



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA ŞEHİR HASTANESİ
TIBBİ BİYOKİMYA KLİNİĞİ

TİROİD FONKSİYON TESTLERİ
(TSH, sT3, sT4) REFERANS ARALIKLARININ
BELİRLENMESİ

Dr. Nebi Yılmaz

(UZMANLIK TEZİ)

ANKARA/2019



T.C.

**SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA ŞEHİR HASTANESİ
TIBBİ BİYOKİMYA KLİNİĞİ**

**TİROİD FONKSİYON TESTLERİNİN
(TSH, sT3, sT4) REFERANS ARALIKLARININ
BELİRLENMESİ**

Dr. Nebi Yılmaz

**Doç.Dr. Sevilay Sezer
(UZMANLIK TEZİ)**

ANKARA/2019

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
KISALTMALAR.....	iv
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tiroid Hormon Sentezi ve Sekresyonu.....	3
2.2. Tiroid Hücrelerindeki İyot Metabolizması.....	5
2.3. İyodotironin Sentezi	6
2.4. TSH Rolü ve Mekanizması.....	6
2.5. Tiroid Hormonlarının Plazmada Taşınması.....	8
2.6. Serbest Tiroid Hormonlarının Metabolizması.....	9
2.7. Hipotalamus – Hipofiz - Tiroid Aksı	10
2.8. Tirotropin Salgılatıcı Hormon (TRH) Sentezi ve Sekresyonu.....	11
2.9. Tirotropin (TSH) Sentezi ve Sekresyonu.....	12
2.10. İyot Eksikliği	13
2.11. Referans ve Normal Değer Kavramı	14
2.12. IFCC ve CLSI'nın Belirlediği Tanımlamalar	15
2.13. Referans Bireylerin Seçimi	17
2.13.1. Direkt Örnekleme Yöntemi.....	17
2.13.2. İndirekt Örnekleme Yöntemi	19
2.14. Verilerin Analizi	19
2.14.1. Parametrik Yöntem.....	19
2.14.2. Non-Parametrik Yöntemler	21
2.15. Aşırı Uçlarda Gözlenen Değerlerin Belirlenmesi	21
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	23
3.1. Çalışmanın Tasarımı Ve Çalışma Grubunun Seçilmesi	23
3.2. Analiz Örneklerinin Alınması ve Serum Eldesi	24
3.3. Kullanılan Cihaz ve Kitler	24
3.4. İstatiksel Analiz.....	24
4. YÖNTEMLER.....	26
4.1 TSH Ölçümü	26
4.2 Serbest T4 (sT4) ve Serbest T3 (sT3) Ölçümü	26
5. BULGULAR	28
6. TARTIŞMA	37
7. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
8. KAYNAKLAR.....	47

ÖZGEÇMİŞ.....	51
EKLER.....	52
EK1:.....	52

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince sürekli bilgisi ve deneyimi ile bana her türlü desteği veren ve bu çalışmamda beni yönlendirip çıkan problemlerin çözümünde bana yardımcı olan tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Sevilay Sezer'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Biyokimya eğitimim boyunca olanaklardan en iyi şekilde yararlanmam için beni yönlendirip destekleyen bilgisi, deneyimi, desteği ve tecrübesi ile sürekli yanımda olan Sayın Doç. Dr. Turan Turhan hocama;

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini hoşgörü ile aktararak desteklerini esirgemeyen ve bizleri çok yönlü olarak yetiştirmeye çabalayan, tıbbi biyokimya uzmanlığının yanı sıra akademik bir vizyon da kazandırmaya çalışan kıymetli hocalarım Prof. Dr. Özcan EREL, Prof. Dr. Fatma Meriç YILMAZ, Prof. Dr. Gülsen YILMAZ ve Doç. Dr. Canan TOPÇUOĞLU'na;

Tez çalışmamda emeğini esirgemeyen ve sürekli desteği ile bana yardımcı olan sayın Uzm. Dr. Selçuk PARLAK'a;

Biyokimya uzmanlığı adına bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, bu meslekte yetişmemi sağlayan, aydınlatıcı fikirleri ve yaklaşımları ile örnek olan değerli uzmanlarımıza;

Asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım ve kalıcı dostluklar edindiğim değerli asistan arkadaşlarım; Ahmet ESENDEMİR, Erbay ASUTAY, Aydın TOPAL, Uğurcan EKER, Ortaç ATEŞ, Arzu SAKALLI ve Erkan ÇELİK'e

Çalışmalarımız sırasında ihtiyaç duyduğumuz anda yardımlarını esirgemeyen teknisyen arkadaşlarıma;

Eşim Gülbeyaz'a yardımları, sabrı ve sevgisi; kızlarım Ela ve Nehir'e varlıkları için; sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nebi YILMAZ
ANKARA, 2019

KISALTMALAR

ATP	: Adenozin Trifosfat
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CCl₅	: Karbonpentaklorür
ClO₄	: Perklorat
CLSI	: Clinical Laboratory Standards Institute; Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü
DAG	: Diaçil Gliserol
DIT	: Diiyodotirozin
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
GDP	: Guanozin Difosfat
GTP	: Guanozin Trifosfat
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
hCG	: İnsan Koryonik Gonadotropin
ICCIDD	: İyot Eksikliği Bozukluklarının Kontrolü Uluslararası Konseyi
IFCC	: Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu
IP₃	: İnozitol Trifosfat
LH	: Lüteinleştirici hormone
MAP Kinaz	: Mikrotübül ilişkili Protein Kinaz
MCR	: Metabolik Klirens Hızı
MIT	: Monoiodotirozin
µu	: Mikro İnternational Unit; Mikro Uluslararası Birim
mIU	: Mili İnternational unit; Mili Uluslararası Birim
ml	: Mililitre
mRNA	: Mesajcı Ribonükleikasit
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat hidrojen
NHANES III	: Üçüncü Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Taraması
NH₂	: Anilin
NIS	: Sodyum - İyot Simporter
SRIH	: Somatotropin salgılanmasını inhibe eden hormon (somatostatin)
sT3	: Serbest Triiodotronin
sT4	: Serbest Tiroksin
T2	: Diiyodotronin
T3	: Triiodotronin
T4	: Tiroksin
TBAb	: Tiroid Blokan Antikor
TBG	: Tiroid Bağlayıcı Globülin
TcO₄	: Perteknetat

Tg	: Tiroglobulin
TPO	: Tiroid Peroksidaz
TR	: Tiroid Hormon Reseptörleri
TRE	: Tiroid Hormon Cevap Elemanları
TRH	: Throid Releasing Hormone; Tirotropin Salgılatıcı Hormon
TSAb	: Tiroid Sitümulan Antikor
TSH	: Tiroid Sitümulan Hormon
TSH rAb	: TSH reseptör antikoru
TSHR	: Tirotropin Reseptör
TTF-1	: Tiroid Transkripsiyon Faktör 1
TTF-2	: Tiroid Transkripsiyon Faktör 2
TTR	: Transtiretin; T4 bağlayıcı prealbümin
UNICEF	: Birleşmiş Milletler Çocuklara Yardım Fonu

TABLO LİSTESİ

- TABLO 1** : WHO, UNICEF ve ICCIDD'e göre gerekli günlük iyot alım miktarları
- TABLO 2** : TSH'ın tiroid hücre işlevleri üzerine etkileri
- TABLO 3** : Tiroid hormon bağlayan proteinlerin karşılaştırılması
- TABLO 4** : Referans aralık saptama anket formu
- TABLO 5** : Direkt yöntem; sT3-sT4 ve TSH'ın katılımcı sayısı, minimum-maksimum değerler, mean, \pm SD ve % 95 güven aralıkları
- TABLO 6** : Direkt yöntemle sT3-sT4 ve TSH'da bulduğumuz referans değerleri ve üretici firma referans aralıkları
- TABLO 7** : İndirekt yöntem; sT3-sT4 ve TSH'ın katılımcı sayısı, minimum-maksimum değerler, mean, \pm SD ve % 95 güven aralıkları
- TABLO 8** : İndirekt yöntemle sT3-sT4 ve TSH'da bulduğumuz referans değerleri ve üretici firma referans aralıkları
- TABLO 9** : İndirekt yöntemde cinsiyetler arası referans dağılımı
- TABLO 10** : Mevcut çalışma verilerinin (direkt yöntem) diğer referans aralığı çalışma verileri ile karşılaştırılması

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1** : Tiroid Hormonlarının Yapıları
- Şekil 2** : Tiroid Hormonu Biyosentezi
- Şekil 3** : Tiroid Hormon Üretiminin Düzenlenmesi
- Şekil 4** : Referans tanımları
- Şekil 5** : Gaussian normal dağılım
- Şekil 6** : Direkt yöntemle belirlenen sT3 veri dağılımı
- Şekil 7** : Direkt yöntemle belirlenen sT4 veri dağılımı
- Şekil 8** : Direkt yöntemle belirlenen TSH veri dağılımı
- Şekil 9** : İndirekt yöntemle belirlenen sT3 veri dağılımı
- Şekil 10** : İndirekt yöntemle belirlenen sT4 veri dağılımı
- Şekil 11** : İndirekt yöntemle belirlenen TSH veri dağılımı
- Şekil 12** : İndirekt yöntemle belirlenen sT3'ün erkek cinsiyette referans dağılımı
- Şekil 13** : İndirekt yöntemle belirlenen sT3'ün kadın cinsiyette referans dağılımı
- Şekil 14** : İndirekt yöntemle belirlenen sT4'ün erkek cinsiyette referans dağılımı
- Şekil 15** : İndirekt yöntemle belirlenen sT4'ün kadın cinsiyette referans dağılımı
- Şekil 16** : İndirekt yöntemle belirlenen TSH'nin erkek cinsiyette referans dağılımı

Şekil 17 : İndirekt yöntemle belirlenen TSH'nın kadın cinsiyette referans dağılımı

ÖZET

Tiroid fonksiyon testleri, günümüzde klinisyenler tarafından tanı ve tedavi takibi amacıyla en sık istenen testler arasındadır. Diğer testlerde olduğu gibi bu testlerde de referans aralıkları esas alınarak sonuçlar değerlendirilmekte, elde edilen sonuca göre klinisyen hastanın takip ve tedavisini planlamaktadır. Kanıta dayalı klavuzlar tarafından her laboratuvarın mutlaka kendine ait referans aralıklarını belirlemesi gerektiği önerilmektedir. Biz bu çalışmada sağlıklı gönüllülerden oluşturduğumuz bir gruptan elde ettiğimiz tiroid fonksiyon test sonuçları (direkt yöntem) ve hastanemize gelen hastaların tiroid fonksiyon test sonuçlarının laboratuvar bilgi yönetim sisteminden alınan verilerini kullanarak (indirekt yöntem) kendi referans aralıklarımızı belirlemeyi amaçladık.

Bu amaçla Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsünün (CLSI), laboratuvar referans aralıklarının belirlenmesi ve verifikasyonu için oluşturduğu EP28-A3c kılavuzunu kullandık. Direkt yöntem ile Ankara ilinde ikamet eden ve tamamen sağlıklı 128 gönüllüden elde edilen tiroid fonksiyon test (TSH, sT4, sT3) sonuçları ile bu testlerin referans aralıklarını hesapladık. Ayrıca Ankara Numune Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarı'nda, hastanemize başvuran ve tiroid fonksiyon test (TSH, sT4, sT3) istemi olan hasta sonuçlarının verilerini kullanarak, aynı testlerin referans aralıklarını indirekt yöntemle tespit ettik. İndirekt referans aralık çalışması için retrospektif olarak 1.516.001 kişinin laboratuvar kayıtları incelendi. Laboratuvar verilerine göre, tiroid fonksiyonlarını etkileyebilecek patolojik durum göstergeleri anormal olan hastalar dışlanarak istatistiksel analiz için 3227 erkek, 4752 kadına ait toplamda 7979 kişiye ait tiroid fonksiyon test sonuçları kullanıldı.

Dağılımın tipi Kolmogorov- Smirnov testi ile belirlendi. Uç değerler Dixon yöntemi kullanılarak atıldı. Cinsiyetler arası farklılık Independent Sample T testi ve Mann-Whitney U testi ile saptandı.

Çalışmanın sonunda hem direkt, hem de indirekt yöntem ile elde edilen referans değerler ile üretici firmanın önerdiği değerler arasında benzerlikler

bulunmasına rağmen yine de tam olarak bire bir örtüşme olmadığı görüldü. Bu durum, CLSI'ın EP28-A3c klavuzunda da ifade edildiği gibi, kullanılan kitin önerdiği referans aralığının mutlaka hizmet verilen toplum için doğrulanması gerektiğini ve mümkünse yeniden oluşturulması gerektiğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Tiroid fonksiyon testleri, Direkt yöntem, İndirekt yöntem, Referans aralık.

ABSTRACT

Thyroid function tests are among the most frequently requested tests nowadays. The patient results are evaluated on the basis of the reference intervals and according to the test results, clinician plans the follow-up and treatment of the patient. By based guidelines, it is recommended that each laboratory must determine its own reference ranges. We aimed to determine our own thyroid function test reference intervals by using the data obtained from the healthy volunteers (direct method) and from the laboratory information management system of the thyroid function test results (indirect method).

For this purpose, we used the EP28-A3c guideline, which was established by the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) for the determination and verification of laboratory reference ranges. In direct method, thyroid function test (TSH, sT4, sT3) results were obtained from 128 healthy volunteers living in Ankara. In indirect method, the data of the patients who applied to Ankara Numune Training and Research Hospital obtained from laboratory information system were used.

In the indirect reference interval study; 1,516,001 laboratory test results were retrospectively reviewed. According to the laboratory data, thyroid function test results of 7979 patients (3227 male and 4752 female) were included for the statistical analysis. Patients with pathological status were excluded.

The extreme values were removed by using the Dixon test. The normality of data was determined by the Kolmogorov-Smirnov test. The gender differences were determined by Independent Sample T-test and Mann-Whitney U test.

At the end of the study, although there are similarities between the reference values obtained from direct and indirect method and the values suggested by the manufacturer, no exact overlap was observed. This indicates that the reference range recommended by the kit used must be verified and, if possible, reconstructed, as stated in CLSI's EP28-A3c manual.

Keywords: Thyroid function tests, prospective study, retrospective study, reference interval.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tiroid hormonları, bebeklerde beyin ve somatik gelişimin ve erişkinlerde metabolik aktivitenin kritik belirleyicileridir; aynı zamanda hemen hemen her organ sisteminin işlevini de etkilerler. Bu işlevleri yerine getirmek için tiroid hormonları sürekli olarak belli düzeyde mevcut olmalıdır. Hormonların sürekli olarak bulunabilirliğini korumak için tiroid bezinde depolar bulunmaktadır. Ayrıca, tiroid hormonu biyosentezi ve sekresyonu, dolaşımdaki hormon konsantrasyonlarındaki küçük değişikliklere çok duyarlı bir düzenleyici mekanizma ile dar sınırlar içinde korunur.

Tiroid hormonları T4 (tiroksin) ve T3' ün (triiodotironin) sekresyonu, hipofiz bezinden salınan tiroid uyarıcı hormon (TSH) tarafından düzenlenir (Şekil1 ve Şekil3). Buna karşılık TSH sekresyonu, tiroid hormonlarının negatif geri bildirimleriyle kontrol edilir. Serum serbest T4 (sT4) ve TSH konsantrasyonları arasında negatif log-lineer bir ilişki vardır. Bu nedenle serum serbest T4 konsantrasyonlarındaki çok küçük bir değişiklik serum TSH konsantrasyonlarında çok büyük değişimlere neden olmaktadır [1].

Tiroid fonksiyon testleri, hipotalamus – hipofiz – tiroid bezi aksının işlevlerinin değerlendirilmesi amacıyla rutinde sık istenen ve çalışılan testlerdendir. Serumda TSH, sT4 ve sT3 düzeylerinin saptanması, başta tiroid bezi olmak üzere üst düzenleyici endokrin organlar olan hipofiz ve hipotalamusu da kapsayan aksın işlevlerinin değerlendirilmesini sağlamaktadır [2].

Güvenilir referans aralıkları, laboratuvar verilerinin yorumlanmasında önemlidir. Tiroid hastalıklarının taranması, tanı, tedavi ve takibi için önem arzeden tiroid fonksiyon testlerinin referans aralıklarının doğru ve güvenilir olması gerekmektedir. Kullanılan referans aralıklarının, hizmet verilen hasta popülasyonu için uygun olduğunu doğrulamak ise laboratuvarın görevidir [3].

Referans aralıklarının belirlenmesi ve doğrulanması, CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute; Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi) ve IFCC (International Federation of Clinical Chemistry; Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu) önerilerine göre yapılmaktadır. CLSI ve IFCC, referans değerlerinin ve aralıklarının her laboratuvar tarafından belirlenmesi

gerektiğini önermiş ve bunun belirlenmesine yönelik uyulacak kural ve yöntemlerle ilgili bir seri kılavuz yayınlamıştır. Ayrıca söz konusu kılavuzlarda (CLSI,IFCC), her laboratuvar kullandığı kitin önerdiği referans aralıklarını kullanıyor ise en azından bu referans aralıklarının geçerliliğini teyit etmesi önerilmektedir [4, 5].

Ne yazık ki çoğu klinik laboratuvar kendi referans aralıklarını kendileri belirlemek yerine, geçerliliği olmayan yöntemlerle bu sorunu çözmeye çalışmakta veya üretici firmaların kendi cihazları için tanımladığı referans aralıklarını kullanmaktadırlar. Bu değerlerin o popülasyonu yeterince yansıtmadığı açıktır. Ancak bu noktada uygulanması gereken en doğru çözüm, her klinik laboratuvarın kendi koşullarında kendi referans aralıklarını oluşturmasıdır [5].

Bir popülasyonda tiroid hastalıklarının paterni esas olarak iyot takviyesinin bölgesel durumuna bağlıdır. Tiroid fonksiyon testleri coğrafi bölge, ırk, cinsiyet, yaş, gebelik durumu gibi faktörlerden etkilenmekte ve çeşitlilik arz etmektedir [6, 7].

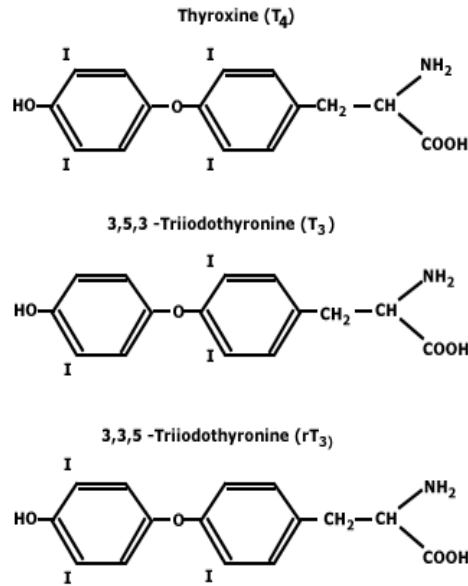
Bu çalışmada, Ankara ili popülasyonunda tiroid fonksiyon testlerine ait referans aralığının; direkt yöntemle sağlıklı gönüllülerden ve indirekt yöntemle Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi'nden (LBYS) elde edilen popülasyon verileri kullanılarak oluşturulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tiroid Hormon Sentezi ve Sekresyonu

Tiroid bezi, normal yetişkinlerde 10 - 20 gramdır. Ultrasonografi ile ölçülen tiroid bezi hacmi erkeklerde kadınlardan biraz daha fazladır. Tiroid bezi hacmi yaş ve vücut ağırlığı ile artarken, artan iyot alımı ile azalır [8, 9].

Biyolojik olarak aktif iki tiroid hormonu vardır: tiroksin (T₄) ve 3,5,3'-triyodotironin (T₃). Bunlar, bir tirozin molekülüne bir eter bağı ile bağlanmış iki fenil halkasından oluşur. Her ikisinin de iç tirozin halkasında iki iyot atomu vardır. T₄'ün, fenil (dış) halkasında iki iyod atomuna sahip olması, T₃'ün ise sadece bir tane iyot atomu olması T₄'ün T₃'ten farkıdır. Bir iyot atomunun T₄'ün iç halkasından çıkarılması durumunda oluşan bileşik, biyolojik aktivitesi olmayan 3,3',5'-triyodotironindir [ters T₃ (rT₃)]. T₄ sadece tiroid bezinin bir ürünüdür, T₃ ise tiroid ve T₄'ün deiyodinasyonu ile birçok dokuda üretilmektedir. Tiroid bezi, içinde sentezlenen T₄ ve T₃ hormonları yine tiroid bezi içinde bulunan bir protein olan tiroglobulinde büyük miktarda depo edilir. Bu şekilde depolanan T₄ ve T₃, sentezlenmesi için gereken süre beklenmeden çok daha hızlı bir şekilde salınabilir.



Şekil 1. Tiroid Hormonlarının Yapıları

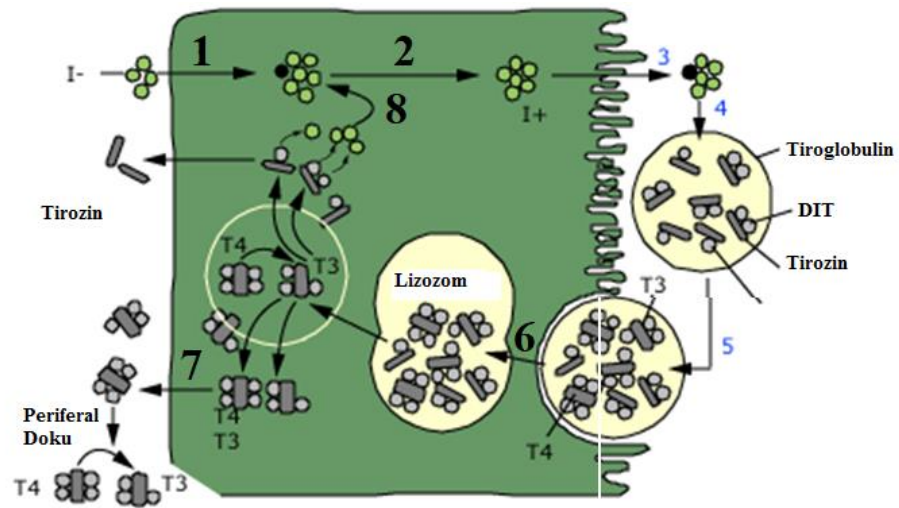
Yeterli hormon sentezi için gerekli günlük ekzojen olarak alınan iyodun yaklaşık 60-75 μg 'ı tiroid dokusuna tutulur. İyot eksikliğinin olmaması için günlük en azından 100 μg iyot alımı gerekir. İyot organizmaya daha çok gastrointestinal sistemle alınmaktadır. Bu miktar günlük 100-500 μg kadardır. Kandaki iyot havuzunda ortalama 500 μg iyot bulunur. Bunun 12 μg 'ı feçesle 488 μg 'ı idrarla atılır. İyodun tiroid bezindeki miktarı ise, 8000 μg kadar yüksek düzeydedir. Bu denge enerji harcanarak aktif transportla sağlanmaktadır [10].

Önerilen günlük iyot alımı;

Tablo 1. WHO, UNICEF ve ICCIDD'e göre gerekli günlük iyot alım miktarları

90 $\mu\text{g/gün}$	Okul öncesi çocuklar için	(0 ila 59 ay)
120 $\mu\text{g/gün}$	Okul çağındaki çocukları için	(6 ila 12 yıl)
150 $\mu\text{g/gün}$	Yetişkinler için	(12 yaş üstü)
200 $\mu\text{g/gün}$	Hamile ve emziren kadınlar için	

İyot eksikliği idrar iyot atılımı ile tanımlanır ve hafif iyot eksikliğinde idrar iyot atılım miktarı, 50 - 99 $\mu\text{g/L}$; orta derecede iyot eksikliğinde, 20 - 49 $\mu\text{g/L}$; ve şiddetli iyot eksikliğinde, <20 $\mu\text{g/L}$ 'dir. Fetüslerde ve bebeklerde şiddetli iyot eksikliği, ciddi zihinsel ve büyüme geriliği ile sonuçlanır ve hafif iyot eksikliği, çocuklarda tiroid büyümesi ve öğrenme güçlüğü ile ilişkilidir.



Şekil 2. Tiroid Hormonu Biyosentezi

Tiroid hormon sentezi aşağıdaki basamakları içerir:

(1) İyodür (I⁻)'ün tiroid folliküler hücresi tarafından tutulması; (2) İyodürün hücrelerin kolloid ile temasta olan yüzeyine difüzyonu; (3) İyodürün kolloid içine taşınması; (4) İnorganik iyodürün iyodine oksidasyonu ve iyodinin kolloid içindeki tiroglobulin molekülleri içindeki tirozin kalıntılara katılması; (5) İki Di iyodotirozin (DIT) molekülünün tetraiodotironin (T4) veya Di iyodotirozin ile Mono iyodotirozin (MIT) 'nin T3 oluşturmak üzere birleşmesi; (6) Kolloidden foliküler hücreye tiroglobulinin endositoz ile alınması, tiroglobulinin bir lizozom ile füzyonu ve T4, T3, DIT ve MIT'in proteolizi ve salınımı; (7) T4 ve T3'ün dolaşıma salınması; ve (8) Tirozin elde etmek için DIT ve MIT' in deiyodinasyonu. T3 ayrıca tiroid içindeki ve periferik dokularda T4' ün monodeiodinasyonu ile de oluşur [11].

2.2. Tiroid Hücrelerindeki İyot Metabolizması

İyot konsantrasyonu tiroid hücresinde, plazmadaki iyot konsantrasyonundan 20 ila 40 kata kadar yüksek düzeydedir. İyot konsantrasyonunun yüksek olmasını sağlayan sistem ise hücrenin bazolateral kısmında bulunan Sodyum-İyot Simporter (NIS) sistemidir. NIS sistemi iyodu interstisyel sıvıdan tiroid hücresi içine taşıyan sistemdir. İyot transportu aktif bir olaydır, tiroid hücresinin bazal membranındaki sodyum gradientine bağlı olarak çalışan aktif bir süreçtir [12].

Hücresinin bazal kısmından 2 Na ve 1 iyot iyonu sodyum iyot simporter sistemi ile hücre içine girerken, hücre içinde artan sodyum ise hücre dışına Na/K ATP az pompasıyla (3Na) atılır. Sonuçta 3 Na hücre dışına atılırken 2 K hücre içine alınır. İyot transport sistemi ilave olarak; perteknetat (TcO₄), perklorat (ClO₄) ve tiyosiyanat (SCN) gibi moleküllerin taşınmasını da sağlar. İyot bu maddelerle NIS sisteminde taşınmak için yarışır. Bu yarışma genelde iyot molekülleri kazanır. Diğer maddelerin iyotla yarışabilmeleri için fazla miktarda bulunmaları gerekir ancak bu şekilde iyotla yarışabilirler ve iyotun bağlanması inhibe edebilirler. Hem mRNA hem de protein ekspresyonu düzeylerinde yapılan birkaç çalışma, iyodür alımının birincil düzenleyicisi olan TSH' nin hem in vitro hem de in vivo olarak NIS gen ekspresyonunu ve NIS protein miktarını artırdığını göstermiştir. Aynı zamanda TSH, NIS geninin transkripsiyonunu ve hücreler üzerindeki hedef proteinlerin yarılanma ömürlerini arttırır.

Özet olarak, foliküler lümen içindeki iyodürün mevcudiyeti, NIS' in aracılık ettiği bazolateral plazma membranı yoluyla tirozine girişine ve pendrin, CCl5 ve anoktamin-1'e bağlı apikal plazma membranı boyunca dışarı akışına bağlıdır. İyot organizasyonu bozulduğunda, hala tanımlanmamış mekanizmalar ile bazolateral plazma membranından iyodür akıntısı oluşur [13-16].

2.3. İyodotironin Sentezi

T3 ve T4 hormonlarının öncülleri DIT ve MIT'tir. DIT ve MIT hormon olarak inaktiftir. Tiroid peroksidaz (TPO) katalizörlüğünde iki DIT molekülünün bir eter köprüsü aracılığıyla bağlanması sonucu T4 oluşturulur (coupling- birleştirme reaksiyonu). Yine aynı şekilde DIT ile MIT aynı reaksiyonla bir araya gelerek T3 hormonunu oluştururlar. Bu işlemler sırasında merkezi bir rol alan molekül ise Tiroglobülin molekülüdür. Tiroglobülin molekülü, tiroid hücresinde sentez edilen daha sonra follikül kolloid lümenine salgılanan 660 kDa ağırlığında, 5496 aminoasit ve %10 karbohidrat içeren glikoprotein yapısında moleküldür. Monomer, tetramer ve dimer yapıda bulunabilir. Genellikle iki adet 330 kDa şeklinde dimer yapıda bulunur. Daha az olarak da monomer veya tetramer yapılarda da bulunabilir. Tiroglobülin sentezindeki arttırıcı etkiyi ise TSH sağlar. Tiroglobülin molekülü iyot bağlayabilen 134 kadar tirozil kökü içerir. Plazmadaki iyot konsantrasyonu arttıkça tirozil köklerinin iyodine olma oranı artar. Ancak genel koşullarda iyodinasyon oranları %20 - 30 civarındadır [17-19].

2.4. TSH Rolü ve Mekanizması

Tiroid hormonu sentezi, salınımı ve bütün aşamalarında; hipotalamusun supraoptik ve paraventriküler nükleuslarındaki nöronlar tarafından sentezlenen tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) ve hipofizden sentezlenip salınan TSH'nın rolü vardır. Tiroid hücreleri G protein bağımlı reseptör ailesine ait TSHR (TSH reseptörlerini) eksprese ederler. TSHR büyük ekstraselüler [anilin (NH₂)] terminal kısım, 7 transmembran kısım ve G protein alt birimi üzerinden GDP'den GTP oluşumunu teşvik eden intraselüler kısımdan oluşur.

TSH sentezi 14. kromozom tarafından kontrol edilir. Ekstraselüler kısım

TSH'nın bağlandığı bölümdür. Buraya hormon veya ligand bağlandığı zaman transmembranöz bölümde şekilsel bir değişiklik olur. Buradaki değişiklik ise reseptörün aktifleşmesine neden olur. TSHR iki şekilde uyarılabilir; Aktif sinyal iletme “açık” konformasyon veya sinyalleşmenin gerçekleşmediği “kapalı” konformasyon. TSHR’ne TSH’ın bağlanması onu “açık” konformasyona sokar. Asıl reseptör G protein alfa alt birimi olmasına rağmen, TSH yüksek konsantrasyonda (fizyolojik dozun 100 katı) olursa G protein q alt birimini de (Gq) aktive eder. Gq aktivasyonu inozitol trifosfat (IP3) - diaçil gliserol (DAG) kaskadını başlatır. Sonuçta fosfolipaz C aktivasyonu ve hücre içi Ca^{+2} yolu aktivasyonu meydana gelir. Hücre içi Ca^{+2} artması ile tiroid hücresine iyot girişi, iyodun da H_2O_2 ile oksidasyonu, tiroglobulinin iyotlanması işlemleri ve tiroid hormon sentezi basamakları gerçekleşir. [19-22] (Tablo 2).

Tablo 2. TSH’ın tiroid hücre işlevleri üzerine etkileri

İşlev	Etki şekli	Mekanizma
İyot metabolizması	Folikül lümenindeki iyot artışı	Fosfolipaz C cAMP
	Tiroid kan akımı artışı	Nitrik Oksit artışı
	Tiroid hücrelerinden artmış iyot akışı	? (Bilinmiyor)
Hormon sentezi	H_2O_2 artışı	Fosfolipaz C cAMP
	Tg ve TPO artışı	? (Bilinmiyor)
	Pentoz fosfat yolundan NADPH artışı	? (Bilinmiyor)
Hormon sekresyonu	Tiroglobulin pinositozu	cAMP
	Plazmaya Tg salınımı	cAMP (?)
	Mitogenezis	cAMP, fosfolipaz, IGF1

TSHR ile ilgili mutasyonel analiz yöntemleri ile yapılan çalışmalarda TSHR’nin ekstraselüler bölgesinde aktif (open; açık) ve inaktif (closed; kapalı) kısımlarının olduğu görülmüş ve bu bölgelerin uyarılmasıyla veya bu bölgelere karşı oluşan antikorların tipiyle hücrenin davranış şeklinin belirlendiği

gösterilmiştir. TSH'nin bağlandığı ekstraselüler kısmın N-terminal ucuna yakın epitoplara karşı oluşan antikorlar stümülan karakterde iken; membrana yakın bölümlerine karşı oluşan antikorlar çoğunlukla blokan karakterdedir.

TSHR'lerine TSH'nin bağlanması yanı sıra ek olarak tiroid sitümülant antikorlar (TSAb), tiroid blokan antikorlar (TBAb) ve nötral antikorlar bağlanır. Ayrıca yapının benzerliğinden dolayı Luteinleştirici hormon (LH) ve human koryonik gonadotropin (hCG) TSHR sinyalizasyonunu aktive edebilir. Bu aktivasyondan dolayı hCG uyarısı erken gebelik döneminde fizyolojik hipertiroidi oluşmasının nedenini açıklar. Tiroid yanı sıra TSHR osteoklastlarda, fibroblastlarda, retroorbital adipositlerde de sentezlenir [21].

2.5. Tiroid Hormonlarının Plazmada Taşınması

Tiroid hormonları plazmada yaygın olarak proteinlere bağlanır. Ancak plazmada toplam T4 (tT4)'ün % 0,03'ü ve toplam T3 (tT3)'ün % 0,3'ü serbesttir. İyodotironinlerin suda çözünürlükleri iyi olmadığı için plazma proteinlerine geri dönüşümlü bağlanarak taşınırlar. En önemli taşıyıcılar; tiroksin bağlayıcı globülün (TBG), eski adıyla tiroksin bağlayıcı prealbümin olan transtiretin (TTR) ve albümindir. T3'ün yaklaşık olarak %75 - 80 kadarı TBG ile geri kalanı diğerleriyle bağlanarak taşınır. Taşıyıcı proteinlerin **Tablo 3**'de verilen farklı özellikleri fonksiyonel açıdan önemlidir. Albümin ve transtiretine göre plazmada daha düşük konsantrasyonda olan TBG; hormonların yaklaşık %70'ini bağlar. Hormon bağlama afinitesi de diğerlerinden çok üstündür. Buna karşın bağlanan hormonların serbest hale geçmeleri daha uzun sürer. Buna göre TBG tiroid hormonları için daha çok depo görevi görür. TBG kan beyin bariyerini aşamamasına rağmen, transtiretin kan beyin bariyerini aşarak T4'ün beyin dokusuna taşınmasına olanak tanır. Beyin dokusu, kendi deiyodinazlarını kullanarak T4'ten T3'ü sentez eder. Plasentaya da T4 sağlayan yine TBG'dir. Fetusun gereksinimi az olmasına rağmen, organogenez safhasında hayati öneme sahip olan T4 plasental deiyodinazlar ile ayarlanmaktadır. Tiroid hormon bağlayıcı proteinlerin ayrıntılı karşılaştırılması Tablo 3'de verilmiştir [19, 23, 24]

Tablo 3. Tiroid hormonu bağlayan proteinlerin karşılaştırılması

Tiroid Bağlama Proteini	TBG	TTR (Transtiretin)	Albümin
Plazmadaki konsantrasyon (ortalama, mg/L)	16	250	40.000
T4 kapasitesi (µg/dL)	22	120	1000
DAĞITIM			
T ₄	75%	20%	5%
T ₃	75%	5%	20%
Mol Kütleleri (kDa)	54	55	66
Yapı	Monomer	Tetramer	Monomer
T₄ ve T₃ için bağlanma yerlerinin sayısı	1	2	Birçok
İlişki Sabiti (M⁻¹)			
T ₄ için	1x10 ¹⁰	2x10 ⁸	1,5x10 ⁶
T ₃ için	1x10 ⁹	1x10 ⁶	2x10 ⁵

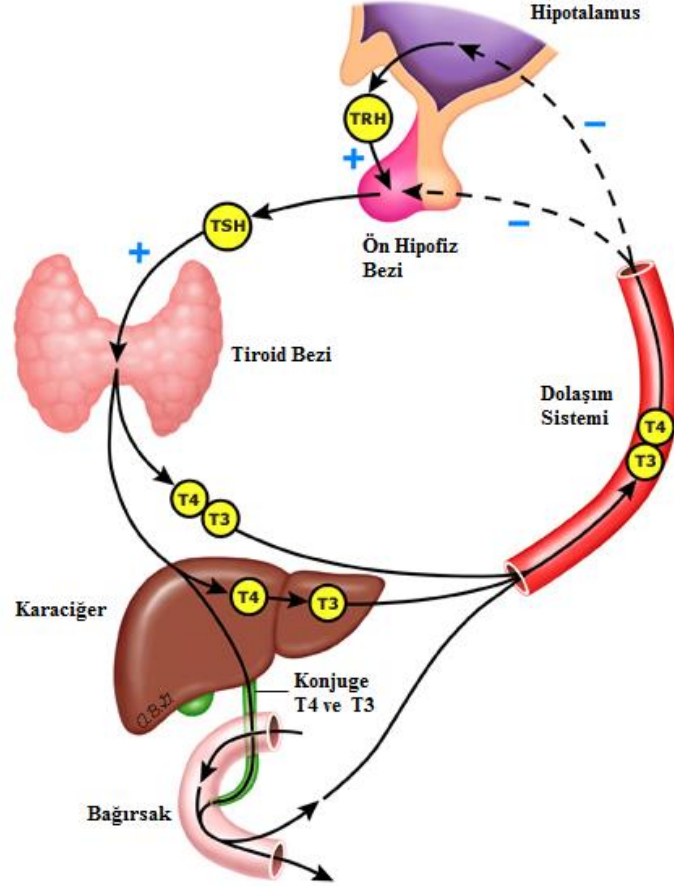
2.6. Serbest Tiroid Hormonlarının Metabolizması

Dolaşımdaki tiroid hormonlarının miktarları Total T4 (45-115) ng/mL; Total T3 (0.8-2.0) ng/mL civarındadır. Buna göre plazma Total (T4/T3) oranı yaklaşık 50 kat kadardır. Serbest T4 miktarı: 0.007 - 0.018 ng/mL, serbest T3 miktarı: 0.0015 - 0.0045 ng/mL kadardır. Buna göre plazma serbest (T4/T3) oranı yaklaşık olarak 4'tür ve T4'ün % 0.03 kadarı; T3'ün % 0.3 kadarı serbest halde bulunur.

Plazmadaki serbest T4'ün major belirleyicisi TBG konsantrasyonu ve saturasyon derecesidir. TBG büyük bir molekül olduğundan sınırlı miktarda glomerüler filtrasyona uğrar. Hormonların oluşum hızı ve plazma dağılımları taşıyıcı proteinler ile serbest formları arasındaki geri dönüşümlü dengelerle sağlanır. T4 ve T3 için benzer sabit denklemler kullanılır. Serbest hormon fraksiyonları dokuların hücre içine giren metabolik ve feedback etkili hormonlar oldukları için, düzeyleri dar sınırlar içinde tutulur. [19, 25-27].

2.7. Hipotalamus – Hipofiz - Tiroid Aksı

Tiroid bezinin büyümesi ve fonksiyonu bu aks ve otheregölasyon elemanları sayesinde iyot tarafından kontrol edilir (Şekil 3).



Şekil 3. Tiroid hormon üretiminin düzenlenmesi

Tiroid hormonlarının metabolik kontrolü; Hipotalamustan tirotropin salgılatıcı hormon (TRH), hipotalamus-hipofizer portal sistemine girer ve TSH'yı ön hipofiz tirotroplarından ayırır. T4 ve T3 hipotalamusa ve daha güçlü bir şekilde ise hipofiz bezine negatif feedback etkide bulunur. T4 ve T3 daha sonra tiroid hormon reseptörüne (TR) bağlandığı hedef dokulara girer.

TRH büyüme hormonu salgılanmasını da sağlar. Ayrıca hipofiz ve periferik dokulardaki deiyodinazlar, T4'ün T3'e dokuya özgü dönüşümünü sağlayarak tiroid hormon düzeylerini ayarlarlar. T3'ün her bir dokudaki moleküler etkileri, etkileşim

kurduğu reseptör alt tipi tarafından, yakından ilişkili olduğu reseptörlerle etkileşimine göre belirlenir [21, 28, 29].

2.8. Tirotropin Salgılatıcı Hormon (TRH) Sentezi ve Sekresyonu

TRH, tiroid hormonlarının varlığında veya yokluğunda TSH'nin sentezi ve salgılanması için kritiktir. Hipotalamik TRH sentezi tiroid hormonları tarafından düzenlenir ve tiroid hormonları hipotalamik düzeyde TRH sentezinin güçlü negatif regülasyonunu sağlarlar.

TRH, piroglutamil histidil prolinamid isimli bir tripeptittir ve hipotalamusun supraoptik ve supraventriküler çekirdek hücreleri tarafından sentezlenir. TRH'nın nöronlardan salınımı, katekolaminler, leptin, nöropeptid - Y gibi moleküller tarafından aktive edilir. Hipotalamusun eminensia medialisinde depolanır. Portal venöz sistemle hipofizer saptan anterior hipofize taşınır. Burada TSH ve prolaktin salgılayan hücrelerdeki yedi transmembran geçişli G proteini üyesi, spesifik membran reseptörlerine bağlanır. Siklik guanozin monofosfat ve inozitol trifosfat aktivasyonu ile sinyal kaskadını aktive eder. Artmış Ca^{+2} ve 1,2- diaçilgliserol oluşumu sonucu protein kinaz C aktive olur. Bu yollar TSH salınımını, TSH alt birimleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu ve tam biyolojik aktivite için gereken posttranslasyonel glikozilasyonu kontrol eder.

Hipotalamus dışında beyin, parafoliküler tiroid hücreleri, pankreas beta hücreleri, miyokardiyum, testis ve overde sentezlenebilen TRH hormonunun bu dokulardaki spesifik etkileri anlaşılammıştır. TRH ile uyarılmış TSH sekresyonu pulsatildir. Ortalama salınım amplitüdü her 2 saatte 0,6 μ U/L dir. Aynı zamanda sirkadiyen bir ritim de sözkonusudur. Gece yarısı ile sabah saat 4 arasında pik yapar. Bununla birlikte TRH salınımını inhibe eden asıl etki tiroid hormonlarıdır. Tiroid hormonları hipofizer tiroitroplar üzerindeki TRH reseptör sayısını azaltırlar. Dolayısıyla hipertiroidide TSH'nın pulsatil sekresyonu ve gece ani salınımı belirgin baskılanır. Hipotiroidide ise artar. Bununla birlikte T3, prepro TRH mRNA düzeyini hipotalamik düzeyde baskılar. Aslında bunun için T3 ve T4 kombine etki ederler. Soğuğa maruziyet, vazopressin ve alfa adrenerjik agonistler TRH salınımını artırırılar [21, 30-33].

2.9. Tirotropin (TSH) Sentezi ve Sekresyonu

Non kovalent bağı, alfa ve beta alt birimlerinden oluşan 28 kDa ağırlığında glikoprotein molekülüdür. 92 aminoasit içeren TSH alfa alt birimi, folikül uyarıcı hormon (FSH), luteinizan hormon (LH) ve human koryonik gonadotropin (HCG) için ortaktır. β alt birimi, tiroid hücresinde TSH reseptörü (TSH-R) ile etkileştiği ve olgun heterodimerik proteinin oluşumunda hız sınırlayıcı olduğundan, moleküle özgüllüğü sağlar.

Tirotroplarda sentezlenen ve spesifik olan beta alt birimi 112 aminoasit içerir. Aşırı alfa alt birimi salgılanması normal ve tümöral tirotroplarda olurken beta alt birimin salgılanması belli sınırlarda olur. Bununla birlikte, serbest β alt birimi etkisizdir ve hormonal biyoaktivite için alfa alt birimi ile kovalent olmayan kombinasyonu gerektirir. Alfa alt biriminin normal plazma aralığı: 0,5 – 5 $\mu\text{g/L}$ 'dir, ancak salınımı postmenopozal kadınlarda ve hipofizer tümörlerde artar. TSH, sentezlendikten sonra aktivite kazanması için endoplazmik retikulum ve golgi cisimciğinde glikozile olmalıdır. Eklenen karbohidrat kalıntıları yarı ömrünü uzatır ve TSH reseptörlerini indükleme yeteneğini artırır.

İnsan TSH' sının üretim hızı (PR) normal olarak 50 ila 200 $\mu\text{U/gün}$ arasındadır. Primer hipotiroidizmde bu hız belirgin bir şekilde artar ($> 4000 \mu\text{U / güne}$ kadar) iken hipertiroidide azalır. Plazma yarılanma ömrü yaklaşık 30 dakikadır. TSH; hem pulsatil (1- 2 saatlik aralıklarla) hem de sirkadiyen (uykudan önce başlar, kortizolden bağımsız, serum T3 ve T4 düzeyleri ile ilişkili olarak dalgalanma şeklinde) salgılanır. Hipotalamus zedelenmesi sonucu oluşan tiroid hipofonksiyonu, hipofizektomi sonrası oluşan hipofonksiyondan daha az şiddetlidir. Hipotalamus destrükte, hipofiz sağlamsa, normali korumak için TSH artıp azalacaktır. Bu nedenle hipotalamus- hipofiz- tiroid aksı sağlam olan bir kişide tiroid durumunu belirlemede TSH çok hassastır. Somatostatin, somatotropin salgılanmasını inhibe eden hormon (SRIH), G proteinlerini inhibe ederek TSH salınımını azaltır. Metaklopramid tarafından dopamin blokajı ötiroid ve hipotiroid hastalarda TSH konsantrasyonunu artırır. Buna bağlı prolaktin artışı ve bunun yaratacağı sorunlar dikkatten kaçmamalıdır [21, 34, 35] .

2.10. İyot Eksikliği

İyot (veya iyonize formdaki iyodür [I⁻]) bir eser element ve temel bir besindir. İyot, T3 ve T4 tiroid hormonlarının vazgeçilmez bir bileşenidir. Bu hormonlar, tirozinaminler ile birlikte omurgalılarda bulunan tek iyot içeren hormonlardır. İyot olmadan tiroid hormonlarının biyosentezi yoktur. Bu nedenle tiroid fonksiyonu, tiroid bezine yeterli miktarda iyot kaynağı gerektirir.

Selenyum, demir veya A vitamini eksiklikleri iyot eksikliğinin etkilerini şiddetlendirir. Diyette yeterli iyot kaynağı bulunduğunda, sağlıklı tiroid dokusu genellikle emilen iyodun % 20'sinden daha azını alır. Bununla birlikte, kronik iyot eksikliğinde, bu fraksiyon % 80'den fazla olabilir. Bu nedenle tiroid, aktivitesini belirgin bir şekilde modifiye ederek, diyet iyotunun düşük alımlarına uyum sağlayabilir. Erişkinlerin çoğunda, iyot alımı 100 µg/gün'ün altına düşerse, TSH sekresyonu artar. Plazmada iyot, yaklaşık 10 saatlik bir yarı ömre sahiptir, ancak bu, iyot eksikliği veya hipertiroidizmde azalabilir. Sağlıklı bir yetişkinde yaklaşık 20 mg iyot vardır, bu oran tiroidin % 80' i kadardır. Periferik dokularda dolaşan tiroid hormonlarının metabolizması, plazma iyot havuzuna giren iyotu serbest bırakır, bu da tiroid tarafından alınabilir veya böbrek tarafından atılabilir. Alınan iyodinin yaklaşık % 90'ı idrarla ve kalanı dışkı ile atılır [36]. Hafif ve orta dereceli iyot eksikliğinde, plazma Tg konsantrasyonları yükselir, tiroid genişler ve diffüz guatr meydana gelir. Düşük iyot alımında kompensasyon mekanizması ile tiroid aktivitesinde artış olur, ancak bu kronik stimülasyon tiroid nodüleritesini artırır ve bu popülasyonlarda multinodüler toksik guatr gelişir. Ayrıca, ılımlı iyot eksikliği olan popülasyonlarda, soliter toksik adenom ve amiodaron ilişkili hipertiroidizm insidansı artmıştır.

Orta ve şiddetli iyot eksikliğinde, TSH düzeyi genellikle hafifçe artar, T4 düzeyi normaldir ve subklinik hipotiroidizm (SCH) gelişebilir. Ağır, kronik iyot eksikliğinde, iyot konsantrasyonları tiroid hormonlarının üretimi için çok düşüktür ve aşırı hipotiroidizm gelişir. TSH hormonu yükselmiş T4 ve T3 hormonu ise azalmıştır. En çok etkilenen bireylerde guatr gelişir. Erişkin popülasyonlarda iyot eksikliğinin düzeltilmesi, şiddeti ne olursa olsun, tüm yaşlarda tiroidin büyüklüğü ve yaygın guatr prevalansını azaltmaktadır. İyot eksikliği nedeni ile görülen

semptomlar büyük ölçüde yaşa bağlı değişiklik gösterir. Fetüslerde, iyot eksikliği, ölü doğum ve doğuştan gelen anomalilere neden olabilir ve yenidoğanlarda görülen eksiklik ise bebek ölümlerine ve endemik kretinizme neden olabilir. Çocuklarda ve ergenlerde, eksiklik zihinsel fonksiyon bozukluğuna, gecikmiş fiziksel gelişime ve düşük IQ'ya neden olabilir. Erişkinlerde eksiklik, bilişsel işlev bozukluğuna, azalan iş üretkenliğine, tiroid otoimmünitesine, toksik nodüler guatr ve hipertiroidizme neden olabilir. Her yaşta, guatr, iyot eksikliğinin en görünür belirtisidir ancak buna özgü değildir [19, 37-45].

2.11. Referans ve Normal Değer Kavramı

Klinik laboratuvar verilerinin tıbbi yorumu karşılaştırılmalı karar verme sürecidir; laboratuvar test sonuçları referans değerlerle oluşturulan referans aralık ile karşılaştırılır. Bu nedenle klinik laboratuvarlar ve üretici firmalar tarafından güvenilir referans değerlerin sağlanması gerekmektedir. Referans aralık terimi yaygın olarak kullanılmakta ise de beklenen değer ya da normal değer ifadeleri, yetersiz de olsa sağlıklı bireyleri tanımlamaktadır. Hastalık süreçlerinin çoğunda ve biyolojik analitlerle ilişkili olarak devamlı değişiklikler oluşmakta, hastalıkta normal ve anormal değer sıklıkla örtüşebilmektedir. Sonuç olarak normal değer her zaman hastalık yokluğunu göstermediği gibi normal değer sınırlarını aşan değerler de her zaman hastalık varlığını göstermemektedir; bu bağlamda normal teriminin tartışmalı olduğu göz önünde bulundurulmalıdır.

Epidemiyoloji yönünden değerlendirildiği zaman, istatistiksel anlamda normal dağılım ya da Gaussian dağılıma uyan veriler grubunun (biyolojik veriler her zaman normal dağılım gösteren çan eğrisi grafiğine uymaz), %95 aralığına düşen değerleri normal olarak alındığında, %5'lik dış alanlardaki normal bireylerin mutlaka hasta olduğu kabul edilmektedir [46].

Bireyin hangi sağlık durumlarında normal olduğunu belirlemek zor bir işlemdir. Çünkü aynı kişi hayatının farklı dönemlerinde farklı sağlık durumlarında bulunabilmektedir. Bu nedenle, "normal" terimi terk edilerek, karşılaştırmada temel alındığı için, yerine daha kesin ve daha az kafa karıştırıcı "referans" ifadesinin daha uygun olacağı görüşü ilk defa Grasbeck ve Saris tarafından tanımlanmıştır [46-48].

2.12. IFCC ve CLSI'ın Belirlediği Tanımlamalar

IFCC'nin ve CLSI'ın önerdiği tanımlamalar uluslararası organizasyonlar tarafından kabul görmüştür [5, 49].

Bu tanımlamalar:

Referans birey: İyi tanımlanmış belli kriterlere göre, test için seçilmiş bireylerdir. Bireyin sağlık durumunun iyi tanımlanmış olması gerekir.

Referans popülasyonu: Tüm referans bireyleri içeren gruptur. Referans popülasyonu oluşturan üyelerin sayıları çoğu kez bilinmemektedir. Bu yüzden referans popülasyonu kavramı hipotetik bir kavramdır.

Referans örnek grubu: Referans popülasyonundan seçilmiş yeterli sayıda bireyden oluşan gruptur.

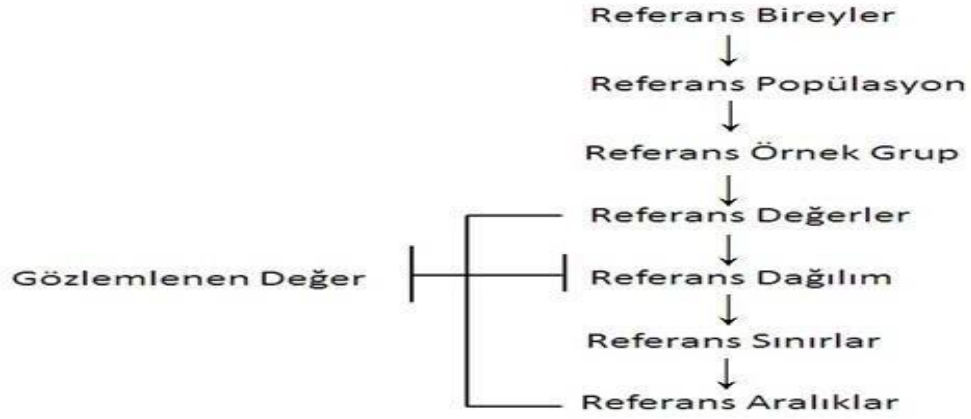
Referans değer: Referans bireylerden elde edilen değerlerdir. Referans değerler referans örnek grubundan elde edilir.

Referans dağılım: Referans değerlerin oluşturduğu dağılımdır. Referans popülasyonun dağılımıyla ilgili hipotezler, referans örnek grubunun referans dağılımları kullanılarak uygun istatistiksel metotlarla test edilebilir.

Referans sınır: Referans dağılımdan elde edilen bir değerdir ve referans değerlerin tanımlayıcı bir ölçütüdür.

Referans aralık: İki referans sınırı arasında kalan aralıktır. Genelde alt referans sınır 2,5 persentil ve üst referans sınır 97,5 persentildir (bu iki referans sınırlarının arası referans grubundaki değerlerin % 95' ini içermektedir).

Gözlemlenen değerler: Test edilen bireylerin laboratuvar test sonuçlarıdır ve bu değerler; referans değerler, referans dağılımlar, referans sınırlar veya referans aralıklarıyla karşılaştırılır [5] (Şekil 4).



Şekil 4. Referans tanımları

Referans aralık belirlemenin gereklilikleri; yeni bir analitik ölçümün yapılmaya başlanması, daha önce referans veya fizyolojik değerleri bilinen bir analitin, farklı veya yeni bir metotla ölçülmeye başlanması ve referans değerleri başka laboratuvarlarca (üretici de olabilir) belirlenmiş bir analitin, aynı veya mukayese edilebilir başka metotlarla ölçülmesi durumunda mevcut verinin transferi şeklinde sıralanabilir [50].

IFCC ve CLSI önerilerine göre referans aralıklarının saptanma aşamaları:

1. Referans bireylerin seçilme kriterlerinin belirlenmesi;
2. Standart anket formunun oluşturulması;
3. Referans aralıklarını saptanacak analitin özelliklerinin belirlenmesi ve analite özgü soruların eklenmesi;
4. Laboratuvar koşullarının hazırlanması;
5. Analitik kontrolün değerlendirilmesi ve sürdürülmesinin sağlanması;
6. Belirlenmiş kriterlere göre verilerin toplanması;
7. Verilerin dağılım grafiklerinin (histogramların) incelenmesi ve istatistiksel analizinin yapılması;
8. Parametrik veya parametrik olmayan yönteme göre referans aralıklarının hesaplanması şeklinde yürütülür [51].

2.13. Referans Bireylerin Seçimi

Referans değerlerin belirlenmesinde referans bireylerin seçimi önemli olduğu kadar zor bir aşamadır. Geleneksel olarak klinik laboratuvarlar sağlıklı bireylerden elde edildiği ifade edilen referans değerleri kullanmaktadırlar. Ancak sağlıklı olma çok iyi tanımlanmış bir durum değildir. Özellikle yaşla beraber hastalık ve sağlık arasındaki hipotetik sınır kayabilmektedir. Referans bireylerin seçiminde CLSI EP28-A3c klavuzunda belirtildiği gibi anket kullanılarak kriterlere uyan bireyler çalışmaya dahil edilebilir. Ya da belirlenen toplumdaki rastgele seçilen bireylerin verileri değerlendirilebilir [5, 47, 52].

Referans bireyler grubuna hangi bireylerin seçileceği bir dizi kriter ile belirlenir. Bu kriterler referans popülasyonun tanımını, sağlık veya ilgilenilen hastalık için spesifikasyonları içerir [5].

Referans popülasyonunun iyi belirlenmesi gerekir. Bu popülasyon, (kişilerin sağlıklı dönemlerinde elde edilmiş olan test sonuçları), hastane dışı (sağlıklı varsaydığımız popülasyon) veya hastane popülasyonu olabilir. Referans popülasyon, istatistiksel bir çalışmada genelde varsayılan ve hedef alınan, ulaşılması çok zor ya da imkânsız olan kitleyi temsil eder. İdeal olan tüm popülasyonun muayene edilmesi ve kriterlere uyanlar arasından rastgele referans bireylerin belirlenmesidir. Fakat bu birçok nedenden dolayı pratikte pek mümkün değildir. Bundan dolayı referans popülasyonunu en iyi şekilde temsil eden referans bireylerin seçiminde birkaç yöntem geliştirilmiştir [53].

2.13.1. Direkt Örnekleme Yöntemi

Bireylerin toplumdaki tanımlanmış kriterlere göre seçimi yapılır. IFCC ve CLSI'ın referans değerlerin hesaplanmasıyla ilgili standartları referans bireylerin direkt örnekleme ile seçilmelerini önermektedir. Bu yöntemde, belirlenmiş kriterlere göre hazırlanan anket formları doldurulup, sonra bireylerin tetkikleri yapılır. Tablo 6'da CLSI EP28-A3c standartlarına uygun olarak, örnek anket formundan yararlanılarak hazırlanan anket formu görülmektedir [5].

Tablo 4. Referans aralık saptama anket formu

TÜM BİLGİLER KESİNLİKLE GİZLİ TUTULACAKTIR VE SİZİN KAN ÖRNEĞİNİZDEN ELDE EDİLEN SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ İÇİN KULLANILACAKTIR.													
ÖRNEK NO:		ÖRNEK ALINDIĞI SAAT:		(LABORATUVAR TARAFINDAN DOLDURULACAKTIR)									
İSİM (ADI,SOYADI):		MEDENİ HALİ:		MESLEK:		TELEFON:							
YAŞ: (YIL)	CİNSİYET:	IRK:	BOY:	(m)	(cm)	AĞIRLIK:	(kg)						
KENDİNİZİ SAĞLIKLI HİSSEDİYOR MUSUNUZ?				(E)		(H)							
DÜZENLİ OLARAK EGZERSİZ YAPIYOR MUSUNUZ?				(E)		(H)							
EVET İSE NE KADAR SIKLIKTA? (SAAT/HAFTA)													
AKTİVİTENİN DERECESİ?		(HAFİF)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	(AĞIR)
SON ZAMANLARDA HİÇ RAHATSIZLANDINIZ MI?				(E)		(H)							
EĞER EVET İSE NE ZAMAN?				VE NEDEN?									
REÇETE EDİLMİŞ İLAÇ ALIYOR MUSUNUZ?				(E)		(H)							
EĞER EVET İSE NE?				SÜRESİ:									
EN SON İLAÇ NE ZAMAN ALDINIZ?				ADI:									
VİTAMİN İLACI ALIYOR MUSUNUZ?				(E)		(H)							
EĞER EVET İSE NE?													
İŞİNİZDE TEHLİKELİ KİMYASAL MADDELERE MARUZ KALİYOR MUSUNUZ?				(E)		(H)							
EĞER EVET İSE NE?				SÜRESİ:									
SİGARA KULLANIYOR MUSUNUZ?				(E)		(H)							
EĞER EVET İSE NE ŞEKİLDE?				NE KADAR?		SÜRESİ:							
ÖZEL DİYET UYGULUYOR MUSUNUZ?				(E)		(H)							
EĞER EVET İSE LÜTFEN TANIMLAYINIZ				SÜRESİ:									
HANGİ TİP TUZ KULLANIYORSUNUZ (İYOTLU-İYOTSUZ)													
ALKOL KULLANMA ALIŞKANLIĞINIZ VAR MI?				(E)		(H)							
EĞER EVET İSE NE ŞEKİLDE?				HANGİ SIKLIKTA?		SÜRESİ:							
EN SON ALKOL NE ZAMAN ALDINIZ?													
BİR DOKTOR KONTROLÜ ALTINDA MİSİNİZ?				(E)		(H)							
EĞER EVET İSE NEDEN?													
RAHATLATICI İLAÇ KULLANIYOR MUSUNUZ?				(E)		(H)							
EVET İSE NE?				HANGİ SIKLIKTA?		SÜRESİ:							
SON ZAMANLARDA HASTANEYE YATTINIZ MI?				(E)		(H)							
NE ZAMAN?				NEDEN?									
AİLENİZDE GEÇİRİLMİŞ BİR HASTALIK VAR MI?				(E)		(H)							
EĞER VAR İSE TANIMLAYIN:													
SON GÜNLERDE ASPİRİN YADA AĞRI KESİCİ ALDINIZ MI?				(E)		(H)							
EĞER EVET İSE NE?				NE ZAMAN?									
SON GÜNLERDE SOĞUK ALGINLIĞI VE ALLERJİ TEDAVİSİ GÖRDÜNÜZ MÜ?				(E)		(H)							
EĞER EVET İSE NE?				NE ZAMAN?									
SON GÜNLERDE HİÇ ANTİBİYOTİK VEYA MİDE İLACI ALDINIZ MI?				(E)		(H)							
EĞER EVET İSE NE?				NE ZAMAN?									
DİYET HAPİ KULLANIYOR MUSUNUZ?				(E)		(H)		SÜRESİ:					
KADINLAR İÇİN:													
ADET GÖRÜYOR MUSUNUZ? (E) (H)				EĞER EVET İSE, EN SON ADET TARİHİNİZ NEDİR?									
EĞER HAYIR İSE, HORMON REPLASMAN TEDAVİSİ ALIYOR MUSUNUZ? (E) (H)													
EĞER VARSA, BEBEĞİNİZİ EMZİRİYOR MUSUNUZ? (E) (H)													
HAMİLE MİSİNİZ? (E) (H)				EĞER EVET İSE, TAHMİNİ DOĞUM TARİHİNİZ NEDİR?									
ORAL KONTRASEPTİF KULLANIYOR MUSUNUZ? (E) (H)				EĞER EVET İSE HANGİSİ?									

Her birey seçilirken bu faktörlerin etkisi altında olup olmadığına bakılır, bu kriterler seçim esnasında uygulamanın yönüne göre iki şekilde kullanılabilir. **Priori** uygulamada analiz yöntemi ile ilgili bilgiler çok sayıda ve iyi biliniyorsa bireyler tanımlanmış kriterlere göre seçilir ve örnekler toplanır, ileriye dönük bir ayırım işlemidir, kriterler bireyler seçilirken kullanılır.

Posteriori uygulamada analiz yöntemi ayrıntılı bilinmiyor ve hakkında yeterli bilgi toplanamıyorsa, bireylerden örnekler alınır. Analiz yapıldıktan sonra, ayırma yapılır

ve alt gruplara ayrılır, geriye dönük bir işlemdir. Bu metod yeni bir analit veya laboratuvar testi hakkında sınırlı bilgi varsa uygulanır ve analit düzeyine biyolojik veya preanalitik faktörlerin nasıl etki ettiği bilinmemektedir [5, 54].

2.13.2. İndirekt Örnekleme Yöntemi

Bireylere dikkat edilmeksizin, analiz sonuçlarının kayıtlı bulunduğu veri tabanından belli kurallara uygun şekilde test sonuçlarının seçimidir.

İndirekt örneklemenin temel prensibi; klinik laboratuvarlarda elde edilen sonuçların çoğunluğu tam olarak Gaussian bir dağılım göstermeseler bile, normale yakın bir dağılım halindedir. Çok fazla sapma veya herhangi bir gruplaşma olmamak şartı ile, bu dağılımın içinde bulunan Gaussian dağılımına uyan veri grubu referans aralık analizi için kullanılabilir. Bu amaçla, indirekt örnekleme ile toplanan verileri değerlendirebilen çeşitli istatistiksel analiz yöntemleri tanımlanmıştır. Bu metodlar bilgisayar sistemlerinin yardımı ile de oldukça kolay uygulanır hale gelmiş ve yaygınlaşmışlardır [52, 54, 55].

İndirekt örnekleme yoluyla veri toplanmasında da uyulması gereken bazı hususlar vardır; bunları şöyle sıralayabiliriz:

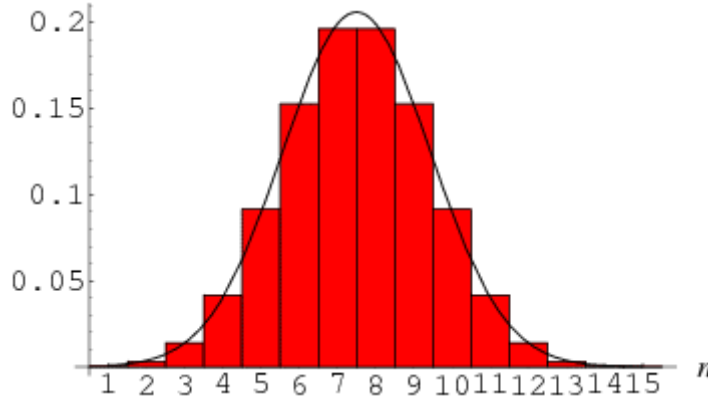
1. Kullanılan örnek grubu, referans popülasyonunun bir parçası olmalıdır. Bunun için en uygun yöntem hasta verileri seçilirken hastane kayıtlarının kullanılmasıdır. Bu kayıtlardan hastaların taburcu edildiği andaki tanısı ve demografik bilgileri elde edilebilir.
2. Örnek referans dağılımı ünimodal olmalıdır, ancak yatık bir dağılım olabilir. Dağılımın içinde homojenliği bozacak gruplaşmalar olmamalıdır.
3. Verilerin yoğunlaştığı bölge, dağılımın moduna uymalıdır. Moddan uzak bölgedeki birikimler büyük olasılıkla hastalıkla ilişkili verilerdir.
4. Total dağılım ile örnek dağılımın modları birbirlerine yakın olmalıdır [54, 56]

2.14. Verilerin Analizi

2.14.1. Parametrik Yöntem

IFCC'nin önerisi Parametrik yöntemdir. Non- parametrik yönteme göre çok daha komplikedir ve veri sayısı yüksek olunca bilgisayar istatistik programları gerekir. Parametrik yöntemde yüzdelerinin hesaplanmasında dağılımın Gaussian

dağılım olduğu varsayılır. Bundan dolayı parametrik yöntemde, kritik aşama, verilerin dağılımının hipotetik Gaussian dağılımına göre uyumluluk testi ile değerlendirilmesi gerekliliğidir.



Şekil 5 : Gaussian normal dağılım

Uyumluluk testi yapan birçok istatistik program bulunmaktadır (Çarpıklık ve diklik katsayılarına dayalı testler olarak Kolmogorov- Smirnov testi veya Anderson- Darling testi sayılabilir). Referans dağılım Gaussian dağılımından anlamlı olarak farklı değilse, ortalamanın her iki tarafına yaklaşık iki SD eklenerek 2,5 ve 97,5 yüzdeler hesaplanır. Daha kesin hesaplamak için,

$$2,5 \text{ yüzdelerlik} = x - 1,96 x SD$$

$$97,5 \text{ yüzdelerlik} = x + 1,96 x SD \quad \text{formülleri kullanılır.}$$

Referans dağılım Gaussian değil ise, matematiksel transformasyon ile Gaussian dağılımına uyması sağlanabilir. Sıklıkla karşılaşılan bir gözlem sağa çarpık (pozitif çarpıklık) dağılımların logaritmik transformasyonlarının daha çok Gaussian dağılıma uyum gösterdiğidir. Diğer durumlarda ise karekök transformasyonların daha iyi uyum sağladığı gözlenmektedir. Logaritmik ve karekök transformasyonların daha çok kullanılması bu nedenlerden dolayı önerilmektedir. Bu iki transformasyon ile başarılı olunamazsa farklı

transformasyonlar denenebilir. Gaussian dağılımlarda elde edilen güven aralıkları non-parametrik yöntemlerin güven aralıklarından daha dar tespit edilmektedir; bu da daha kesin bir yaklaşımda bulunulmasına olanak sağlar [57-59].

2.14.2. Non-Parametrik Yöntemler

Bu yöntemler non- Gaussian dağılımlarda tercih edilirler. Özellikle hastane kayıtlarının kullanıldığı veri setlerinde tercih edilirler. Ancak dikkat edilmesi gereken nokta her bir alt grup için gerekli veri sayısı en az 120 olmalıdır. Bu sayının altındaki veri setlerinde ise modifiye yöntemler kullanılır. Bunlardan en çok kullanılanı “Non- parametrik yüzde tahmini yöntemidir”. Bu yöntem alt ve üst değerleri kesin olarak bildirir. Bu nedenle modifiye yöntemlerin çoğu bu yöntemi baz almaktadır ve burada dağılımın % 95’ lik kısmını kapsayan alan olan % 2,5 ile % 97,5’lik alana eşdeğer noktalar aranır ve veriler küçükten büyüğe doğru sıralandıktan sonra aşağıdaki formüller kullanılır:

$$\text{Alt değer} = 0,025 \times (n+1)$$

$$\text{Üst değer} = 0,975 \times (n+1)$$

‘n’ veri sayısını belirtmektedir. Eğer küsuratlı rakamlar elde edilirse yuvarlama yapılır. Örneğin, 16,5 çıkan bir alt değer 17’e yuvarlanır. Böylece 17. sıradaki veri dağılımının alt noktası olarak tanımlanır, aynı şekilde üst nokta da belirlenir. Diğer bir yöntem Wilks tarafından tanımlanan “non-parametrik tolerans aralığı yöntemidir”. Veriler küçükten büyüğe doğru sıralanır ve sıra numaralarına eşdeğer olan değerler veri sayısı ve güven aralığına göre bu tablolardan çıkartılır. Burada yüzde tahmin yönteminde olduğu gibi dağılımın kesin bir yüzdesine uyan sıra değeri yerine, tablodan veri sayısı ve güven aralığına uyan değerler elde edildiği için % 95’lik bölge, dağılımın değişen bölgelerinde lokalize olabilmekte ve güven aralığının derecesine göre fazla geniş ya da dar çıkabilmektedir [57-60].

2.15. Aşırı Uçlarda Gözlenen Değerlerin Belirlenmesi

Bireysel farklılıklar (ırk, yaşı, diyet) nedeniyle sağlıklı örnek grubunda da uç değerlere rastlanabilir, kaldı ki sağlık durumunu onaylamak da güçtür. Bu nedenle çeşitli istatistik yöntemleri kullanılır. Parametrik yöntemde istatistiksel olarak

normal dağılıma uygunluk kabul edildikten sonra, Aritmetik ortalamanın ± 3 SD veya ± 4 SD sınırları dışındaki değerler atılır ve hesaplamalara katılmaz.

Non- Parametrik yöntemde ise aşırı uç değer saptanması için, Dixon metodu, Blok prosedürü, Standart sapmanın kullanılması, Grubbs T istatistiği, Boxplot çizimlerinde cut-off bulma yaklaşımı (Tukey metodu) gibi istatistiksel yöntemler kullanılmaktadır [35, 61].

CLSI EP28-A3c'de yer aldığı biçimde Dixon aralık istatistiği, D/R Kuralı kullanılarak yapılır. D; en uç değer yanındaki değer R; tüm veriler arasındaki aralık. Burada $D/R > 0.33$ ise veriler hesaba katılmaz ancak uç değerler çıkartıldıktan sonra hesaplama yapılabilir [62, 63].

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulunun 14.02.2018 tarih, 1755/2018 nolu kararı ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi hakem heyetinin 07.06.2018 tarih ve 2018-7/1 nolu kararı ile yapılmıştır. Hastalar araştırmayla ilgili bilgilendirilmiş ve onam formları alınmıştır.

3.1. Çalışmanın Tasarımı Ve Çalışma Grubunun Seçilmesi

Bu çalışma hem direkt (prospektif) hem de indirekt (retrospektif) yöntem kullanılarak yapılan referans aralık belirleme çalışmasıdır. Etik kurul onayının ardından; direkt yöntemde referans bireyler gönüllülük esasına göre, önceden belirlenmiş ve iyi tanımlanmış kriterler kullanılarak referans popülasyonundan seçilmiştir. Bu çalışmada 19.02.2018 ile 13.04.2018 tarihleri arasında bölgemizden (Ankara ili), IFCC önerilerine göre ve CLSI'nın EP28-A3C klavuzunda belirtilen kriterlere göre seçilen toplam 128 (86 erkek ve 42 kadın) sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi [5, 64].

Direkt yöntemde seçilen bireyler 18-60 (Ortalama 40 ± 12) yaşları arasındaydı. Dışlama kriterleri; 18 yaşından küçük olanlar, geçmişinde ve ailesinde tiroid hastalığı öyküsü olanlar, gözle görülebilir ya da palpe edilebilen tiroid nodülü olanlar, USG' de tiroid hacmi genişlemiş ve tiroidin diffüz hiperekojenitesi olanlar, Tiroidperoksidaz (TPO) ve Tiroglobuline (TG) karşı oto antikorları pozitif (+) olanlar, kronik ya da akut herhangi bir rahatsızlığı bulunanlar, sürekli ilaç kullananlar, 6 ay içinde hastanede tedavi görenler, 6 ay içinde kaza geçirmiş ya da herhangi bir nedenle hastane acil servisine başvurmuş olanlar.

İndirekt yöntemde kullanılan çalışma grubu ise, tiroid fonksiyon test sonuçları olan (TSH, sT4 ve sT3) ve indirekt yöntem için CLSI'nın EP28-A3C klavuzunda belirtilen kriterlere uyan hastaların kayıtlı verileri ile oluşturuldu [5].

Bu amaçla Ankara Numune E.A.H. Klinik Biyokimya Merkez Laboratuvarına 01.05.2017 ile 30.06.2018 tarihleri arasında başvuran 1.516.001 kişinin LBYS sisteminde bulunan verileri değerlendirilmiştir. Aynı hasta barkod numarasındaki, aynı teste ait yinelenmiş sonuçları olan hastalar elimine edildi. Ayrıca yatan

hastalar, acil polikliniğine başvuran hastalar, onkoloji hastaları, psikiyatri hastaları, gebeler, Tiroidperoksidaz (TPO) ve Tiroglobuline (TG) karşı oto antikorları pozitif (+) olanlar, bazı biyokimyasal test sonuçları (Glukoz, Üre, Kreatinin, ALT, CRP ve Sedimantasyon) referans aralığı dışında olanlar değerlendirmeye dahil edilmedi. Sonuçta istatistiksel analiz için 3227 erkek ve 4752 kadına ait 7979 kayıt indirekt yöntem ile referans aralığı belirlenmesi için kullanıldı.

3.2. Analiz Örneklerinin Alınması ve Serum Eldesi

Gönüllülerden alınan kan örnekleri yaklaşık 12 saatlik açlık sonrasında, sabah 08:00 ile 12:00 saatleri arasında, önkoldan, 5 ml' lik sarı kapaklı jelli tüpe alınmıştır. Uygun şartlarda laboratuvara ulaştırılan numuneler, 30 dakika bekletildikten sonra 1800 g' de 15 dakika santrifüj edildi. Her bir serumdan 1 ml ayrılarak endorf tüplerinde çalışma yapılana kadar (yaklaşık 6 ay) -80 ± 2 °C'de saklandı. Donmuş serum numuneleri, analizden önce yaklaşık 1 saat bekletilip oda sıcaklığına geldikten sonra ölçümleri yapılmıştır.

3.3. Kullanılan Cihaz ve Kitler

Direkt yöntemle yapılan çalışmada sağlıklı gönüllülerin tiroid görüntülemesi, Toshiba marka Aplik 500 ultrason cihazında, aynı radyoloji uzman doktoru tarafından değerlendirilmiştir.

Tüm analizler, hastanemiz tıbbi biyokimya merkez laboratuvarında kullanılan, Roche Cobas 6000 Moduler Series hormon oto analizörlerinde, ECLIA yöntemi ile çalışıldı. Analizde Roche Diagnostics firmasından temin edilen orijinal kitler kullanılmıştır.

Kitlerin kalibrasyonu ve internal kontrolü, Roche Diagnostics firmasından temin edilen kontrol ve kalibratörler ile yapılmıştır. Dış kalite kontrolü (DKK) için RIQAS DKK programı kullanılmıştır.

3.4. İstatiksel Analiz

Direkt ve indirekt yöntemlerle elde edilen veriler önce Excell programında filtreleme ve listeleme yapılmış daha sonra SPSS 15.0 istatistik programına

aktarılmıştır. Direkt olmayan yöntemde referans aralıklarının belirlenmesi için parametrik olmayan istatistiksel yöntem kullanıldı. Parametrik olmayan yöntemlerde genellikle referans değerler verilerin merkezi yüzde 95'ini kapsar ve sırasıyla alt ve üst referans sınırı olarak 2.5 ve 97.5 persentillerini kullanır. Referans aralık çalışmalarında istatistiksel analiz için IFCC tarafından önerilen Dixon'ın aralık testi, aşırı değerleri saptamak ve ortadan kaldırmak için kullanılmıştır [65].

Buna göre veriler küçükten büyüğe doğru sıralandığında $D / R > 0,33$ ise uç değer varlığından bahsedilir. Burada D en uç değer ve buna en yakın değer arasındaki mutlak farktır. Bu değer en büyük değer (ler) de dahil olmak üzere, tüm değerlerin aralığına (R) bölünür. Ayrıca IFCC tavsiyelerini takiben % 90 referans sınırının güven aralıkları tahmin edilmiştir [66].

Gruplar ayrıca cinsiyete göre sınıflandırıldı. Kadın ve erkek verileri ayrı ayrı değerlendirildi. İndirekt yöntemde, çalışmaya alınan her bir test için otoanalizörün ölçüm tespit sınırlarını aşan değerler kit prospektüslerinden belirlendi ve ölçüm sınırlarını aşan veriler çıkartıldı. Buna göre TSH için ölçüm aralığı aralığı 0,005-100 μ IU/mL, sT4 için 0,02-7,77 ng/dL, sT3 için ise 0,4-50 pmol/Lidi.

Dixon uç değer belirleme yöntemi ile uç değerler çıkartıldıktan sonra normallik kontrolü yapıldı. Dağılımın normal olup olmadığının değerlendirilmesi için Kolmogorov- Smirnov testi yapıldı. Bu test sonucuna göre her bir parametre için cinsiyetler arasında anlamlı fark olup olmadığını belirlemek için normal dağılıma sahip gruplar arasında bağımsız örneklem T-testi, normal dağılıma uymayan gruplar arasında Mann-Whitney U testi yapıldı.

4. YÖNTEMLER

4.1 TSH Ölçümü

Roche Cobas 6000 Moduler Series TSH testi, Elektrokemilüminesans İmmünolojik Test (ECLIA) teknolojisi kullanılarak gerçekleştirilen bir sandviç immün testidir. Sistem otomatik olarak aşağıdaki adımları gerçekleştirir:

Bir küvet içine 50 µL örnek aktarılır.

1. inkübasyon: 50 µL numune, biotinlenmiş monoklonal TSH'ye özgü antikor ve rutenyum kompleksi ile işaretlenmiş monoklonal TSH'ye özgü antikor reaksiyona girerek bir sandviç kompleksi oluşturur.

2. inkübasyon: Streptavidin-kaplı mikropartiküller eklendikten sonra biyotin ile streptavidinin etkileşimi aracılığıyla kompleks katı faza bağlanmış hale gelir. Reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrodun yüzeyine manyetik olarak yakalandıkları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Bundan sonra bağlanmamış maddeler ProCell ile uzaklaştırılır. Elektrot üzerine voltaj uygulanması kemilüminesans emisyonunu indükler, bu da bir dedektör ile ölçülür. Sonuçlar, 2 noktalı kalibrasyon eğrisi ile tayin edilir.

4.2. Serbest T4 (sT4) ve Serbest T3 (sT3) Ölçümü

Roche Cobas 6000 Moduler Series sT4 veya sT3 testi Elektrokemilüminesans İmmünolojik Test (ECLIA) teknolojisinin kullanıldığı bir yarışmalı (kompetitif) immün testtir.

Sistem otomatik olarak aşağıdaki adımları gerçekleştirir:

Bir küvet içine 15 µL örnek aktarılır.

1. inkübasyon: 15 µL numune ve rutenyum kompleksiyle işaretlenmiş T4'e özgü antikor (veya T3' e özgü antikor).

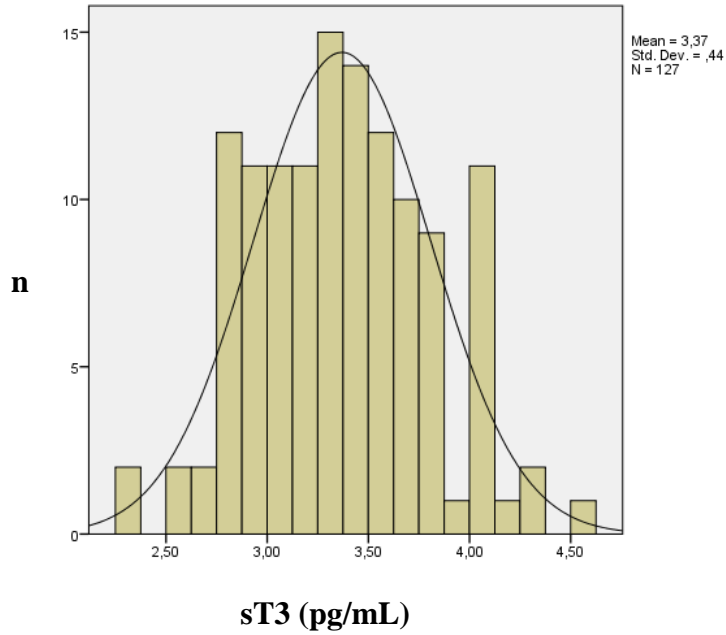
2. inkübasyon: Biotinlenmiş T4 (veya T3) ve streptavidin kaplı mikropartiküller eklendikten sonra, işaretlenmiş antikorun halen serbest kalan bağlanma yerleri, antikor - hapten kompleksi oluşumuyla dolu hale gelir. Biotin ile streptavidinin etkileşimi aracılığıyla, tüm kompleks katı faza bağlanmış olur.

Reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrodun yüzeyine manyetik olarak yakalandıkları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Bundan sonra bağlanmamış maddeler ProCell ile uzaklaştırılır. Elektrot üzerine voltaj uygulanması kemilüminesans emisyonunu indükler, bu da bir dedektör ile ölçülür. Sonuçlar, 2 noktalı kalibrasyon eğrisi ile tayin edilir.

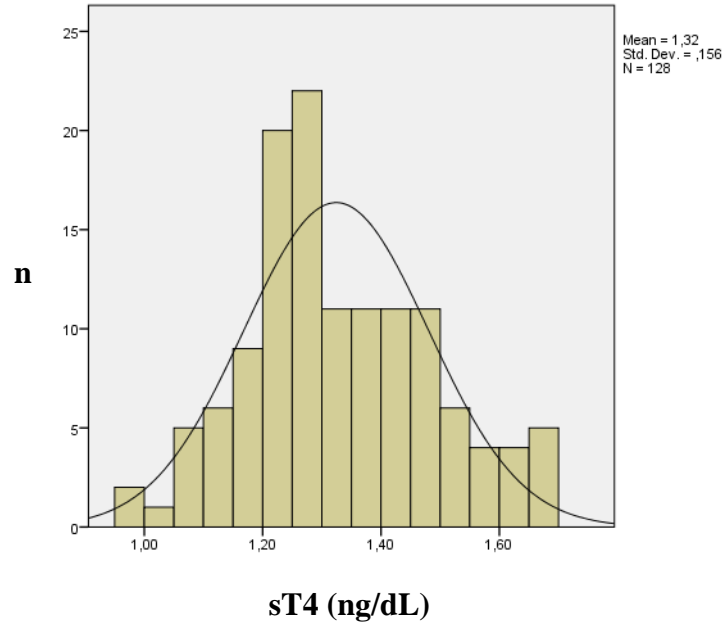
5. BULGULAR

Direkt yöntemde sağlıklı gönüllülerden elde edilen sT4 için 128, sT3 ve TSH için uç değerler atıldıktan sonra kalan 127 veri; indirekt yöntemde ise sağlıklı olduğu öngörülen LBYS'den elde edilen 7979 veriden uç değerler atıldıktan sonra kalan sT3 için 1906, sT4 için 4365 ve TSH için 1708 veri kullanıldı. İndirekt yöntemde gruplar cinsiyetlerine göre ayrıldı.

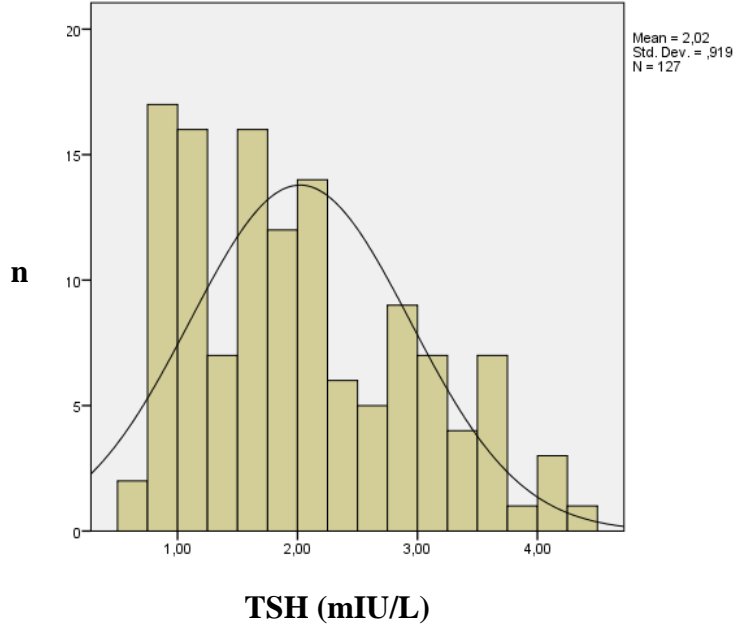
Direkt yöntemle belirlenen sT3-sT4-TSH'ın referans dağılımı Şekil 6-7 ve 8'de gösterilmiştir.



Şekil 6. Direkt yöntemle belirlenen sT3 veri dağılımı



Şekil 7. Direkt yöntemle belirlenen sT4 veri dağılımı



Şekil 8. Direkt yöntemle belirlenen TSH veri dağılımı

Direkt yöntemle belirlenen sT3-sT4-TSH, katılımcı sayısı, minimum-maksimum değerler, mean, \pm SD ve % 95 güven aralıkları Tablo 5’ de verilmiştir.

Tablo 5. Direkt yöntem; sT3-sT4 ve TSH’ın katılımcı sayısı, minimum-maksimum değerler, mean, \pm SD ve % 95 güven aralıkları

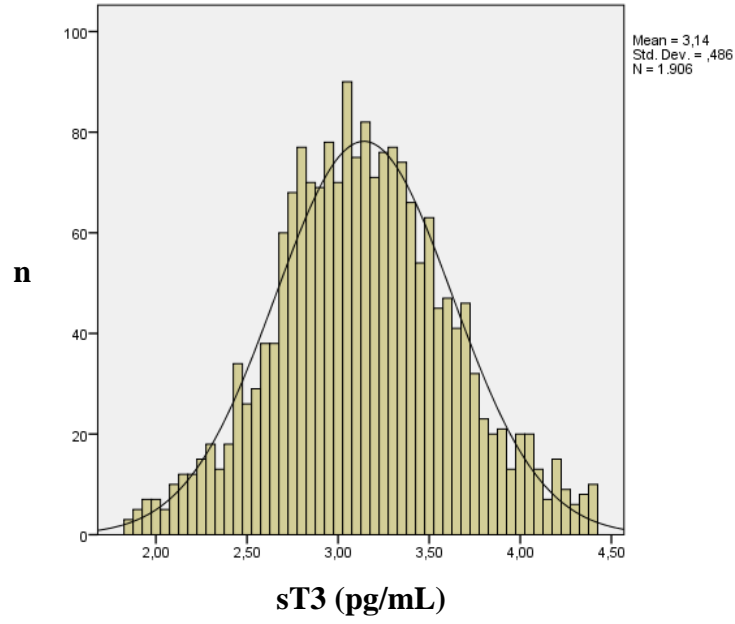
Test	n	Minimum	Maksimum	Mean \pm SD	%95 Güven Aralığı	%CV
sT3 (pmol/L)	127	3,56	6,97	5,17 \pm 0,59	5,07 - 5,29	
sT3 (pg/mL)	127	2,32	4,54	3,37 \pm 0,39	3,30 - 3,45	1,91
sT4 (pmol/L)	128	14,59	25,96	20,27 \pm 1,99	19,81 - 20,73	
sT4 (ng/dL)	128	0,95	1,69	1,32 \pm 0,13	1,29 - 1,35	1,62
TSH (μ U/mL)	127	0,74	4,41	2,02 \pm 0,81	1,85 - 2,18	2,46

Tablo 6. Direkt yöntemle sT3-sT4 ve TSH’da bulduğumuz referans değerleri ve üretici firma referans aralıkları

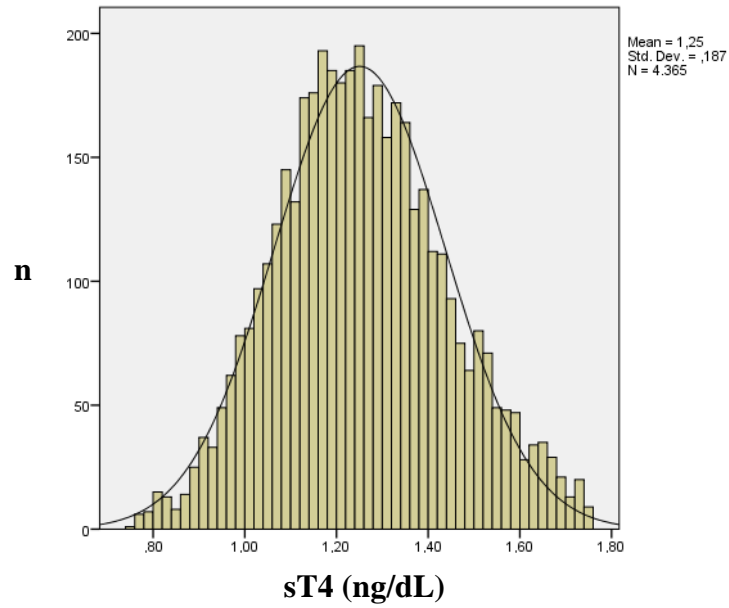
Test	n	Mean \pm SD	Referans Aralık	Üretici Firma Referans Aralıkları
sT3 (pmol/L)	127	5,17 \pm 0,59	3,99 – 6,60	3,07 – 6,75
sT3 (pg/mL)	127	3,37 \pm 0,39	2,60 - 4,30	2,00 – 4,40
sT4 (pmol/L)	128	20,27 \pm 1,99	15,97 - 25,49	13,36 - 26,11
sT4 (ng/dL)	128	1,32 \pm 0,13	1,04 - 1,66	0,87 - 1,70
TSH (mIU/L)	127	2,02 \pm 0,81	0,80 - 4,04	0,27 - 4,20

sT3, sT4, TSH sonuçları; Direkt yöntemle bulduğumuz ve firmanın önerdiği referans aralıkları (Tablo 6)'da gösterilmiştir.

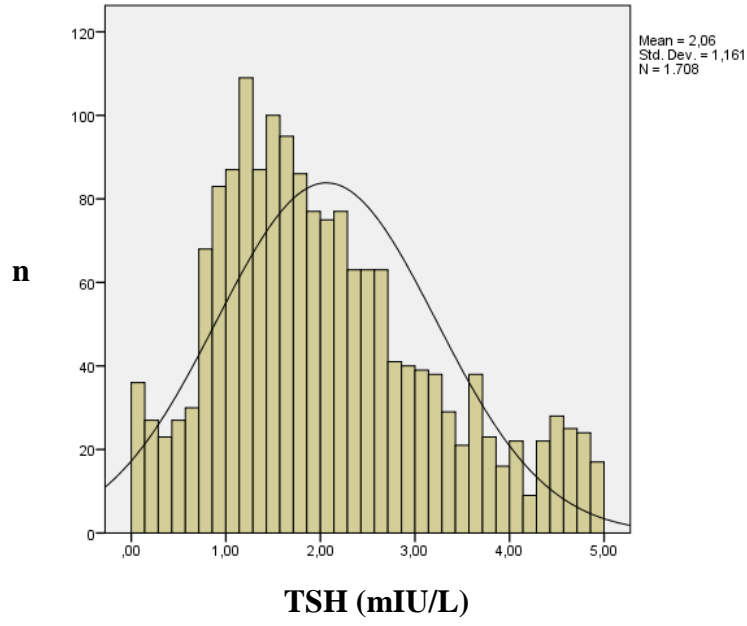
İndirekt yöntemle belirlenen referans grubun sT3, sT4 ve TSH sonuçları dağılımı Şekil 9-10 ve 11'de gösterilmiştir.



Şekil 9. İndirekt yöntemle belirlenen sT3 veri dağılımı



Şekil 10. İndirekt yöntemle belirlenen sT4 veri dağılımı



Şekil 11. İndirekt yöntemle belirlenen TSH veri dağılımı

İndirekt yöntemle belirlenen sT3-sT4-TSH, katılımcı sayısı, minimum-maksimum değerler, mean, \pm SD ve % 95 güven aralıkları Tablo 7’de verilmiştir.

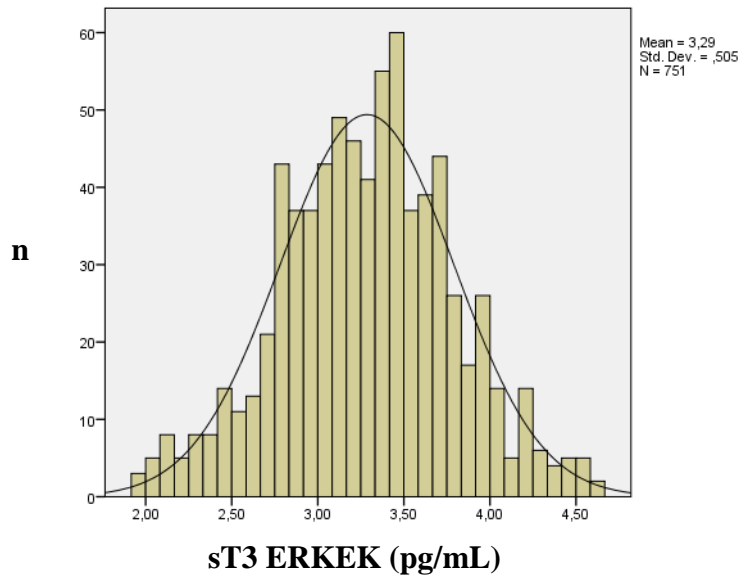
Tablo 7. İndirekt yöntem; sT3 - sT4 ve TSH için katılımcı sayısı, minimum-maksimum değerler, mean, \pm SD ve % 95 güven aralıkları

Test	n	Minimum	Maksimum	Mean \pm SD	%95 Güven Aralığı	%CV
sT3 (pmol/L)	1906	2,84	6,79	4,82 \pm 0,73	4,79 - 4,85	
sT3 (pg/mL)	1906	1,85	4,42	3,14 \pm 0,48	3,12 - 3,16	1,91
sT4 (pmol/L)	4365	11,52	26,72	19,20 \pm 2,76	19,04-19,20	
sT4 (ng/dL)	4365	0,75	1,74	1,25 \pm 0,18	1,24-1,25	1,62
TSH (mIU/L)	1708	0,01	4,97	2,06 \pm 1,16	2,00 - 2,11	2,46

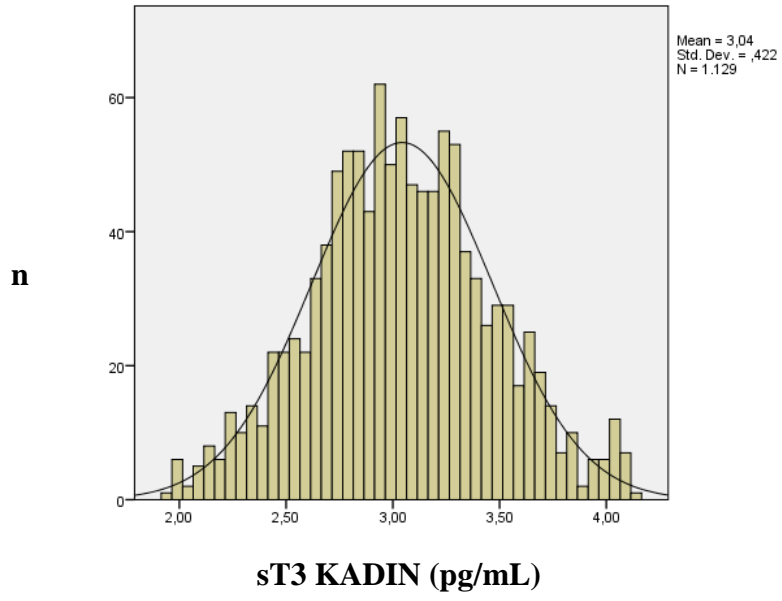
Tablo 8. İndirekt yöntemle sT3-sT4 ve TSH’da bulduğumuz referans değerleri ve üretici firma referans araklıları

Test	n	Mean±SD	Referans Aralık	Üretici Firma Referans Aralıkları
sT3 (pmol/L)	1906	4,82 ± 0,73	3,32 – 6,42	3,07 – 6,75
sT3 (pg/mL)	1906	3,14 ± 0,48	2,16 - 4,18	2,00 - 4,40
sT4 (pmol/L)	4365	19,20 ± 2,76	13,98 - 25,19	13,36 - 26,11
sT4 (ng/dL)	4365	1,25 ± 0,18	0,91 - 1,64	0,87 - 1,70
TSH (mIU/L)	1708	2,06 ± 1,16	0,18 - 4,71	0,27 - 4,20

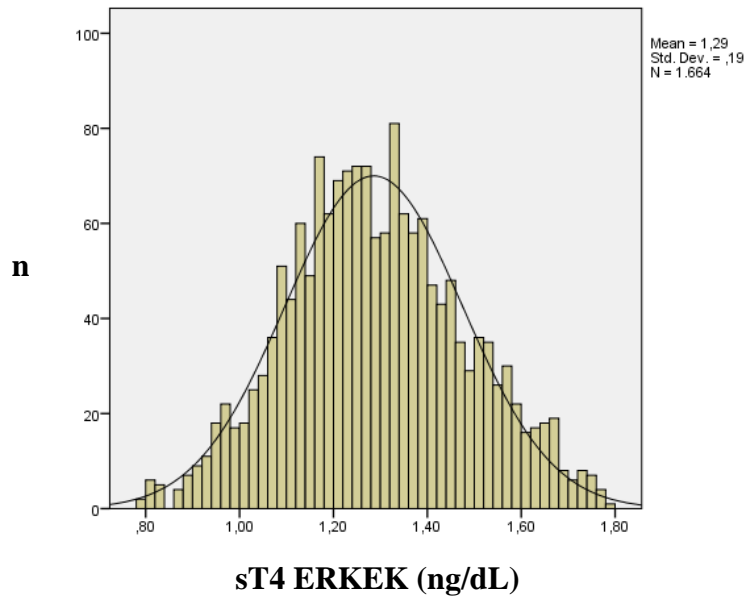
Cinsiyet bakımından gruplara ayırma kararında gruplar arasında fark olup olmadığına bakıldı. Bu amaçla; parametrik olarak t testi, nonparametrik olarak ise Mann Whitney U testi yapıldı. Bu parametrelerin cinsiyetlerine göre ayrılmış histogramları Şekil-12,13,14,15,16,17’de gösterilmiştir.



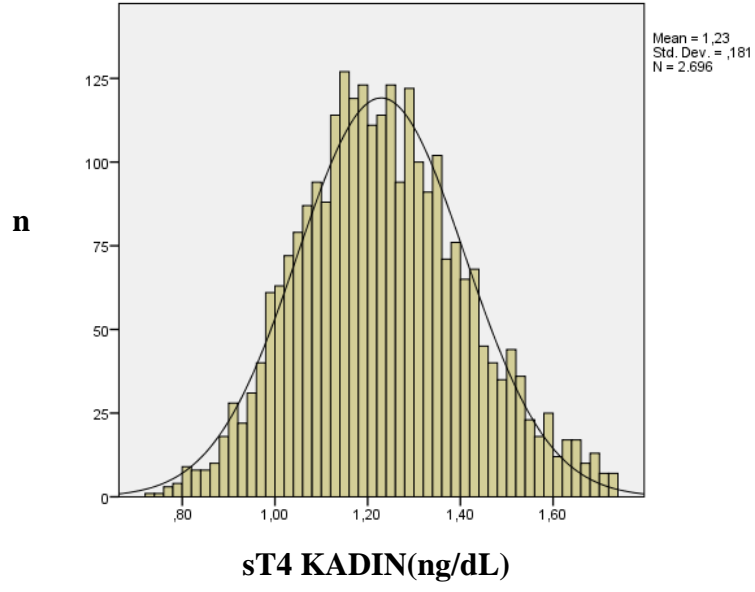
Şekil 12. İndirekt yöntemle belirlenen sT3’ün erkek cinsiyette referans dağılımı



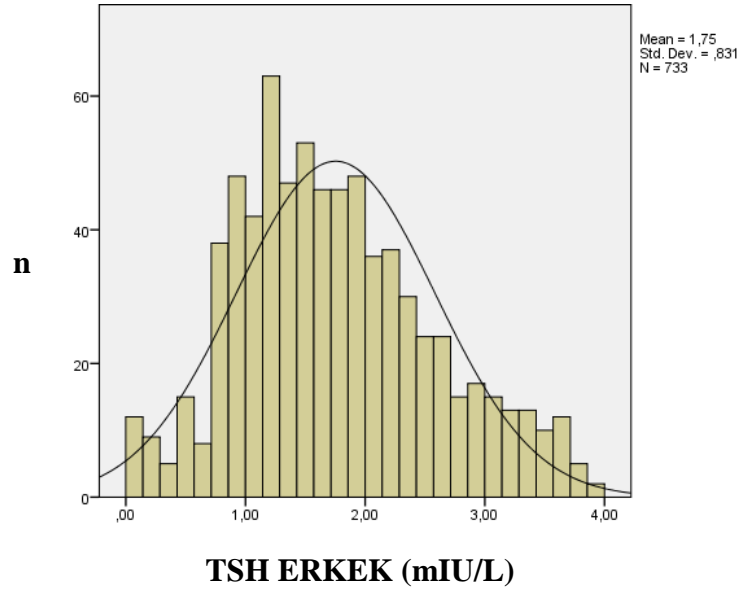
Şekil 13. İndirekt yöntemle belirlenen sT3'ün kadın cinsiyette referans dağılımı



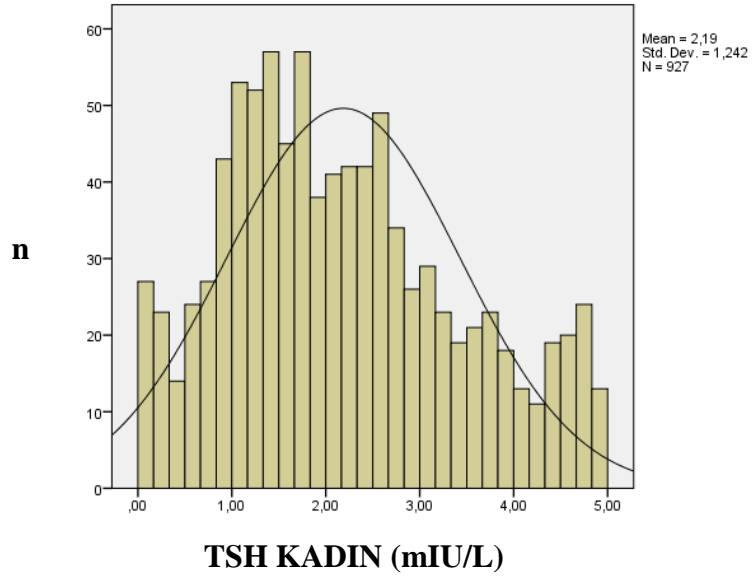
Şekil 14. İndirekt yöntemle belirlenen sT4'ün erkek cinsiyette referans dağılımı



Şekil 15. İndirekt yöntemle belirlenen sT4'ün kadın cinsiyette referans dağılımı



Şekil 16. İndirekt yöntemle belirlenen TSH'nin erkek cinsiyette referans dağılımı



Şekil 17. İndirekt yöntemle belirlenen TSH'nin kadın cinsiyette referans dağılımı

Tablo 9. İndirekt yöntemde cinsiyetler arası referans dağılımı

Test	Cinsiyet	n	Mean±SD	Referans aralığı	Firma tarafından önerilen Referans Aralıkları
TSH (mIU/L)	Kadın	927	2,18 ± 0,04	0,13 - 4,76	0,30 - 3,94
	Erkek	733	1,75 ± 0,04	0,24 - 3,59	0,30 - 3,18

6. TARTIŞMA

Tiroid fonksiyon testleri, klinik biyokimya laboratuvarlarında en çok klinisyenler tarafından tarama, tanı, tedavi ve takipte istenen ve çalışılan rutin testler arasındadır. Bu hormonların serumda düzeylerinin saptanması hipotalamus-hipofiz-tiroid bezi aksının işlevlerinin değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır [2].

Preanalitik, analitik, postanalitik süreçlerin değişkenliği, biyolojik çeşitliliğin yanı sıra kullanılan metot ve ürünlerin farklılığı tiroid hormon düzeylerine etki etmektedir. Bu da bireysel ve bireyler arası test sonuçlarında geniş varyasyon oluşturmaktadır. Klinikte doğru tanı ve tedavinin izlenmesi çok önemlidir. Bu amaçla kullanılan laboratuvar testlerinde, sonuçların değerlendirilmesinde faydalanılan referans aralıklarının bu değişkenlikleri de kapsayacak şekilde iyi belirlenmesi gerekmektedir [67].

Doğru referans aralıklarının oluşturulması klinik laboratuvarlar için önemli bir konudur. CLSI ve IFCC her laboratuvarın kendi referans aralığını belirlemesini veya en azından kullandığı kitin önerdiği referans aralığının geçerliliğini teyit etmesi gerektiğini belirtmektedir. Özellikle CLSI ve IFCC, referans aralığı hesaplamalarını standardize etmiş ve ilgili dokümanlarında belirtmişlerdir [68-70].

CLSI ve IFCC, referans bireylerin seçiminde direkt yöntemi tavsiye etmektedir. Ancak direkt yöntemle referans aralıklarının belirlenmesi kolay olmayan, son derece zahmetli ve maliyetli bir süreçtir.

Özellikle kliniklerde sık karşılaşılan belirgin klinik belirti ve bulguların olmadığı, sT4 ve sT3 sonuçlarının normal olduğu, TSH sonuçlarının referans aralığın alt ve üst limitlerinden biraz düşük ya da biraz yüksek olduğu durumlarda, klinisyenlerin subklinik tiroid disfonksiyonu tanısını ya da ötroid tanısını koymasında TSH referans aralığının alt ve üst limitlerinin güvenilirliği ve doğruluğu önem arz etmektedir [67].

Direkt yöntemle TSH referans değerlerinin belirlenmesinde, genellikle belirli bir açlıktan sonra (en az 8 saat) alınan sabah kanları kullanılmaktadır. Ancak TSH diüurnal bir ritim göstermekte olup sabah ve akşam kan düzeyleri

belirgin şekilde farklılık göstermektedir [34].

Ayrıca, IFCC sağlıklı bireylerle elde edilmiş olan referans aralığının, hastanede yatan bireylerin; fiziksel aktivite, stres düzeyi, diüurnal ritim ve hastanede kalış ile ilgili diğer faktörlerden etkilendiğinden dolayı hastanede yatan hastalar için optimum referans aralığı olarak kullanılamayacağını belirtmektedir [68].

Masferrer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada aşırı geniş dağılım göstermeyen hastane verilerini kullanmanın daha sağlıklı sonuçlar verebileceğini belirtmişlerdir [71].

Hastane verileri içerisinde aşırı uç değerlerin çok olması nedeniyle geniş dağılım gösterirler. Ancak veri sayısı çok olduğundan aşırı uç değerler çok olsa bile bu değerler atıldığında, kalan verilerin dağılımı genellikle Gaussian dağılıma uygunluk göstermektedir.

Referans aralık belirlenirken dışlama kriterlerinde amaç mümkün olduğu kadar sağlıklı bireyleri çalışmaya dahil edebilmektir.

Kratzsch ve arkadaşlarının, TSH ve tiroid hormonları için referans aralığı oluşturmak amacıyla, direkt örnekleme yöntemi ile yapılan bir çalışmada sağlıklı bireyler sorgulanmış; ailesel tiroid hastalığı, patolojik tiroid ultrason sonucu olanlar, yüksek anti-tiroid peroksidazı veya anti-tiroglobulini olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir [72].

İndirekt yöntemle yapılan çalışmalarda ise dışlama daha çok istatistiksel yöntemlerle yapılmaktadır. İnal ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada test ölçüm limitlerinin dışındaki veriler elenmiş ve hastaların ilk verileri çalışmaya dahil edilmiştir [68].

Biz de çalışmamızda test ölçüm limitlerinin dışındaki verileri çalışmaya almadık. Hasta verilerinden referans aralığı yapılacak test için yaklaşık 1 yıllık süre içinde sadece ilk kez elde edilen verileri çalışmaya dahil ettik.

Ülkeler için farklı popülasyonlar söz konusu olduğu gibi, aynı ülkenin farklı bölgelerinin coğrafi yapısı, iklimi, toprağın kimyasal bileşimi, halkın beslenme alışkanlığı gibi faktörleri de farklıdır. Bu farklılık çeşitli kan parametrelerinin sonuçlarına yansiyacaktır; nitekim Koloğlu ve arkadaşlarının yaptığı tarama çalışmasında, Türkiye’de birçok yörede önemli oranda guatr

sorunu olduğu saptanmış, bunun da suların ve toprağın iyot içeriğinin yetersizliğinden kaynaklandığı belirtilmiştir [73].

Völzke ve arkadaşlarının iyot yetersizliğinin referans değerlere olan etkisini inceledikleri, 20-79 yaş aralığında tiroid hastalığı bulunmayan 1488 kişiyi kapsayan TSH, sT3 ve sT4 referans aralığı çalışmasında iyot yetersizliği bulunmayan bölgelerdeki tiroid fonksiyon test referans değerlerinin, iyot yetersizliğinin bulunduğu bölgelerden farklı olduğunu tespit etmişlerdir [6].

Çalışmamızın limitasyonu, seçtiğimiz referans bireylerin iyot düzeylerini ölçememiş olmamızdır. Ancak Dilek ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları “İyot yetersizliği hastalıklarında dünyada ve Türkiyede güncel durum” adlı bir çalışmada, çalışma yaptığımız bölgede iyot yetersizliğinin bulunmadığı belirtilmiştir [74]. Bu çalışmada besinlerle iyodun yetersiz alımı sonucu gelişen iyot yetersizliği hastalıklarının tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olduğu vurgulanmıştır. İyot eksikliğinin ortadan kaldırılmasında UNICEF, ICCIDD ve DSÖ'nün ülkelere ulusal düzeyde sofraya tuzlarının iyotlanması programını önerdiği belirtilmiştir. Ayrıca Türkiye'de 1998 yılında iyotlu sofraya tuzu üretiminin zorunlu hale getirildiği vurgulanmıştır. Yine toplumun iyot durumunu belirlemede, idrarla iyot atılımının en sık kullanılan ölçüt olduğu, DSÖ ve ICCIDD verilerine göre yakın zamanda iyot eksikliği olan ülke sayısının 54'ten 30'a düştüğü, iyot düzeyi yeterli ülke sayısının ise 67'den 112'ye yükseldiği, iyot fazlalığı olan ülke sayısının 5' ten 10' a çıktığı belirtilmiştir. Dünyada 128 ülke arasında hane halkı iyotlu tuz kullanım sıklığı yaklaşık %70 olarak bildirilmiştir. Türkiye'de ağır ve orta düzeyde iyot eksikliği sıklığı 1997 yılında %58 iken, 2008 yılında %28,2 saptanmış, 30 ili kapsayan bu çalışmada ise 20 ilde iyot düzeyi yeterli bulunmuştur. Ayrıca hane halkı iyotlu tuz kullanım sıklığı kentlerde %89,9 kırsalda %71,5 olduğu belirtilmiştir. Dünyada ve Türkiye'de iyot eksikliği azalmış olmakla birlikte, hala önemli bir halk sağlığı sorunudur [10, 74].

Etnik köken, yaş ve cinsiyet tiroid fonksiyon test sonuçlarına etki etmektedir. Hollowell ve arkadaşlarının Amerika'da 12 yaş üstü 17353 veri ile yaptıkları bir çalışmada bütün etnik gruplarda kadınların TSH ortalama konsantrasyonlarının erkeklerden daha yüksek olduğu, yaş ile TSH ortalama

konsantrasyonunun arttığı, beyazlarda ve Meksika kökenli Amerikalılardaki TSH ortalama konsantrasyonun siyahilerden daha yüksek olduğunu göstermişlerdir [7].

Sagrado ve arkadaşları tarafından İspanya'da yapılan bir çalışmada ise 12-94 yaş arası 304 (151 erkek, 153 kadın) kişi ile yaptıkları, TSH, sT4 ve sT3 referans aralığı çalışmasında, bireylerin 100'ü ilaç kullanımı olmayan, tiroid hastalığı öyküsü bulunmayan ve tiroid dışı hastalığı olmayan sağlıklı birey iken bireylerin 100' ü poliklinik hastası ve 104'ü yatan hasta idi. Yaş gruplarını 50 yaş altı ve üstü olarak oluşturmuşlardır. Çalışma sonucunda sağlıklı grupta TSH ve sT4 ortalama konsantrasyonları cinsiyetler arasında belirgin farklılık göstermiş, sT3 testinde ise farklılık göstermemiştir. Ancak sT3 ortalama konsantrasyonları yaş grupları arasında belirgin farklılık gösterirken, TSH ve sT4 test sonuçları farklılık göstermemiştir [3].

Enli ve Aslan, Denizli'de yaşayan 18-40 yaş arasında 131 erkek, 128 kadın olmak üzere 259 referans bireyi direkt yöntemle, ayrıca Mayıs- Ağustos 2000 tarihleri arasında laboratuvara başvuran 18-40 yaş grubu 1113 hastanın TSH, sT3 ve sT4'ü kapsayan tiroid panelini indirekt yöntemle çalışmalarına dahil etmişlerdir. Verileri Kolmogorov- Smirnov testine göre değerlendirip, parametrik ya da non-parametrik yöntemlerle sonuçları karşılaştırmışlar ve referans aralıklarını belirlemişlerdir. Referans aralık hesaplamasında, sağlıklı gönüllülerden seçilen referans bireylerin hesaplamalarında, non- parametrik ve parametrik yöntem arasında anlamlı bir fark olmadığını ancak non- parametrik yöntemin istatistik hesaplamaları gerektirmediğinden kullanımının daha kolay olabileceğini vurgulamışlardır. Hastaneye başvuran birey verilerinden hesaplama yönteminin, kendi hasta popülasyonlarına uygulanabileceğini gördüklerini, hasta bilgilerine kolayca erişilebilmesi sağlandığında çok daha başarılı olabileceğini belirtmişlerdir [75].

Ebubekir Bakan ve arkadaşlarının 2016 yılında Atatürk üniversitesinde yaptıkları direkt ve indirekt bir çalışmada; direkt yöntem ile 18-65 yaş aralığında 435 (217 erkek ve 218 kadın) örnek, indirekt yöntemde ise 1.366.948 (594.753'ü erkek, 772.195'i kadın) kayıtlı veri kullanılmıştır. Direkt ve indirekt için aynı analizörü yani Roche marka Cobas 8000 analizörünü kullanmışlar ve ECLIA yöntemi ile

çalışmışlardır.

Bakan ve arkadaşları çalışmalarında non-parametrik yöntemi kullanmışlardır. Çalışmalarında direkt yöntemde erkeklerde sT3 (3,7-6,0) pmol/L, sT4 (11,9-20,4) pmol/L ve TSH için (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 bulmuşlardır.

Alt ve üst sınırlarda gözlenen farklılıkların, Doğu Anadolu'daki nüfusun bölgesel özelliklerini, beslenme ve çevresel faktörleri yansıtabileceği ve bölgeye özgü referans aralıklarının yerel olarak hizmet verilen nüfusun sağlık durumunu daha iyi anlamak için ayrıntılı bilgi sağlayacağı sonucuna varmışlardır [76].

Ayrıca Tablo 10'da mevcut çalışmamız ile (direkt yöntem), Bursa bölgesinde Ilcol ve Aslan tarafından yapılan [77], Denizli bölgesinde Enli ve arkadaşları tarafından yapılan [75], İzmir bölgesinde Köseoğlu ve arkadaşları tarafından yapılan [78], referans aralık çalışmaları karşılaştırılmıştır.

Tablo 10. Mevcut çalışma verilerinin (direkt yöntem) diğer referans aralığı çalışma verileri ile karşılaştırılması

Test	Bu Çalışmada	RA1	RA2	RA3	Üretici Firma Referans Aralıkları
sT3 (pmol/L)	3,99 - 6,60		1,99 - 6,77	4,56 - 8,01	3,07 - 6,76
sT3 (pg/mL)	2,60 - 4,30		1.30-4.41	2.97-5.22	2.00 – 4.40
sT4 (pmol/L)	15,97 - 25,50		12,29 - 29,34	15,82 - 29,80	13,36 - 26,11
sT4 (ng/dL)	1,04 - 1,66		0.80-1.91	1.03-1.94	0.87-1.70
TSH (mIU/L)	0,80 - 4,04	0,51 - 351	0,30 - 4,17	0,60 - 6,25	0,27 - 4,20

RA1- Bursa bölgesinde Ilcol ve Aslan tarafından yapılan referans aralığı çalışma sonuçları,

RA2- Denizli bölgesinde Enli ve arkadaşları tarafından yapılan referans aralığı çalışmaları,

RA3- İzmir bölgesinde Köseoğlu ve arkadaşları tarafından yapılan referans aralığı çalışmaları.

Çalışmamızda direkt yöntem ile bulduğumuz sonuçların diğer referans aralık çalışmaları ile karşılaştırdığımızda alt sınırlarda ve / veya üst sınırlarda bazı farklılıklar belirlenmiştir. Bu çalışmalar Türkiye'nin farklı illerinde farklı analizörler kullanılarak yapılmıştır. RA1, RA2 ve RA3 sırasıyla Bursa, Denizli ve İzmir'de yapılmıştır.

Analizörler RA1 için Siemens Immulite One (Siemens Healthcare) için Technicon DAX-72 (Bayer Diagnostics, New York, ABD), RA2 için (Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Almanya) RA3 için Advia Centaur (Siemens) kullanılmıştır.

Bütün bu farklılıklar ele alındığında bizim çalışmamızın, metodolojisi ve laboratuvar ortamı diğerlerinden farklıydı ve tüm bu farklılıklardan dolayı referans aralıklarında tam bir uyum sağlanamamış olabilir.

Biz bu çalışmada direkt yöntem için anket yöntemiyle seçtiğimiz erişkin, sağlıklı gönüllülerden elde edilen serumlardan ve laboratuvar bilgi yönetim sisteminden elde edilen verilere dayanarak sağlıklı olduğu öngörülen kişilerden tiroid fonksiyon testlerinin referans aralıklarını hesapladık. Direkt ve indirekt yöntem için seçilen gönüllüler genellikle Ankara ilinde yaşayan kişilerdi. Fakat hem direkt hem de indirekt yöntem için kullanılan sonuçların Ankara ili yanı sıra şehrin kozmopolit yapısı gereği Türkiye'nin farklı bölgelerinde yaşayan birçok insanı da bünyesinde barındırmasından dolayı Türkiye'de yaşayan bireyleri kapsadığı düşünülebilir.

Bizim çalışmamızda, referans aralığı hesaplamasında direkt ve indirekt yöntem ile elde ettiğimiz referans değerleri;

sT3 (İndirekt); İndirekt yöntemle bulduğumuz sT3 sonuçları kullanmakta olduğumuz sonuçlara, çok yakın olmakla birlikte farklı bulundu. Alt sınır daha yüksek, üst sınır daha düşük bulundu, yani referans aralık daha dar bulundu.

sT4 (İndirekt); İndirekt yöntemle bulduğumuz sT4 sonuçları kullanmakta olduğumuz sonuçlara oldukça yakın bulundu. Alt sınır çok yakın, üst sınır ise yakın olmakla birlikte daha düşük bulundu.

TSH (İndirekt); İndirekt yöntemle bulduğumuz TSH sonuçları kullanmakta olduğumuz sonuçlardan farklı bulundu. Alt sınır daha düşük, üst sınır ise daha yüksek bulundu, yani referans aralık daha geniş bulundu (Tablo 8). Referans

aralıkları benzer bulunmakla birlikte kadın ve erkek arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (kadın $2,18 \pm 0,04$; erkek $1,75 \pm 0,04$; $p < 0,05$) (Tablo 9).

sT3, sT4, TSH (Direkt); Direkt yöntemle bulduğumuz sT3, sT4 ve TSH sonuçları kullanmakta olduğumuz firmanın önerdiği referans değerlerden farklı bulundu. Üç testinde alt ve üst sınırları önerilen referans değerlere çok yakın olmakla birlikte, alt sınırlar daha yüksek üst sınırlar ise daha düşük bulundu. Bundan dolayı sT3, sT4 ve TSH' ın bulduğumuz referans aralığı önerilen referans aralıklarından daha dar olarak bulundu (Tablo 6).

Burada indirekt yöntemde oluşan farkın referans bireylerin seçim yönteminden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Çünkü direkt yöntemde seçilen referans bireyler fizyolojik ve psikolojik olarak tam bir iyilik halinde olma durumuna en yakın kişilerdir. Diğer yandan indirekt yöntemde seçilen referans bireyler, laboratuvar verilerine göre her ne kadar sağlıklı olma durumuna göre belirlenmeye çalışılsa da, tam olarak bunun sağlanamamış olması muhtemeldir.

Diğer taraftan İndirekt yöntemde veri sayısının çokluğu toplumun tiroid fonksiyon testlerinin referans aralığını daha iyi tanımlamış olabileceği de bir gerçektir. Biz çalışmamızda İndirekt yöntemle bulduğumuz TSH sonuçlarını üretici firmanın referans aralığı ile kıyasladığımızda 1708 veriden 1625 tanesi bizim referans aralığımızın içinde kalmıştır. 42 tanesi subklinik hipertroidi ve 41 tanesinde subklinik hipotroidi olduğu görülmüştür. Üretici firmanın referans aralığı ile baktığımızda ise 1708 veriden 1529 tanesi referans aralığı içinde ve 58 tanesi subklinik hipertroidi ve 121 tanesi subklinik hipotroidi olduğu görülmüştür.

Bizim İndirekt yöntemle belirlediğimiz referans aralığına göre 16 kişiye subklinik hipertroidi ve 80 kişiye subklinik hipotroidi tanısı konulmasının belkide önüne geçilmekte ve yanlış teşhis ve tedavi uygulamaları da engellenmiş olmaktadır.

Motor ve arkadaşları 40 - 59 yaş ve 60 - 80 arasında toplam 129 kadın, 131 erkek sağlıklı referans bireyden direkt yöntemle ve yine laboratuvar bilgi sisteminden elde ettikleri 40 - 59 yaş ve 60 - 80 yaş arasında toplam 3060 erkek, 4090 kadın birey ile indirekt örnekleme yöntemi ile referans aralığı belirlemişlerdir. Direkt yöntem ve indirekt yöntem sonuçlarını

karşılaştırmışlardır. TSH, sT4 ve sT3 testlerini Abbott Architect i2000 otoanalizörü ile kemilüminesans yöntemle ölçmüşlerdir. Cinsiyet açısından sT4 için yaş gruplarında her iki örnekleme yöntem ile anlamlı bir fark olmadığını, ancak TSH ve sT3 için cinsiyet açısından anlamlı farklılığın her iki örnekleme yöntemi ile de olduğunu göstermişlerdir. Tüm testler için direkt örnekleme yöntemi ile yaş grupları arasında anlamlı bir fark olmadığını indirekt örnekleme yönteminde ise TSH ve sT3 testleri için yaş grupları arasında anlamlı bir farklılığın olduğunu tespit etmişlerdir. TSH ve sT4 referans aralığını belirlemede non-parametrik yöntem kullanmışlardır. TSH ve sT4 için indirekt örnekleme yöntemi ve direkt örnekleme yöntemi arasında uyumlu referans aralıklarının olduğunu, sT3 için %5 den büyük bir farklılığın olduğunu belirtmişlerdir. İndirekt örnekleme yöntemi ile her laboratuvarın kendi referans aralığını belirleyebileceği ve yerel koşullara göre yaşa ve cinsiyete göre referans aralığının belirlenebileceğini ifade etmişlerdir[79].

Bizim bulduğumuz referans aralık değerlerini hastanemizde kullandığımız üretici firma değerleri ile karşılaştırdığımızda; Direkt yöntemde sT3 - sT4 ve TSH referans değerleri firma referans değerleri ile yakın olmakla birlikte daha dar bir aralıkta bulunmuştur. İndirekt yöntemde ise sT3 – sT4 referans değerleri, kullanılan değerlere yakın ve daha dar bir aralıkta bulunmuş ancak TSH hem kullanılan referans değerden hemde direkt yöntemle bulunan referans değerden daha geniş bir aralıkta bulunmuştur. TSH değerinin direkt yöntemle bulduğumuz referans değerden ve hastanemizde kullandığımız referans değerden daha geniş bulunmasının sebebi olarak ise indirekt yöntemde verilerini kullandığımız hastane popülasyonundan kaynaklanmış olabileceği sonucuna varılmıştır.

Kadın ve erkek hastalar için belirlediğimiz TSH, sT3 ve sT4 referans aralığı üretici firmanın belirlediği referans aralığından farklı, ve daha geniş bir aralık olarak belirlenmiştir.

Bu çalışma bize laboratuvarların kendi referans aralıklarını belirlemesi gerektiğini göstermiştir. Çünkü özellikle laboratuvarlarımızda kullandığımız kitlerin bir çoğu Avrupa veya Amerika kaynaklıdır. Üretici firma tarafından belirlenmiş referans aralıkları sözkonusu toplum değerlerini yansıtmaktadır,

ancak yaptığımız bu çalışma bize bu değerlerin kendi toplumumuzun referans aralığı ile örtüşüp örtüşmediğini göstermesi bakımından önemlidir. Bu nedenle her laboratuvarın kendi referans aralığını belirlemesi veya en azından kullanılan referans aralığının toplumun referans aralığı ile uygunluğunun teyit etmesi gerekmektedir.

Bilgisayar teknolojisindeki ilerlemeler ve sağladığı kolaylıklar ile laboratuvar bilgi yönetim ve kayıt sistemlerinin gelişmesi hastane verilerinin çok daha sağlıklı ve uzun süreli kayıt altına alınmasını sağlamıştır. Bu sayede referans aralığı hesaplamadaki zorluklar göz önüne alındığında, hastane verileri kullanılarak yapılan referans aralığı hesaplama yöntemleri pratikte daha uygulanabilir görünmektedir. Ayrıca laboratuvarlar arası ortak bilgi paylaşım ağının oluşturulması ve ulusal referans aralığı politikasının da gerçekleştirilmesi ile standardizasyonun kesinlikle sağlanması gerekliliğine inanmaktayız.

Ancak ne var ki bu çalışma bize bütün zorluklarına rağmen direkt yöntemin hala en güvenilir referans aralığı belirleme yöntemi olma özelliğini koruduğunu göstermiştir.

Bundan dolayı laboratuvarlar yapabiliyorlarsa öncelikle direkt yöntem ile mutlaka referans aralıklarını belirlemeli yada kullandıkları referans aralıklarını teyit etmelidirler. Direkt yöntem ile belirleme şansları yoksa indirekt yöntemle yönelebilirler.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Laboratuvar testlerinin klinikte tarama teşhis ve tedavide tıbbi karar amacıyla kullanılabilmesi için her testin mutlaka referans aralıklarının bilinmesi gerekir.

2. Her laboratuvar kendi referans aralıklarını mümkünse direkt yöntemle, değilse indirekt yöntemle belirlemelidir. Çünkü referans aralık değerleri coğrafi bölge, ırk, cinsiyet, yaş ve beslenme alışkanlıkları gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir.

3. Direkt yöntemle referans aralık değerlerini belirlemek indirekt yönteme göre son derece zor ve zahmetli bir işlemdir. Ne var ki günümüzde bilgisayar teknolojisinin gelişmesi ile laboratuvarlara bilgi sistemlerinin kurulması, hastane verilerinin dijital ortamda kayıt altına alınabilmesini sağlamıştır. Bu da yeteri kadar mevcut hasta verisi ile daha pratik olan indirekt yöntem kullanılarak referans aralıklarının hesaplanabilmesine olanak tanımıştır. Bu yöntemin direkt yönteme göre kolay ve ucuz olduğu görülmüştür.

4. Referans aralıkları hesaplanırken non-parametrik yöntem kullanılmıştır. Referans aralığı hesaplamada CLSI non- parametrik, IFCC ise parametrik yöntemi önermiştir. Çalışmamızdaki veri sayılarının değişkenliğinden dolayı, alt grupların dağılım analizinde Gaussian ve non-Gaussian formlarının her ikisinin de görülmesine neden olmuştur. Bu durum her iki klavuzun da önerileri doğrultusunda referans aralıklarını hesaplarken her iki yöntemin de kullanılabileceğini düşündürmektedir.

5. Üretici firmanın önerdiği referans aralıkları bizim toplumumuzun değerlerini tam olarak yansıtmadığı ancak yakın değerlerde olduğu görülmüştür.

6. Her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi ve laboratuvarlar arasında bilgisayar bilgi sistemi kurularak bölgesel farklılıkların ortaya konmasıyla daha verimli bir ulusal sağlık politikası sunulabileceği düşünülmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Spencer, C.A., et al., *Applications of a new chemiluminometric thyrotropin assay to subnormal measurement*. J Clin Endocrinol Metab, 1990. **70**(2): p. 453-60.
2. Laurberg, P., *Persistent problems with the specificity of immunometric TSH assays*. Thyroid, 1993. **3**(4): p. 279-83.
3. Gonzalez-Sagrado, M. and F.J. Martin-Gil, *Population-specific reference values for thyroid hormones on the Abbott ARCHITECT i2000 analyzer*. Clin Chem Lab Med, 2004. **42**(5): p. 540-2.
4. CLSI, *How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline*. 2000, CLSI: PA.
5. CLSI, *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory*. 2008(Approved Guideline CLSI Document C28-A3,4th ed, Pennsylvania, USA).
6. Volzke, H., et al., *Reference intervals of serum thyroid function tests in a previously iodine-deficient area*. Thyroid, 2005. **15**(3): p. 279-85.
7. Hollowell, J.G., et al., *Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)*. J Clin Endocrinol Metab, 2002. **87**(2): p. 489-99.
8. Pankow, B.G., J. Michalak, and M.K. McGee, *Adult human thyroid weight*. Health Phys, 1985. **49**(6): p. 1097-103.
9. Hegedus, L., *Thyroid size determined by ultrasound. Influence of physiological factors and non-thyroidal disease*. Dan Med Bull, 1990. **37**(3): p. 249-63.
10. Erdogan, G., et al., *Moderate to severe iodine deficiency in three endemic goitre areas from the Black Sea region and the capital of Turkey*. Eur J Epidemiol, 2000. **16**(12): p. 1131-4.
11. Sperling, M.A., *Pediatric Endocrinology*. 2008: Elsevier Health Sciences.
12. Dohán, O., et al., *The Sodium/Iodide Symporter (NIS): Characterization, Regulation, and Medical Significance*. Endocrine Reviews, 2003. **24**(1): p. 48-77.
13. Van Sande, J., et al., *Anion selectivity by the sodium iodide symporter*. Endocrinology, 2003. **144**(1): p. 247-52.
14. Spitzweg, C., A.E. Heufelder, and J.C. Morris, *Thyroid iodine transport*. Thyroid, 2000. **10**(4): p. 321-30.
15. Filetti, S., et al., *Sodium/iodide symporter: a key transport system in thyroid cancer cell metabolism*. Eur J Endocrinol, 1999. **141**(5): p. 443-57.
16. Carvalho, D.P. and C. Dupuy, *Thyroid hormone biosynthesis and release*. Mol Cell Endocrinol, 2017. **458**: p. 6-15.
17. Boron, W.F. and E.L. Boulpaep, *Medical physiology : a cellular and molecular approach*. 2nd ed. 2009, Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier. xii, 1337 p.
18. manager, T. *Thyroid hormone synthesis and secretion*. 2018 [cited 2018 19/07]; Available from: <http://www.thyroidmanager.org/chapter/thyroid-hormone-synthesis-and-secretion>.
19. Rifai, N. and A.R. Horvath, *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 2017: Elsevier. 1575-1577.
20. Bishop, M.L., E.P. Fody, and L.E. Schoeff, *Clinical Chemistry: Principles, Techniques, and Correlations*. 2013: Wolters Kluwer Health.
21. manager, T. *Physiology of hypothalamic pituitary thyroid axis*. 2018 [cited 2018 19/07]; Available from: <http://www.thyroidmanager.org/chapter/physiology-of-the-hypothalamic-pituitary-thyroid-axis/>.
22. manager, t. *ontogeny anatomy metabolism and physiology of the thyroid*. 2018 [cited 2018 19/07]; Available from: <http://www.thyroidmanager.org/chapter/ontogeny-anatomy-metabolism-and-physiology-of-the-thyroid/>.
23. manager, t. *Thyroid hormone serum transport protein* 2018 [cited 2018 20/07]; Available from: <http://www.thyroidmanager.org/chapter/thyroid-hormone-serum-transport-proteins-2/>.
24. Schussler, G.C., *The thyroxine-binding proteins*. Thyroid, 2000. **10**(2): p. 141-9.
25. manager, t. *evaluation of thyroid function in health and disease*. 2018 [cited 2018 23/07]; Available from: <http://www.thyroidmanager.org/chapter/evaluation-of-thyroid-function-in-health-and-disease/>.
26. manager, t. *assay of thyroid hormones and related substances*. 2018 [cited 2018 23/07]; Available from: <http://www.thyroidmanager.org/chapter/assay-of-thyroid-hormones-and-related-substances3/>.

27. Wondisford, F.E. and S. Radovick, *Clinical Management of Thyroid Disease E-Book*. 2009: Elsevier Health Sciences.
28. Zoeller, R.T., S.W. Tan, and R.W. Tyl, *General background on the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis*. Crit Rev Toxicol, 2007. **37**(1-2): p. 11-53.
29. Chiamolera, M.I. and F.E. Wondisford, *Minireview: Thyrotropin-releasing hormone and the thyroid hormone feedback mechanism*. Endocrinology, 2009. **150**(3): p. 1091-6.
30. Melmed, S., et al., *Williams Textbook of Endocrinology E-Book*. 2011: Elsevier Health Sciences.
31. Guillemin, R., *Hypothalamic hormones a.k.a. hypothalamic releasing factors*. J Endocrinol, 2005. **184**(1): p. 11-28.
32. Segerson, T.P., et al., *Thyroid hormone regulates TRH biosynthesis in the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus*. Science, 1987. **238**(4823): p. 78-80.
33. Strait, K.A., L. Zou, and J.H. Oppenheimer, *Beta 1 isoform-specific regulation of a triiodothyronine-induced gene during cerebellar development*. Molecular Endocrinology, 1992. **6**(11): p. 1874-1880.
34. Brabant, G., et al., *Physiological regulation of circadian and pulsatile thyrotropin secretion in normal man and woman*. J Clin Endocrinol Metab, 1990. **70**(2): p. 403-9.
35. Peeters, R., et al., *Regional physiological adaptation of the central nervous system deiodinases to iodine deficiency*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2001. **281**(1): p. E54-61.
36. Zimmermann, M.B. and J. Kohrle, *The impact of iron and selenium deficiencies on iodine and thyroid metabolism: biochemistry and relevance to public health*. Thyroid, 2002. **12**(10): p. 867-78.
37. Studer, H. and F. Ramelli, *Simple goiter and its variants: euthyroid and hyperthyroid multinodular goiters*. Endocr Rev, 1982. **3**(1): p. 40-61.
38. Jahreis, G., et al., *Bioavailability of iodine from normal diets rich in dairy products--results of balance studies in women*. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2001. **109**(3): p. 163-7.
39. Martino, E., et al., *Environmental iodine intake and thyroid dysfunction during chronic amiodarone therapy*. Ann Intern Med, 1984. **101**(1): p. 28-34.
40. Zimmermann, M.B. and K. Boelaert, *Iodine deficiency and thyroid disorders*. Lancet Diabetes Endocrinol, 2015. **3**(4): p. 286-95.
41. Vejbjerg, P., et al., *Effect of a mandatory iodization program on thyroid gland volume based on individuals' age, gender, and preceding severity of dietary iodine deficiency: a prospective, population-based study*. J Clin Endocrinol Metab, 2007. **92**(4): p. 1397-401.
42. Krejbjerg, A., et al., *Iodine fortification may influence the age-related change in thyroid volume: a longitudinal population-based study (DanThyr)*. Eur J Endocrinol, 2014. **170**(4): p. 507-17.
43. Peterson, E., P. De, and R. Nuttall, *BMI, diet and female reproductive factors as risks for thyroid cancer: a systematic review*. PLoS One, 2012. **7**(1): p. e29177.
44. Pellegriti, G., et al., *Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors*. J Cancer Epidemiol, 2013. **2013**: p. 965212.
45. manager, t. *The iodine deficiency disorders*. 2018 [cited 2018 27/07]; Available from: <http://www.thyroidmanager.org/chapter/the-iodine-deficiency-disorders/>.
46. Kaplan, L.A. and A.J. Pesce, *Clinical chemistry : theory, analysis, correlation : with 509 illustrations and 25 color plates*. 5th ed. 2010, St. Louis, Mo.: Mosby/Elsevier. 948-969.
47. Solberg, H.E. and C. PetitClerc, *International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values*. J Clin Chem Clin Biochem, 1988. **26**(9): p. 593-8.
48. Sunderman, F.W., Jr., *Current concepts of "normal values," "reference values," and "discrimination values," in clinical chemistry*. Clin Chem, 1975. **21**(13): p. 1873-7.
49. Kaplan, L.A. and A.J. Pesce, *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*. 2010: Mosby/Elsevier.
50. Y., L., *Referans Kavramı, Ulusal Referans Politikası ve Hasta Verilerinin Kullanımı*. Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem], 2003: p. 225-227.
51. Solberg, H.E., *The IFCC recommendation on estimation of reference intervals. The RefVal program*. Clin Chem Lab Med, 2004. **42**(7): p. 710-4.
52. Baadenhuijsen, H. and J. Smit, *Indirect estimation of clinical chemical reference intervals*

- from total hospital patient data: application of a modified Bhattacharya procedure. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 1985. **23**(12): p. 829-840.
53. HE., S., *Referans Değerlerin Belirlenmesi ve Kullanılması*. Aslan D (ed) . *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler*. Palme Yayıncılık, 2005: p. 251-261.
 54. Kouri, T., et al., *Reference intervals developed from data for hospitalized patients: computerized method based on combination of laboratory and diagnostic data*. *Clin Chem*, 1994. **40**(12): p. 2209-15.
 55. Wiersinga, W.M., *Guidance in Subclinical Hyperthyroidism and Subclinical Hypothyroidism: Are We Making Progress?* *Eur Thyroid J*, 2015. **4**(3): p. 143-8.
 56. Grossi, E., et al., *The REALAB project: a new method for the formulation of reference intervals based on current data*. *Clin Chem*, 2005. **51**(7): p. 1232-40.
 57. Lumsden, J.H. and K. Mullen, *On establishing reference values*. *Can J Comp Med*, 1978. **42**(3): p. 293-301.
 58. Koduah, M., T.C. Iles, and B.J. Nix, *Centile charts I: new method of assessment for univariate reference intervals*. *Clinical chemistry*, 2004. **50**(5): p. 901-906.
 59. Griffiths, J.K., et al., *Centile charts II: alternative nonparametric approach for establishing time-specific reference centiles and assessment of the sample size required*. *Clinical chemistry*, 2004. **50**(5): p. 907-914.
 60. Reed, A.H., R.J. Henry, and W.B. Mason, *Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range*. *Clinical Chemistry*, 1971. **17**(4): p. 275-284.
 61. Maia, A.L., et al., *Type 2 iodothyronine deiodinase is the major source of plasma T3 in euthyroid humans*. *J Clin Invest*, 2005. **115**(9): p. 2524-33.
 62. Horn, P.S., et al., *Effect of outliers and nonhealthy individuals on reference interval estimation*. *Clin Chem*, 2001. **47**(12): p. 2137-45.
 63. Solberg, H.E. and A. Lahti, *Detection of outliers in reference distributions: performance of Horn's algorithm*. *Clin Chem*, 2005. **51**(12): p. 2326-32.
 64. Ozarda, Y., et al., *Protocol and standard operating procedures for common use in a worldwide multicenter study on reference values*. *Clin Chem Lab Med*, 2013. **51**(5): p. 1027-40.
 65. Dixon, W.J., *Processing Data for Outliers*. *Biometrics*, 1953. **9**(1): p. 74-89.
 66. Solberg, H.E. and D. Stamm, *IFCC recommendation: The theory of reference values. Part 4. Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values*. *J Automat Chem*, 1991. **13**(5): p. 231-4.
 67. Andersen, S., et al., *Biologic variation is important for interpretation of thyroid function tests*. *Thyroid*, 2003. **13**(11): p. 1069-78.
 68. Inal, T.C., et al., *Indirect reference intervals estimated from hospitalized population for thyrotropin and free thyroxine*. *Croat Med J*, 2010. **51**(2): p. 124-30.
 69. Erden, G., et al., *Direct versus indirect strategies for thyroid hormone reference intervals established in a middle-aged and elderly population on an immunoassay analyzer*. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 2010. **1**(3).
 70. Edition, G.T., *Sample*. 2011.
 71. Ferré-Masferrer, M., X. Fuentes-Arderiu, and R. Puchal-Añé, *Indirect reference limits estimated from patients' results by three mathematical procedures*. *Clinica chimica acta*, 1999. **279**(1-2): p. 97-105.
 72. Kratzsch, J., et al., *New reference intervals for thyrotropin and thyroid hormones based on National Academy of Clinical Biochemistry criteria and regular ultrasonography of the thyroid*. *Clin Chem*, 2005. **51**(8): p. 1480-6.
 73. Koloğlu, S. and B. Koloğlu, *Türkiye'de endemik guatr*. Elif Matbaacılık, Ankara, 1984: p. 1-64.
 74. DİLEK, E. and F. TÜTÜNCÜLER, *İyot Yetersizliği Hastalıklarında Dünyada ve Türkiye'de Güncel Durum*. *Türkiye Klinikleri Journal of Pediatric Sciences*, 2016. **12**(2): p. 7-13.
 75. Denizli'de Yaşayan, E.Y., *Yaşayan 18-40 Yaş Arası Bireylerde Farklı Yöntemlerle Referans Aralıkların Saptanması*. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Denizli: Pamukkale Üniversitesi, 2001.
 76. Bakan, E., et al., *A reference interval study for common biochemical analytes in Eastern Turkey: a comparison of a reference population with laboratory data mining*. *Biochem Med (Zagreb)*, 2016. **26**(2): p. 210-23.
 77. Ilcol YO, Aslan D. Determining reference value of blood chemistry profile in healthy

- subjects in Bursa. Turk J Biochem 2004;29:183-92
78. Koseoglu M, Isleten F, Dursun S, Çuhadar S. Determination of reference intervals of healthy adults aged between 20-50 years in Izmir. Turk J Biochem 2010;35:215-24.
79. Motor S, E.G., Sahillioğlu B ve ark., *Direct versus indirect strategies for thyroid hormone reference intervals established in a middle- aged and elderly population on an immunoassay analyzer*. Journal of Clinical and Experimental Investigations, 2010(3): p. 161-167.

ÖZGEÇMİŞ

Nebi YILMAZ 1979 yılında Hollanda'nın Amsterdam iline bağlı Oosterhaut kasabasında doğdu. İlk ve ortaöğrenimini Kayseri'de tamamladı.

Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya bölümünden mezun olduktan sonra 2016 ve 2017 yılları arasında İstanbul Haydarpaşa Numune Eğitim Araştırma Hastanesi'nde 2017 ve 2019 yılları arasında Ankara Numune Eğitim Araştırma Hastanesi'nde görev yaptı.

2019 yılından bu yana Ankara Şehir Hastanesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.

EKLER

EK1:

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

DOKÜMANIN ADI	Belge Adı		Tarih	Versiyon Numarası	Dil		
					Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DOKÜMANIN ADI	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ				Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİYOKİMYA VE GENETİK İZLENİMLERİ FORMU				Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	GÖZEL RAPOR FORMU				Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DOKÜMANIN ADI	Belge Adı		Açıklama				
	NİĞORİA						
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ						
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU						
	PLAN						
	YATILMA İZİNİ						
	SONU RAPORU						
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 1755/2018		Tarih: 14.01.2018				
	<p>Yukarıda belirtilen ve/veya SBU Ankara Numune SÜAM Tıbbi Biyokimya Kliniği'nden Doç.Dr. Sevilay Sozer tarafından hazırlanan ve Dr. Nebi Yılmaz'ın tezi olan "Tiroid fonksiyon testleri (STH, sT3, sT4) referans aralığı belirlenme çalışması" amaçlı klinik araştırma başarıları ile ilgili belge ile araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, vakıfları ve yöntemleri hakkında alınarak incelenmiş ve ayağına bütünlüğü olan araştırmanın/çalışmanın dayanağı dosyasında belirtilen maddelerde öngörülmüş etik ve bilimsel salama bilimsel/teknik/etik kuralları katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.</p>						

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUNUN ÇALIŞMA ESASI: Baş ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Üzerinde Yönetmelik, İy Klinik Uygulamaları Kılavuzu

BAŞKANIN İVANI / ADI / SOYADI: Prof. Dr. Hüseyin BODUR

Unvanı/Adı/Soyadı	Unvanı/Adı	Kurumu	Çevreyet	Araştırma ile İlgili	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Hüseyin BODUR	Prof. Hastalıklar Bilim Dalı Başkanı	SBU Ankara Numune SÜAM	<input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>H. Bodur</i>
Doç. Dr. Mustafa KILIÇ	Tıbbi Laboratuvar	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Kılıç</i>
Prof. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Prof. Dr. Adem ÖZARA	Aile Hekimliği	SBU Ankara Numune SÜAM	<input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>A. Özara</i>
Prof. Dr. Selma ÖZGÜÇLÜ	Ameliyat ve Anestezi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>S. Özgüçlü</i>
Prof. Dr. Sema ÖZGÜÇLÜ	Pediyatri	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>S. Özgüçlü</i>
Prof. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Prof. Dr. Ali ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>A. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr. Mustafa ÖZGEN	Genel Cerrahi	SBU Ankara Numune SÜAM	<input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<i>M. Özen</i>
Doç. Dr.						