç alamadığımız örnekler sonunda çalışmamızda 420 TSH sonucu, 407 sT3 sonucu ve 411 sT4 sonucundan oluşan veri seti elde edildi.

Çalışmanın sonunda direkt ve indirekt yöntemlerle elde edilen veriler Excel programına aktarılarak yaş, cinsiyet bilgileri girildi. Bu aşamadan sonra hazırlanan Excel dosyaları (direkt ve indirekt) IBM SPSS Statistics 24.0 programına aktarıldı. Verilerin histogramları değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma uygunluk testi Kolmogorov-Smirnov ile yapıldı. Normal dağılıma uyan testler için parametrik metotlar doğrultusunda aykırı uç değerler histogram değerlendirmesi ile birlikte SD kuralına göre; $\pm 4\text{SD}$ aralığı dışındakiler hesaplama dışı bırakıldı. Normal dağılım göstermeyen testler için Non-parametrik metotlar doğrultusunda aykırı uç değerlerin tespiti histogram değerlendirmesi ve Dixon metodu uygulanarak sağlandı. Aykırı uç değerlerin ayıklanması sonucunda elde edilen verilerin dağılımlarına tekrar bakıldı. Normal dağılım gösteren testler için cinsiyetler arasında farkın anlamlı olup olmadığına bağımsız örneklem T-testi ile, normal dağılıma uymayan testler için Mann-Whitney U testi uygulanarak karar verildi. Yaşa göre homojen bir dağılım elde etmek için oluşturduğumuz yaş grupları arasında fark olup olmadığına bakıldı. Normal dağılıma uyan yaş gurupları için Tukey testi, normal dağılıma uymayan veriler için Tamhane's testi uygulandı.

Normal dağılım gösteren testlerin referans aralıkları standart sapmadan (SD) faydalanılarak hesaplandı (Alt sınır: $\text{Mean} - 1,96 \times \text{SD}$, Üst sınır: $\text{Mean} + 1,96 \times \text{SD}$). Normal dağılım göstermeyen testlerin referans aralıkları 'n' veri sayısını göstermek şartı ile alt değer = $0,025 \times (n+1)$, üst değer = $0,975 \times (n+1)$ formülü (tam sayı olmayan değerler tam sayıya yuvarlandı) kullanılarak referans aralık sınır değerleri bulundu.

4. BULGULAR

Prospektif çalışma sonucu oluşturduğumuz referans birey grubundan yetersiz numune veya pipetleme hatası nedeniyle sonuç alınamayan, Anti-TPO veya Anti-TG test sonucu pozitif olan ve aşırı uç değer olduğu belirlenip çalışma dışı bırakılan verilerden sonra hTSH için 420, sT3 için 407, sT4 için 411 adet veri elde edildi. Retrospektif çalışma için Kocaeli Üniversitesi Hastanesi Nucleus bilgi sisteminden CLSI'nın EP28-A3C önergelerine uygun olarak tekrar örnekleri dışlanıp aşırı uç değerlerden arındırıldıktan sonra hTSH için 2874, sT3 için 1163, sT4 için 2072 adet veri elde edildi.

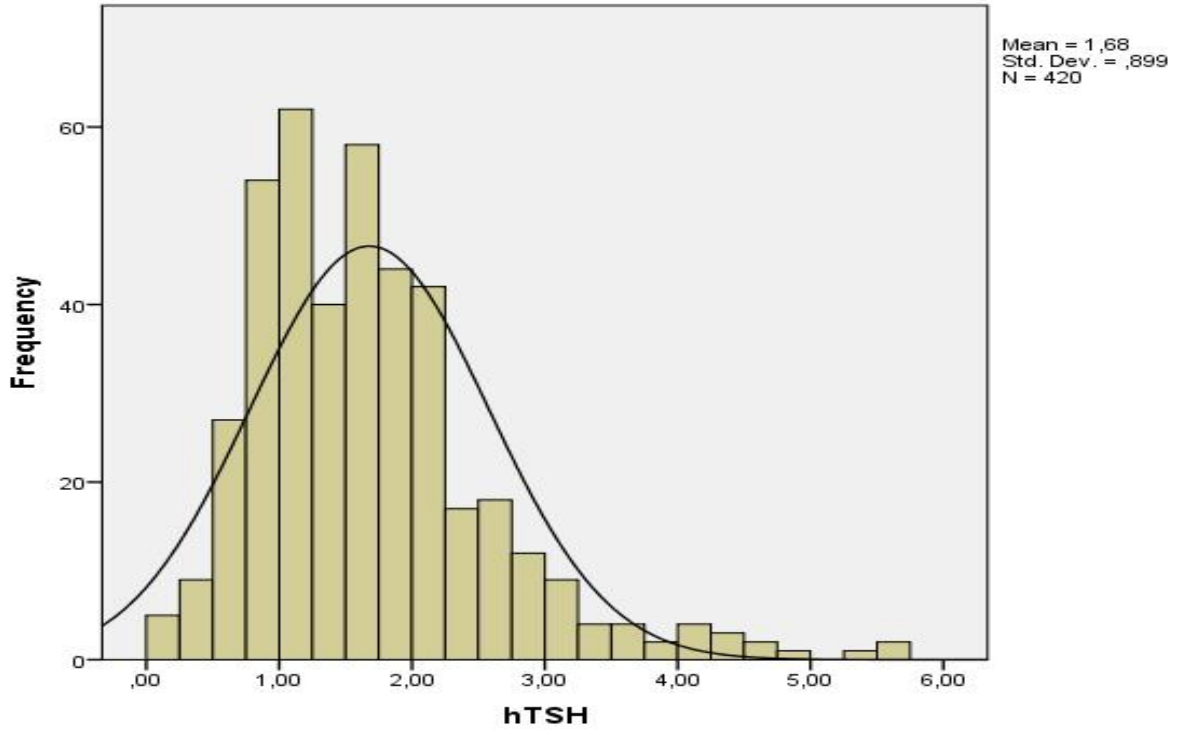
4.1 Prospektif Çalışma Sonuçları

Prospektif yöntemle elde edilen hTSH, sT3 ve sT4 test sonuçlarının Descriptive (tanımlayıcı) analizi Tablo 4.1 de gösterilmiştir

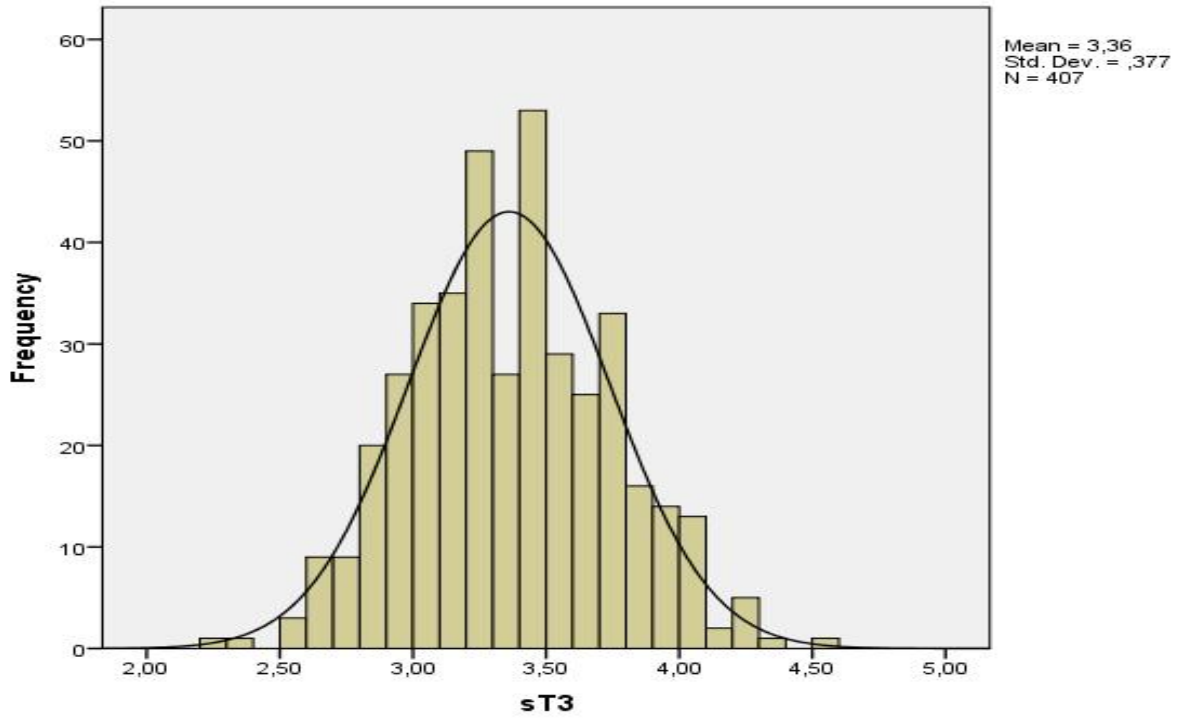
Tablo 4.1 Prospektif verilerin tanımlayıcı istatistik tablosu.

	n	ort ± ss	medyan (min-maks.)
sT3	407	3,36± 0,38	2,25 (2,30-4,55)
sT4	411	0,78± 0,12	0,79 (0,44-1,23)
hTSH	420	1,67± 0.90	5,59 (0.08-5,67)

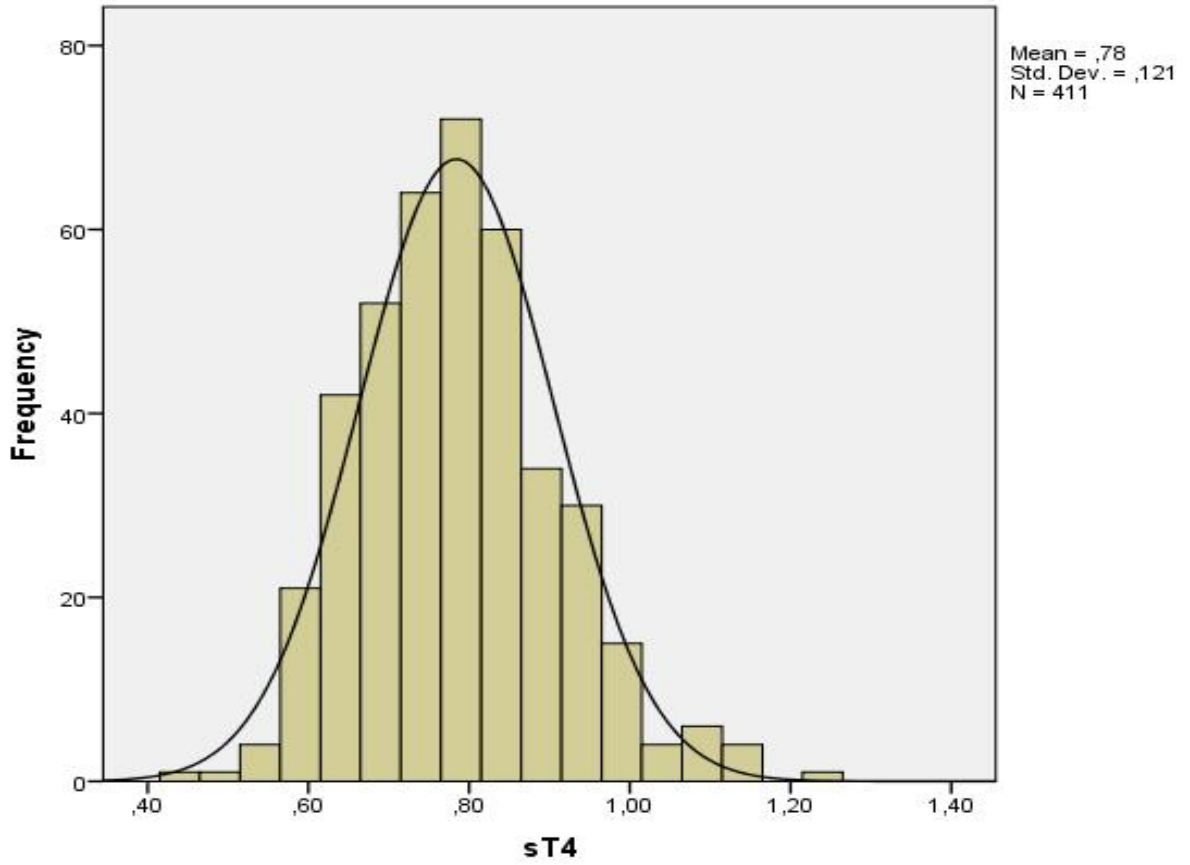
Prospektif yöntemle elde edilen hTSH, sT3 ve sT4 test sonuçlarının dağılım grafikleri Şekil 4.1-4.2 ve 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Prospektif yöntem hTSH veri dağılımı



Şekil 4.2. Prospektif yöntem sT3 veri dağılımı



Şekil 4.3. Prospektif yöntem sT4 veri dağılımı

Normal dağılıma uygunlukları test edildiğinde veri sayısı 30 dan fazla olduğu için bakılması gereken Kolmogorov-Smirnov testinin anlamlılık düzeyi (P değeri) 0.05'ten büyük olan sT3 testi verilerinin normal dağılım gösterdiği anlamlılık düzeyi 0.05'ten küçük olan TSH ve sT4 test verilerinin ise normal dağılıma uymadıkları gözlemlendi. (Tablo 4.2)

Tablo 4.2. Prospektif verilerin normal dağılım test tablosu

	Kolmogorov-Smirnov P değeri	Shapiro-Wilk P değeri
sT3	,162	,597
sT4	,019	,001
hTSH	,000	,000

Normal dağılıma uyan sT3 için cinsiyetler arası farkın anlamlılığına bağımsız örneklem T testi ile bakıldığında grupların homojen dağılıma sahip olduğu ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü. (Tablo 4.3 ve Tablo 4.4)

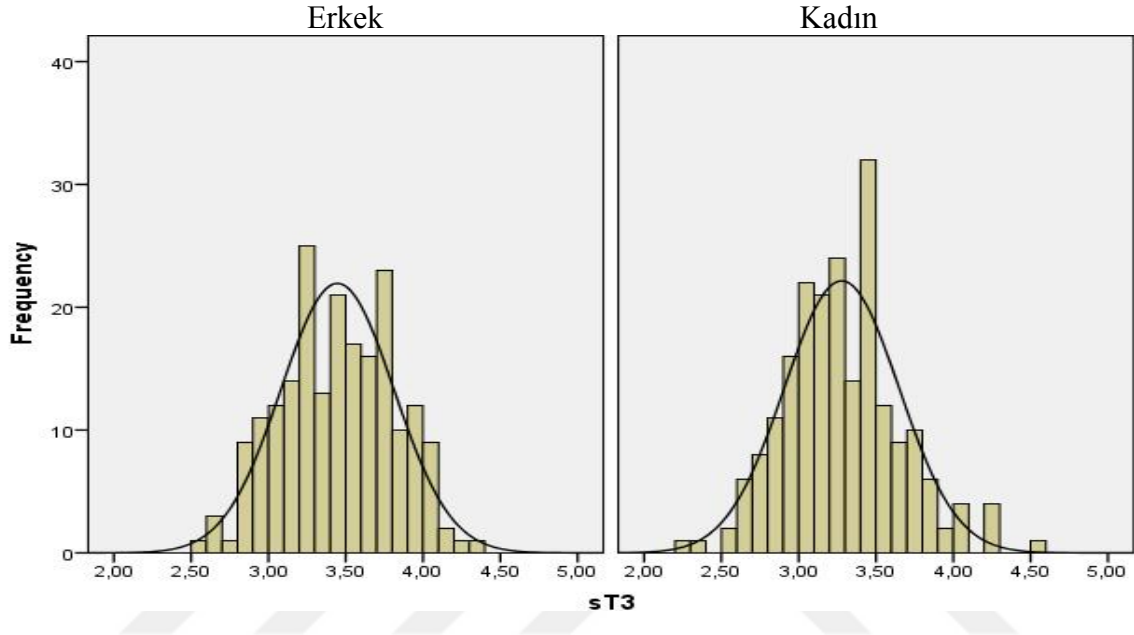
Tablo 4.3. Prospektif sT3 Cinsiyet değerleri

	CİNSİYET	Veri sayısı	Ortalama ± Standart sapma
sT3	kadın	206	3,2779± 0,37097
	erkek	201	3,4461± 0,36543

Tablo 4.4. Prospektif sT3 Cinsiyetler arası Bağımsız Örneklem t-testi (F değeri varyansların homojen olup olmadığını test etmek için kullanılır. Hemen yanından Sig. değeri 0,05'ten küçükse varyanslar homojen değil demektir. Bu durumda alttaki satır kullanılır üstteki satırdaki değerler hiç dikkat alınmaz. Fakat bu örnekte olduğu gibi F'nin yanındaki Sig. değeri 0,05'ten büyükse varyansların homojen olduğuna karar verilir ve üst satır kullanılır. Bu tabloda Sig. (2-tailed) değeri gruplar arasında fark olup olmadığını gösteren değerdir. Bu değer 0,05'ten küçükse gruplar arasında fark olduğuna karar verilir).

Levene's Test for Equality of Variances			t-test for Equality of Means							
									95% Conf. Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig.	M. Diff.	Std.Err.Diff.	Lower	Upper	
sT3	Varyansların eşit olduğu varsayımı	,257	,612	-4,60	405	,000	-,16821	,03651	-,23998	-,09643
	Varyansların eşit olmadığı varsayımı			-4,60	404,96	,000	-,16821	,03650	-,23996	-,09645

Bu sonuçlara göre sT3'ün cinsiyetler arası ayrımı yapılarak elde edilen dağılım grafikleri Şekil 4.4 de verildiği gibidir.



Şekil 4.4. Prospektif yöntem (Kadın-Erkek) sT3 veri dağılımı

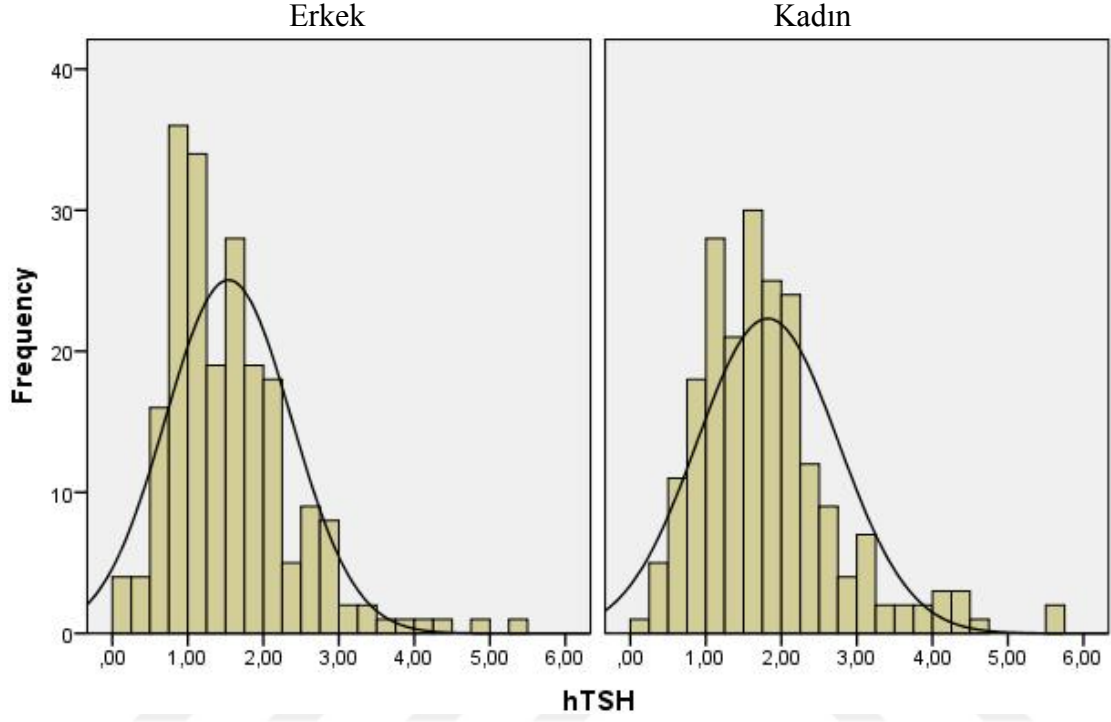
Normal dağılım göstermeyen hTSH ve sT4 için cinsiyetler arası farkın anlamlılığına bakıldığında (Mann-Whitney testinin sig.(anlamlılık) değeri 0.05'ten küçük olduğundan dolayı) iki test için istatistiki olarak anlamlı fark bulundu(Tablo 4.5)

Tablo 4.5. Prospektif hTSH ve sT4 cinsiyet arası farkın anlamlılığı(Asymp. Sig. (2-tailed):değer 0.05' ten küçükse guruplar arası fark olduğu anlamına gelir)

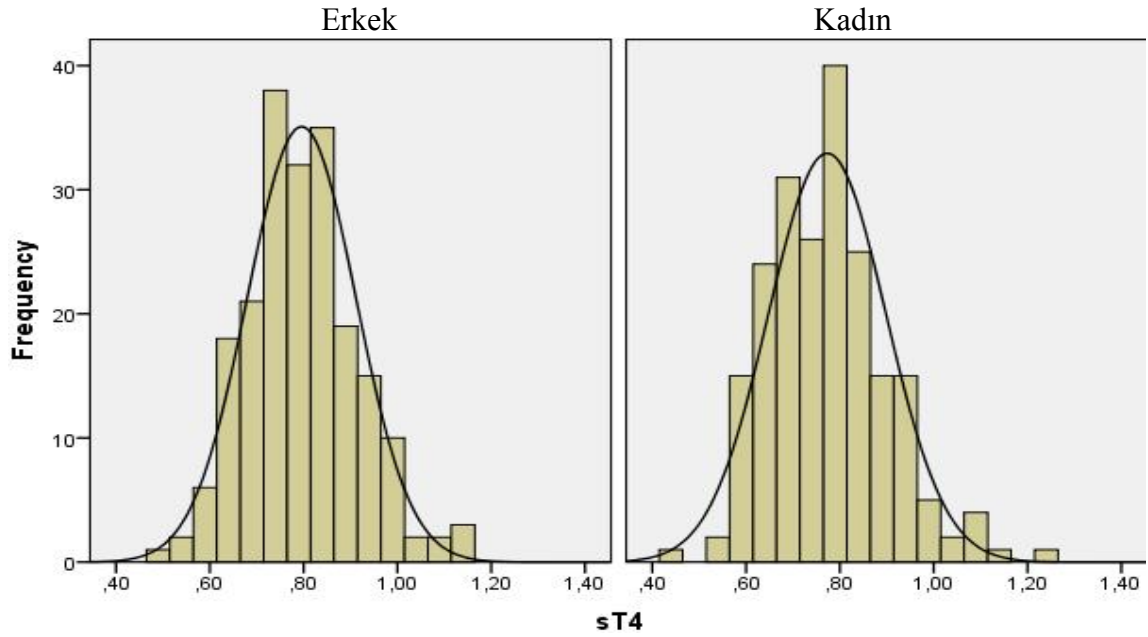
Test Statistics ^a		
	sT4	hTSH
Mann-Whitney U	18555,000	17716,000
Wilcoxon W	40083,000	39871,000
Z	-2,126	-3,484
Asymp. Sig. (2-tailed)	,033	,000

a. Grouping Variable: CİNSİYET2

Bu sonuçlara göre hTSH ve sT4'ün cinsiyetler arası ayrımı yapılarak elde edilen dağılım grafikleri Şekil 4.5 ve 4.6 da verildiği gibidir.



Şekil 4.5. Prospektif yöntem (Kadın-Erkek) hTSH veri dağılımı



Şekil 4.6. Prospektif yöntem(Kadın-Erkek) sT4 veri dağılımı

Sonuç olarak Prospektif çalışmada yapılan istatistiki değerlendirmeler sonucu sT3 test sonuçlarının normal dağılım gösterdiği hTSH ve sT4 testlerinin ise normal dağılıma uymadıkları görüldü. Tüm testler için cinsiyete göre gruplar arası istatistiki yönden anlamlı fark bulundu. Bu bilgiler doğrultusunda referans aralıkları hesaplandı.

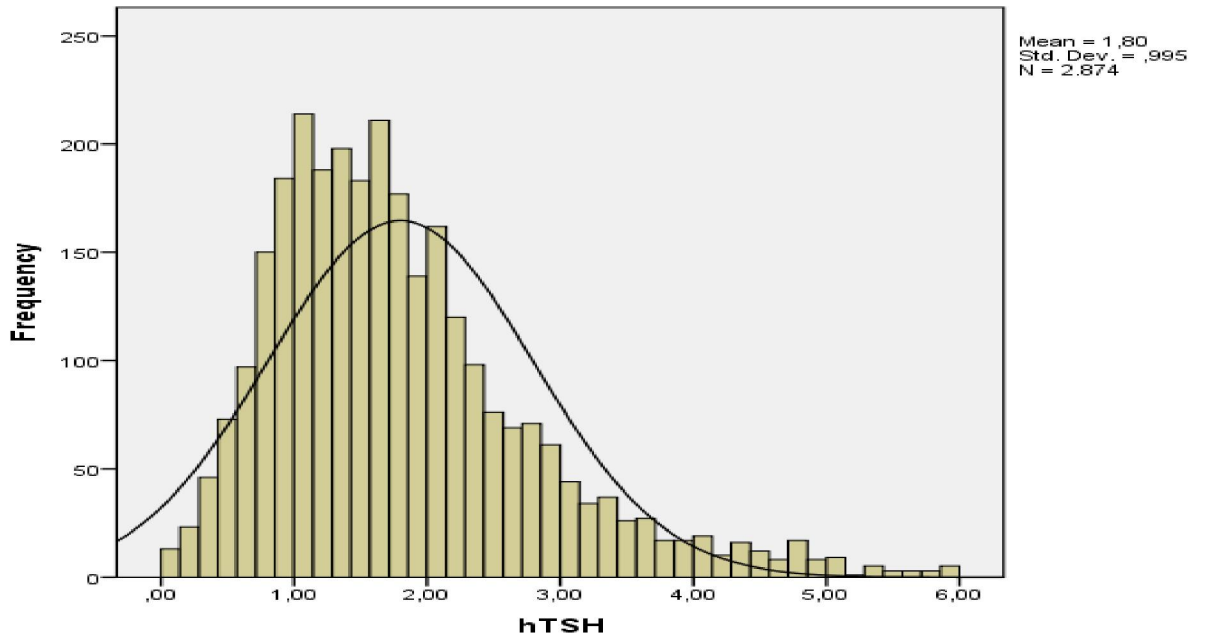
4.2 Retrospektif Çalışma Sonuçları

Retrospektif yöntemle elde edilen hTSH, sT3 ve sT4 test sonuçlarının Descriptive (tanımlayıcı) analizi Tablo 4.6 de gösterilmiştir.

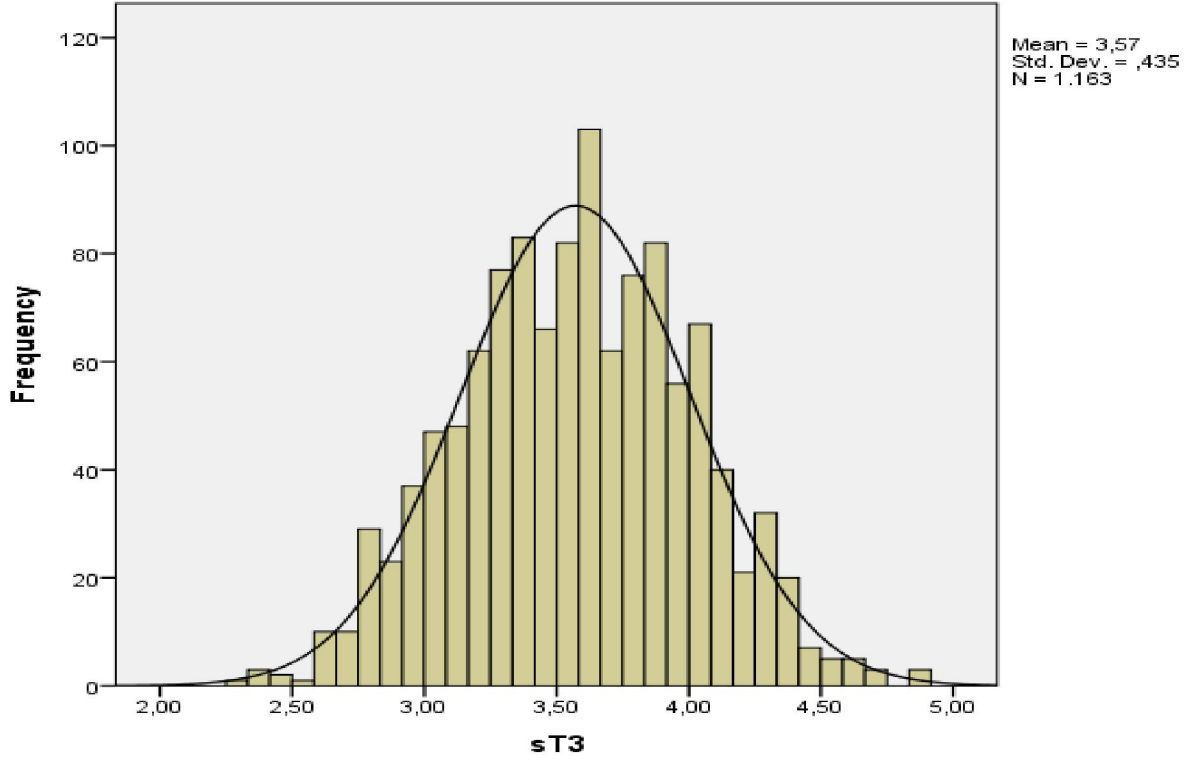
Tablo 4.6. Retrospektif verilerin tanımlayıcı istatistik tablosu.

	n	ort ± ss	medyan (min-maks.)
sT3	1163	3,57± 0,43	2,57 (2,31-4,88)
sT4	2072	0,85± 0,13	0,87 (0,42-1,29)
hTSH	2874	1,80± 0,99	5,93 (0,05-5,98)

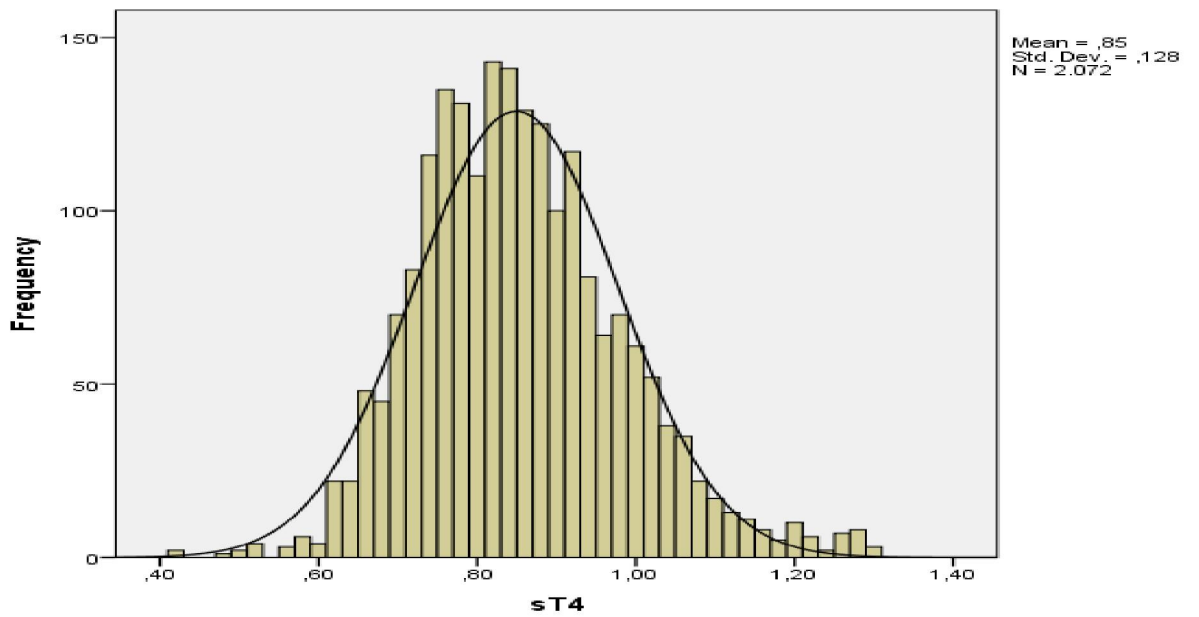
Retrospektif yöntemle elde edilen hTSH, sT3 ve sT4 test sonuçlarının dağılım grafikleri Şekil 4.7-4.8 ve 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.7. Retrospektif yöntem hTSH veri dağılımı



Şekil 4.8. Retrospektif yöntem sT3 veri dağılımı



Şekil 4.9. Retrospektif yöntem sT4 veri dağılımı

Normal dağılıma uygunlukları test edildiğinde veri sayısı 30 dan fazla olduğu için bakılması gereken Kolmogorov-Smirnov testinin anlamlılık düzeyi (P değeri) 0.05'ten büyük olan sT3 testi verilerinin normal dağılım gösterdiği anlamlılık düzeyi 0.05'ten küçük olan TSH ve sT4 test verilerinin ise normal dağılıma uymadıkları gözlemlendi. (Tablo 4.7)

Tablo 4.7. Retrospektif verilerin normal dağılım test tablosu

	Kolmogorov-Smirnov P Değeri	Shapiro-Wilk P Değeri
sT3	,071	,084
sT4	,000	,000
hTSH	,000	,000

Normal dağılıma uyan sT3 için cinsiyetler arası farkın anlamlılığına bağımsız örneklem T testi ile bakıldığında grupların homojen dağılıma sahip olduğu ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü(Tablo 4.8 ve Tablo 4.9)

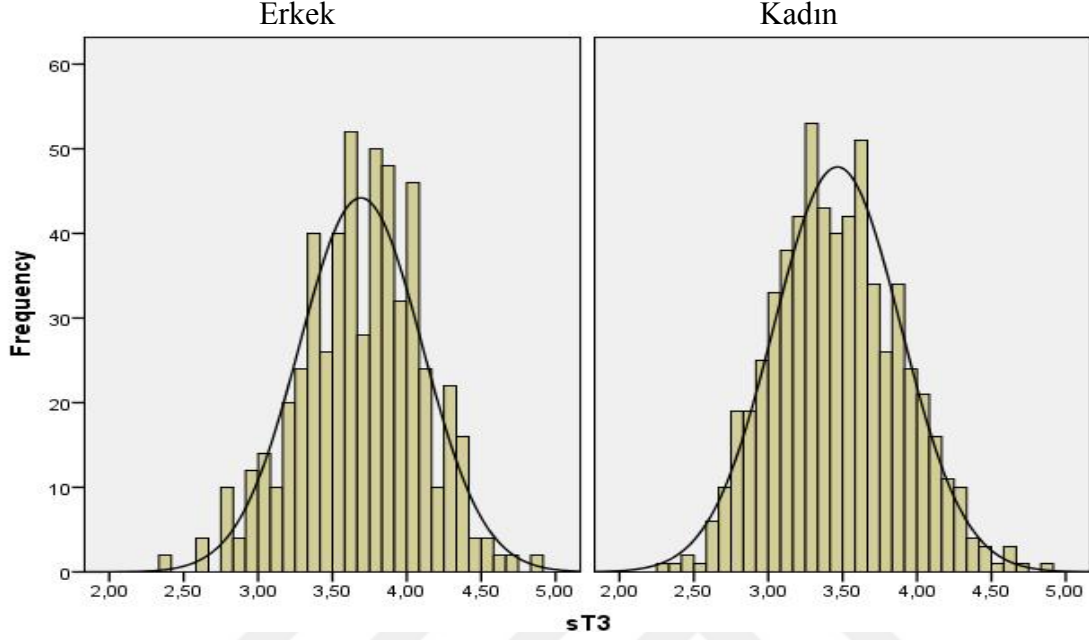
Tablo 4.8. Retrospektif sT3 Cinsiyet değerleri

	CİNSİYET	Veri sayısı	Ortalama ± Standart sapma
sT3	kadın	615	3,4645± 0,42718
	erkek	548	3,6909± 0,41212

Tablo 4.9. Retrospektif sT3 Cinsiyetler arası Bağımsız Örneklem t-testi(F değeri varyansların homojen olup olmadığını test etmek için kullanılır. Hemen yanından Sig. değeri 0,05'ten küçükse varyanslar homojen değil demektir. Bu durumda alttaki satır kullanılır üstteki satırdaki değerler hiç dikkat alınmaz. Fakat bu örnekte olduğu gibi F'nin yanındaki Sig. değeri 0,05'ten büyükse varyansların homojen olduğuna karar verilir ve üst satır kullanılır. Bu tabloda Sig. (2-tailed) değeri gruplar arasında fark olup olmadığını gösteren değerdir. Bu değer 0,05'ten küçükse gruplar arasında fark olduğuna karar verilir.)

Levene's Test for Equality of Variances			t-test for Equality of Means						
								95% Conf. Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig.	M. Diff.	Std.Err.Diff.	Lower	Upper
sT3 Varyansların eşit olduğu varsayımı	1,595	,207	-9,17	1161	,000	-,226	,0246	-,274	-,178
Varyansların eşit olmadığı varsayımı			-9,19	1153,6	,000	-,226	,0246	-,274	-,178

Bu sonuçlara göre sT3'ün cinsiyetler arası ayrımı yapılarak elde edilen dağılım grafikleri Şekil 4.10 da verildiği gibidir.



Şekil 4.10. Retrospektif yöntem(Kadın-Erkek) sT3 veri dağılımı

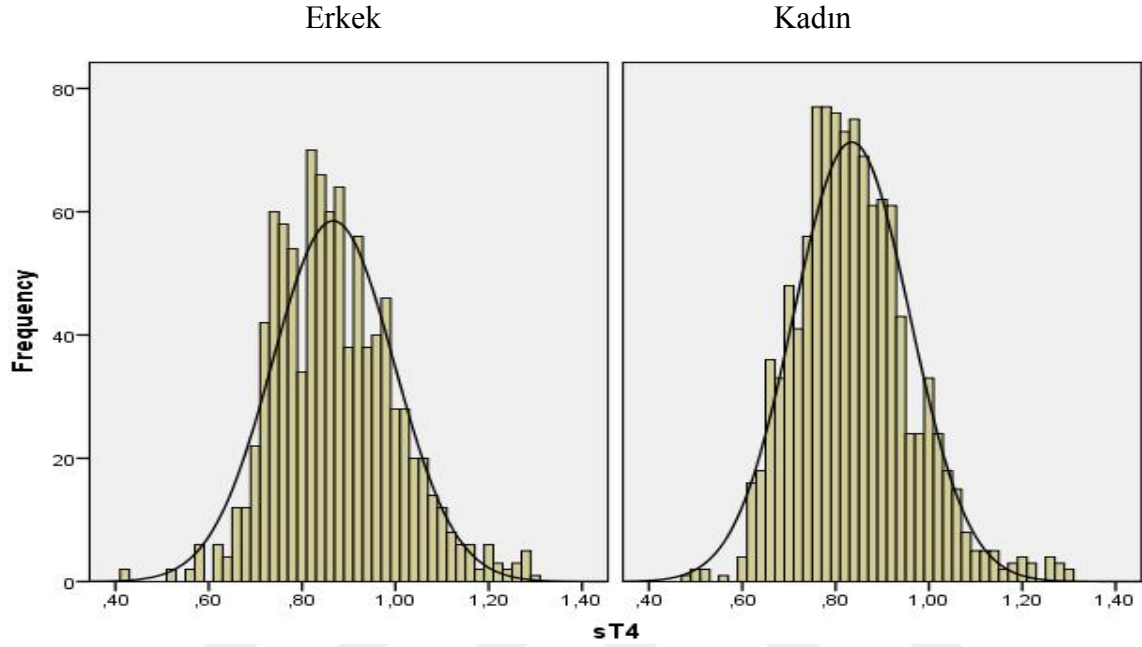
Normal dağılım göstermeyen hTSH ve sT4 için cinsiyetler arası farkın anlamlılığına bakıldığında iki test içinde istatistiki olarak anlamlı fark bulundu(Tablo 4.10)

Tablo 4.10. Retrospektif hTSH ve sT4 cinsiyet arası farkın anlamlılığı(Asymp. Sig. (2-tailed):değer 0.05' ten küçükse guruplar arası fark olduğu anlamına gelir)

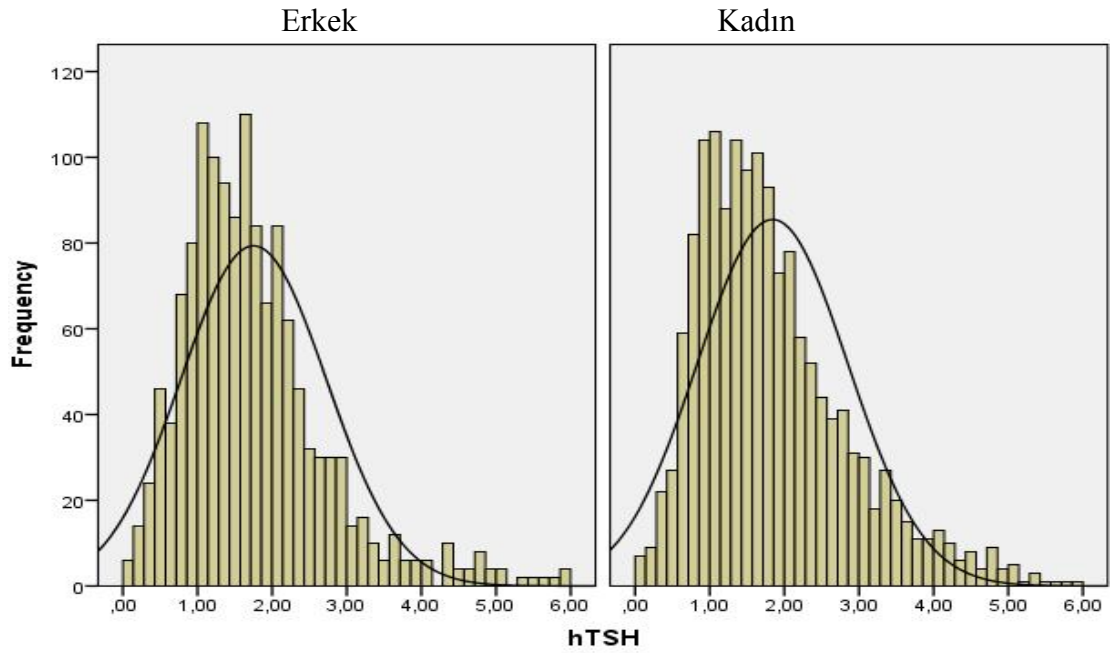
Test Statistics ^a		
	hTSH	sT4
Mann-Whitney U	979367,000	455439,500
Wilcoxon W	1904847,000	1076494,500
Z	-2,258	-5,759
Asymp. Sig. (2-tailed)	,024	,000

a. Grouping Variable: cinsiyet

Bu sonuçlara göre sT4 ve hTSH'nin cinsiyetler arası ayrımı yapılarak elde edilen dağılım grafikleri Şekil 4.11 ve 4.12 de verildiği gibidir.



Şekil 4.11. Retrospektif yöntem(Kadın-Erkek) sT4 veri dağılımı



Şekil 4.12. Retrospektif yöntem(Kadın-Erkek) hTSH veri dağılımı

Sonuç olarak Retrospektif çalışmamızda yapılan istatistiki değerlendirmeler sonucu sT3 test sonuçlarının normal dağılım gösterdiği hTSH ve sT4 testlerinin ise normal dağılıma uymadıkları görüldü. Tüm testler için cinsiyete göre gruplar arası istatistiki yönden anlamlı fark bulundu. Bu bilgiler doğrultusunda referans aralıkları hesaplandı.

4.3 Referans Aralık Değerleri

Referans aralıklar hesaplanırken istatistiki olarak anlamlı bulunan cinsiyet faktörüne göre hem ayrı ayrı, hem de klinik olarak uygulanıp uygulanmayacağı durumu düşünülerek cinsiyetler ayrılmadan tek olarak hesaplanmıştır.

Prospektif çalışmanın cinsiyet ayrımı yapılmadan %95 güven aralığında hesaplanan ve üretici firma tarafından önerilen referans aralık tablosu aşağıdaki gibidir.(Tablo 4.11)

Tablo 4.11. Prospektif çalışma ve firma referans aralık değerleri

Test----Birim	Direkt yöntem		Firma verileri	
	Alt limit	Üst limit	Alt limit	Üst limit
sT3 (pg/mL)	2.62	4.01	2.5	3.9
sT4 (ng/dL)	0.57	1.08	0.61	1.12
hTSH (µIU/ml)	0.42	4.18	0.34	5.60

Retrospektif çalışmanın cinsiyet ayrımı yapılmadan %95 güven aralığında hesaplanan ve üretici firma tarafından önerilen referans aralık tablosu aşağıdadır.(Tablo 4.12)

Tablo 4.12. Retrospektif çalışma ve firma referans aralık değerleri

Test---Birim	İndirekt yöntem		Firma veriler	
	Alt limit	Üst limit	Alt limit	Üst limit
sT3 (pg/mL)	2.72	4.41	2.5	3.9
sT4 (ng/dL)	0.63	1.14	0.61	1.2
hTSH (µIU/ml)	0.41	4.45	0.34	5.60

Gerek prospektif gerekse retrospektif çalışmaların cinsiyetlere göre ayrımından sonra %95 güven aralığında elde edilen referans aralık değerleri aşağıdaki Tablo 4.13 ve 4.14' te verildiği gibi hesaplanmıştır.

Tablo 4.13. Cinsiyetlere göre Prospektif referans aralıkları

Direkt yöntem

Test---Cinsiyet---Birim	Alt limit	Üst limit
sT3 Kadın (pg/mL)	2.54	3.99
sT3 Erkek (pg/mL)	2.72	4.15
sT4 Kadın (ng/dL)	0.57	1.09
sT4 Erkek (ng/dL)	0.58	1.08
hTSH Kadın (µIU/ml)	0.52	4.33
hTSH Erkek (µIU/ml)	0.41	3.95

Tablo 4.14. Cinsiyetlere göre Retrospektif referans aralıklar

İndirekt yöntem

Test---Cinsiyet---Birim	Alt limit	Üst limit
sT3 Kadın (pg/mL)	2.62	4.29
sT3 Erkek (pg/mL)	2.88	4.49
sT4 Kadın (ng/dL)	0.63	1.12
sT4 Erkek (ng/dL)	0.65	1.15
hTSH Kadın (µIU/ml)	0.42	4.43
hTSH Erkek (µIU/ml)	0.40	4.57

5. TARTIŞMA

Tiroid fonksiyon bozukluklarının tanısı klinik belirtilerinin spesifik olmaması nedeniyle laboratuvar sonuçları olmadan neredeyse olanaksız görünmektedir. Özellikle subklinik tiroid fonksiyon bozukluklarının tanısı söz konusu olduğunda test sonuçlarının bölgesel düzeyde iyi tanımlanmış, kriterlere uygun şekilde belirlenmiş referans aralıkları eşliğinde rapor edilmesi gerekliliği hayati önem arz etmektedir.

Bölgesel popülasyonlara göre belirlenmemiş referans aralıkları ile rapor edilen test sonuçları; tiroid fonksiyonlarında sorun olmayan birçok bireye tiroid fonksiyon bozukluğu tanısı konularak gereksiz ilaç kullanımını sonucunu doğuracaktır. Aynı sorun tiroid fonksiyon bozukluğu olan birçok bireyin de sağlıklı olarak değerlendirilmesi durumunu ortaya çıkaracaktır.

Gerek olmadığı halde tedavi için kullanılan ilaçların olası zararlı etkileri veya tedavi gereksinimi olan hastaların tedavi edilmemesindeki yaşamsal riskler düşünüldüğünde her birey için hayati öneme sahip bu sorunların minimize edilmesi için her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi gereklidir. CLSI ve IFCC'nin referans aralık analizi ile ilgili dökümanlarında bu tür yanlış tanı ve tedavileri minimize etmek amacıyla her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi yönünde önerilerde bulunulmuş, ayrıca referans aralıklarının nasıl belirlenmesi gerektiği yönünde öneriler sunulmuştur (CLSI documents EP09-A3 2013).

Çalışmamızda CLSI ve IFCC'nin tavsiyeleri doğrultusunda hareket ederek bölgemiz için kullanabileceğimiz referans aralıklarını belirlemeyi amaçladık.

Referans aralık çalışmalarında, olması gerekenden daha dar bir aralık belirlenmesi tiroid fonksiyon bozukluğu prevalansının daha fazla görülmesine sebep olurken, daha geniş bir aralık belirlenmesi ise olması gereken prevalansdan daha düşük oranlar elde edilmesi sonucunu doğuracaktır. Söz konusu durum ayrıca spesifik herhangi bir popülasyonun da tiroid fonksiyon bozukluğu prevalansını etkileyebilir. Örneğin, daha büyük oranda yaşlı bireylere (ör.> 65 yaş) veya iyot eksikliğinden etkilenen coğrafi bölgelerde yaşayan popülasyonlarda farklı tiroid fonksiyon bozukluğu değerleri olacaktır (Taylor ve ark, 2018).

Referans aralık belirleme çalışmalarında genellikle %95 güven aralığı baz alınarak hesaplama yapılır. Bu hesaplama sonucu sağlıklı olduğu düşünülen kişilerden elde edilen verilerin merkezi %95'i normal değer olarak kabul edilirken alt ve üst sınırlardaki %2,5 lik değerleri aşan veriler normal değer olarak kabul edilmez. Fakat bu %2,5 luk değerlerin de

sağlıklı bireylere ait olabileceği ihtimali unutulmamalıdır. Benzer şekilde, referans aralık sınırları içerisinde herhangi bir sonuca sahip kişilerin de kesinlikle tiroid hastalığının olmadığı söylenemez ve durum muhakkak klinik tablo eşliğinde değerlendirilmelidir.

Referans aralık belirleme çalışmalarında teste özgü preanalitik süreçler en az analitik süreçler kadar önemlidir. Referans bireylerin seçimi yanında; kan alma saati veya kanın alındığı mevsim, kan alınan tüpün içerdiği etken madde varlığı, santrifüj (süresi, ısısı) etme, çalışılacak zamana kadar muhafaza gibi etkenler tek tek değerlendirilmelidir. Analitik süreçlerde çalışılan metot veya cihaz farklılıkları göz önünde bulundurulmalı değerlendirmeler buna göre yapılmalıdır.

Tiroid hormon seviyeleri yaş, akut veya kronik hastalık, iyot durumu, örnekleme zamanı ve genetik varyasyon gibi tiroid hastalığı ile ilgili olmayan çeşitli faktörlerden etkilenir. Tüm bu sorunlar referans aralıklarını belirlemek için alternatif bir yaklaşımın gerekebileceğini düşündürmektedir. Bu düşünce istatistiksel olarak hesaplanmış bir referans aralığı yerine tüm vücut sistemlerinin optimal çalışması durumunda, tiroid fonksiyonu için de en uygun karar sınırlarının belirlenmesi gerekliliği düşüncesidir (Chaker ve ark, 2017).

Çalışılan her test için yaşa, cinsiyete veya gebelik gibi farklı durumlara göre ayrı ayrı referans aralık belirlemenin gerekli olup olmadığı değerlendirilmeli, çalışma planı buna göre belirlenmelidir. Tiroid fonksiyon testlerinde, yaşa özgü referans aralıklarının kullanılıp kullanılmayacağı konusunda bir fikir birliği yoktur. Yapılan bir çalışmada yaşa özgü TSH aralıklarının kullanımının, 85 yaşından büyük katılımcılar dışında, bireyin tiroid durumunun yeniden sınıflandırılması üzerinde çok az etkisi olduğu gösterilmiştir (Kahapola ve ark, 2012). Yaşamın ilk yıllarından itibaren görülen dinamik gelişim ve değişimler dolayısıyla pediatrik popülasyonlara farklı referans aralıkların belirlenmesi için yapılan çalışmalar mevcuttur (Adeli ve ark, 2017).

CLSI ve IFCC referans aralık belirleme çalışmalarında direkt veya indirekt yöntemin ikisi ile de çalışma yapılabileceği yönünde önerilerde bulunmuştur. Bu sebeple çoğu laboratuvar maliyet, zaman, işgücü gibi kaygılarla indirekt yöntemi tercih etmektedir. İndirekt yöntemin tercih edilmesindeki izah edilebilir diğer bir etken; pediatrik veya geriatrik yaş gurubuna referans birey elde etmede yaşanan zorluklardır.

Çalışmamızda CLSI ve IFCC önerileri doğrultusunda hem direk hem de indirekt yöntemle elde ettiğimiz verileri kullanarak ayrı ayrı referans aralıkları belirleyip iki yöntem arasındaki fark veya uyumu karşılaştırdık. Her üç testi (TSH, sT3, sT4) cinsiyet farklılıklarını göz önüne alarak guruplara ayırdık ve her iki cinsiyet için farklı referans

aralıkları hesapladık. Cinsiyet ve teste özgü belirlediğimiz referans aralıklarının hepsinde direkt yöntem ile belirlediğimiz referans aralıklarının indirekt yöntemle göre hem minimum hem de maksimum değerleri bakımından biraz daha dar aralıkta olduğunu gördük.

Her ne kadar referans aralık belirleme çalışmalarında CLSI ve IFCC önermelerinde her bir grup için belirlenen asgari referans birey sayısından (120) fazla sayıda referans birey ile çalışmayı yapmış olsak da (kadın ve erkek guruplarının her biri için 200 den fazla) indirekt yöntemdeki birey sayısının direkt yöntemle göre fazla olması sebebiyle; indirekt yöntemle daha geniş referans aralıkları elde etmiş olabiliriz. Ek olarak direkt yöntemle belirlediğimiz referans bireylerin sağlıklı olduğu konusundaki güvenilirliğin indirekt yöntem ile sağlanamaması dolayısıyla; direkt yöntemle elde edilen referans aralıklar kadar hassas olmadığı kanaatindeyiz.

Tiroid fonksiyon testleri kullanılmaya başlanmadan önce, tiroid fonksiyon bozukluğunun tanısı tamamen klinik bulgularla konulmaya çalışılmıştır. Bu nedenle hastalığın daha hafif ve klinik olarak daha az görünen formlarının tesbiti oldukça zor ve hastaların gözden kaçırılması muhtemeldir. Bu dönemler için tiroid fonksiyon testleri yerine nabız hızı, kan kolesterol düzeyleri, vücut sıcaklığı veya bazal metabolizma hızı gibi dolaylı ölçümlerle tiroid fonksiyonları hakkında bilgi edinilmeye çalışılmıştır. Sonraki yıllarda (1950'lerde) proteine bağlı iyot tekniği ile serum T4 seviyelerinin dolaylı tahmini yapılmaya çalışılmıştır. O yıllardan günümüze kadar radyo-immün analizi ve sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometresi bazlı test teknolojilerinin sürekli gelişmesi sonucu T3, T4, TSH testlerinin ölçümü giderek artan hassasiyetle yapılmaya devam etmektedir (Spencer ve ark, 2017).

Tiroid hormonlarının vücudun tüm hücreleri üzerine etkileri vardır. Ancak hafif değişiklikler belirgin klinik bulgular oluşturmayabilir. Hem bu sebeple hem de klinik belirtilerin özgül olmaması sebebiyle tanı koymak zor olabilir. Bununla birlikte, tiroid hastalığının tedavisinin gerekliliği konusunda tartışma yoktur. Normal tiroid fonksiyonu ile tiroid hastalığı arasındaki sınırlar genellikle istatistiksel olarak belirlenmiş referans aralıkları temelinde tanımlanır. Ayrıca, bu iki sınıflandırma arasındaki kesim noktası, çeşitli popülasyon alt gurupları için veya bireysel düzeyde farklılık gösterebilir. Farklı derecelerdeki tiroid fonksiyon bozuklarını tedavi kararı için, yaş ve eşlik eden kronik hastalıklar gibi parametrelerle sonuçları sınıflandıran referans aralıklara ihtiyaç olabileceği de düşünülebilir (Jonklaas ve Razvi 2019).

Etnik köken farklılıklarına bağlı olarak serum TSH seviyelerinde farklılıklar olabileceğini gösteren bir çalışmada; TSH için median ve % 97,5 persentil (referans aralığının üst sınırı) bir grupta 1,43 mIU / L ve 4,18 mIU / L' iken, diğer grupta 1,19 mIU / L ve 3,63 mIU / L olarak bulunmuştur. Bu grupları ayırmadan tek tip referans aralıkları ile rapor etmek, bir grupta hipotiroidi olmamasına rağmen yanlış hipotiroidi teşhisi almasına, hipertiroidi olmasına rağmen normal tiroid fonksiyonlarına sahipmiş gibi değerlendirilmesine sebep olacaktır. Tersisi durum diğer grup için geçerli olacak ve hipotiroidi olan bazı bireyler normal tiroid fonksiyonuna sahip olarak değerlendirilirken normal tiroid fonksiyonuna sahip bazı bireyler hipertiroidi tanısı alarak gereksiz ve hatta zararlı etkileri olabilecek bir tedaviye başlanma riskiyle karşı karşıya kalacaklardır (Boucai ve Surks 2009).

Tiroid fonksiyon testlerini etkileyen diğer bir faktör ise bölgesel iyot durumudur. Yaşamın erken döneminde iyot eksikliği bilişsel gelişim ve büyümeyi olumsuz etkiler. Bu durum yetişkinlerde de tiroid fonksiyon bozukluklarının en önemli nedenlerindedir. Aşırı iyot eksikliği guatr ve hipotiroidiye neden olur, çünkü iyotu eksik olan bölgelerde iyot alımını ve geri dönüşümünü en üst düzeye çıkarmak için tiroid aktivitesindeki artışa rağmen, vücut iyot miktarı tiroid hormonu üretimini sağlamak için yeterli seviyede değildir. Hafif ila orta dereceli iyot eksikliğinde, artmış tiroid aktivitesi düşük iyot alımını telafi edebilir ve çoğu kişide ötroidiyi koruyabilir.

Ancak kronik duruma gelen tiroid hormonlarının aşırı uyarımı, toplumda toksik nodüler guatr ve hipertrioidi prevalansında bir artışla sonuçlanır. Genellikle vücuttaki eksik iyot durumu; direkt iyot alımı veya sofrta tuzlarının iyotlanması ile arttırılırsa hipertiroidi prevalansında daha fazla artışa neden olur. Bununla birlikte, bu artış geçicidir çünkü iyot yeterliliği, uzun vadede tiroid aktivitesini normalleştirerek tiroid bezinin nodüler özelliğini azaltır.

Popülasyonun iyot düzeyindeki değişiklikler Graves hastalığı veya tiroid kanseri riskini etkilemez, ancak iyot eksikliğinin düzeltilmesi tiroid kanseri benign türlerinin malign türlere dönüşümünü azaltabilir. Bu nedenle, popülasyonun iyot alımının optimizasyonu, tiroid hastalıklarının prevalansını azaltmak için koruyucu sağlık hizmetlerinin önemli bir bileşenidir (Zimmerman ve Boelaert 2015).

Völzke ve arkadaşlarının 20-79 yaş arasındaki 1488 kişiyle yaptığı referans aralık belirleme çalışmasında iyot yetersizliğinin referans değerlere olan etkisi gösterilmiştir. İyot

düzeyleri farklı (yetersiz ve normal düzeyde) olan iki popülasyonda farklı referans değerler elde edilmiştir (Völzke ve ark, 2005).

Koloğlu 1984 yılında yaptığı tarama çalışmasında Türkiye'nin birçok bölgesinde iyot yetersizliğinden dolayı guatr sorunu olduğunu ileri sürmüştür (Koloğlu 1984).

Tiroid hormonlarının sağlıklı, pediatrik veya gebe popülasyonlarında referans aralıklarının belirlenmesi üzerine gerek direkt yöntemle gerekse indirekt yöntemle çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

İnal ve ark.'nın hastane verilerini kullanarak yaptıkları indirekt referans aralık belirleme çalışmasında hastane verileri kullanılırken, bu verilerin sağlıklı kişilere ait olup olmadığı, bireylerin ilaç kullanıp kullanmadığı gibi birçok bilgi hakkında yetersiz kalınmasına ek olarak hastane ortamında kalma stresi gibi durumların bir dezavantaj gibi değerlendirilebileceği belirtilmiştir. Fakat indirekt yöntemin her hastane laboratuvarının kolayca ulaşabileceği referans birey topluluğunun varlığı nedeniyle referans aralık belirlemede avantajlı bir yöntem olacağı sonucuna varmışlardır. Bu yöntemle elde edilen referans aralıkların test üreticisi firmaların sağladığı referans aralıkları kullanmaktan daha sağlıklı olduğunu vurgulamışlardır (İnal ve Kelleci 2010).

Diğer indirekt referans aralık belirleme çalışmasında hastaneye sadece bir kez başvuran hasta verilerinin daha sağlıklı olduğu düşünülerek sadece bu veriler kullanılmıştır. Bu çalışmada tüm yaş gurubundaki hasta verileri yanında gebe bireylerin verileri de değerlendirmeye alınmıştır (Yeşiltepe 2014).

Motor ve ark, 2010 yılında direkt ve indirekt yöntemleri kullanarak orta yaş (40-60) ile yaşlı (60-80) popülasyonlarda referans aralık belirleme çalışması yapmışlardır. Direkt yöntem için 129 erkek 131 kadın, indirekt yöntem için ise 3060-3920 erkek ve 4090-4520 kadın bireyden oluşan çalışma gurupları ile çalışma sonuçlarını elde etmişlerdir. Direkt yöntem ile % 95 güven aralığında TSH: 0.32-4.38 μ IU / mL, sT4: 0.75-1.32 ng / dL, sT3: 1.98-3.65 pg / mL. İndirekt yöntem ile % 95 güven aralığında TSH: 0.29-4.36 uIU / mL, sT4: 0.71-1.37 ng / dL, sT3: 1.69-3.32 pg / mL sonuçlarını elde etmişlerdir. Testleri Abbott Architect i2000 Otoanalizörü ile kemilüminesans yöntemiyle ölçmüşlerdir.

Cinsiyet açısından değerlendirdiklerinde sT4 için her iki yaş grubunda da her iki örnekleme yöntemi ile anlamlı bir fark olmadığını ancak TSH ve sT3 için cinsiyet açısından anlamlı farklılığın her iki örnekleme yöntemi ile olduğunu göstermişlerdir. Tüm testler için direkt örnekleme yöntemi ile yaş gurupları arasında anlamlı bir fark olmadığını indirekt örnekleme yönteminde ise TSH ve sT3 testleri için yaş gurupları arasında anlamlı

bir farklılığın olduğunu göstermişlerdir. Sonuç olarak tiroid hormonlarının referans aralıklarının belirlenmesinde indirekt yöntemin güvenle kullanılabilceği sonucuna varmışlardır (Motor ve ark, 2010).

Bizim çalışmamızda direkt ve indirekt yöntemle belirlediğimiz sT3, sT4, TSH testlerinin hepsinin referans aralıkları istatistiksel olarak cinsiyetler arası anlamlı farklar gösterdi. Bu sonuç üzerine referans aralıkları hem cinsiyet ayrımı yapılmadan hem de cinsiyet ayrımı yapılarak ayrı ayrı hesaplandı.

Yaşa özgü değerlendirme yaptığımızda çalışma popülasyonumuz 18 ile 88 yaş arası bireylerden oluşmaktadır. Farklı yaş guruplarına özgü referans aralık elde etmek amacıyla yaş sınırı belirleme denemelerimizde kesin bir ayırım sınırına varılamadı ve istatistiksel olarak bir fark elde edilemedi. Tiroid hormonlarının yaşa özgü referans aralık fikrinin pediatrik yaş gurubu için gerekli olduğu ve 85 yaşından büyük hastalar için uygun olabileceği yönünde çalışmaların varlığı bilinmektedir. Fakat bizim çalışma popülasyonumuzda pediatrik yaş gurubu birey yoktu ve 85 yaşından büyük yeterli sayıda veriye sahip değildik bu sebeple yaşa özgü referans aralık belirlemesi yapılamadı.

Bir çalışmada direkt yöntemle 18-40 yaş arası 328 (143 erkek, 185 kadın) bireyle referans aralık belirleme çalışmasında hesaplamalar hem Parametrik hem de Non-Parametrik yöntemlere göre yapılmış ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Non-parametrik yöntemlere göre TSH: 0,51- 3,51 $\mu\text{u/ml}$, sT4: 11,082- 25,35 pmol/L ve sT3: 3,44- 6,406 pmol/L parametrik yöntemlere göre ise TSH: 0,49- 3,52 $\mu\text{u/ml}$, sT4: 11,082- 21,36 pmol/L ve sT3: 4,25- 6,37 pmol/L olarak bulunmuştur (İlçöz ve Aslan 2004).

Köseoğlu ve arkadaşları 2010 yılında direkt yöntemle İzmir'de yaşayan 20-50 yaş arası 274 kişilik çalışma gurubuyla yaptıkları çalışmada Non-Parametrik yöntemle sT3, sT4, TSH testlerinin referans aralıklarını belirlemişler ve TSH için 0,60- 6,25 $\mu\text{u/ml}$, sT4 için 13,2- 25 pmol/L ve sT3 için 4,57- 8,02 pmol/L olarak belirlemişlerdir. Sonuç olarak hesapladıkları referans aralıkları ile kit prospektüsünde önerilen referans aralıkları ve Türkiye'nin diğer bölgelerinde yapılan referans çalışmalarındaki değerler arasında farklılıklar gözlemlendiği sonucuna varmışlardır (Köseoğlu ve ark, 2010).

Bakan ve ark. 2016 yılında direkt ve indirekt yöntemi kullanılarak ayrı ayrı hesaplama yaptıkları çalışmalarında direkt yöntem için toplam 435 (217 erkek,218 kadın) referans bireyden elde ettikleri veriler ile indirekt yöntem için hastane verilerini kullanarak toplam 1.366.948 (594.753 erkek 772.195 kadın) bireyden elde ettikleri verilerle referans aralıkları belirlemişlerdir. Çalışmalarında direkt yöntemde erkeklerde sT3:3,7-6,0 pmol/L, sT4 11,9-

20,4 pmol/L ve TSH: 0,36-4,78 µU/L. kadınlarda sT3: 3,1-6,2 pmol/L, sT4: 11,3-20,9 pmol/L ve TSH için 0,49-4,92 µU/L bulmuşlardır. İndirekt yöntemde ise erkeklerde sT3:1,7-5,4 pmol/L, sT4:9,8-25,2 pmol/L ve TSH için 0,32-4,43 µU/L; kadınlarda sT3: 2,1-6,2 pmol/L, sT4: 9,3-25,2 pmol/L ve TSH için (0,42-4,31) µU/L olarak bulmuşlardır (Bakan ve ark, 2016).

Bir diğer çalışmada ise pediatrik popülasyonun TSH ve sT4 testlerinin sürekli referans değerlerini hesaplamak amacıyla indirekt yöntemle elde edilen veriler direkt yöntemle belirlenen iki farklı çalışmayla karşılaştırarak indirekt yöntemle elde edilen verilerin özellikle pediatrik popülasyonlarda güvenle kullanılabilceği sonucuna varılmıştır (Yalçınkaya 2019).

Yılmaz Ankara ilinde 2019 yılında direkt ve indirekt yöntemlerle tiroid fonksiyon testlerinin referans aralıklarını belirleme çalışması yapmıştır. Bu çalışmada direkt yöntem için toplam 128 bireyden elde edilen veriyi, indirekt yöntem için ise hastane bilgi sisteminden aldıkları 3227 erkek 4752 kadına ait veriyi kullanmıştır. Çalışmanın sonucunda hem direkt hem de indirekt yöntem ile elde edilen referans aralık değerlerinin üretici firma değerleri arasında benzerlik olmasına rağmen yine de birebir örtüşmediği görülerek CLSI'nın EP28-A3c kılavuzunda ifade edildiği gibi her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi gerektiğine vurgu yapılmıştır (Yılmaz 2019).

Bizim yaptığımız çalışma sonucu hem direkt hem de indirekt yöntemle belirlediğimiz referans aralıkları ile üretici firmanın sunduğu referans aralıkları karşılaştırdığımızda sT3 ve sT4 testlerinde her ne kadar birbirine yakın olsa da bizim belirlediğimiz referans aralıkları daha dar aralığa sahipti. TSH testi için referans aralığının alt sınırı birbirine çok yakın olmasına rağmen üretici firmanın üst sınır olarak belirlediği (5,60 µIU/ml) sınır ile bizim belirlediğimiz (Direkt yöntem 4,18 µIU/ml İndirekt yöntem 4,45 µIU/ml) sınır arasında anlamlı düzeyde fark vardı.

Çalışmamızdaki her iki yöntemde de normal dağılıma uyan sT3 testinin referans aralıklarını parametrik hesaplama yöntemini kullanılarak belirledik. Her iki yöntemde de normal dağılım göstermeyen sT4 ve TSH testlerinin referans aralıklarını ise non-parametrik hesaplama yöntemi ile belirledik.

Sonuç olarak TSH testi için üretici firmanın temin ettiği referans aralıklarının yerine bizim belirlediğimiz referans aralıklarının kullanılmasıyla tiroid fonksiyonları yönünden normal olarak değerlendirilen birçok bireyin aslında subklinik hipotiroidi hastası olduğu

sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle de laboratuvarımızda firmanın verdiği referans aralıklar yerine kendi belirlediğimiz aralıkların kullanılmasının daha uygun olacağı kanısındayız.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Laboratuvar test sonuçlarının klinik olarak anlam kazanması için referans aralıkları ile birlikte rapor edilmesi gerekmektedir.
2. Referans aralıklar bölgesel, ırk, sosyo-ekonomik durum vb. etkenler ile farklılıklar göstermektedir.
3. Test kiti ve cihazı temin eden firmaların genellikle uluslararası firmalar olması dolayısıyla laboratuvarlar en azından bölgesel düzeyde kendi referans aralıklarını belirlemelidir.
4. Referans aralık belirleme çalışmaları daha önce yapılan çalışmalar ve öneriler doğrultusunda titizlikle planlanırsa her iki yöntemde de (Direkt ve İndirekt yöntem) üretici firmaların temin ettiği referans aralıklarından daha sağlıklı referans aralıkları elde edilmiş olacaktır.
5. Üretici firma referans aralıklarının bölgemiz için uygun olmadığı kanaatindeyiz. Ayrıca pediatrik yaş gurubu ve gebe popülasyonları için ayrı referans aralıkların gerekli olduğu ve bu popülasyondaki bireylerin test sonuçlarının kendi popülasyonları özelinde belirlenmiş referans aralıkları ile rapor edilmesi gerektiği kanaatindeyiz.

7. KISITLILIKLAR

Maddi kısıtlılıklar sebebiyle hastalarımızın iyot durumunu ve tiroid ultrasonunu değerlendiremememiz çalışmamızın kısıtlılığı olarak değerlendirilmektedir.

8. KAYNAK DİZİNİ

Adeli, K., Higgins, V., Trajcevski, K., & White-Al Habeeb, N. (2017). The Canadian laboratory initiative on pediatric reference intervals: a CALIPER white paper. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 54(6), 358-413.

Atmaca, M., Tuzcular Vural, E., Gonenc, I., & Arslan, M. E. (2016). Positivity rates of thyroid antibodies (anti-TPO and anti-TG) in patients with thyroid disorders. *Jour Turk Fam Phy*, 7(1), 06-15.

Bakan, E., Polat, H., Ozarda, Y., Ozturk, N., Baygutalp, N. K., Umudum, F. Z., & Bakan, N. (2016). A reference interval study for common biochemical analytes in Eastern Turkey: a comparison of a reference population with laboratory data mining. *Biochemia medica: Biochemia medica*, 26(2), 210-223.

Bano, A., Chaker, L., Mattace-Raso, F. U., Terzikhan, N., Kavousi, M., Ikram, M. A., ... & Franco, O. H. (2019). Thyroid function and life expectancy with and without noncommunicable diseases: A population-based study. *PLoS medicine*, 16(10), e1002957.

Barhanovic, N. G., Antunovic, T., Kavacic, S., Djogo, A., & Spasojevic, V. K. (2019). Age and assay related changes of laboratory thyroid function tests in the reference female population. *Journal of Medical Biochemistry*, 38(1), 22-32.

Barnett, V., & Lewis, T. (1984). Outliers in statistical data. *osd*.

Benhadi, N., Fliers, E., Visser, T. J., Reitsma, J. B., & Wiersinga, W. M. (2010). Pilot study on the assessment of the setpoint of the hypothalamus–pituitary–thyroid axis in healthy volunteers. *European Journal of Endocrinology*, 162(2), 323-329.

Bhattacharya, C. G. (1967). A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components. *Biometrics*, 115-135.

Bircan H, Karagöz Y, Kasapoğlu Y. (2003) Ki-Kare ve Kolmogorov Smirnov Uygunluk Testlerinin Simulasyon İle Elde Edilen Veriler Üzerinde Karşılaştırılması. *Cumhuriyet Üniv. İktisadi ve İdari Bilimler Dergisi*

Bolognesi, M., & Rossi, R. (2006). Case history: unilateral Graves' disease. *Thyroid*, 16(5), 493-495.

Boucai, L., & Surks, M. I. (2009). Reference limits of serum TSH and free T4 are significantly influenced by race and age in an urban outpatient medical practice. *Clinical endocrinology*, 70(5), 788-793.

Chaker, L., Korevaar, T. I., Medici, M., Uitterlinden, A. G., Hofman, A., Dehghan, A., ... & Peeters, R. P. (2016). Thyroid function characteristics and determinants: the Rotterdam Study. *Thyroid*, 26(9), 1195-1204.

Chaker, L., Korevaar, T. I., Rizopoulos, D., Collet, T. H., Völzke, H., Hofman, A., ... & Franco, O. H. (2017). Defining optimal health range for thyroid function based on the risk of cardiovascular disease. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 102(8), 2853-2861.

CLSI and IFCC, C28-A3 document;(2008) Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline-third edition, ;28:1-76.

Clinical and Laboratory Standards Institute Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. (2013). Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP09-A3.

C24-A2 (1998) Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and Definitions; Approved Guideline—Second Edition .

Dixon, W. J. (1953). Processing data for outliers. *Biometrics*, 9(1), 74-89.

- Estrada, J. M., Soldin, D., Buckey, T. M., Burman, K. D., & Soldin, O. P. (2014). Thyrotropin isoforms: implications for thyrotropin analysis and clinical practice. *Thyroid*, 24(3), 411-423.
- Funkquist, A., Bengtsson, A., Johansson, P. M., Svensson, J., Bjellerup, P., Blennow, K., ... & Sjöberg, S. (2020). Low CSF/serum ratio of free T4 is associated with decreased quality of life in mild hypothyroidism—A pilot study. *Journal of Clinical & Translational Endocrinology*, 19, 100218.
- Garber, J. R., Cobin, R. H., Gharib, H., Hennessey, J. V., Klein, I., Mechanick, J. I., ... & Woeber for the American Association of Clinical Endocrinologists and American Thyroid Association Taskforce on Hypothyroidism in Adults, K. A. (2012). Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. *Thyroid*, 22(12), 1200-1235.
- Gornall, A. G. (Ed.). (1980). *Applied biochemistry of clinical disorders*. HarperCollins Publishers.
- Harun polat. (2014) Bazı biyokimyasal terstlerin referans aralık belirleme çalışması.
- Hoffmann, R. G. (1963). Statistics in the practice of medicine. *Jama*, 185(11), 864-873.
- İlcol, Y. O., & Aslan, D. (2004). Determining reference value of blood chemistry profile in healthy subjects in Bursa. *Turk J Biochem*, 29(2), 183-192.
- Inal, S., & Kelleci, M. (2020). The effect of external thermomechanical stimulation and distraction on reducing pain experienced by children during blood drawing. *Pediatric emergency care*, 36(2), 66-69.
- Jonklaas, J., & Razvi, S. (2019). Reference intervals in the diagnosis of thyroid dysfunction: treating patients not numbers. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 7(6), 473-483.
- Julian H Barth, Jennifer D Spencer, Stephen R Goodall and Ahai Luvai(2016).Reference intervals for thyroid hormones on Advia Centaur derived from three reference populations and a review of the literature Annals of Clinical Biochemistry Vol. 53(3) 385–389
- Kahapola-Arachchige, K. M., Hadlow, N., Wardrop, R., Lim, E. M., & Walsh, J. P. (2012). Age-specific TSH reference ranges have minimal impact on the diagnosis of thyroid dysfunction. *Clinical endocrinology*, 77(5), 773-779.
- Koloğlu, S., & Koloğlu, B. (1984). Türkiye'de endemik guatr. *Elif Matbaacılık, Ankara*, 1-64.
- Köseoğlu, M., İşleten, F., Dursun, S., & Cuhadar, S. (2010). Determination of reference intervals of healthy adults aged between 20–50 years in Izmir. *Turkish Journal of Biochemistry*, 35(3), 215-24.
- Liewendahl, K., Majuri, H., & HELENIUS, T. (1978). Thyroid function tests in patients on long-term treatment with various anticonvulsant drugs. *Clinical endocrinology*, 8(3), 185-191.
- Linnet, K. (1987). Two-stage transformation systems for normalization of reference distributions evaluated. *Clinical chemistry*, 33(3), 381-386.
- Mallya, M., & Ogilvy-Stuart, A. L. (2018). Thyrotropic hormones. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 32(1), 17-25.
- Malati, T. (2009). Whether western normative laboratory values used for clinical diagnosis are applicable to Indian population? An overview on reference interval. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 24(2), 111-122.
- Mammen, J. S., McGready, J., Ladenson, P. W., & Simonsick, E. M. (2017). Unstable thyroid function in older adults is caused by alterations in both thyroid and pituitary physiology and is associated with increased mortality. *Thyroid*, 27(11), 1370-1377.
- Marqusee, E., Haden, S. T., & Utiger, R. D. (1998). Subclinical thyrotoxicosis. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 27(1), 37-49.

Moncayo, R., & Moncayo, H. (2017). A post-publication analysis of the idealized upper reference value of 2.5 mIU/L for TSH: time to support the thyroid axis with magnesium and iron especially in the setting of reproduction medicine. *BBA clinical*, 7, 115-119.

Motor, S., Erden, G., Sahillioğlu, B., Erdoğan, S., & Yıldırımkaya, M. M. (2010). Direct versus indirect strategies for thyroid hormone reference intervals established in a middle-aged and elderly population on an immunoassay analyzer. *Journal of Clinical & Experimental Investigations/Klinik ve Deneysel Arastirmalar Dergisi*, 1(3).

Mughal, B. B., Fini, J. B., & Demeneix, B. A. (2018). Thyroid-disrupting chemicals and brain development: an update. *Endocrine connections*, 7(4), R160-R186.

Nebi yilmaz(2019) *Tiroid fonksiyon testleri(tsh.st3.st4) referans aralıklarının belirlenmesi*

Núñez, A., Bedregal, P., Becerra, C., & Grob, F. (2017). Alteraciones del neurodesarrollo en pacientes con hipotiroidismo congénito: Recomendaciones para el seguimiento. *Revista médica de Chile*, 145(12), 1579-1587.

Okosieme, O., Gilbert, J., Abraham, P., Boelaert, K., Dayan, C., Gurnell, M., ... & Williams, G. (2016). Management of primary hypothyroidism: statement by the British Thyroid Association Executive Committee. *Clinical endocrinology*, 84(6), 799-808.

Ozarda, Y. (2020). Establishing and using reference intervals. *Turkish Journal of Biochemistry*, 45(1), 1-10.

Rizos, C. V., Elisaf, M. S., & Liberopoulos, E. N. (2011). Effects of thyroid dysfunction on lipid profile. *The open cardiovascular medicine journal*, 5, 76.

Rodondi, N., Den Elzen, W. P., Bauer, D. C., Cappola, A. R., Razvi, S., Walsh, J. P., ... & Bremner, A. (2010). Subclinical hypothyroidism and the risk of coronary heart disease and mortality. *Jama*, 304(12), 1365-1374.

Roelfsema, F., & Veldhuis, J. D. (2013). Thyrotropin secretion patterns in health and disease. *Endocrine Reviews*, 34(5), 619-657.

Rozing, M. P., Houwing-Duistermaat, J. J., Slagboom, P. E., Beekman, M., Frolich, M., de Craen, A. J., ... & Van Heemst, D. (2010). Familial longevity is associated with decreased thyroid function. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(11), 4979-4984.

Sasse, E. A. (2000). How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline. *NCCLS documents C28-A2*.

Shahid, M. A., Ashraf, M. A., & Sharma, S. (2020). Physiology, Thyroid Hormone. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.

Sciacovelli, L., Aita, A., & Chiozza, M. L. (2014). Harmonization of pre-analytical quality indicators. *Biochimica medica: Biochimica medica*, 24(1), 105-113.

Soh, S. B., & Aw, T. C. (2019). Laboratory testing in thyroid conditions-pitfalls and clinical utility. *Annals of laboratory medicine*, 39(1), 3-14.

Siest, G., Henny, J., Gräsbeck, R., Wilding, P., Petitclerc, C., Queraltó, J. M., & Petersen, P. H. (2013). The theory of reference values: an unfinished symphony. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 51(1), 47-64.

- Solberg, H. E. (1987). 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. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 165(1), 111.
- Sorisky, A. (2016). Subclinical Hypothyroidism–What is Responsible for its Association with Cardiovascular Disease?. *European endocrinology*, 12(2), 96-98
- Spencer, C. A. (2017). Assay of thyroid hormones and related substances. In *Endotext [Internet]*. MDText.com, Inc..
- Taylor, P. N., Albrecht, D., Scholz, A., Gutierrez-Buey, G., Lazarus, J. H., Dayan, C. M., & Okosieme, O. E. (2018). Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(5), 301.
- Völzke, H., Alte, D., Kohlmann, T., Lüdemann, J., Nauck, M., John, U., & Meng, W. (2005). Reference intervals of serum thyroid function tests in a previously iodine-deficient area. *Thyroid*, 15(3), 279-285.
- Wenzel, K. W. (1981). Pharmacological interference with in vitro tests of thyroid function. *Metabolism*, 30(7), 717-732.
- Yalçınkaya E.(2019) Pediatrik Popülasyonda TSH Ve sT4'ün Yaşa Ve Cinsiyete Özgü Sürekli Referans Aralıklarının İndirekt Tespiti.
- Yeşiltepe, Y (2019) Tiroid hormon testlerinin mersin ili'ndeki referans aralıklarının indirekt yöntemle belirlenmesi .
- Yılmaz N. (2019) Tiroid fonksiyon testleri (TSH.sT3.sT4) referans aralıklarının belirlenmesi
Ankara
- Zimmermann, M. B., & Boelaert, K. (2015). Iodine deficiency and thyroid disorders. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 3(4), 286-295.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: İlhami ŞAHİN
Doğum yeri ve Tarihi: Avusturya/Steyr 30.06.1976
İletişim Adresi: Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez
Laboratuvarı
Telefon: 0-533-4836874
Eposta : ilhami.shinn@gmail.com

Eğitim bilgileri: Akdeniz Üniversitesi Tıbbi laboratuvar(1993-1995)
Kırıkkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji(2004-
2007)

Meskek deneyimi: Ankara Üniversitesi (2002-2014)
Kocaeli Üniversitesi (2014-2020)

Yabancı dil : İngilizce (orta düzeyde)

EKLER

1.Etik Kurul Onay Formu



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



Etik Kurul Bilgileri	Adı	Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	Adres	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Ara Kat 41380 Umuttepe Yerleşkesi /KOCAELİ
	Telefon	0262 303 74 50
	Faks	0262 303 74 63
	E-Posta	gokaetikkurul@kocaeli.edu.tr

Başvuru Bilgileri	Araştırmanın Adı	Kocaeli Bölgesi Serbest T3, Serbest T4 ve TSH Düzeylerinin Popülasyona Dayalı Referans Aralıklarının Belirlenmesi			
	Araştırma Proje Numarası	KÜ GOKAEK 2019/196			
	Sorumlu Araştırmacı Unvanı/Adı/Soyadı	Doç. Dr. Ceyla ERALDEMİR			
	Sorumlu Araştırmacının Uzmanlık Alanı	Biyokimya			
	Araştırma Merkezi	Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarı			
	Destekleyici	KÜ BAPB			
	Araştırmanın Türü	Yüksek Lisans Tezi			
	Araştırmaya Katılan Merkezler	Tek Merkezli <input checked="" type="checkbox"/>	Çok Merkezli <input type="checkbox"/>	Ulusal <input checked="" type="checkbox"/>	Uluslararası <input type="checkbox"/>

Değerlendirilen Belgeler	Belge Adı	Var	Yok	Açıklama
	Başvuru Dilekçesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başvuru Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Araştırmanın Türü	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Dosya ve görüntü kayıtları gibi retrospektif arşiv taraması/Kan, İdrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle yapılacak araştırma	
Araştırma Protokolü	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Kullanılacak Form Örnekleri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Aydınlatılmış Onam Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Araştırma Bütçesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Literatür Örneği	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Taahhütname	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Biyolojik Materyal Transfer Anlaşması	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
İzin Belgeleri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Başhekimlik Onayı	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Özgeçmişler	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Değişiklik Bilgi Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Proje Sonuç Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Diğer	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		




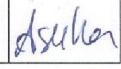
KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onay Formu

Belge Kodu: Onay formu Rev. Tarihi / No.su: 08.05.2019/KOGOEK01.4 Sayfa: 1/2

Karar Bilgileri	Karar No: KÜ GOKAEK 2019/10.33	Proje No: 2019/196	Tarih : 19/06/2019
	Doç. Dr. Ceyla ERALDEMİR yapılan ve yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçesi, amacı, yaklaşım ve yöntemleri, gönüllüler için beklenen yarar ve riskler dikkate alınarak değerlendirilmiş ve araştırmanın ilgili protokol doğrultusunda belirtilen merkezlerde yürütülmesi etik açıdan, <input checked="" type="checkbox"/> Uygun bulunmuştur. <input type="checkbox"/> Eksikliklerin tamamlanması koşulu ile uygun bulunmuştur.* <input type="checkbox"/> Uygun bulunmamıştır.*		

Dayanakları	Hasta Hakları Yönetmeliği (01.08.1998/23420); Biyoloji ve Tıbbın Uygulanması Bakımından İnsan Hakları ve İnsan Haysiyetinin Korunması Sözleşmesi: İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesinin Uygun Bulunduğuna Dair Kanun (09.12.2003/25311); Biyotıp Araştırmalarına İlişkin İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesine Ek Protokolün Onaylanmasının Uygun Bulunduğuna Dair Kanun (29.03.2011/27899); İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik (13.04.2013/28617); Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği (06.09.2014/29111); Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi; İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu; Türk Tabipleri Birliği Hekimlik Meslek Etiği Kuralları; Türk Tabipleri Birliği Araştırma Etiği Bildirgesi
-------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Etik Kurul Üyeleri

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişki		Toplantıda Bulunma		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Kadir Babaoğlu Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. İ. Erdem Okay Üye	Genel Cerrahi	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	KATILMADI
Prof. Dr. Haluk Emre Özel Üye	Restoratif Diş Tedavisi	Kocaeli Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Özlem Yıldız Gündoğdu Üye	Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Canan Baydemir Üye	Biyostatistik	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Yusufhan Yazır Üye	Histoloji ve Embriyoloji	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	KATILMADI
Doç. Dr. Semil Selcen Göçmez Üye	Farmakoloji	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	KATILMADI
Doç. Dr. Ceyla Eraldemir Üye	Biyokimya	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	İLİŞKİLİ
Dr. Öğretim Üyesi Aslıhan Akpınar Raportör	Tıp Tarihi ve Etik	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

* Gerekeç ve öneriler:

KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onay Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Onay formu	08.05.2019/KOGOEEK01.4	2/2

2.Aydınlatılmış Onam Formu

GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU:

Çalışmanın adı: Kocaeli Bölgesi serbest T3, serbest T4 ve TSH Düzeylerinin Popülasyona Dayalı Referans Aralıklarının Belirlenmesi.

Araştırmanın sorumlusu: *Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak Doç.Dr. FATMA CEYLA ERALDEMİR* danışmanlığında yürütülmektedir.

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir. Lütfen biraz zaman ayırın ve aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun, isterseniz başkalarıyla tartışın. Açık olmayan bir bölüm varsa ya da daha ayrıntılı bilgiye ihtiyaç duyuyorsanız lütfen bize sorun. Ancak araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

*Bu çalışmaya hastanemiz kan bankasına veya polikliniklerine başvurmuş **Gönüllüler** alınacaktır. Çalışmaya Troid fonksiyonları (**Guatr**) açısından herhangi bir sağlık problemi olmayan, bitkisel içerikli olsa dahi son bir ay içerisinde ilaç kullanmamış, gebeliği olmayan, emzirmeyen 18 yaşından büyük kadın- erkek yaklaşık olarak 400 gönüllü katılacaktır.*

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Bu çalışmaya katılıp-katılmamak size veya sosyal güvenlik kurumunuza maddi bir yük oluşturmayacaktır. Sağlık açısından size risk oluşturacak bir durum bulunmamaktadır. Bununla beraber, araştırma sonuçlarımızın size, gelecekteki hastalara, topluma ve bilime fayda sağlayacağı umulmaktadır.

Çalışmaya katılmayı kabul ederseniz sizden sadece bir miktar (bir adet kan alma tüpü) kan alınacaktır. Sizden alınacak kan örneği ile gerekli testler çalışıldıktan sonra numunenizin kalan kısmı imha edilecektir. Herhangi bir sebeple farklı çalışmalarda kullanılmayacaktır.

Araştırma sorumlunuz size ait kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanacak, elde edilen sonuçlar tıbbi literatürde yayınlanabilecektir. **Ancak kimlik bilgileriniz çalışma boyunca ve sonrasında gizli tutulacaktır.** Çalışmanın sonunda test sonucunuzla ilgili bilgi istemeye hakkınız vardır. İsteğiniz doğrultusunda test sonuçlarınızın birer kopyası tarafınıza verilecektir.

Çalışma ile ilgili ek bilgiye ihtiyacınız olduğunda aşağıdaki kişi ile lütfen iletişime geçiniz.

Adı: İlhami ŞAHİN Görevi: Yardımcı Araştırması

Telefon: 0-533-4836874

Zamanınızı ayırıp bilgilendirme formunu okuduğunuz için teşekkür ederiz

Araştırmanın Adı: Kocaeli Bölgesi serbest T3,serbest T4 ve TSH Düzeylerinin Popülasyona Dayalı Referans Aralıklarının Belirlenmesi.

	Evet	Hayır
Gönüllü Bilgilendirme Formunu okudunuz mu?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma projesi size sözlü olarak da anlatıldı mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Size araştırmayla ilgili soru sorma, tartışma fırsatı tanındı mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sorduğunuz tüm sorulara tatmin edici yanıtlar alabildiniz mi?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma hakkında yeterli bilgi aldınız mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Herhangi bir zamanda herhangi bir nedenle ya da neden göstermeksizin araştırmadan çekilme hakkına sahip olduğunuzu anladınız mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma sonuçlarının uygun bir yolla yayınlanacağına katılıyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Yukarıdaki soruların yanıtları size kim tarafından açıklandı?		

Gönüllü	Araştırmacı
İmza:	İmza:
Adı / Soyadı:	Adı / Soyadı:

Tarih:	Tarih:
--------	--------

Araştırmaya katılımınızla ilgili herhangi bir şikâyetiniz varsa Kurula Etik Kurul raportörü Yrd. Doç. Dr. Aslıhan Akpınar (Tel: 02623037450) vasıtasıyla ulaşabilirsiniz. Her tür şikâyetiniz gizlilikle değerlendirilecek, araştırılacak ve sonuç hakkında tarafınıza bilgi verilecektir

