



T.C.

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ

TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ

**HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA HASTANESİ LABORATUVAR
VERİLERİ KULLANILARAK PARATHORMON, VİTAMİN D,
KALSİYUM VE FOSFOR TESTLERİNİN İNDİREKT
YÖNTEMLE REFERANS ARALIKLARININ BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Elif Meltem YILDIZ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Serdar DOĞAN

HATAY- 2024

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA HASTANESİ LABORATUVAR
VERİLERİ KULLANILARAK PARATHORMON, VİTAMİN D,
KALSİYUM VE FOSFOR TESTLERİNİN İNDİREKT
YÖNTEMLE REFERANS ARALIKLARININ BELİRLENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Elif Meltem YILDIZ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Serdar DOĞAN

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA HASTANESİ LABORATUVAR
VERİLERİ KULLANILARAK PARATHORMON, VİTAMİN D,
KALSİYUM VE FOSFOR TESTLERİNİN İNDİREKT
YÖNTEMLE REFERANS ARALIKLARININ BELİRLENMESİ**

Dr. Elif Meltem YILDIZ

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

(İmza).....

Prof.Dr.....

Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

(İmza).....

Dr.....

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

(İmza).....

Dr.....

Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1.(İsim ve imza).....

2.(İsim ve imza).....

3.(İsim ve imza)

III. İÇİNDEKİLER

III. İÇİNDEKİLER	III
IV. TABLO LİSTESİ.....	V
V. ŞEKİL LİSTESİ.....	VI
VI. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	VII
VII. TEŞEKKÜR	X
VIII. ÖZET.....	XI
IX. ABSTRACT	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. D Vitamini	2
2.1.1. D Vitamini Tanımı ve Yapısı	2
2.1.2. D Vitamini Kaynakları.....	2
2.1.3. D Vitamini Metabolizması ve Düzenlenmesi.....	2
2.1.4. D Vitaminin Etkileri	5
2.1.5. D Vitamini Düzeyleri ile İlgili Tanımlamalar.....	10
2.1.6. D Vitamini Eksikliği Nedenleri	10
2.1.7. D Vitamini Eksikliğinde Klinik Belirtiler	12
2.1.8. D Vitamini Eksikliğinin İskelet Sistemi Dışı Etkileri	12
2.2. Kalsiyum	14
2.2.1. Kalsiyum Metabolizması	14
2.2.2. Kalsiyumun Gastrointestinal Absorbsiyonu	15
2.2.3. Kalsiyum Regülasyonu	17
2.2.4. Kalsiyum Dengesi Bozukluklarında Klinik Belirtiler	18
2.3. Fosfor.....	20
2.3.1. Fosforun Gastrointestinal Absorbsiyonu	21
2.3.2. Fosforun Böbrekten Reabsorbsiyonu.....	21
2.3.3. Fosfor Regülasyonu	22
2.4. Parathormon	23
2.4.1. Parathormonun Etkileri.....	23
2.4.2. Parathormon Metabolizması ve Salınmasının Kontrolü	25

2.5. Referans Aralık.....	26
2.5.1. Laboratuvar Testlerinde Referans Aralıkların Önemi.....	26
2.5.2. Referans Birey ve Referans Değerler	27
2.5.3. Referans Birey Seçimi	27
2.5.3.1. Direkt Örneklem Yöntemi ile Referans Birey Seçilmesi	28
2.5.3.2. İndirekt Örneklem Yöntemi ile Referans Birey Seçilmesi.....	28
2.5.4. Referans Popülasyonun Gruplandırılması	29
2.6. Referans Değerlerin İstatistiksel Analizi	30
2.6.1. Veri Toplanması	30
2.6.2. Dağılımın İncelenmesi.....	30
2.6.3. Uç Değerlerin Atılması	30
2.6.3.1. Dixon Yöntemi:.....	31
2.6.3.2. Tukey Yöntemi:.....	31
2.6.3.3. Box-Plot Yöntemi:	32
2.6.4. Referans Popülasyonun Dağılım Tipinin Belirlenmesi	32
2.6.5. Referans Sınırların Saptanması.....	32
2.6.6. İndirekt Referans Aralık Hesaplamasında Kullanılan Yöntemler	33
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	35
3.1. Çalışma Planı.....	35
3.2. Kullanılan Cihaz ve Kitler.....	36
3.3. Test Ölçüm Yöntemi.....	36
3.4. Kullanılan Bilgisayar Programları ve İstatistiksel Yöntemler	37
3.4.1. Arzideh Yöntemi	38
3.4.2. Hoffmann Yöntemi	39
3.4.3. Bhattacharya Yöntemi	41
4. BULGULAR.....	45
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	73
7. KAYNAKÇA	74
8. EKLER.....	87
EK 1.....	87
9. ÖZGEÇMİŞ	88

IV. TABLO LİSTESİ

Tablo 1. D vitamini eksikliği ve yetersizliği tanısı için kullanılan değerler	10
Tablo 2. D vitamini eksikliği nedenleri	11
Tablo 3. Kalsiyum için önerilen diyet miktarları.....	15
Tablo 4. Referans bireylerin seçiminde önemli olan dışlama kriterleri.....	28
Tablo 5. Referans popülasyonda gruplaşmaya yol açan faktörler	29
Tablo 6. Kalsiyum testi için her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri.....	42
Tablo 7. Demografik veriler	45
Tablo 8. Kalsiyum testi için her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri	49
Tablo 9. Fosfor için her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri	49
Tablo 10. PTH için her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri	49
Tablo 11. Yaz dönemi D vitamini her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri	49
Tablo 12. Kış dönemi D vitamini her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri	50
Tablo 13. Bhattacharya yöntemi ile bulunan kalsiyum ve fosfor, PTH ve D vitamini yaz-kış referans aralıkları.....	51
Tablo 14. Arzideh yöntemi - tanımlayıcı değerler.....	55
Tablo 15. Arzideh yöntemi ile bulunan referans aralıkları.....	55
Tablo 16. Nonparametrik yöntemle belirlenen referans aralıkları.....	63
Tablo 17. Kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamini yaz ve D vitamini kış dönemi Referans Aralıkları.....	63
Tablo 18. Bhattacharya yöntemini kullanarak bulunan kalsiyum ve fosfor referans aralık değerleri.....	65
Tablo 19. Bursa ili indirekt yöntemle kalsiyum ve fosfor referans aralıkları.....	66
Tablo 20. İstanbul ili D vitaminine bağlı PTH referans aralıkları.....	67
Tablo 21. İndirekt yöntemle D vitamin referans aralıkları.....	69

V. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. D ₂ ve D ₃ 'ün üretimi	3
Şekil 2. D vitamini metabolizması	4
Şekil 3. D vitamininin VDR ile ilişkili genomik etkileri	6
Şekil 4. Bağırsakta kalsiyum emilimi	7
Şekil 5. Bağırsakta fosfat ve kalsiyumun D vitamini bağımlı taşınması	8
Şekil 6. Bağırsak epitelinde 1,25(OH) ₂ D/VDR aracılı kalsiyum (Ca ⁺⁺) taşınması..	16
Şekil 7. Böbrek proksimal tübüllerinde fosfatın yeniden emilimi	22
Şekil 8. PTH anabolik etkisine katkıda bulunan osteoblastlar ve osteoklastlar arasındaki iletişim döngüsü.....	24
Şekil 9. PTH böbrekteki etkileri	25
Şekil 10. Hoffman yöntemine göre konsantrasyon – rölatif frekans grafiği.....	39
Şekil 11. Hoffman yöntemine göre konsantrasyon – çeyreklik grafiği	40
Şekil 12. Kalsiyum histogram grafiği	42
Şekil 13. Kalsiyum testi için her bir orta değer ile elde edilen delta değerlerinin saçılım grafiği	43
Şekil 14. Kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamini yaz ve kış dönemi box-plot grafikleri.....	46
Şekil 15. Kalsiyum, fosfor, PTH, vitamin D kış, vitamin D yaz histogram grafikleri.....	47
Şekil 16. PTH, D vitamini kış, D vitamini yaz Box-Cox dönüşümü sonrası histogram grafikleri	48
Şekil 17. Kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamin kış ve D vitamin yaz dönemi testi için her bir orta değer ile elde edilen delta değerlerinin saçılım grafiği.....	50
Şekil 18. Kalsiyum, fosfor ve PTH testinde yaşa göre persentil grafiği.....	52
Şekil 19. D vitamini yaz ve kış dönemi yaşa göre persentil grafiği.....	53
Şekil 20. Kalsiyum, Fosfor, PTH ve D vitamin testlerinde medyan değerlerin zaman grafiği.....	54
Şekil 21. Fosfor testi için her bir orta değer ile elde edilen delta değerlerinin saçılım grafiği	56
Şekil 22. D vitamini yaz ve kış dönemi arzideh yöntemi sonuçları dansiteye göre konsantrasyon grafikleri.....	56
Şekil 23. Kalsiyum hoffman grafiği.....	58
Şekil 24. Fosfor hoffman grafiği.....	59
Şekil 25. PTH hoffman grafiği.....	60
Şekil 26. D vitamin yaz dönemi hoffman grafiği.....	61
Şekil 27. D vitamin kış dönemi hoffman grafiği.....	62

VI. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

1,25(OH)₂D: 1,25-dihidroksi vitamin D (kalsitriol)

1,24,25(OH)₂D: 1,24,25-trihidroksi vitamin D

24,25 (OH)D: 24,25-dihidroksi vitamin D

23,25(OH)D₂: 23,25-dihidroksi vitamin D

25(OH)D: 25-hidroksi vitamin D (Kalsidiol)

7-DHK: 7-dehidrokolesterol

ANOVA: Analysis Of Variance; Varyans Analizi

Ca: Kalsiyum

Ca_v1.3: L tipi voltaj kapılı kalsiyum kanalı

CaSR: Kalsiyum Duyarlı Reseptör

CLSI: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü

CYP24A1: 24-hidroksilaz

CYP27A1: 27- hidroksilaz

CYP27B1: 1- α hidroksilaz

CYP2R1: 25- hidroksilaz

D₂ Vitamini: Ergokalsiferol

D₃ Vitamini: Kolekalsiferol

DBP: D Vitamini Bağlayıcı Protein

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EGF: Epidermal Büyüme Faktörü

FGFR1c: Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü-1c

FGF-23: Fibroblast Büyüme Faktörü

GKF: Güneşten Korunma Faktörü

H₀: Sıfır Hipotezi

H₁: Alternatif Hipotez

IFCC: Uluslar Arası Klinik Kimya Federasyonu

IUPAC: Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği

IUBMB: Biyolojik Kimya İsimlendirme Komisyonu

Kalbindin-D9k: D Vitamin Bağlı Kalsiyum Bağlayıcı Protein

KVH: Kardiyovasküler Hastalık

mg: miligram

mmol: milimol

MS: Multipl Skleroz

LBYS: Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi

N-PTH: Amino terminal PTH

C-PTH: karboksil terminal PTH

NaPi-IIa: Sodyum-Fosfat Yardımcı Taşıyıcısı Tip 2a

NaPi-IIb: Sodyum-Fosfat Yardımcı Taşıyıcısı Tip 2b

NaPi-IIc: Sodyum-Fosfat Yardımcı Taşıyıcısı Tip 2c

NCCLS: Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi

NCX1: Sodyum Kalsiyum Değiştiricisi X1

ng / mL: Nanogram/mililitre

OPG: Osteoprotegerin

Pi: İnorganik Fosfor

PMCA: Plazma membranı kalsiyum ATPaz pompası

PMCA1: Plazma membranı kalsiyum ATPaz pompası 1

PMCA1b: Plazma membran kalsiyum ATPaz pompası 1b

PreD₃: Previtamin D₃

PTH: Parathormon

RANK: Nükleer Aktivatör Kappa B Reseptörü

RANKL: Nükleer Aktivatör Kappa B Reseptör Ligandı

RXR: Retinoid X Reseptörü

TRPV5: Geçici Reseptör Potansiyeli Vanilloid Alt Aile Üyesi Tip 5

TRPV6: Geçici Reseptör Potansiyeli Vanilloid Alt Aile Üyesi Tip 6

UVB: Ultraviyole B

VDR: D Vitamini Reseptörü

VDRE: D Vitaminine Duyarlı Yanıt Elemanı

VII. TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve uzmanlık eğitimim boyunca gerek akademik gerek manevi desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Serdar DOĞAN'a,

Asistanlığım süresince gösterdikleri hassasiyet ve çabalarıyla bilgilerinden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, birlikte çalışmaktan keyif aldığım değerli hocalarım, Prof. Dr. Abdullah ARPACI, Prof. Dr. Oğuzhan ÖZCAN ve Dr. Öğr. Üyesi Hamdi OĞUZMAN'a,

Tezimin düzenlenmesinde bana destek olan değerli arkadaşım Uzm. Dyt. Ceylan ALPASLAN'a,

Tüm hayatım boyunca desteği ve sevgileri ile her zaman yanımda olan, hayatımda oldukları için şanslı hissettiğim annem, babam ve kardeşime sonsuz teşekkürler.

VIII. ÖZET

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Laboratuvar Verileri Kullanılarak Parathormon, Vitamin D, Kalsiyum Ve Fosfor Testlerinin İndirekt Yöntemle Referans Aralıklarının Belirlenmesi

Amaç: Bu çalışmada, kalsiyum, fosfor parathormon (PTH) ve D vitamininin Hatay ili ve çevresi için dört farklı indirekt metotla referans aralıklarını belirlenmesi ve bu testler için farklı bölgelerde yapılmış referans aralık çalışmaları ile karşılaştırılması amaçlandı.

Yöntem: Çalışmaya Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi'ne 01 Ocak 2019-31 Aralık 2021 tarihleri arasında başvuran, 18 yaşından büyük bireyler dahil edildi. Referans aralık tahminleri için nonparametrik, Arzideh, Hoffman ve Bhattacharya olmak üzere dört farklı istatistiksel metot kullanıldı.

Bulgular: Nonparametrik, Arzideh, Hoffman ve Bhattacharya yöntemi ile hesaplanan referans aralıkları sırasıyla kalsiyum için 8,7-10,5 mg/dL, 8,7-10,5 mg/dL, 8,8-10,5 mg/dL, 8,5-10,8 mg/dL; fosfor için 2,4-5,2 mg/dL, 2,5-4,9 mg/dL, 2,3-5 mg/dL, 1,9-5,3 mg/dL; PTH için 8,46-101 pg/mL, 9-106,8 pg/mL, 8,6-103,2 pg/mL, 16,2- 68,7 pg/mL; D vitamini yaz dönemi için 6,2-38,4 ng/mL, 3,8- 47,1 ng/mL, 5,2-39,3 ng/mL, 4,8-32,4 ng/mL; D vitamini kış dönemi için 5,7-37,5 ng/mL, 4-46 ng/mL, 4,6-37,6 ng/mL, 4,2-31,7 ng/mL olarak bulundu.

Sonuç: Hesapladığımız kalsiyum ve fosfor referans aralıkları diğer bölgelerde yapılan referans aralık çalışmalarına ve üretici firmanın referans aralıklarına benzerdi. PTH ve D vitamini için hesaplanan referans aralıkları ise diğer çalışmalara ve üretici firmanın değerlerine göre farklılık gösterdi. D vitamini yaz ve kış dönemi için hesaplanan referans aralıkların alt sınırları eksiklik düzeyinde olması özellikle dikkat çekiciydi.

Çalışmamız uluslararası kuruluşların her laboratuvarın kendi referans aralıklarını kendi belirlemesi gerektiği yönündeki önerisini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Kalsiyum, fosfor, parathormon, D vitamini, referans aralık

IX. ABSTRACT

Determination Of Reference Intervals Of Parathormone, Vitamin D, Calcium and Phosphorus Tests By Indirect Method Using Hatay Mustafa Kemal University Health Practice And Research Hospital Laboratory Data

Aim: This study aimed to determine the reference ranges of calcium, phosphorus, parathyroid hormone (PTH) and vitamin D for Hatay province and its surroundings using four different indirect methods and to compare these tests with reference range studies conducted in different regions.

Method: The study included individuals over the age of 18 who applied to Hatay Mustafa Kemal University Health Practice and Research Hospital between January 01, 2019 and December 31, 2021. Four different statistical methods were used for reference interval estimates: nonparametric, Arzideh, Hoffman and Bhattacharya.

Results: The reference ranges calculated by the nonparametric Arzideh, Hoffman, and Bhattacharya methods were 8,7-10,5 mg/dL, 8,7-10,5 mg/dL, 8,8-10,5 mg/dL, 8,5-10,8 mg/dL for calcium; 2,4-5,2 mg/dL, 2,5-4,9 mg/dL, 2,3-5 mg/dL, 1,9-5,3 mg/dL for phosphorus; 8,46-101 pg/mL, 9-106,8 pg/mL, 8,6-103,2 pg/mL, 16,2- 68,7 pg/mL for PTH, respectively; Vitamin D was found to be 6,2-38,4 ng/mL, 3,8-47,1 ng/mL, 5,2-39,3 ng/mL, 4,8-32,4 ng/mL for the summer period; and 5,7-37,5 ng/mL, 4-46 ng/mL, 4,6-37,6 ng/mL, 4,2-31,7 ng/mL for the winter period.

Conclusion: The calcium and phosphorus reference ranges we calculated were similar to reference range studies conducted in other regions and to the manufacturer's reference ranges. The reference ranges calculated for PTH and vitamin D differed from other studies and the manufacturer's values. It was particularly striking that the lower limits of the reference ranges calculated for vitamin D in summer and winter were at the deficiency level.

Our study supports the recommendation of international organizations that each laboratory should determine its own reference ranges.

Key Words: Calcium, phosphorus, parathyroid hormone, vitamin D, reference range

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Klinisyen hekimlerin sağlıklı ve hasta bireyleri ayırmasında, hasta bireylerin hastalık durumunu değerlendirmesinde tıbbi anamnez ve fizik muayene kadar laboratuvar test sonuçları da çok önemlidir. Bu test sonuçlarının doğru yorumlanmasını sağlayacak güvenilir referans aralıklarına ihtiyaç vardır. Üretici firmalar her test için bir referans aralık verse de bunun hitap edeceği popülasyonun referans değerlerini tam olarak temsil edememe ve tıbbi kullanımda uygun olmama olasılığı vardır. Bu yüzden her laboratuvar kendi referans aralıklarını belirlemeli veya en azından kullandığı, firma tarafından tanımlanmış referans aralığının geçerliliğini onaylamalıdır. Ancak ne yazık ki pratikte, bireylerin direkt örneklemeye seçilmesi bazı zorlukları getirdiği için birçok klinik laboratuvar üretici firmanın sunduğu referans aralıklarını kullanmakla yetinmektedir.

Son yıllarda referans aralık belirlemede hastane popülasyonu kullanılmasının istatistiksel olarak çok karışık olmadığı sürece güvenilir olabileceği, hatta böyle bir uygulamanın hasta olmayan sağlıklı bireylerden elde edilmiş referans aralıklara göre daha kesin sonuçlar ortaya koyabileceğini ileri süren görüşler çıkmıştır. Dolayısıyla indirekt yöntemle referans aralık belirleme çalışmalarına duyulan ilgi ve merak artmıştır.

Biz de, laboratuvar bilgi yönetim sisteminde (LBYS) kayıtlı hasta sonuçları üzerinden kendi laboratuvarımızda çalışılan ve klinisyen hekimlerin kullandığı Parathormon (PTH), D vitamini, kalsiyum ve fosfor testlerinin referans aralıklarını belirlemeyi, böylece bu testleri tanı ve tedavide daha verimli kullanabilmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. D Vitamini

2.1.1. D Vitamini Tanımı ve Yapısı

D vitamini, kalsiyum metabolizmasında ve kemik homeostazisinde rol oynayan, yağda çözünen bir vitamindir (1). Endojen olarak vücutta sentezlenebildiği için hormon olarak tanımlanmasının daha doğru olduğu ileri sürülmektedir. D vitamini Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) ve Biyolojik Kimya İsimlendirme Komisyonu (IUBMB) tarafından steroid olarak tanımlanmaktadır. D vitamini genel adı altında 7-dehidrokolesterol (7-DHK), kolekalsiferol (D_3), kalsidiol ($25(OH)D$), kalsitriol 1,25-dihidroksi vitamin D ($1,25(OH)_2D$) ve ergokalsiferol (D_2) gibi farklı steroid hormonlar bulunmaktadır (2).

2.1.2. D Vitamini Kaynakları

D vitamini diyet yoluyla alınabilir. Ancak D vitamini içeren gıdalar sınırlıdır. D vitamini süt, süt ürünleri, balık ve balık yağları gibi birkaç gıdada bulunur. Diyetle alınan D vitamini genellikle D_3 vitamini şeklindedir. Biyolojik aktivitesi D_3 vitamininden daha düşük olan D_2 vitamini yalnızca mantarlarda bulunur. Her iki D vitamini formu diyetle alındıktan sonra bağırsaklardan emilir. Emilen D vitamini şilomikronlar aracılığıyla lenf damarlarına ve sonra kan dolaşımına girer (2).

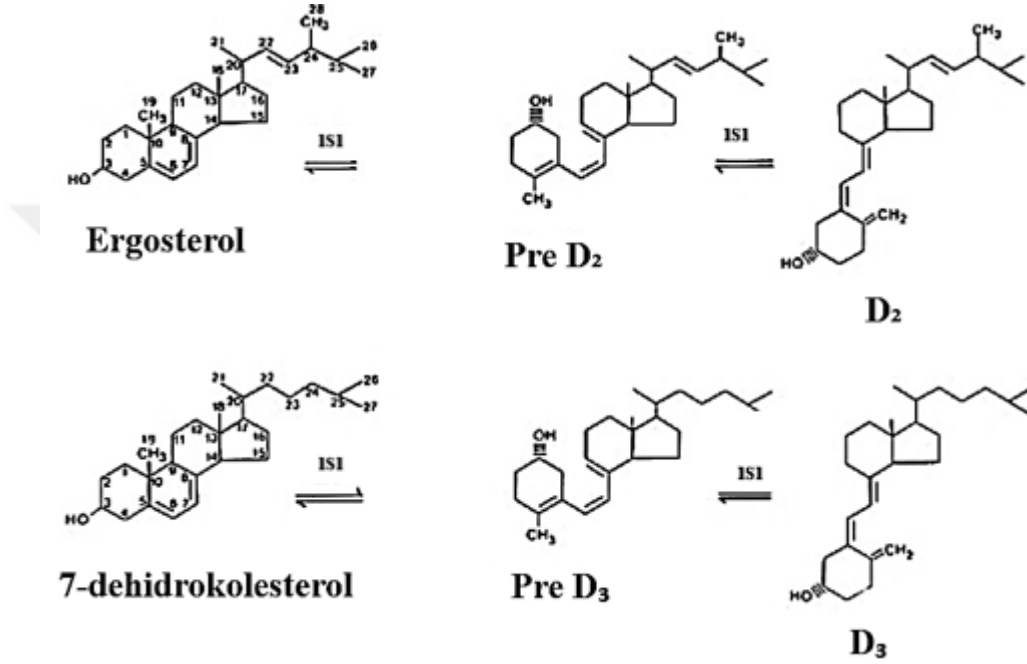
2.1.3. D Vitamini Metabolizması ve Düzenlenmesi

Hem diyetle alınan D vitamini hem de vücutta sentezlenen D vitamininin organizmada biyolojik olarak aktif olabilmesi için, önce karaciğerde sonra böbrekte olmak üzere iki hidroksilasyon geçirmesi gerekir. Bu durum $1,25(OH)_2D$ oluşumuyla sonuçlanır (3).

D vitamininin, D_2 vitamini ve D_3 vitamini olmak üzere iki temel formu vardır. İnsanlarda endojen olarak sentezlenen D vitamin formu D_3 'tür. D_3 vitamini deride kolesterol sentezinin ara maddesi olan 7-DHK'dan üretilir. Ultraviyole B (UVB) (290-315 nm) ışığının etkisiyle 7-DHK'nin halkalı yapısı C9-C10 pozisyonundan açılarak previtamin D_3 (Pre D_3) oluşur. Pre D_3 oluşuktan sonra termal izomerizasyonla bir

hidrojen atomu C19 pozisyonundan C9 pozisyonuna kaydırılır. Böylece D₃ vitamini üretilmiş olur (4).

D₃ vitamini deride üretildikten sonra karaciğere taşınmak üzere dolaşıma verilir. Ancak D₃ vitamini lipofilik olduğundan taşıyıcı proteinlere ihtiyaç duyar. D₃ vitaminini taşıyan proteinler D vitamini bağlayıcı protein (DBP) ve albümindir (5,6) (Şekil 1).

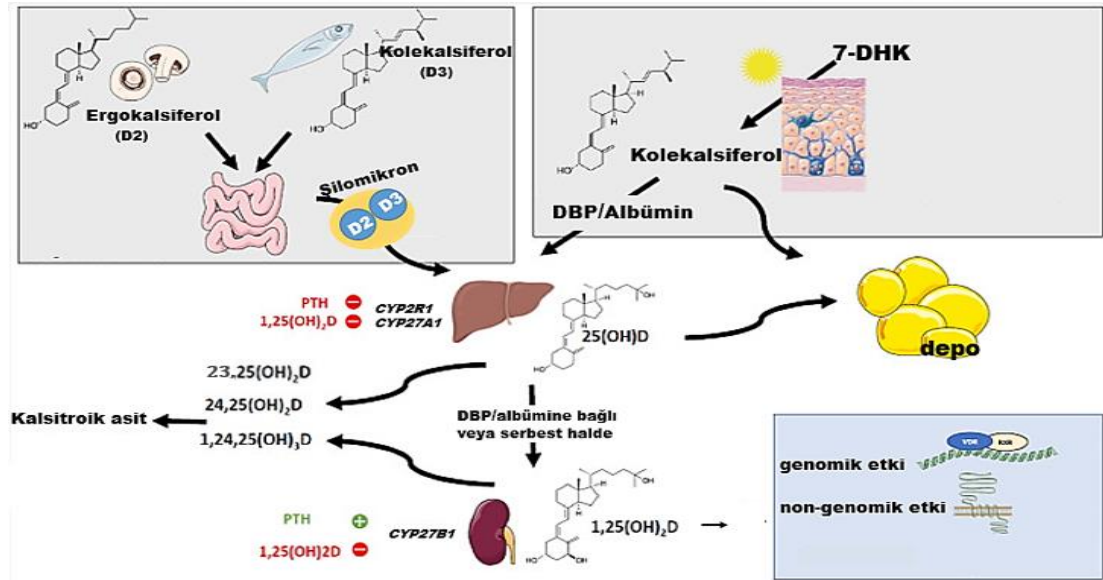


Şekil 1. D₂ ve D₃'ün üretimi (5)

D₃ vitamini karaciğere gelir. Burada 25-hidroksilaz enzimleri (CYP2R1 ve CYP27A1) tarafından C25'te hidroksile edilir. Bu sayede 25(OH) D oluşur. 25(OH) D, D vitamininin hem vücutta depo formu hem de dolaşımdaki başlıca formudur. Yarı ömrü 2-3 haftadır. Kanda DBP ile bağlanan 25(OH)D böbreklere gelir. Böbrek tübüllerinde 1- α hidroksilaz (CYP27B1) aracılığıyla C1'den ikinci kez hidroksile edilir. CYP27B1 bir kısmı deri, kemik, plasenta, bağışıklık sistemi hücrelerinde bulunsa da major kaynağı böbrek olan mitokondriyal bir enzimdir. CYP27B1 sayesinde aktif form olan 1,25(OH)₂D oluşur. Oluşan 1,25(OH)₂D'nin yarı ömrü yaklaşık 5-8 saattir (7-9).

Böbrekte CYP27B1 regülasyonu, diğer bir deyişle D vitamininin renal sentezi PTH, kalsiyum (Ca), fibroblast büyüme faktörü (FGF-23), insülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-1) ve 1,25(OH)₂D₂'nin kendisi tarafından düzenlenir. D vitamininin yıkımı ise 24-hidroksilaz (CYP24A1) tarafından sağlanır (9).

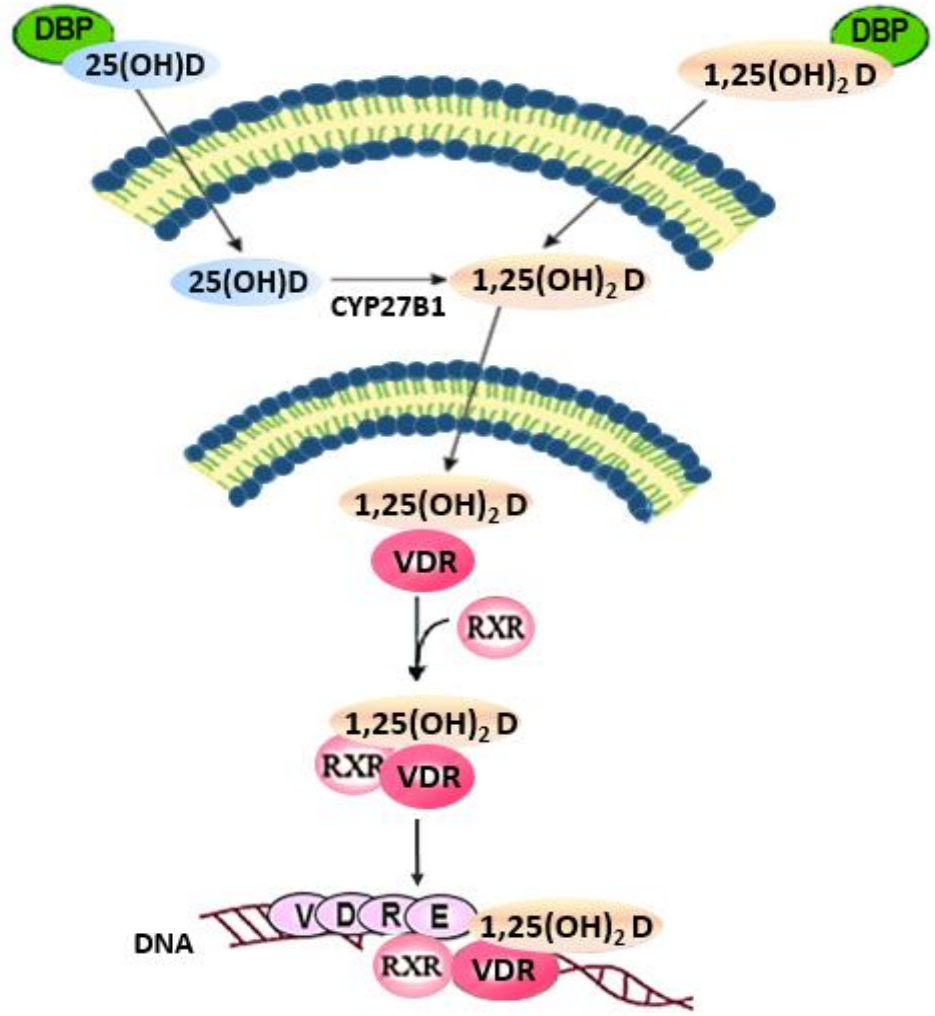
Vücutta, kandaki D vitamini konsantrasyonunu kontrol eden negatif bir geri besleme mekanizması vardır. Negatif geri beslemede artan D vitamini CYP24A1'i hızla indükleyip kendi yıkımını başlatır. CYP24A1 böbrekler başlıca olmak üzere farklı dokularda yaygındır. CYP24A1 aktivasyonu ile uzun bir yıkım süreci başlar. Hem 25(OH)D hem de 1,25(OH)₂D suda çözünür inaktif bileşiklere dönüştürülür. Bu inaktif bileşikler 23,25-dihidroksivitamin D (23,25(OH)₂D), 24,25-dihidroksi vitamin D (24,25(OH)₂D) ve 1,24,25-trihidroksi vitamin D (1,24,25(OH)₃D) gibi moleküllerdir. D vitaminin yıkımının son metaboliti kalsitroik asittir ve safra ile atılır. Kanda inaktif olduğu düşünülse de, kalsitroik asidin yüksek dozlarda aktif D vitamini benzeri etkiler yaratabileceği; normal şartlarda da vücutta henüz bilinmeyen önemli işlevleri olabileceği düşünülmektedir (10-14) (Şekil 2).



Şekil 2. D vitamini metabolizması (13)

2.1.4. D Vitaminin Etkileri

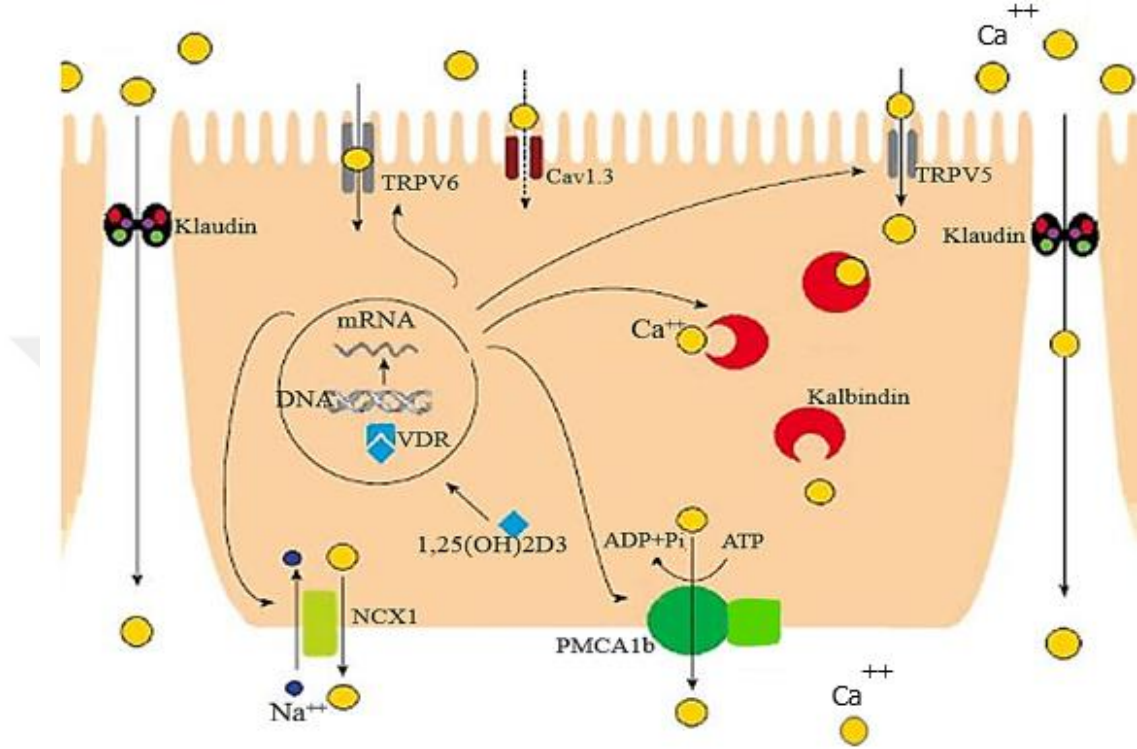
D vitamini genomik ve nongenomik olmak üzere farklı şekillerde etki gösterebilir. Genomik olmayan etkileri birçok ikinci haberciyi uyararak kalsiyum iyon kanallarının açılmasını veya insülin gibi hormonların salgılanmasını kapsar. Saniyeler ile dakikalar arasında gerçekleştiği için genomik etkiye göre daha hızlıdır. Genomik etki D vitamini reseptörü (VDR) ile oluşturulur. VDR nükleer bir reseptördür. Birçok hücre tipinde yaygındır. Hücreye giren $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ güçlü bir afinite ile VDR'ye bağlanır. Bağlanma sonrası VDR'de konformasyonel değişiklik olur. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ve VDR kompleksi retinoid X reseptör (RXR) ile heterodimerizasyon meydana getirir. Oluşan $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -VDR/RXR heterodimeri, DNA'daki hedef genlerin D vitaminine duyarlı yanıt elemanı (VDRE) olarak bilinen bölgelerine bağlanır. Bunu transkripsiyon ve translasyon takip eder. Böylece osteopontin ve osteokalsin; kalsiyum bağlayıcı proteinler (kalbindin-D9k) ve kalsiyum kanalları gibi birçok proteinin geni eksprese edilir (1, 13, 15, 16, 17) (Şekil 3).



Şekil 3. D vitamininin VDR ile ilişkili genomik etkileri (18)

Aktif D vitamini bağırsak hücrelerinde kalsiyum transportunda etkilidir. Bağırsakta transselüler kalsiyum taşınması apikal membranda L tipi voltaj kapılı kalsiyum kanalı (Ca_v1.3) ve geçici reseptör potansiyel vanilloid alt üye ailesi tip 5 ve tip 6 kanalları (TRPV5 ve TRPV6) aracılığıyla başlayan bir süreçtir. Bu süreç, hücre içinde kalbindin aracılı kalsiyum translokasyonu ve bağırsak plazma membran kalsiyum ATPaz pompası 1b (PMCA1b) tarafından kalsiyumun bazolateral taşınması ile devam eder. TRPV6 1,25(OH)₂D tarafından indüklenen kalsiyum selektif bir kanaldır. D vitamini TRPV6'nın transkripsiyonel upregülasyonu dahil, çeşitli

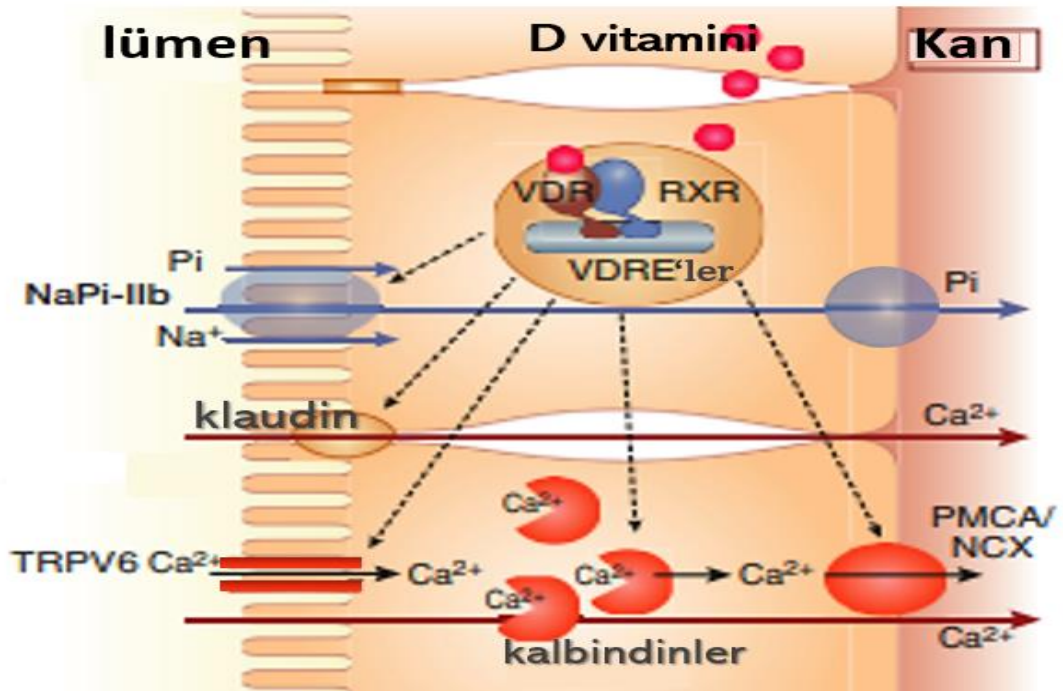
mekanizmalarla bağırsaktan kalsiyum emilimini artırır. TRPV6 kadar olmasa da TRPV5 de bağırsak apikal membranlarında bulunur ve kalsiyumu hücre içine alır (19-21) (Şekil 4).



Şekil 4. Bağırsakta kalsiyum emilimi (21).

Kalsiyumun bağırsaklarda apikal membrandan bazolateral membrana taşıyan proteinler kalbindinlerdir. Bazolateral membrandaki plazma membran kalsiyum pompaları (PMCA) kalsiyumu sitozolden hücre dışı alana pompalar. PMCA'ların en yaygın formu PMCA1b'dir. PMCA1b'nin gen ekspresyonu ve aktivitesi D vitamini tarafından artırılır (21). PMCA1b'e ek olarak bazolateral membranda sodyum kalsiyum değişiricisi X1 (NCX1) de önemlidir. Pek çok organda olduğu gibi bağırsaklarda da bol miktar NCX1 mevcuttur. NCX1 sodyumu hücre içersine alırken kalsiyumu hücre dışına aktarır. Bu kanalın da gen ekspresyonu ve aktivitesi D vitamini tarafından artırılır (22).

D vitamininin bağırsakta absorpsiyonu düzenlediği maddelerden bir diğeri fosfattır. Fosfatın absorpsiyonu bağırsak hücrelerinin apikal kutbunda yer alan sodyum-fosfat yardımcı taşıyıcısı tip 2b (NaPi-IIb) tarafından düzenlenir. NaPi-IIb sodyum bağımlı fosfat taşıyıcıları ailesinin bir üyesidir. D vitamini NaPi-IIb'nin gen ekspresyonu ve aktivitesini uyardığı için bağırsaktan fosfat absorpsiyonu artar (23) (Şekil 5).



Şekil 5. Bağırsakta Fosfat ve Kalsiyumun D Vitamini Bağımlı Taşınması (24)

D vitamini böbreklerde kalsiyum ve fosfat düzenlenmesinde etkilidir. D vitamini bu etkisini FGF-23 hormonu aracılığıyla gösterir. FGF-23 hormonu osteosit ve osteoblastlarda sentezlenir. Böbrekteki 1,25(OH)₂D-VDR/RXR kompleksi, FGF-23'ün sinyal yolağındaki Klotho genlerini indükler. Klotho yardımcı bir reseptördür. FGF-23'ün FGF reseptör-1c'ye (FGFR1c) bağlanmasını kolaylaştırır. FGF-23 reseptörüne bağlanırsa kalsiyum geri emilimi ve fosfat atılımı hızlanır (25-27).

D vitamini aynı zamanda, fosfatın geri emilimini sağlayan sodyum fosfat yardımcı taşıyıcıları tip 2a ve tip 2c'yi (NaPi-IIa ve NaPi-IIc) de indüklemektedir. Bu kanallar özellikle hipofosfatemi durumunun düzeltilmesinden sorumludur (25, 27).

D vitamini böbrekten kalsiyum geri emilimini TRPV5'in transkripsiyonunu artırarak da sağlayabilir. TRPV5 kalsiyum selektif bir kanaldır. Özellikle böbrek tübüllerinin apikal membranında bulunur. Bağırsağa benzer şekilde böbreklerde de transselüler kalsiyum taşınmasında rol oynar (25, 27).

D vitamininin etki ettiği hücre tiplerinden birisi osteoblastlardır. Osteoblastlarda 1,25 (OH)₂D, nükleer aktivatör kappa B ligandın (RANKL) eksprese olmasını artırır. RANKL preosteoklastlar üzerindeki nükleer aktivatör kappa B reseptörü (RANK) reseptörüne bağlanır. Bu bağlanma sonrası preoklastlar olgun osteoklast haline gelir. Olgun osteoklastlar kemikten kalsiyum ve fosfor mobilizasyonunu hızlandırır. Böylece kanda kalsiyum ve fosfor düzeyleri artar (28).

D vitamini PTH düzeyini etkiler. Böbreklerdeki 1 α -hidroksilaz PTH tarafından aktive edilerek D vitamini sentezi artırılır. Ancak D vitamininin kendisi PTH salgılanmasını azaltmaktadır. D vitamini yetersizse, böbrek ve bağırsaktan kalsiyum absorpsiyonu azalacağı için paratiroid bezleri uyarılır, PTH sentezi artar (29).

D vitamininin klasik işlevi bağırsaklardan kalsiyum ve fosfor emilimini artırmak, bu minerallerin yeterli miktarlarıyla kemik mineralizasyonunun normal şekilde sürmesini sağlamaktır. Başlangıçta VDR bağırsak, böbrek, kemik ve paratiroid bezi gibi kalsiyum ve fosfor metabolizmasını düzenleyen dokularda bulunmuştur. Daha ileriki dönemlerde, kalsiyum ve fosfor metabolizmasıyla ilişkisi olmayan diğer dokularda da VDR gösterilmiştir. Dolayısıyla D vitamininin klasik işlevi dışında çeşitli etkilerinin de olduğu anlaşılmıştır. D vitamininin bu etkileri antiproliferatif, immunosupresif ve antiinflamatuvar olarak sınıflandırılabilir (30, 31).

2.1.5. D Vitamini Düzeyleri ile İlgili Tanımlamalar

Vücutta D vitamini düzeyini belirlemede en iyi parametre serum 25(OH)D 'dir (32, 33). D vitamin eksikliği ve yetersizliğinin sınırlarını gösteren 25(OH)D değerleri Tablo 1'deki gibidir.

Tablo 1. D vitamini eksikliği ve yetersizliği tanısı için kullanılan değerler (34)

D Vitamini Eksikliği ve Yetersizliği Tanısı İçin Kullanılan Değerler	
≤ 10 ng/ml	Ciddi Eksiklik
10-20 ng/ml	Yetersizlik
>20 ng/ml	Normal/Yeterli
30-50 ng/ml	Yeterli (kemik dışı etkiler için)
>150 ng/ml	Toksisite

Optimum D vitamini durumunun işlevsel tanımı, PTH düzeylerini maksimum baskılayabilen D vitamini miktarıdır. Bu miktar 30 ng/ml olarak kabul edilir. D vitamini 30 ng/ml altına düştüğünde bağırsaktan kalsiyum emiliminin giderek azaldığı ve genellikle PTH düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Son dönemde optimal D vitamini durumu, kemik sağlığı için gereken 25(OH)D konsantrasyonu olarak tanımlanmak yerine, kemik dışı sağlık üzerine optimal faydalar gösteren 25(OH)D konsantrasyonu olarak tanımlanmaya başlanmıştır (32, 33).

2.1.6. D Vitamini Eksikliği Nedenleri

Derideki fazla melanin UVB radyasyonunun cilde penetrasyonunu engellediği için, koyu tenli bireylerde D vitamin düzeyleri düşüktür (33). UVB radyasyonunu absorbe eden güneşten koruyucular da deride D vitamini sentezini olumsuz etkiler. Örneğin, güneşten koruma faktörü (GKF) 8 olan bir güneş koruyucu dermal D vitamin üretimini %95'ten fazla azaltır. GKF'si 15 olan bir güneş koruyucuda bu oran %98'e çıkar (35). Kanda 25(OH)D düzeyi vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi, total yağ kütlesi, bel çevresi gibi obezite parametreleriyle ters orantılıdır. Obezlerde aşırı deri altı yağ dokusu 1,25(OH)₂D'i depolayarak kana salınmasını engeller. Ayrıca aşırı yağ doku D vitaminini inaktifleyen CYP24A1'i fazla miktarda eksprese eder. Bu sebeple D

vitamini katabolizmasının obezlerde daha hızlı olduğu öne sürülmüştür. Karaciğerde 25(OH)D sentezinin azalması, kapalı giyim, hareketsizlik gibi obezitenin sekonder getirileri nedeniyle de obezlerde serum D vitamini düzeyi normal kilodaki bireylere göre düşüktür (13). Obezite aynı zamanda kronik inflamasyon süreci yaratan bir durumdur. Kronik inflamasyonun ise D vitamini düzeylerini düşürdüğü gösterilmiştir (36) (Tablo 2).

Tablo 2. D vitamini eksikliği nedenleri (37)

Yetersiz beslenme veya yetersiz emilim	Diyetle yetersiz alım Gastrik bypass Güneş ışığına yetersiz maruziyet Pankreas yetmezliği İnflamatuvar bağırsak hastalıkları Malabsorbsiyon sendromu
25-hidroksilaz enzim eksikliği	Kronik karaciğer hastalıkları
1 α -hidroksilaz enzim eksikliği	Kronik böbrek yetmezliği Hiperparatiroidizm
D vitamin direnci	Hereditör D vitamin dirençli rikets
D vitamininin hepatik katabolizmasının artışı	Fenobarbital, karbamazepin, deksametazon, nifedipin, spironolakton, klotrimazol ve rifampin

Giyim şekli, özellikle kadınlarda değişkendir. Bazı ülkelerde kültürel kıyafetler dermal D vitamin sentezini sınırlayan bir faktör olabilmektedir (33).

D vitamin düzeyleri coğrafi koşullara bağlıdır. Yüksek rakımlı veya yüksek enlemli bölgelerde UVB ışığının yoğunluğu daha az olduğu için D vitamin düzeyleri daha düşüktür. Atmosferdeki yoğun bulutlanma durumu ve hava kirliliği de D vitamin düzeylerini etkileyen faktörlerdir (38).

D vitamin düzeyinin ilişkili olduğu bir diğer durum yaştır. Deride 7-DHK konsantrasyonları ileri yaşta azalır. Böbrekler yaşlandıkça 1,25(OH)D₂ üretim kapasitesi geriler. Yaşlı bireylerin evden çıkmaması, fiziksel aktivite azlığı, huzurevi koşulları gibi nedenler de D vitamin eksikliğine yardımcı olur (39).

2.1.7. D Vitamini Eksikliğinde Klinik Belirtiler

D vitamini düzeyi 10 ng/mL ve altına düştüğünde raşitizm ve osteomalazi sıklıkla gelişir (40). Raşitizm, çocuklarda kemik mineralizasyonunun bozulmasından, özellikle de büyüme plakasındaki kalsiyum ve fosforun yetersiz olmasından kaynaklanır. D vitamini eksikliğine bağlı gelişen raşitizmde serum 25(OH)D konsantrasyonu çoğu zaman 5 ng/mL'den de düşüktür (41).

Raşitizmde çocuklardaki motor gelişimin en önemli göstergelerinden biri olan çocuğun desteksiz ayakta durması ve yürümeye başlamasında gecikme görülür (42). Raşitizm, büyüme geriliği, hipotoni, raşitik rozari, genu valgum, kemik kırıklarına karşı artmış yatkınlık gibi diğer spesifik klinik belirtileri de içerir (43).

Osteomalazi yetişkinlerde genellikle yumuşak kemik hastalığı olarak adlandırılan, çeşitli nedenlerden kaynaklanan yetersiz kemik mineralizasyonunun histolojik ve klinik sonucudur. Osteomalazinin erken evresinde bulgu ve semptomlar belirsiz olsa da, ilerlemiş osteomalazide kas-iskelet sistemi semptomları belirgindir. Mineralize olmayan kemik daha kırılgan olduğundan bu hastalarda spontan kemik kırıkları meydana gelebilir. Ayrıca, istirahat halinde mevcut olan, ağırlık taşıma veya ayakta durmayla kötüleşen ağrılar vardır. Osteomalazili çoğu hastada özellikle kalça çevresinde hafif-orta düzeyde proksimal kas güçsüzlüğü ve deformiteler olduğundan, bu insanlarda paytak yürüyüş gözlenebilir (44, 45).

Bu hastalıklara eşlik eden laboratuvar bulguları sıklıkla hipokalsemi, hipofosfatemi ve yüksek alkalen fosfataz düzeyleridir. PTH seviyeleri genellikle yüksektir. Bu da sekonder hiperparatiroidizmi akla getirir (46).

2.1.8. D Vitamini Eksikliğinin İskelet Sistemi Dışı Etkileri

D vitamininin osteoblast, enterosit, kolon, pankreas beta hücresi, mononükleer hücre, aktif T ve B hücresi gibi farklı tipte hücrelerde; beyin, kalp, akciğer, prostat gibi birçok farklı organda reseptörü bulunur. D vitamini, B ve T Lenfosit fonksiyonlarında rol oynar. İmmün yanıtın güçlü bir modülatörüdür. D vitamini eksikliği hem Th1 hem de Th2 lenfosit yolağını bozarak atopi ve otoimmüniteye yol açabilir; ayrıca enfeksiyonlara karşı konağın bağışıklık cevabını olumsuz yönde etkileyebilir (47).

Düşük D vitamini seviyelerinin, çocuklarda raşitizm ve yetişkinlerde osteomalazinin etiyolojisindeki rolü iyi tanımlanmıştır. Bunun yanı sıra, son yıllarda, D vitamini eksikliğinin çok sayıda hastalık riskini arttırdığı bildirilmiştir. Bunlar arasında kanser, kardiyovasküler hastalıklar (KVH), iskelet kas bozuklukları, tip I diyabet, romatoid artrit ve multipl skleroz (MS) gibi hastalıklar bulunmaktadır (47, 48).

D vitamini ile VDR etkileşimi hücre farklılaşmasını ve apoptozu indükler. Öte yandan bu etkileşim hücre proliferasyonunu, anjiyogenezi ve metastazı inhibe eder. Bu tür hücresel etkiler nedeniyle, D vitamini eksikliğinin kanser etiyolojisinde rol oynadığına inanılmaktadır (49). D vitamini eksikliğinde kardiyovasküler bozukluklar da görülebilir. En çok ilişkili kardiyak patolojiler KVH, yüksek kan basıncı ve endotel disfonksiyonudur. KVH riskinin artmasında D vitamini eksikliği sonucu ortaya çıkan epikardiyal yağ ve damar duvarındaki inflamasyon etkilidir (50).

Yeterli D vitamini seviyelerinin kardiyoprotektif etkili olduğu gösterilmiştir. Bu etkiyi epikardiyal dokuda ve damar duvarında inflamasyonu azaltarak ve endotel fonksiyonları iyileştirerek ortaya çıkardığı öne sürülmektedir. Ancak, D vitamini eksikliği ile yüksek KVH insidansı arasındaki olası ilişkiye rağmen, KVH riskini azaltma açısından, takviye olarak D vitamini alımının kayda değer herhangi bir fayda göstermediği de söylenmiştir (50).

D vitamini hem lipid hem de glukoz metabolizmasında rol oynamaktadır. Adipokinlerin sekresyonunun düzenlenmesinde önemli bir fonksiyona sahiptir. Aynı zamanda insülin reseptörü ekspresyonunun artmasıyla ilişkilidir. D vitamini eksikliği, insülin reseptörlerinde azalma ve bunun sonucunda insülin direncine yol açabilir. Hücre membranındaki glukoz taşıyıcılarının aktivitesini azaltarak da insülin direnci gelişimine yardımcı olabilir. Artan kanıtlar, D vitamini eksikliğinin diyabet gelişimine katkı sağlayabileceğini göstermektedir. Bu durum, VDR polimorfizminin diyabetle ilişkilendirilmesi ile desteklenmektedir (51). Erken çocuklukta D vitamini takviyesinin tip 1 diyabet riskini azaltabileceğini gösteren araştırmalar dikkat çekicidir (52).

D vitamini eksikliği MS duyarlılığını arttırmaktadır. MS hastalarında düşük 25(OH)D düzeyleri genellikle hastalığın başlangıcı kadar erken evrede, yani klinik olarak izole sendrom veya ilk nüks evresinde görülür. MS hastalarında şu ana kadar

yapılan çalışmalardan, D vitamininin hastalığın inflamatuvar bileşenlerini belirgin şekilde azalttığı anlaşılmaktadır (53).

Polimorfizm terimi hücre genomunda, baz, nükleotit veya kısa DNA dizilerinin tekrar sayısında meydana gelen değişiklikleri ifade eder. Polimorfizm teriminin kullanabilmesi için ilgili DNA bölgesindeki farklılaşma popülasyonun en az %1'inde var olmalıdır (54). D vitamin eksikliğinin patogenezinde rol oynadığı düşünülen hastalıklarda VDR gen polimorfizmleri araştırılmıştır. Ancak, doğrudan D vitamin eksikliğinin genetik altyapısını inceleyen çalışma az sayıdadır. Çelişen bulgular olsa da, D vitamini seviyelerinin VDR gen polimorfizmleriyle olumlu ya da olumsuz yönde değiştiğini gösteren çalışmalar literatürde mevcuttur (55).

2.2. Kalsiyum

Kalsiyum insanda en çok bulunan minerallerden biridir. Yetişkin insan vücudunda yaklaşık 1 kg kalsiyum vardır ve büyük çoğunluğu hidroksiapatit kristalleri şeklinde kemik ve diş dokusudur (56).

Total vücut kalsiyumunun yaklaşık %99'u kemik ve dişte depolanmıştır. Geri kalan %1'i kan, ekstraselüler sıvı ve yumuşak dokulardadır. Kalsiyum vücutta ya bağlı (inaktif) form, ya da yüksek oranda aktif (iyonize, reaktif divalen katyon) formdadır (57). Konsantrasyonu hem hücre içi hem hücre dışı ortamda çok dar bir aralıkta tutulur (58, 59). Kalsiyum vücutta birçok metabolik yolda çok sayıda enzimin kofaktörüdür. Özellikle kan pıhtılaşması, kalbin normal kasılması ve gevşemesi, sinir sisteminde nörotransmitter salınması için kalsiyum elzemdir (60).

2.2.1. Kalsiyum Metabolizması

Diyet yoluyla kalsiyum alımının temel kaynakları, süt, süt ürünleri ve kalsiyumca zenginleştirilmiş gıdalardır. Kalsiyum ayrıca değişik miktarlarda balık, bakliyat, fındık ve yeşil sebzelerde bulunur. Tavsiye edilen günlük kalsiyum alım miktarı Tablo 3'de gibidir (61, 62).

Tablo 3. Kalsiyum için önerilen diyet miktarları (61, 62)

Yaş	Erkek	Kadın	Gebe	Emzirme dönemi
0-6 ay *	200 mg	200 mg		
7-12 ay*	260 mg	260 mg		
1-3 yıl	700 mg	700 mg		
4-8 yıl	1.000 mg	1.000 mg		
9-13 yıl	1.300 mg	1.300 mg		
14-18 yıl	1.300 mg	1.300 mg	1.300 mg	1.300 mg
19-50 yıl	1.000 mg	1.000 mg	1.000 mg	1.000 mg
51-70 yıl	1.000 mg	1.200 mg		
>70 yıl	1.200 mg	1.200 mg		

Diyetle alınan kalsiyum miktarı yaşa bağlı olarak 1000-1500 mg arasında değişir. Bazı bireylerde, özellikle de yaşlılarda, tavsiye edilen diyet kalsiyum alımını sağlamak için takviye gerekebilir. Günlük kalsiyum gereksinimi, bağırsaktan kalsiyum emilimi, böbrekten geri emilim ve kemik turnover olmak üzere üç temel mekanizma ile düzenlenir. Bu mekanizmalar, birbirleriyle etkileşim halinde olan PTH ve D vitamininin dahil olduğu bir dizi hormon tarafından kontrol edilir. Kontrol sürecinde iyonize kalsiyum ile böbrek, bağırsak ve kemikteki iyonize kalsiyum kanalları rol oynar (63).

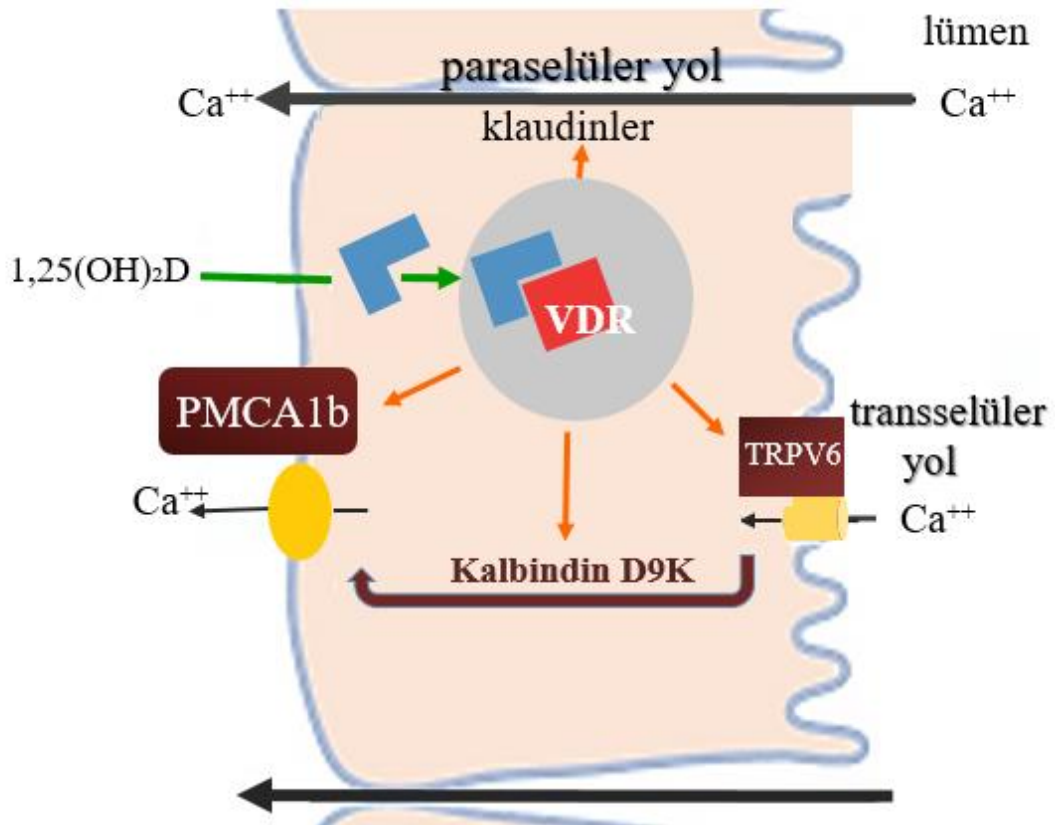
2.2.2. Kalsiyumun Gastrointestinal Absorbsiyonu

Kalsiyum gastrointestinal kanalda iyonize formuyla emilir. Bağırsaktan kalsiyum emilimi, transselüler aktif yol ve paraselüler pasif yol olmak üzere iki farklı taşımayla gerçekleşir (64). Transselüler taşıma duodenum ve üst jejunumda meydana gelir. Bu taşıma üç aşamalıdır:

- (1) Kalsiyumun apikal membrandan pasif girişi (pozitif elektrokimyasal gradyan yoluyla),
- (2) D vitaminine bağımlı kalbindin-D9k ile sitozolik difüzyon
- (3) Hücreden atılım (65).

Kalsiyumun enterositlerin fırçası kenar membranına girişi duodenum ve kolonda yüksek miktarda olan TRPV6 tarafından kolaylaştırılır. Hücre içinde kalsiyum kalbindin-D9k'ye bağlanır. Bir başka kalsiyum bağlayıcı protein olan kalmodulin

hücre içi kalsiyum translokasyonuna katkıda bulunabilir ancak bu kalbindin-D9k 'dan daha az orandadır (64). Kalsiyum bunlarla bazolateral membrana ulaşır. Buradaki PMCA1 ile bağırsak hücrelerinden interstisyel boşluğa atılır. PMCA1 insanlarda duodenum, ileum ve kolonda boldur. PMCA1 aktivitesi kalmodulin, kalbindin-D9k ve kalsiyum tarafından düzenlenir (66, 67) (Şekil 6).



Şekil 6. Bağırsakta $1,25(\text{OH})_2\text{D}/\text{VDR}$ aracılı kalsiyum (Ca^{++}) taşınması (68).

Bağırsaktaki lokal faktörler diyetle kalsiyum absorpsiyonunun önemli bir belirleyicisidir. Alüminyum hidroksit gibi fosfat bağlayıcıları kalsiyum emilimini artırır. Öte yandan selüloz, fosfat, oksalat gibi maddeler diyetteki kalsiyum emilimini azaltır. Son çalışmalar bağırsakta kalsiyum emiliminin modülatörü olarak bağırsak mikrobiyomunun önemini vurgulamaktadır (69).

Lokal faktörlerin dışında sistemik hormonlar da kalsiyumun bağırsaktan absorpsiyonunu etkiler. Özellikle çocukluk ve ergenlik döneminde IGF-1 ve büyüme hormonu, CYP27B1 aktivasyonu ile kanda 1,25(OH)₂D seviyelerini yükselterek bağırsaktan kalsiyum emilimini arttırabilir (70).

2.2.3. Kalsiyum Regülasyonu

Kalsiyum kanda üç formdadır: %45-50 serbest (iyonize) katyonlar halinde, %40-45'i plazma proteinlerine bağlanmış halde ve %8-10'u sitrat ve laktat gibi diğer iyonlarla kompleks oluşturmuş haldedir (64).

Kanda kalsiyum konsantrasyonu dar bir aralıkta sıkı bir şekilde kontrol edilir. İyonize kalsiyum biyolojik olarak aktif formdur. Kandaki kalsiyum konsantrasyonu böbrekten geri emilim, kemik turnover ve bağırsaktan emilimin birbirleriyle koordinasyonu ile düzenlenir. Bu düzenlenme D vitamini ve PTH'un kontrolü altındadır (71).

İyonize kalsiyum ile proteine bağlı kalsiyum dengesi kısa süreli veya uzun süreli olarak korunur. Başta albümin olmak üzere plazma proteinleri, tampon işlevi ile iyonize kalsiyum konsantrasyonunu kısa süreli korur. İyonize kalsiyumdaki herhangi bir düşüş, albümin üzerindeki bağlanma bölgelerinden kalsiyum salınmasıyla telafi edilebilir. Bununla birlikte, albümin-kalsiyum tamponu yüksek oranda pH duyarlıdır. pH'ta meydana gelen değişiklikler, albümin üzerindeki yüklü amino asit rezidülerinin oranını değiştirir. Bu da albümin bağlı kalsiyum iyonlarının sayısını değiştirerek kalsiyumun serbest fraksiyonunun değişmesine neden olur. Alkaloz durumlarında izole pH artışı vardır. pH artışı iyonize kalsiyum miktarını düşürür. Bunun aksine asidozda iyonize kalsiyum miktarı artar (72).

Uzun süreli iyonize kalsiyum konsantrasyonunun korunması başta PTH olmak üzere çeşitli hormonların görevidir (72). PTH iyonize kalsiyum konsantrasyonunu şu mekanizmalarla etkiler:

- 1) Aktif renal Emilimi artırma
- 2) Aktif D vitamini sentezini stimule ederek kalsiyumun bağırsak Emilimini artırma
- 3) Kalsiyumun kemikten çözünmesini artırma (73).

Parathormon iyonize kalsiyum değişikliğini G-proteinine bağlı reseptörler ailesinden olan kalsiyum duyarlı reseptörler (CaSR) ile düzenler. CaSR hücre dışı ortamın iyonize kalsiyum konsantrasyonunu sürekli algılar ve bu konsantrasyon düştüğünde PTH sentezine yol açan hücre içi sinyaller iletir. CaSR kemik dahil birçok dokuda mevcut olmakla birlikte en fazla paratiroid bezleri ve böbreklerde eksprese edilmektedir (74, 75).

2.2.4. Kalsiyum Dengesi Bozukluklarında Klinik Belirtiler

Kalsiyum, birçok biyolojik süreç için hayati öneme sahiptir. Kalsiyum düzeyindeki değişimler çeşitli hastalıklara neden olur. Klinik uygulamalarda, hastanın kalsiyum seviyesini değerlendirmek için genellikle serum total kalsiyum düzeyi kullanılır. Ancak, total kalsiyum değerlendirmesi yapılırken, albümin düzeyi de dikkate alınmalıdır. Kalsiyumun büyük bir kısmı albümine bağlanarak taşınır. Bu yüzden hastanın albümin düzeyi total kalsiyum düzeyinin yorumlanmasında kritiktir. Serum total kalsiyum seviyelerinin serum albümin konsantrasyonuna göre formülle düzeltilmesi çoğu vakada faydalıdır. Ancak asit-baz dengesinin bozulduğu hastalarda düzeltilmiş kalsiyumun güvenilirliği nispeten azdır. İyonize kalsiyum ölçümü bu durumlarda altın standarttır (76-78).

Kalsiyum seviyelerinin düşük olması durumuna hipokalsemi denir. Hipokalsemi düzeltilmiş serum kalsiyum düzeyinin <8,5 mg/dL olmasıdır. Özellikle paratiroid bezlerini, iskeleti, bağırsakları, böbrekleri etkileyen hastalıklar hipokalsemiye neden olabilir. Düşük serum kalsiyum seviyeleri hemen hemen her organ ve sistemi etkilediğinden, hipokalsemili hastalar çeşitli semptom ve bulgularla gelebilir. Akut hipokalsemide en sık görülen klinik belirtiler; ağız çevresinde, ellerde, ayaklarda uyuşma veya karıncalanma hissi, karpopedal spazm, tetani ve nöbetler arasında değişen nöromusküler irritabilitedir. Akut hipokalsemi şiddetli semptomlarla

ortaya çıkabilir, ancak bireyler arasında düşük serum kalsiyum düzeylerine klinik yanıt eşiği önemli ölçüde değişir. Bu durum, akut hipokalsemi semptomlarının prevalansını gösteren epidemiyolojik veri çalışmalarının neden çok zor olduğunu açıklamaktadır (78).

Ağır hipokalsemiyle ilişkili nöbetlerin hayatı tehdit eden bir durum olduğu belirtilir ancak kanıtlar çelişkilidir. Kalsiyum iyonları nörotransmisyonunda önemli rol oynasa da nöbetlerin patogeneze dair mekanizmalar halen net değildir (79, 80).

Akut ve ağır hipokalsemik hastaların vaka raporlarından derlenen veriler QT aralığının uzamasına bağlı olarak torsades de pointes, ventriküler taşikardi, ventriküler fibrilasyon gibi aritmilerin oluştuğunu göstermektedir. Akut ve ağır hipokalsemi kalpteki bu etkileri nedeniyle sıklıkla acil müdahale gerektirir. Bu hastalarda hipokalseminin normale döndürülmesiyle genellikle aritmiler düzelir. Hipokalsemi yüksek mortaliteye sahip olan dilate kardiyomiyopatinin de nadir bir sebebidir (81).

Kardiyak rahatsızlıklar dışında, bebeklerde laringospazm akut hipokalseminin yaygın bir belirtisidir ancak yetişkinlerde nadirdir (82-84).

Kronik hipokalseminin ise en sık belirtileri parestezi, uyuşma ve karıncalanmadır. Kronik hipokalseminin en sık nedenlerinden biri postoperatif hipoparatiroidizmdir. PTH eksikliği bu hastalarda üriner kalsiyum atılımını artırır, dolayısıyla idrarda yüksek miktarda kalsiyum fosfat ürünlerinin oluşmasına ve böbrekte kalsifikasyonlara yol açar. Çok uzun süren hipokalsemilerde beyin kalsifikasyonları oluşabilir ve bu, asemptomatik hastalarda insidental olarak saptanabilir. Kronik hipokalsemiyle ilişkili bipolar bozukluk, depresyon gibi nöropsikiyatrik hastalıklar ve bir göz hastalığı olan katarakt rapor edilmiştir. Kardiyak rahatsızlıklar arasında serum kalsiyumu normalize edildikten sonra düzelen kardiyomiyopati vakaları tanımlanmıştır. Dilate kardiyomiyopati, akut hipokalsemide olduğu gibi, kronik hipokalsemide de nadir görülmektedir (78).

Kalsiyum seviyelerinin yüksek olması durumuna hiperkalsemi denir. Hiperkalsemide klinik belirtiler nonspesifiktir ve hiperkalsemi sıklıkla rutin kan tahlilinde keşfedilir.

İlamlı: Serum kalsiyum <12 mg/dL,

Genellikle asemptomatiktir.

Orta düzey: Serum kalsiyum 12-14 mg/dL arasında,

Anoreksi yorgunluk, kırgınlık, zihinsel konsantrasyon yeteneğinde bozulma, kabızlık, poliüri ve polidipsi olabilir.

Şiddetli düzey: Serum kalsiyum >14 mg/dL,

Orta düzey belirtilere ilave olarak, mide bulantısı, kusma, dehidratasyon, pankreatit, peptik ülser, aritmi, kalp durması, sersemlik, koma ve ölüm meydana gelebilir. Klinik prezentasyon aynı zamanda hiperparatiroidizmlı hastalarda kemik ağrısı, kırıklar veya ürolitiazis gibi altta yatan hastalığın semptomlarını da içerebilmektedir (85).

2.3. Fosfor

Doğada her yerde mevcut olan ve insan vücudunda en çok bulunan ikinci mineral olan fosfor, toplam vücut ağırlığının %1'ini oluşturmaktadır. Fosfor hem hücre dışı hem de hücre içi dağılımla, kemiklerin, dişlerin, DNA/RNA'nın yapısal bileşeni olarak işlev görür. Hücre membranlarının ve dolaşımdaki lipoproteinlerin bipolaritesini sağlar (86). Fosfor oksijenle oldukça reaktiftir, bu yüzden in vivo ortamda, organik veya inorganik fosfat (Pi), moleküllerde PO₄ olarak bulunur. Her iki terim de sıklıkla birbirinin yerine kullanılır, ancak önemli farklılıklar vardır. Fosfor kimyasal bir elementi, fosfatlar ise PO₄ iyonunu içeren molekülleri ifade eder (87).

İnsan vücudu hem inorganik hem de organik fosfat içerir. Pi, kemikteki hidroksiapatitin bileşenlerindendir, vücudun yapısal desteğinde önemlidir. Serumdaki fosfatın yaklaşık %10'u proteinlere bağlı halde, %35'i kalsiyum ve magnezyum ile kompleks şeklinde; geri kalanı serbest haldedir. Serumda inorganik fosfat hem tek hem de iki değerlikli anyonlar halindedir (71).

Fosfor hücrenin enerji metabolizmasında vazgeçilmezdir. Glikoliz, oksidatif fosforilasyon, amonyak sentezi gibi birçok metabolik yolda Pi rol alır. Adenozin trifosfat (ATP) içeriğinde Pi vardır. Ayrıca 2,3 difosfoglisarat sentezinde

kullanılabilirliği nedeniyle hemoglobinin oksijen taşıma kapasitesini etkiler. P_i , çok az da olsa hücre dışı sıvılarda pH tamponlamasına katkıda bulunur (87).

Serum fosfat konsantrasyonu yaşla değişir. Kemik ve yumuşak dokuların gelişimi için minerallere daha fazla ihtiyaç duyan bebeklerde en yüksek seviyelerdedir; yetişkinliğe doğru bu değerler düşer. Çünkü, bağırsakta ve böbrekte sırasıyla fosfor emilimi ve reabsorpsiyonu yaşla azalır. Bu, NaPi-IIa gen ekspresyonunun zaman içinde yavaşlamasıyla ilişkilidir (88).

2.3.1. Fosforun Gastrointestinal Absorpsiyonu

Fosforun gastrointestinal absorpsiyonu, transselüler (aktif) ve paraselüler (pasif) olarak iki yolla gerçekleşir. Transselüler emilim apikal hücre membranındaki sodyum bağımlı taşıyıcılara bağlıdır. Satüre edilebilir. Bağırsak lümeninde fosfat konsantrasyonları düşük olduğu zaman baskındır. Paraselüler emilim sodyum bağımsızdır ve lümende fosfat konsantrasyonları yüksekken öne çıkar (89). Paraselüler yolda P_i klauidin ve klauidin ilişkili proteinler tarafından oluşturulan sıkı bağlantılardan geçer. P_i geçişlerinde spesifik bir klauidin olarak klauidin 3 öne sürülse de bugüne kadar bu henüz doğrulanmamıştır (87).

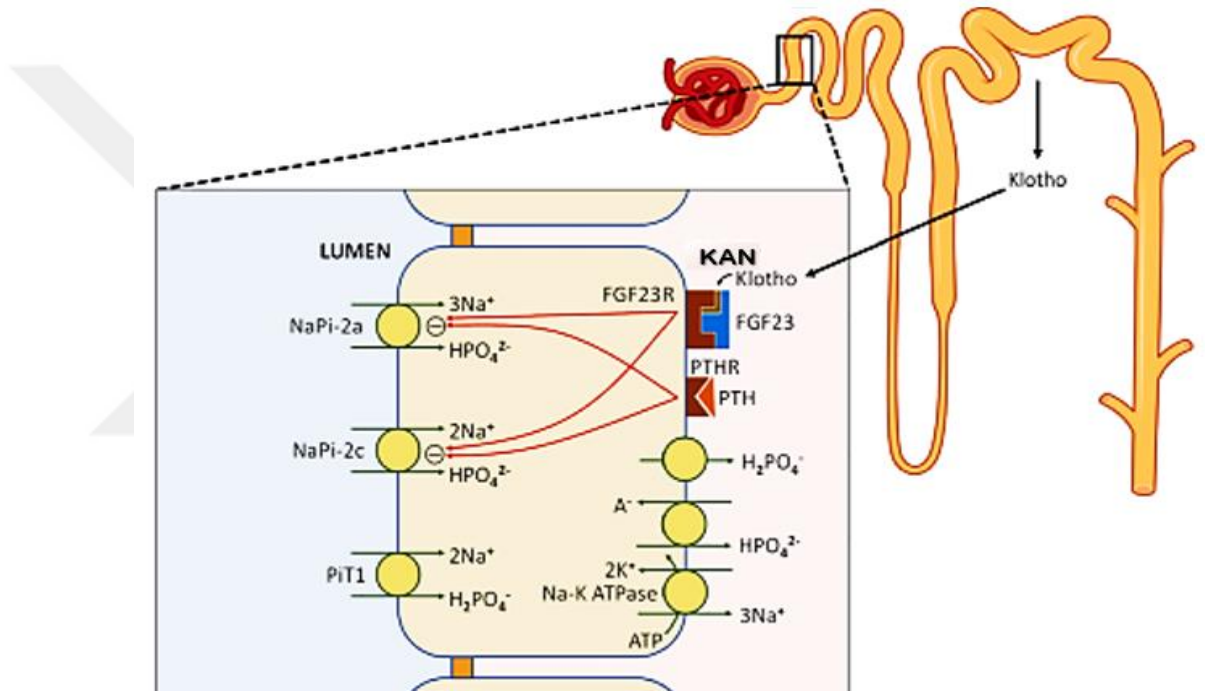
Fosfor emiliminde transselüler yolun regüle edilebildiği, paraselüler yolun regüle edilmediği belirtilmiştir. Transselüler fosfor emilimini etkilediği en iyi anlaşılan iki faktör D vitamini ve düşük fosforlu diyetdir. İkisi de bağırsakta özellikle NaPi-IIb miktarını artırır. Düşük fosforlu diyet NaPi-IIb ve diğer fosfat taşıyıcılarını D vitamininden bağımsız olarak arttırabileceği gibi, bu etkisini D vitamini üzerinden de gösterebilir (89).

Epidermal büyüme faktörü (EGF), glukokortikoidler, östrojenler, metabolik asidoz ve fosfatoninler de bağırsak fosfor absorpsiyonunu etkilemektedir (88).

2.3.2. Fosforun Böbrekten Reabsorpsiyonu

Böbreklerde proksimal tübüllerin apikal membranında eksprese edilen NaPi-IIa, her taşıma siklusunda üç adet Na'nın bir adet H_2PO_4 ile birlikte taşınmasını

sağlayan sodyum bağımlı bir fosfat taşıyıcısıdır. NaPi-IIa fosfatın geri emilimini düzenler. Diğer iki sodyum bağımlı fosfat taşıyıcısı NaPi-IIc ve Pit1 ile bu görevi paylaşır. NaPi-IIa ekspresyonu diyetle fosfat alımı, PTH ve FGF-23 tarafından düzenlenir. Fosfatın diyetle kısıtlı alımı NaPi-IIa ekspresyonunu artırır. Diyetle yüksek fosfat alımı ise NaPi-IIa ekspresyonunu azaltır. Fosfat metabolizmasında dengenin korunmasında görevli majör hormonlar PTH ve FGF-23'tür. İkisi de NaPi-IIa ve NaPi-IIc'nin ekspresyonunu azaltır ve diyetel fosfatın üriner atılımını kolaylaştırır (90- 92) (Şekil 7).



Şekil 7. Böbrek proksimal tübüllerinde fosfatın yeniden emilimi (92).

2.3.3. Fosfor Regülasyonu

Fosfor regülasyonunda temel faktörler;

a) Diyetel fosfat alımı

b) Aktif D vitamini: daha çok bağırsaktaki fosfat emilimini artırarak serum fosfat düzeyini artırmaya çalışır.

c) PTH: Kemikten fosfor rezorbsiyonunu artırıp böbrekte fosfor geri Emilimini kısıtlar. Net etkisi serum fosfat düzeyini azaltmaktır.

d) FGF-23: Görevi osteoblastları, hücre ölümüne neden olan çok yüksek fosfor seviyelerinden korumaktır. Bu yüzden, FGF-23 proksimal tübüllerden fosfat geri Emilimini inhibe eder. FGF-23 sentezi D vitamini ve PTH tarafından artırılır.

Oral fosfat alımı hem insanda hem hayvanda FGF-23 seviyesini yükseltir (73, 88, 89, 90).

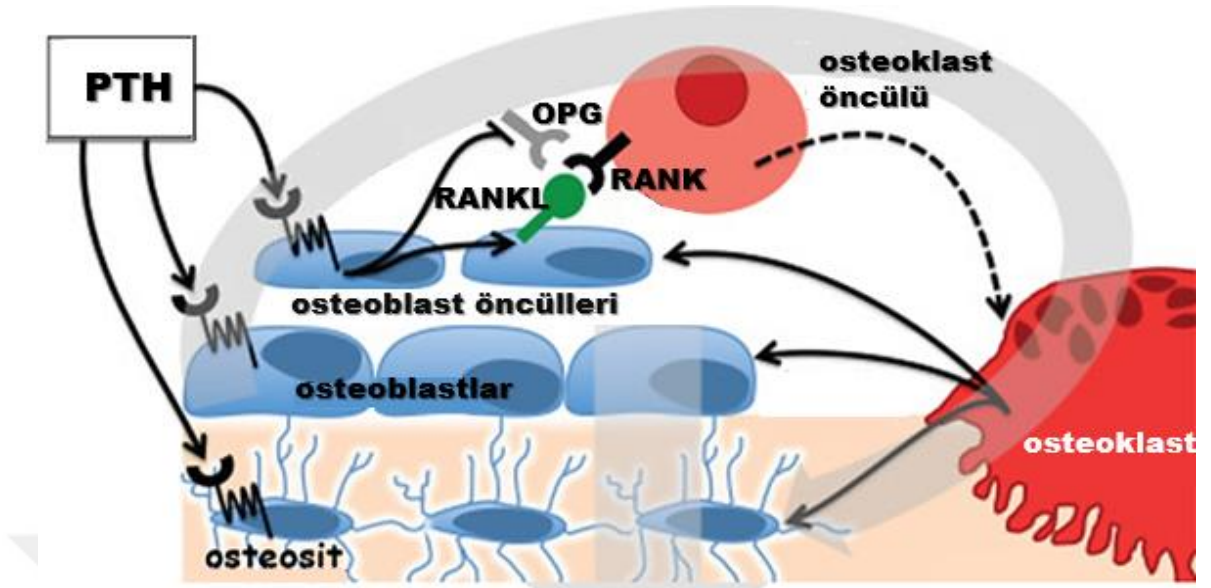
2.4. Parathormon

Parathormon 84 amino asitlik bir peptid hormondur. Biyolojik aktivitesi amino (N) terminalindeki ilk 34 amino asit kalıntısından kaynaklanır. Diğer kısımları ölçüm sistemlerinde yanlış pozitifliklere neden olabilmeleri bakımından önemlidir (93). PTH paratiroid bezinde sentezlenir. Sentezi esnasında bir miktar degradasyonu da meydana gelir ve bu nedenle N terminali kesik olan çeşitli moleküller dolaşıma sekrete edilir. N terminali hiç olmayan fragmanlar da kanda dolaşır (94). PTH'nin daha sonra karaciğerde metabolize olmasıyla fragman sayısı ve çeşitliliği artar. Plazmadaki seviyeleri paratiroid bezlerinin sekresyonu ile belirlenen PTH, karaciğer ve böbrek yoluyla vücuttan atılır (95).

2.4.1. Parathormonun Etkileri

Parathormon kemik ve böbreklerde direkt, bağırsaklarda indirekt etki ile kalsiyum ve fosfor metabolizmasının düzenlenmesinde görev alır (96). PTH reseptörü, G-protein bağlı bir reseptördür (97).

Parathormon hücre dışı sıvıdaki kalsiyum konsantrasyonunun azalmasına yanıt olarak salınır. PTH plazma kalsiyumunu artıracak şekilde etki eder (98). PTH kemiği yeniden şekillendirir. Bu, PTH'nin osteoblast ve osteositlere direkt, osteoklastlara indirekt etkileri üzerinden meydana gelir. PTH, osteoblastik kök hücre ve osteositlerde, RANKL ve reseptörü osteoprotegerinin (OPG) ekspresyonunu modüle eder, bu sayede osteoklast oluşumunu düzenler (99) (Şekil 8).



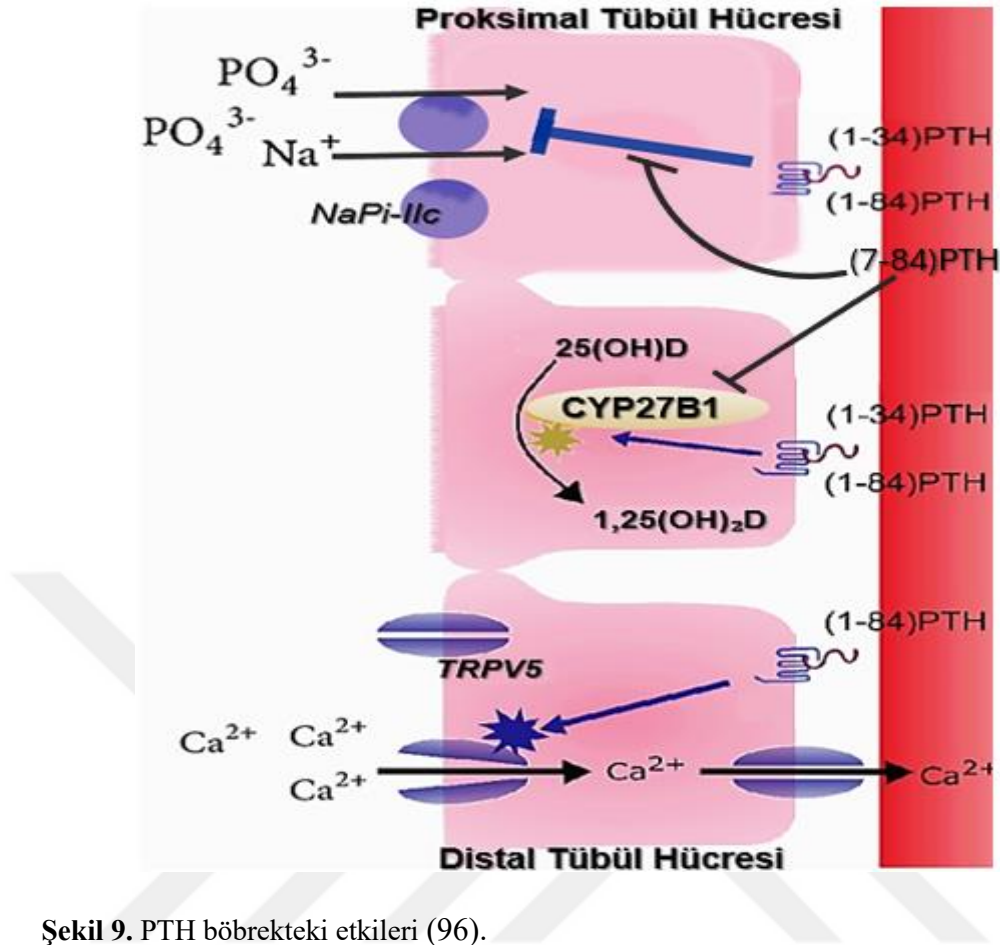
KEMİK OLUŞUMU

Şekil 8. PTH anabolik etkisi sayesinde osteoblastlar ve osteoklastlar arasındaki iletişim döngüsü (100).

Parathormon böbreklerde:

- 1) CYP27B1'in ekspresyonuyla 1α -hidroksilazı indükler, aktif D vitamini sentezini artırır.
- 2) TRPV5 gibi kalsiyum kanallarını aktive eder. Distal tübüllerden kalsiyum geri Emilimini artırır.
- 3) NaPi-IIa, NaPi-IIc, Pit2 gibi taşıyıcıları inhibe ederek proksimal tübüllerde fosfat geri Emilimini yavaşlatır (96, 98, 101) (Şekil 9).

Parathormon bağırsaklara D vitamini aracılığıyla etki eder. D vitamini PTH geninin transkripsiyonunu etkiler ve bu sayede bağırsakta kalsiyum Emilimini artırarak ve uyararak PTH üretimini inhibe eder (96).



Şekil 9. PTH böbrekteki etkileri (96).

2.4.2. Parathormon Metabolizması ve Salınmasının Kontrolü

Dolaşımdaki PTH, tam uzunluklu (intakt), (1-84) PTH, amino terminal PTH (N-PTH), karboksil terminal PTH (C-PTH) ve orta kısım PTH fragmanlarından oluşur (96).

İntakt PTH'un paratiroid bezi içerisinde degradasyona uğraması dışında, karaciğer ve böbrekte metabolize olmasıyla da N-PTH ve C-PTH fragmanları ortaya çıkar. Bu iki tip PTH fragmanının metabolizması farklıdır: N-PTH fragmanları karaciğer ve böbrek tarafından hızla yerinde parçalanırken, C-PTH esas olarak kana verilir. Bu yüzden intakt PTH ile N-PTH'un dolaşımda yarı ömrü birkaç dakika iken C-PTH fragmanların yarı ömrü birkaç saattir (102).

İntakt PTH sekresyonu hipokalsemide artar. Hiperkalsemide intakt PTH sekresyonu büyük ölçüde azalmıştır. C-PTH fragmanlarının miktarı intakt PTH 'a

benzer şekilde hipokalsemide artar ancak intakt PTH ‘un aksine, hiperkalsemide de C-PTH fragmanlarının sekresyonu devam eder. Kanda C-PTH fragmanları arasında (7-84), (34-84) PTH, (39-84) PTH gibi bazı fragmanlar dolaşır. Bunlar intakt PTH’ın orta kısmını ve C terminalini içerir ancak N terminaline sahip değildir. N terminalleri olmadığı için klasik PTH etkileri yoktur. Dolayısıyla inaktif metabolit denilir. Bununla birlikte son araştırmalarda osteoblast ve osteositlerde C-PTH reseptörleri tanımlanmıştır. Bu reseptörlerin aktivasyonu sonucu osteolizin baskılandığı, böbreklerde klasik PTH etkilerine zıt etkiler olduğu ileri sürülmüştür. C-PTH fragmanları sonunda glomerular filtrasyonla böbreklerden atılır (95, 103).

2.5. Referans Aralık

Referans aralık sağlıklı bir referans popülasyonda laboratuvar test sonuçlarının merkezi %95’i olarak tanımlanır. Referans aralık için alt ve üst referans sınırlar tahminen %2.5 ve %97.5 yüzdelik ile belirlenir. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsünün (CLSI) önerdiği gibi referans aralık, minimum 120 birey ile oluşturulmuş sağlıklı bir popülasyonu temsil eder (104, 105).

2.5.1. Laboratuvar Testlerinde Referans Aralıkların Önemi

Tıbbi laboratuvarlardan gelen sonuçlar referans aralık dikkate alınarak yorumlanır. Klinisyenin doğru yorum yapabilmesi için, test sonuçlarının güvenilir referans aralıklarıyla birlikte sunulması gerekir. Biyokimyasal testlerin sayı ve çeşitliliğinin gittikçe çoğalması, sonuçların yorumlanmasını dolayısıyla referans aralıklarını daha da önemli hale getirmiştir. Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu (IFCC), Referans Değerler Teorisi Uzman Paneli ve Uluslararası Hematoloji Standardizasyon Konseyi tarafından referans aralık belirleme çalışmaları ve uygulamaları tavsiye edilmiş, başta Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) olmak üzere birçok sağlık örgütünün kabul ettiği tanım, ilke ve prosedürlerle standardize edilmiştir(112).

En ideal olan, diyet, popülasyon, teknik şartlar, referans grubun seçiminde farklılıklar olduğu göz önüne alınarak her laboratuvarın kendi referans aralıklarını tespit etmesidir. CLSI ve IFCC tarafından 2008’de yayınlanan EP28-A3c kılavuzu,

referans aralıkların geliştirilmesinde en önemli adımı oluşturmuş olup günümüzde halen kullanılmaktadır (108, 111). Bununla birlikte her laboratuvarın kendi referans aralıklarını hesaplaması zor olduğundan dolayı laboratuvarların büyük çoğunluğu Tietz’de belirtilen ya da üretici firmaya ait referans aralıklarını kullanmaktadır (112).

2.5.2. Referans Birey ve Referans Değerler

Referans birey, referans aralık hesaplamada seçilen, sağlıklı olduğu varsayılan kişidir. Ancak sağlık kavramı görecelidir; ölçülebilir kesin bir tanımı yoktur. Bu yüzden referans bireyler “doğru tanımlanmış kriterler” kullanılarak seçilmektedir. Referans birey üzerinde belirli bir nicelik türünün gözlemlenmesi veya ölçülmesiyle elde edilen test sonucuna referans değer denilir (113).

2.5.3. Referans Birey Seçimi

Referans birey seçimi referans aralık saptanmasında ilk ve en zor aşamadır. Çünkü sağlığın tanımlanması zordur, sağlıklı görünen subklinik hastaları dışlayabilmeyi gerektirir. Dolayısıyla referans birey seçiminde önce seçim kriterleri tanımlanmalı, bu kriterlere göre referans bireyler seçilmeli, daha sonra gerekiyorsa seçilmiş bireyler homojen olarak alt gruplara ayrılmalıdır (114-116).

Referans bireylerin sağlık durumunu belirlemede kullanılan kriterlere çalışmaya dahil etme ve çalışmadan dışlama kriterleri denilmektedir (117).

Referans aralık hesaplamada IFCC ve CLSI’nin önerisi referans bireylerin direkt yöntemle seçilmesidir. Ancak direkt yöntemde tekrarlanabilir sonuçlar için çok merkezli bir çalışmanın yansıması, aydınlatılmış onam, numune alma ve analiz etme, kapsamlı varyasyon kaynağı analizleri, dışlama kriterleri için uygun şemaların belirlenmesi ve doğru tanımlanmış çok sayıda referans bireyin seçilmesi gerekir. Bu süreç çok zaman alıcıdır ve sürecin her aşamasında büyük maliyetler söz konusudur. Bundan dolayı, direkt yöntem, indirekt yöntem, priori test öncesi örnekleme, posteriori test sonrası örnekleme ve rasgele- rasgele olmayan gibi bazı alternatif yollar geliştirilmiştir (118-120).

2.5.3.1. Direkt Örnekleme Yöntemi ile Referans Birey Seçilmesi

Direkt yöntemde belirli kriterlerle hazırlanmış anketler kullanılır. Bu anketler sağlıklı olduğu varsayılan bireyler tarafından doldurulur. Her bireyin yazılı onamı alınmalıdır. Daha sonra bireyler üzerinde testler yapılır. Elde edilen değerlerin güvenilir olması için referans birey dışlama kriterlerine dikkat edilmelidir. Dışlama kriterleri Tablo 4’de gösterilmiştir (104, 121).

Tablo 4. Referans bireylerin seçiminde önemli olan dışlama kriterleri (121)

Diyabetes mellitus
Kronik karaciğer veya kronik böbrek hastalığı öyküsü
Hepatit B, HCV, HIV
Son 4 hafta içinde hastanede yatan hasta veya son 4 hafta içinde şiddetli hastalık
Son 3 ay içinde kan donörü olma
Katılımcıları riske atacak hastalık
Gebelik ve emzirme veya doğumdan sonraki 1. yılın içindeki kadınlar
İlaç kullanımı

Direkt referans aralık çalışmalarında referans birey seçmek için iki temel örnekleme yöntemi vardır: 1) Priori yaklaşım: Numuneler toplanmadan önce referans bireylerin dahil edildiği yaklaşımdır. Bu genellikle bir ankete ve/veya klinik muayeneye dayanır. Numunelerden elde edilen sonuçlar, istatistiksel bir prosedür doğrultusunda aykırı değer kabul edilenler çıkarıldıktan sonra çalışmaya dahil edilir. 2) Posteriori yaklaşım: Numuneler toplandıktan/ ölçümler gerçekleştirildikten sonra referans bireylerin tanımı yapılır (122).

2.5.3.2. İndirekt Örnekleme Yöntemi ile Referans Birey Seçilmesi

Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi (LBYS) büyük miktarda hasta sonucu barındırır. LBYS klinik çalışmalar için mükemmel bir değere sahiptir. LBYS'den veri alan indirekt yöntemler son yıllarda geliştirilmiş ve laboratuvar çalışmalarında olumlu karşılanmıştır. CLSI uygun bir örnekleme yöntemi olarak indirekt yöntemi de önermektedir. Bu nedenle, LBYS'in geliştirilmesiyle de birlikte, rutin arşivlenen verilere dayalı araştırmalar daha fazla ilgi görmeye başlamıştır. LBYS’den referans

birey seçiminde en doğru yaklaşım birinci basamak sağlık hizmetlerinden gelen verilerin kullanımıdır (104, 107,123).

2.5.4. Referans Popülasyonun Gruplandırılması

Referans bireylerin oluşturduğu gruba referans popülasyonu denir. Referans popülasyonun yaş, cinsiyet, ırk gibi özelliklere göre referans aralıklarına bölünmesine gruplandırma denir. Normal dağılımlı referans değerlerde gruplandırma yapmaya çoğunlukla gerek yoktur. Bununla birlikte referans aralık hesaplamak için kullanılan datalarda modülasyona neden olan birçok etken olduğundan genellikle veriler normal dağılım göstermez dağılım sağa veya sola çarpık olur (108). Histogramda dağılımın bimodal veya polimodal olması aykırı değer birikimini ya da birden fazla alt grup olduğunu gösterir. Referans popülasyonda gruplaşmaya yol açan faktörler Tablo 5'te verilmiştir (104) (Tablo 5).

Tablo 5. Referans popülasyonda gruplaşmaya yol açan faktörler (104)

Yaş	Coğrafi konum
Kan Grubu	Postur
Sirkadiyen ritm	İrk
Diyet	Cinsiyet
Etnisite	Menstrüel Siklus
Egzersiz	Gebelik
Açlık ve Tokluk	Tütün kullanımı

İki farklı grubu karşılaştırmada sıklıkla Student's t-test yöntemi kullanılır. İki'den fazla grup karşılaştırılacaksa ANOVA (Analysis Of Variance; Varyans Analizi) yöntemi tercih edilir. Eğer bir faktör için, gruplar arasındaki fark anlamlı çıkarsa, bu faktöre göre referans popülasyonun gruplandırılmasının uygun olduğu anlaşılır (109).

2.6. Referans Değerlerin İstatistiksel Analizi

2.6.1. Veri Toplanması

İndirekt yöntemle veri toplanmasında bir ön hazırlık verilerin filtrelenmesidir; yoğun bakım üniteleri, onkoloji, nefroloji birimi gibi, bireylerin önemli kronik hastalıklara sahip olma olasılığının yüksek olduğu alanlardan gelen verilerin dışlanır. Mümkünse, birinci basamak sağlık hizmetleri dışındaki tüm sevk alanlarından gelen verilerin dışlanması, hastalıklı bireylerden gelen verilerin referans aralık çalışmasını olumsuz etkileme riskini azaltacaktır (107).

Veri toplanmasında uyulması gereken bazı kurallar vardır. Örneklerin dağılımı referans popülasyonun parçası olmalıdır. Referans dağılım tek tepeli mod olmalıdır ancak çarpık bir dağılım olabilir. Homojeniteyi bozacak şekilde dağılım içi gruplaşmalar olmamalıdır. Verilerin yoğunlaştığı bölge dağılımın moduna uymalıdır. Moddan uzak bölgelerdeki birikimler genellikle hastalık ilişkili verilerdir. Örnek dağılımın modu total dağılımına yakın olmalıdır (117).

2.6.2. Dağılımın İncelenmesi

Referans aralık belirlemede veri toplanmasından sonra ilk adım veri dağılımının incelenmesidir. Dağılımın doğru değerlendirilmesi için, veri histogramı hazırlanmalı, dağılımdaki muhtemel hatalar tespit edilip uç değerler saptanmalıdır (113). Aritmetik ortalama, tepe değer, ortanca değer, standart sapma (SD) hesaplanıp bunların dağılımda nerede yer aldığına bakılır (117).

Uç değerlerin saptanıp dışlanmasından önce, eğer veriler Gauss normal dağılımına uymuyorsa dağılım, Box-Cox dönüşümü, üstel ve log dönüşümleri, veya diğer dönüşümler aracılığıyla normal dağılım haline getirilmelidir (124).

2.6.3. Uç Değerlerin Atılması

İstatistiksel analizin temel zorluklarından biri, veri setindeki hastalıklı bireylerden gelen değerlerin referans aralığını etkileme riskinin yüksek olmasıdır.

Veri setindeki diğer değerlerle karşılaştırıldığında veri setine uygun olmadığı tespit edilen değerlere uç değer denir. Uç değerlerin fazla olması veri setini normal dağılımdan uzaklaştırır. İstatistiksel yöntemler veri setindeki uç değerlerden güçlü bir şekilde etkilendiğinden ve bu uç değerlerin hastalıklı bireylerden kaynaklanma olasılığı çok yüksek olduğundan, uç değerlerin kaldırılması büyük önem taşır. Veri tabanlarında patolojik sonuç varlığını en aza indirmeye yönelik çeşitli yaklaşımlar vardır (120,125).

2.6.3.1. Dixon Yöntemi

En küçükten en büyüğe doğru veriler sıralandıktan sonra dağılımın alt ve üst noktalarındaki uç değerler Dixon formülü ile tespit edilir (126). Dixon yöntemi kolaydır. Spesifik işlemi şu şekildedir: R, tüm gözlemlerin aralığıdır (tüm mevcut değerlerin maksimum ve minimum arasındaki fark), D ise şüpheli değer (maksimum veya minimum) ile sonraki değer arasındaki farkın mutlak değeridir. Şüpheli değer (ikinci en büyük veya ikinci en küçük). D/R oranı üçte birden büyükse şüpheli değer aykırı değer olarak elenir. Bu yöntem aynı tarafta birden fazla benzer aykırı değer aynı anda bulunması durumunda uygun değildir (124).

2.6.3.2. Tukey Yöntemi

Bu yöntem için de Gauss dağılımı gereklidir. Tukey için temel prensip, tek taraflı aykırı değerlerin toplamından etkilenmeme avantajına sahip olan verinin %50'sini kullanmaktır. Dışlama sınırları için 25'inci (Q1), 75'inci yüzdeler (Q3) ve çeyrekler arası aralık (IQR = Q3-Q1) kullanılır. Üst sınırı $Q3 + 1,5 \cdot IQR$ 'ye, alt sınırı ise $Q1 - 1,5 \cdot IQR$ 'ye eşittir; Üst ve alt sınırlardan sapan tüm değerler aykırı değer kabul edilir ve atılır. Bu yöntem sürekli yinelenir ve son olarak tüm verilerin verilen sınır değerleri dahilinde olmasını sağlar (124).

2.6.3.3. Box-Plot Yöntemi

Uç değerlerin belirlenmesine yönelik grafiksel basit bir yöntemdir. Kutunun uzunluğu $Q3 - Q1$ dir. Box-Plot yöntemi bir gözlemin ne kadar uç değer barındırabileceği hakkında genel bir fikir verir (127).

2.6.4. Referans Popülasyonun Dağılım Tipinin Belirlenmesi

Bir referans aralık normal dağılımda parametrik, normal olmayan dağılımda nonparametrik yöntemlerle hesaplanır. Dolayısıyla referans değerlerin dağılım durumunu bilmek çok önemlidir. Verilerin normal dağılıp dağılmadığını anlamak için en yaygın kullanılanlar Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleridir. Bunlar “SPSS” istatistik programında uygulanır. Shapiro-Wilk testi küçük örneklem (n<50 örneklem) için daha uygundur ancak büyük örneklemde de kullanılabilir; Kolmogorov-Smirnov testi ise $n \geq 50$ için kullanılır (109). Normallik testlerinde sıfır (H_0) ve alternatif (H_1) olmak üzere iki hipotez kurulur. H_0 hipotezi verilerin normal dağılım gösterdiğini, H_1 hipotezi ise verilerin normal dağılım göstermediğini ileri sürer (128). Normallik testlerinde P değeri (verilerin test istatistiğini gözlemleme olasılığı) belirleyicidir. $P > 0.05$ olduğunda H_0 hipotezi kabul edilir. Referans popülasyonun normal dağılımlı olduğu anlaşılır (109).

2.6.5. Referans Sınırların Saptanması

Klinisyen hekim yorum yaparken hastanın laboratuvar sonuçlarını iki sınır arasındaki referans aralıkla karşılaştırır. Referans alt ve üst sınırı belirlemek için, uç değerleri atılmış bir referans dağılımın yüzdelikleri incelenebilir. Referans dağılımın %2,5 ile %97,5 yüzdeliği arasında kalan merkezi %95’lik alandır. %2,5 yüzdelik referans alt sınır %97,5 yüzdelik referans üst sınır olarak belirlenir. Yüzdelikler arası aralık hem parametrik hem de nonparametrik istatistiksel tekniklerle hesaplanır (104).

Parametrik Metot: parametrik metotta gözlenen değerlerin dağılımının normal dağılım olduğu varsayılır. Ancak birçok analitin referans değerlerinin dağılımı normal dağılıma uymaz ve bu nedenle parametrik metot kullanabilmek için dağılımın

normalize edilmesi gerekir. Bu da bilgisayar ortamında bazı matematiksel dönüşümlerle mümkündür. Parametrik metotta yüzdelikler ve onların güven aralıkları, ortalama ve SD hesaplanır (104).

Non-parametrik yöntem: Dağılım normal değilse uygulanır. Veriler sıralanır; 2,5 ve 97,5 yüzdelikler arası alan referans aralığını oluşturur. Yüzdelikleri belirlemek için medyan kullanılır. Bunun dışında standart bir istatistiksel işlem yapılmaz (129).

2.6.6. İndirekt Referans Aralık Hesaplamasında Kullanılan Yöntemler

Hoffmann yöntemi, bilgisayarların yaygınlaşmadığı dönemlerde Gauss veya Gauss'a yakın bir dağılımı olduğu varsayılan bir veri setindeki referans sonuçları tanımlamak için kâğıt tabanlı sistemlerde geliştirilmiştir. Hoffmann yönteminin bir sınırlaması, ciddi büyüklükte bir alt popülasyon varsa bundan belirgin etkilenmesidir. Ancak verilerin filtrelenmesi bu etkiyi azaltabilir (120). Hoffmann yöntemi için daha sonra bilgisayar ortamına geçilmiştir. Son yıllarda, ortalama eritrosit hacmi, eritrosit sayısı, hemoglobin, ferritin, kreatinin, kalsiyum gibi laboratuvar testi ve test indekslerinin referans aralıklarını LBYS'den oluşturmak amacıyla Hoffman yöntemi sık kullanılmıştır. Bu referans aralıkların bazıları sağlıklı popülasyonların kohort çalışmalarından elde edilenlerle uyumlu olduğu için Hoffman yönteminin güvenilir ve tekrarlanabilir olduğu düşünülmektedir (130).

Birçok analit için referans değerler Gauss dağılımı gösterdiğinden, Hoffmann metodu indirekt referans aralık belirlemede oldukça etkilidir. Gauss dağılımı göstermeyen analitler için de kullanılabilir, ancak bu durumda önce bir veri dönüşümü yapılması gerekir. Hoffmann yöntemi, bir veri setinden Gauss dağılımını ayırıştırıp tanımlar. Bunun için bilgisayar programında görsel kümülatif frekans grafiği çizer. Bu grafiğin doğrusal bileşeninin, veri setinin içersinde olan, sağlıklı bireylerden elde edilmiş ait alt veri seti olduğunu varsayar (130).

Bhattacharya yöntemi verilerin içindeki Gauss dağılımlarını ayırıştıran grafiksel bir yöntemdir (131). Hoffmann yöntemi gibi, bilgisayar öncesi dönemde manuel sistemlerde uygulandı. Bilgisayar tabanlı versiyonları Java ve Microsoft Excel'de geliştirildi (120).

Şu anda Bhattacharya yöntemini gerçekleştirmek için Bellview yazılımı ve R kodu gibi birçok program geliştirilmiştir. Hoffmann yöntemiyle karşılaştırıldığında, Bhattacharya yöntemi Gauss olmayan veri dağılımlarından daha zor etkilenir (124).

Parametrik olmayan (nonparametrik) yöntem referans aralıklarının alt ve üst sınırlarını belirlemede kullanılan basit bir istatistiksel bir yöntemdir. Veri setindeki dağılımın normal dağılıma uymadığı düşünüldüğünde yapılır. Veri dönüşümünden sonra, veriler en küçükten en büyüğe sıralanır ve uç değerler çıkarılır. Ardından verilerin yüzdelik dilimleri hesaplanır. Ortalama, standart sapma veya medyan değeri bulunur. Bundan sonra referans popülasyon dağılımında merkezdeki %95 bölümündeki sonuçlar referans aralığı olarak kabul edilir (104).

Arzideh yöntemi Bhattacharya, Hoffmann ve Nonparametrik yönteme kıyasla daha kompleks bir yöntemdir. Arzideh truncated maksimum likelihood (TML) yöntemi, sağlıklı ve patolojik değerlerin bir karışımına dayalı olarak düzeltilmiş bir çekirdek (Kernel) yoğunluk fonksiyonu oluşturarak referans aralıklarını indirekt olarak hesaplamaya dayalı bir yaklaşımdır. Dağılımın merkezi kısmının normal güç (Power Normal; PN) dağılımını takip ettiğini varsayar. PN dağılımının ortalama (μ), standart sapma (σ) ve güç (λ) gibi parametrelerini belirlemek için maksimum olabilirlik (likelihood) tekniği kullanılır. Bu yöntem, dağılımın merkezi kısmı için optimum kesme aralığını belirlemek üzere Box-Cox dönüşüm fonksiyonunu ve değiştirilmiş Kolmogorov-Smirnov (KS) istatistiğini kullanarak tepe noktasının her iki tarafında da doğru kesme sağlar (134). Ön uç olarak kullanılan bir Excel elektronik tablosundan ve hesaplamalar için bir R-komutundan oluşan bir yazılım programına Alman Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Derneği'nin ana sayfasından ulaşılabilir. Bu program, veri toplama sırasında olası bir analitik eğilimi kontrol eder ve cinsiyete ve yaşa göre otomatik sınıflandırmayı dikkate alır (120).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 26.07.2023 tarih, 13 no'lu karar onayı ile gerçekleştirilmiştir.

3.1. Çalışma Planı

Çalışmamıza 01 Ocak 2019-31 Aralık 2021 tarihleri arasında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran ve aynı anda serum PTH, 25-(OH) D, Ca^{++} ve IP düzeyleri çalışılan hastalar dahil edilmiştir. Hastaların verileri LBYS üzerinden alınmıştır. Başlangıçta 9382 hastaya ait sonuçlar elde edilmiştir. Sonrasında:

- hematoloji polikliniği ve servisi
- onkoloji polikliniği ve servisi
- nefroloji polikliniği ve servisi
- kadın doğum polikliniği ve servisi
- COVID polikliniği, servisi ve yoğun bakımı
- yoğun bakım hastaları

-pediatri polikliniği ve servislerine başvuran hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Ayrıca diğer bölümlere başvuran hastalardan akut böbrek yetmezliği, albümin anormalliği, amiloidozis, malign neoplazm, akut ve subakut karaciğer yetmezliği, böbrek fonksiyonlarının anormal sonuçları, Osteomalazi, hipoparatiroidizm, Nefrotik sendrom, Non-Hodgkin lenfoma, Raşitizm ve sekonder hiperparatiroidizm tanısı olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Sonuç olarak çalışmamıza 7707 hastaya ait sonuçlar dahil edilmiştir.

3.2. Kullanılan Cihaz ve Kitler

Çalışmamızdaki veriler Advia 1800 (Siemens, Almanya) otoanalizöründe Ca ve IP testleri; Advia Centaur XP (Siemens, Almanya) otoanalizöründe 25-(OH) D testi ve İmmulite 2000 XPİ (Siemens, Almanya) otoanalizöründe PTH testi çalışılarak elde edilmiştir. Testlerin çalışılmasında Siemens orijinal kit ve kalibratörleri kullanılmıştır.

Çalışmanın yapıldığı süre içerisinde iki farklı seviye iç kalite kontrol solüsyonları ile sistem günlük olarak takip edilmiş ve cihazlar dış kalite kontrol proramlarına dahil edilmiştir. İç ve dış kalite kontrol sonuçları bu süre içerisinde kabul edilebilir bulunmuştur.

3.3. Test Ölçüm Yöntemi

Ca⁺⁺ için test yöntemi;

Kalsiyum iyonları Arsenazo III ile mor renkli bir kompleks oluşturur. Bu kompleksin absorbansı 658/694 nm’de ölçülür. Örnekteki kalsiyum konsantrasyonu oluşan renkli kompleksin absorbansı ile doğru orantılıdır.

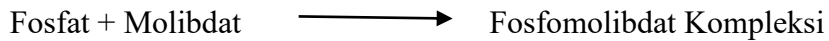
pH 5,9



IP için test yöntemi;

İnorganik fosfor sülfürik asit varlığında amonyum molibdat ile reaksiyona girer. Bu reaksiyonun sonucunda indirgenmemiş bir fosfomolibdat kompleksi oluşur. Fosfomolibdat kompleksinin konsantrasyonu 340/658 nm’de absorbans verir. Bu absorbans serumdaki Pi düzeyi ile doğru orantılıdır.

H⁺



PTH için test yöntemi;

PTH katı fazlı, iki bölgeli kemilüminesan enzim işaretli immünometrik bir testtir.

D vitamini için test yöntemi;

Akridinyum ester işaretli anti-25(OH)vitamin D monoklonal fare antikoru ve floresan işaretli D vitamini analogu paramanyetik partiküllerine kovalent olarak bağlı olan bir anti-floresan monoklonal fare antikoru kullanılarak ölçüm yapılan 18 dakikalık bir antikor kompetitif immüno testtir.

3.4. Kullanılan Bilgisayar Programları ve İstatistiksel Yöntemler

Çalışma kapsamında, veriler istatistiksel analizlere dahil edilmeden önce her bir parametre için çalışma dönemi boyunca her ayın medyan değerleri karşılaştırılarak laboratuvar içi dalgalanmalar analiz edilmiştir.

Veri dağılımını değerlendirmek amacıyla Kolmogorov-Smirnov testi, uç değerlerin dışlanması Box-Plot yöntemi kullanılmıştır. Cinsiyet, yaş grupları, mevsimler gibi gruplar arası farkların analizinde, normal dağılım gösteren parametreler için ikili grup karşılaştırmalarında Student-t testi; ikiden fazla grup karşılaştırmalarında One-Way ANOVA kullanılmıştır. Normal dağılıma uymayan parametreler için ise ikili grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi; ikiden fazla grup karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel analizler SPSS 21 programı üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada, indirekt referans aralık belirleme yöntemleri olarak Arzideh truncated maximum likelihood (TML), Hoffmann, Bhattacharya yöntemleri ve Nonparametrik yöntem kullanılmıştır. Arzideh yönteminde analizler Alman Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Derneği'nin RLE50 (Reference Limit Estimator 50) programı ile yapılmış, Hoffmann, Bhattacharya ve Nonparametrik yöntemlerde Microsoft Excel programı kullanılmıştır.

3.4.1. Arzideh Yöntemi

Arzideh truncated maksimum likelihood (TML) yöntemi, sağlıklı ve patolojik değerlerin bir karışımına dayalı olarak düzeltilmiş bir çekirdek (Kernel) yoğunluk fonksiyonu oluşturarak referans aralıklarını indirekt olarak hesaplamaya dayalı bir yaklaşımdır. Dağılımın merkezi kısmının normal güç (Power Normal; PN) dağılımını takip ettiğini varsayar. PN dağılımının ortalama (μ), standart sapma (σ) ve güç (λ) gibi parametrelerini belirlemek için maksimum olabilirlik (likelihood) tekniği kullanılır. Bu yöntem, dağılımın merkezi kısmı için optimum kesme aralığını belirlemek üzere Box-Cox dönüşüm fonksiyonunu ve değiştirilmiş Kolmogorov-Smirnov (KS) istatistiğini kullanarak tepe noktasının her iki tarafında da doğru kesme sağlar (132).

$$X = \frac{x^\lambda - 1}{\lambda}$$

(X: Güç dönüştürülmüş x değeri, λ : güç)

Bu, truncation aralığı içindeki uygunluk iki taraflı (two-sided) bir KS ve truncation aralığı dışındaki uygunluk ise tek taraflı (one-sided) bir KS içerir. Tahmini PN dağılımı, λ , μ ve σ ile tanımlanır ve patolojik olmayan değerleri gösteren PN dağılımının merkezi %95 aralığını bulmak için kullanılır.

Arzideh TML Prosedüründe uygulanan temel adımlar:

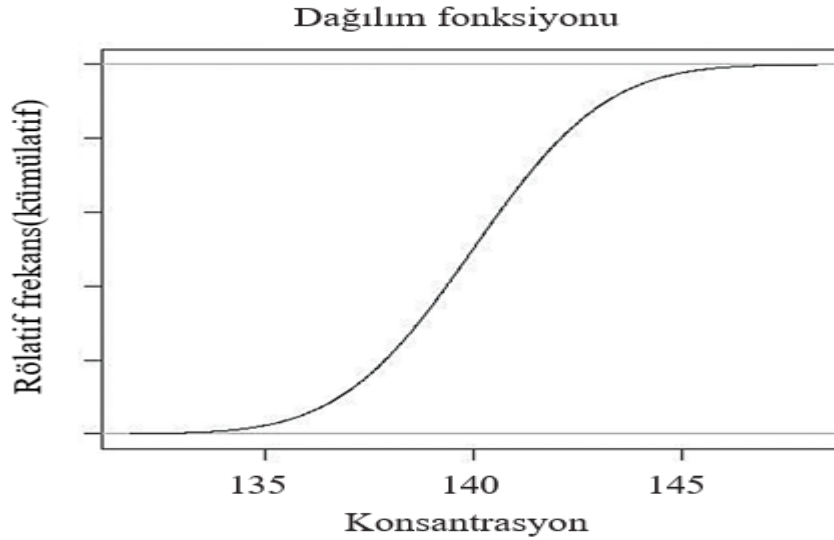
TML yaklaşımı, R betiği "TML" içinde uygulanan 6 temel adımdan oluşmaktadır.

1. Analiz edilecek yaş / cinsiyet katmanı tanımlanır.
2. Bu tabakadaki değerler için bir histogram oluşturulur.
3. Bir dizi QQ grafiğinden PND parametreleri λ , μ , σ için bir başlangıç tahmini elde edilir.
4. Çeşitli truncation aralıklarını göz önünde bulundurarak TML prosedürü ile PND parametrelerinin iyileştirilmiş tahminleri elde edilir.
5. Adım 4'te değerlendirilen adaylar arasından en uygun PND parametresini belirlenir.
6. Adım 5'teki optimum PND parametrelerinden referans aralıkları hesaplanır.

Tüm hesaplamalar, referans aralığı belirleme ve değişim etkisi değerlendirmesi için Alman Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Derneği (DGKL) tarafından oluşturulan ve Arzideh tarafından dağıtılan Referans Limit Tahmin programı (Reference Limit Estimator: RLE50) kullanılmıştır. Referans aralıklarını tahmin etmek için uygulamanın TML modülü kullanılmıştır (132).

3.4.2. Hoffmann Yöntemi

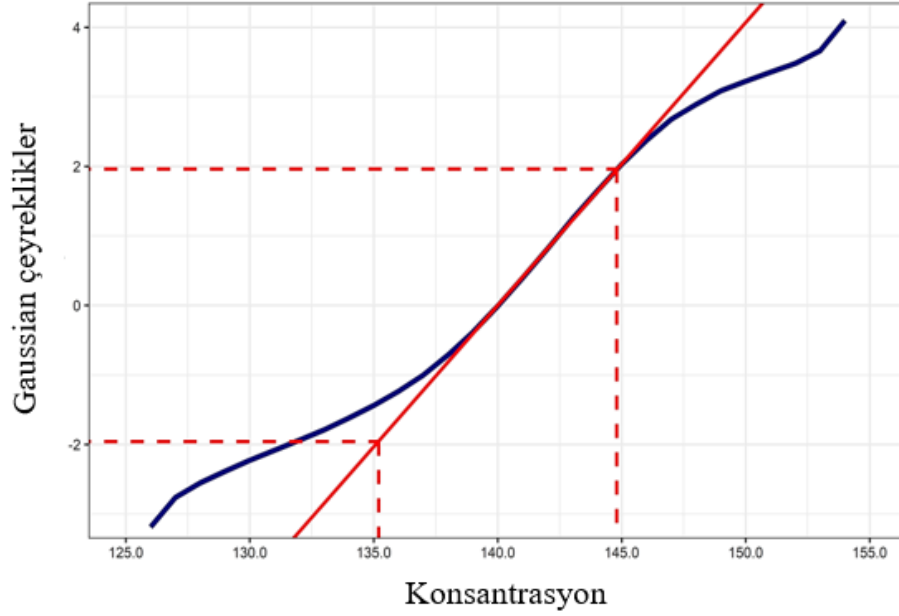
Hoffmann yöntemi, kümülatif frekansın çizilmesini içerir. Normal yöntemle çizildiğinde, Gauss dağılımının kümülatif frekansı sigmoidal bir şekil alır (Şekil 10).



Şekil 10. Hoffman yöntemine göre konsantrasyon – rölatif frekans grafiği

Hoffmann yönteminde ise, kümülatif frekans standart Gauss dağılımının kuantillerine karşı veya eşdeğer olarak y ekseninde Gauss olasılık ölçeği kullanılarak çizilir. Bu şekilde çizildiğinde, verilerdeki Gauss bileşenleri düz çizgi segmentleri olarak görülür (Şekil 3.2). Bu, verilerin normal dağılıma ne kadar iyi uyduğunu gösterir. Hoffmann yöntemi, bu düz çizgi bileşenini belirlemeyi amaçlar. Eğrinin düz çizgi bileşeni için en iyi uyumu sağlayan doğru çizilir, bu işlem sırasında ortalama etrafındaki dağılımın merkezini temsil eden noktaya (y-değeri sıfır olan) göre referans aralık hesaplaması

yapılır. $y = -1.96$ ve $y = +1.96$ değerlerine karşılık gelen x -değerleri, alt ve üst referans sınırlarını temsil eder (Şekil 11).



Şekil 11. Hoffman yöntemine göre konsantrasyon-çeyreklik grafiği

Çalışmamızda hesaplamalar, Microsoft Excel'in Türkçe versiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Gauss dağılımının kuantillerini elde etmek için Excel'in NORM.TERS fonksiyonu kullanılmıştır. Kümülatif frekansların görsel kontrolü için QQ-plot (Kuantil-Kuantil grafiği) yöntemi kullanılmıştır. QQ-plot, veri setinin kuantillerini teorik bir dağılımın kuantilleri ile karşılaştırarak verilerin normal dağılıma ne kadar iyi uyduğunu görselleştirmiştir. Grafik üzerinde düz çizgi bileşeni için en iyi uyumu sağlayan doğru çizilmiştir. Bu doğrunun denklemi ($y = ax + b$) excelde bulunmuştur. Denklemden b değeri ortalamayı, a değeri SD 'yı temsil etmektedir. Referans aralık alt ve üst sınırları ($b \pm 1.96a$) formülü ile belirlenmiştir. PTH ve D vitamin sonuçları Gauss dağılımına uymadığından Box-Cox dönüşümü uygulandıktan sonra referans aralık hesaplanmıştır (133-135).

3.4.3. Bhattacharya Yöntemi

Bhattacharya yöntemi, veri setindeki Gauss dağılımlı alt bileşenleri, Gauss olmayan alt bileşenlerden ayırır. Bu yöntem, indirekt referans aralıkları belirlemede, birçok analiz için sağlıklı bireylerden elde edilen sonuçların Gauss dağılımı göstermesi nedeniyle yararlıdır. Bhattacharya yöntemi, sonuçlar Gauss bir dağılım göstermese bile uygulanabilir. Bu durumda önce veri dönüşümü yapılır. Bhattacharya analizi grafiksel olarak çalışır. Bu yöntem, Gauss alt dağılımlarını ‘düzleştiren’ bir hesaplama yapar, böylece bu dağılımlar ‘Bhattachagram’ üzerinde çizildiğinde eğik doğru parçaları olarak görünür.

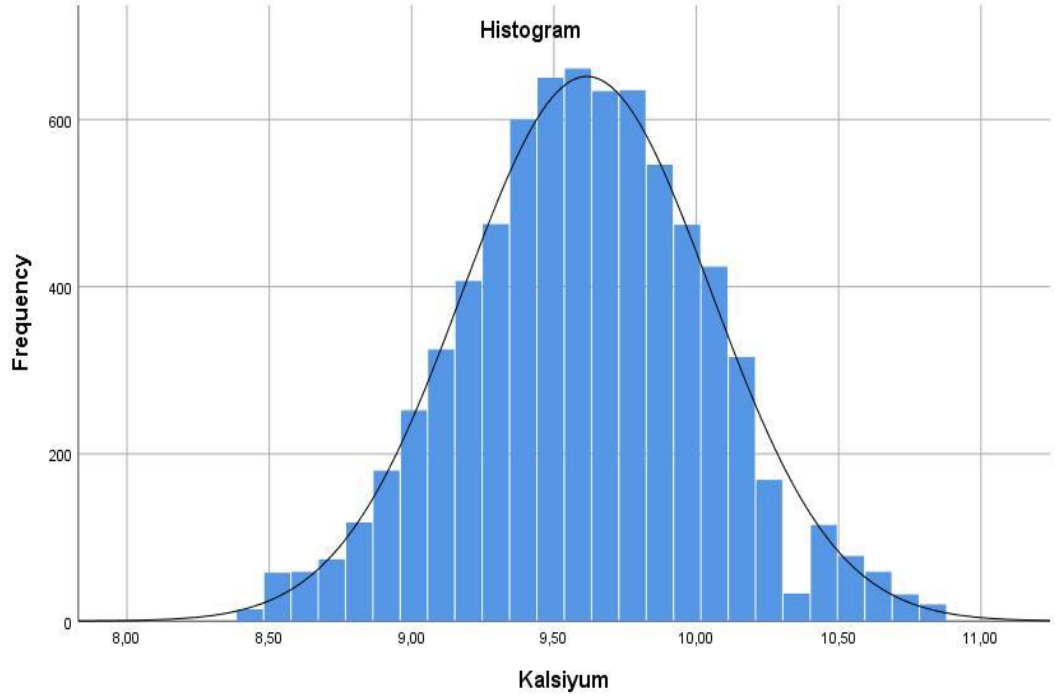
Bhattachagramlar histogramlarla aynı x eksenine sahiptir: veriler gruplandırılır (eşit uzunluklu sınıflar, uzunluk: h) ve x ekseninde 'kutular' halinde temsil edilir. y ekseninde düzleştirme hesaplamasının sonuçları yer alır: her bir h boyutlu alt grubun frekansının logaritması, bir sonraki alt grubun frekansının logaritmasından çıkarılır. Matematiksel olarak ifade edildiğinde bu şöyledir:

$$\log_e\{y(x + h)\} - \log_e\{y(x)\}$$

İki ardışık alt grubun frekanslarının logaritma farkı önce gelen alt grubun delta değerini verir. Delta değerleri y eksenindedir. Bu matematiksel hesaplama Gauss alt dağılımlarını düz hale getirmek için faydalıdır çünkü bu sayede teorik Gauss dağılımı $ax + b$ biçimine, yani düz çizgiye dönüştürülmüş olur.

Düz çizgi noktalarını belirlemek için, kutuların orta noktasını birleştiren çizgiler çizilir. Orta noktalardan geçen en iyi uyum doğrusunun eğim ve kesişiminden, bütün referans popülasyonu temsil eden Gauss dağılımının ortalama ve standart sapması hesaplanabilir. Çalışmamızda Bhattacharya yöntemi Excel programında yapılmıştır. Uygulanan tüm adımlar aşağıda kalsiyum referans aralık hesaplamasında detaylı olarak açıklanmıştır (107, 131).

Kalsiyum testinin Bhattacharya metodu ile referans aralık hesaplaması: İlk olarak 7707 kalsiyum değerinin dağılımını belirlemek için K-S testi yapıldı. Daha sonra 299 uç veri box-plot testi ile dışlandı. Geriye çalışmamızda kullanılmak üzere 7408 kalsiyum sonucu kaldı. Bu verilerin histogram grafiği Şekil 12’de gösterildi.



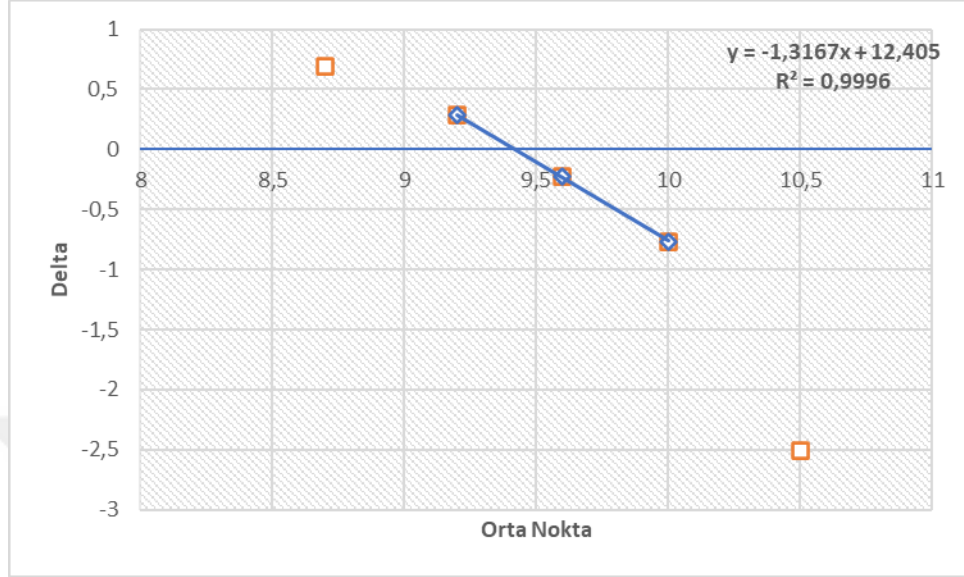
Şekil 12. Kalsiyum Histogram Grafiği

Daha sonra 7408 hasta verisi kullanılarak Bhattacharya yöntemiyle referans aralıklar hesaplandı. Bhattacharya yönteminde ilk önce elde edilen tüm veriler sınıf aralığı (h) 0.478 olmak üzere, beş eşit aralıklı olarak sınıflandırıldı. Her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri Tablo 6'deki gibi bulundu.

Tablo 6. Kalsiyum testi için her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri

Alt Sınır	Üst Sınır	Orta Nokta	Frekans	Log Frekans	Delta
8,41	8,88	8,7	334	2,523746	0,694789
8,88	9,37	9,2	1654	3,218536	0,285119
9,37	9,84	9,6	3189	3,503655	-0,22353
9,84	10,32	10	1906	3,280123	-0,76824
10,32	10,81	10,5	325	2,511883	-2,51188

Her bir orta değer ile elde edilen delta değerleri için çizilen saçılım grafiği Şekil 13'te verilmiştir.



Şekil 13. Kalsiyum testi için her bir orta değer ile elde edilen delta değerlerinin saçılım grafiği

Saçılım grafiğinde kesişen noktalardeki doğrusal ilişki korelasyon katsayısı hesaplanarak incelendi. Bhattacharya yöntemine göre burada istatistiki açıdan anlamlı olan doğrusal noktalar kümesi sağlıklı alt veri grubu olarak kabul edilir. 8,88-9,37; 9,37-9,84; 9,84-10,32 alt grupları incelendiğinde bir doğrusal ilişkinin var olduğu görsel olarak anlaşılmaktadır. Doğrusal noktalar kümesi, sağlıklı alt grup olarak kabul edilip edilmediğinin kontrolü için korelasyon katsayısı hesaplanmıştır. Sağlıklı olduğu düşünülen doğrusal noktalar kümesindeki orta noktalar ile delta değerleri arasındaki korelasyon katsayısı -0,9996 olarak bulunmuştur. Geriye kalan gruptaki orta noktalar ile delta değerleri arasındaki korelasyon katsayısı -0,9036 olarak bulunmuştur.

Sağlıklı olarak kabul ettiğimiz alt gruplar için hesaplanan regresyon denklemi $y=12,405-1,3167x$ şeklindedir. Bulduğumuz doğrunun y-ekseninde 0'ı kestiği λ değeri ise 9.42 olarak bulundu. Bulunan bu değerlerden yola çıkarak ortalama ve standart sapma değerleri Eşitlik 1 ve Eşitlik 2 yardımı ile hesaplandı.

Ortalama= $\mu=\lambda+h/2=9,42+(0,478\sqrt{2})=9,66$ Eşitlik 1

Varyans= $\sigma^2=-h/eğim-h^2/12=0.34$ Eşitlik 2

$\sigma=0,59$

Bhattacharya yöntemine göre ortalama değer 9.66 ve standart sapma değerimiz 0,59 olarak bulundu. Formülde ortalama $\pm 2SD$ yerine konularak $(9,66\pm2\times0,59)$ referans aralık (8,49-10,83) olarak hesaplandı.



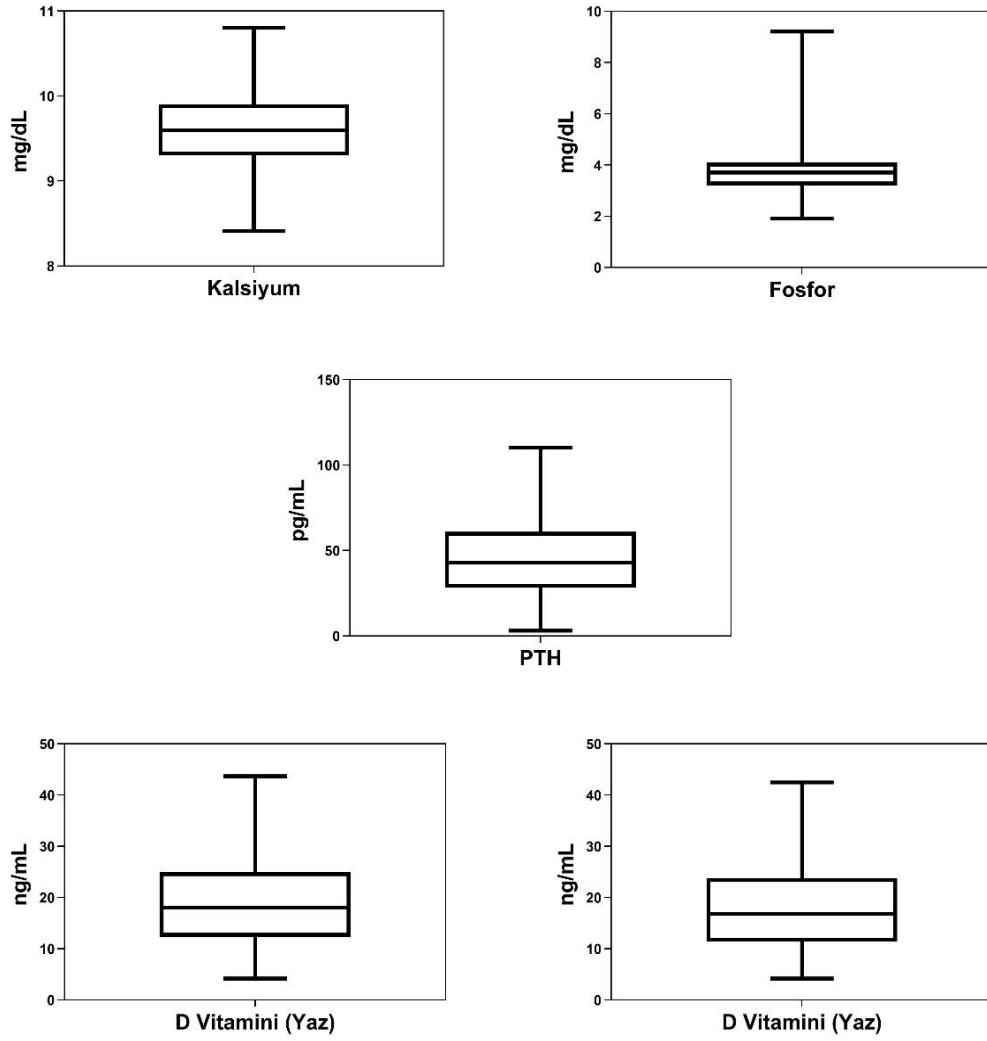
4.BULGULAR

Çalışmaya toplam 7707 birey katılmıştır ve bu bireylere ait yaş ve cinsiyet bilgileri Tablo 7'de sunulmuştur. Çalışmaya dahil edilen bireylerin 5536'sı kadın, 2171'i ise erkektir. Bireylerin genel yaş ortalaması ise $50,60 \pm 15,93$ yıl olarak saptanmıştır. Çalışmaya dahil edilen bireylerin %5'si servis, %95'i polikliniğe başvuran bireylerden oluşmaktadır.

Tablo 7. Demografik veriler

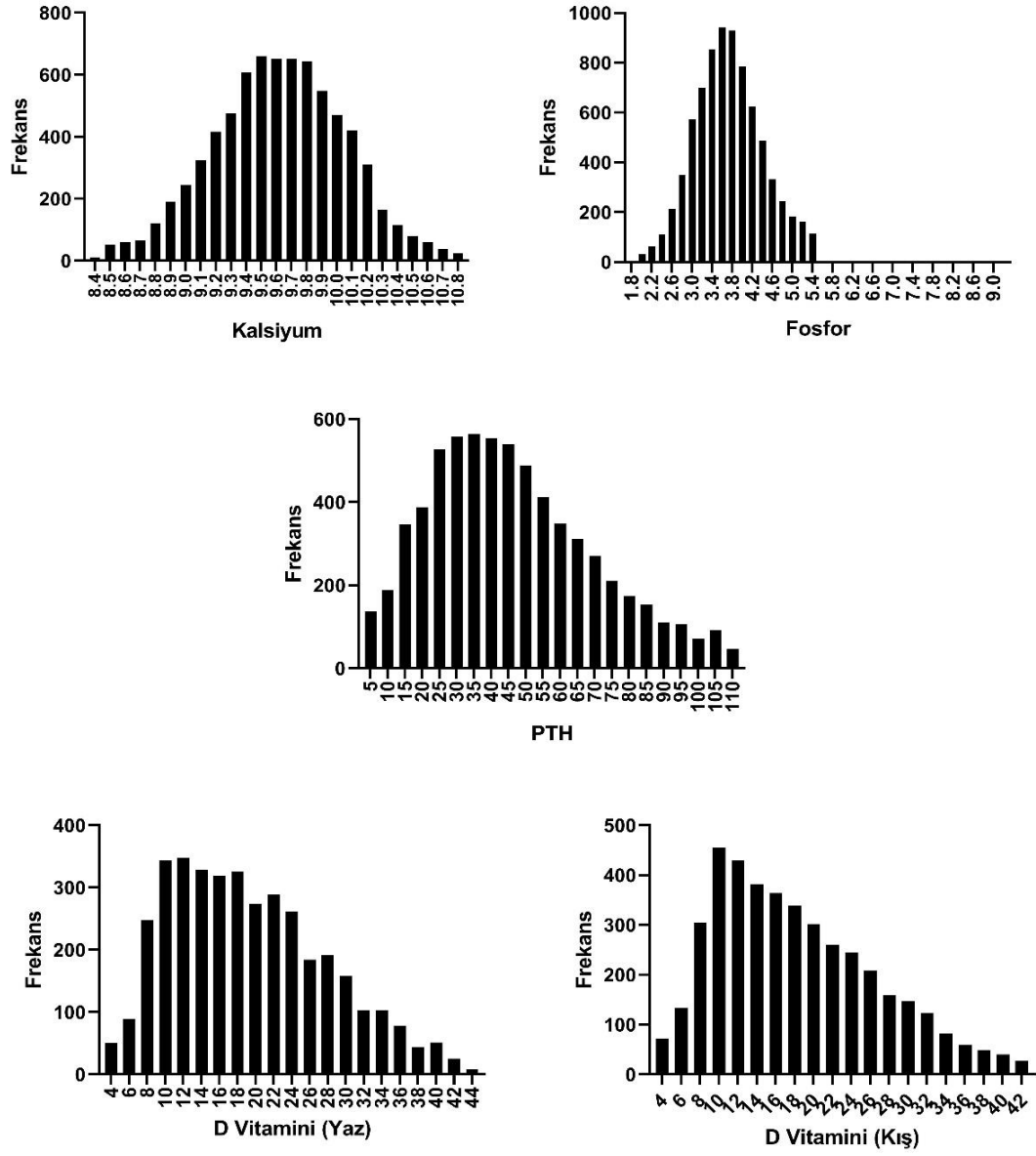
		Sayı
Cinsiyet	Kadın	5536 (%71,9)
	Erkek	2171 (%28,1)
Yaş	Kadın	$50,11 \pm 15,68$
	Erkek	$51,87 \pm 16,48$
	Genel	$50,60 \pm 15,93$

Bu veriler referans aralık hesaplamasına dahil edilmeden önce uç değer incelemesi yapılmıştır. Uç değerlerin saptanmasında Box-Plot yöntemi kullanılmıştır. Box-Plot yöntemine göre kalsiyum için 299, fosfor için 417 ve PTH için 60 sayıda veri dışlanmıştır. D vitamini verileri ise yaz ve kış mevsimleri olarak iki gruba ayrılmış ve ardından uç değer incelemesi gerçekleştirilmiştir. Saplı kutucuklar grafiklerine Şekil 14'te yer verilmiştir.



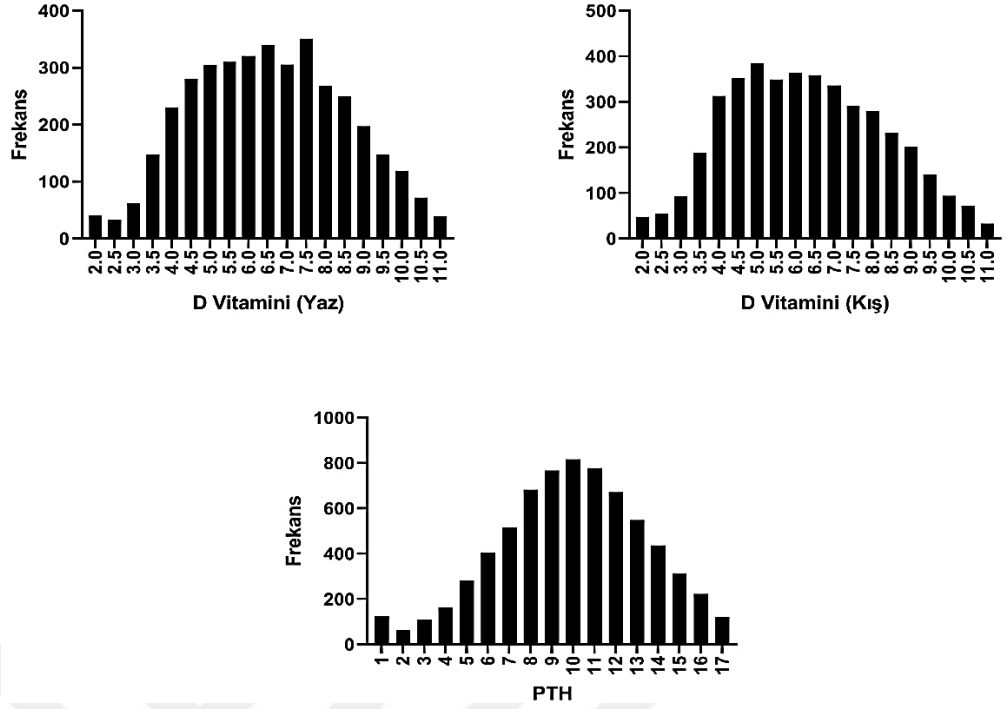
Şekil 14. Kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamini yaz ve kış dönemi saplı kutucuklar grafikleri

Veriler dışlandıktan sonraki dağılımları şekil 15’te gösterilmiştir . Kalsiyum ve fosfor dağılımının simetrik şekilde ve normal dağılıma yakın olduğu görülmüştür. Bu durum, kalsiyum ve fosfor seviyelerinin veri setinde dengeli bir şekilde dağıldığını göstermektedir. PTH ve D vitamini verilerinin yaz ve kış mevsimlerine göre dağılımları sola çarpıktır. Buna göre düşük PTH ve D vitamini değerlerinin (yaz- kış) yaygın, yüksek PTH ve D vitamini değerlerinin (yaz-kış) nadir olduğu anlaşılmaktadır



Şekil 15. Kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamin kış, D vitamin yaz histogramları

Görsel ve Kolmogorov-Smirnov yöntemi ile yapılan değerlendirmeler sonucunda normal dağılım göstermeyen PTH, D vitamini (yaz) ve D vitamini (kış) verileri için Box-Cox dönüşümü uygulanarak dağılımlar normalize edilmiştir. Dönüşümden sonra elde edilen veriler Bhattacharya, Hoffmann, Non-parametrik yöntemlerde kullanılmıştır. Arzideh yönteminde ise veriler üzerinde herhangi bir dönüşüm yapılmamıştır.



Şekil 16 . PTH, D vitamin kış, D vitamin yaz Box-Cox dönüşümü sonrası histogramları

Şekil 16’ da PTH, D vitamin kış ve D vitamin yaz sonuçları box-cox dönüşümünden sonraki dağılımları görülmektedir. PTH, D vitamin yaz ve D vitamin kış verilerinin transformasyondan sonraki dağılım özellikleri incelenmiştir. Buna göre, PTH verilerinin %95.3, D vitamin yaz verilerinin %96.4 ve D vitamin kış verilerinin %96.2 oranında ilgili ortalama değerlerin ± 2 standart sapma aralığı içerisine girdiği anlaşılmıştır. Bu bulgular, verilerin normal dağılıma büyük ölçüde uyum sağladığını ve ortalamaya yakın bir yayılım gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Bhattacharya yönteminde kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamini (yaz) ve D vitamini (kış) referans aralık hesaplamaları için sırasıyla 7408, 7289, 6592, 3816 ve 4181 veri kullanılmıştır. Bhattacharya yönteminde elde edilen tüm veriler, kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamini (yaz) ve D vitamini (kış) için sırasıyla sınıf aralığı (h) olarak 5 (0,478), 8 (0,5), 8 (2,191), 6 (1,520) ve 6 (1,489) eşit aralıklı sınıflara ayrılmıştır. Her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri Tablo 8 - Tablo 12’da gösterilmiştir.

Tablo 8. Kalsiyum testi için her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri

Alt Sınır	Üst Sınır	Orta Nokta	Frekans	LogFrekans	Delta
8,41	8,88	8,7	334	2,523746	0,694789
8,88	9,37	9,2	1654	3,218536	0,285119
9,37	9,84	9,6	3189	3,503655	-0,22353
9,84	10,32	10	1906	3,280123	-0,76824
10,32	10,81	10,5	325	2,511883	-2,51188

Tablo 9. Fosfor için her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri

Alt Sınır	Ust Sınır	Orta Nokta	Frekans	Log Frekans	Delta
1,9	2,4	2,2	134	2,127105	0,792496
2,4	2,9	2,8	831	2,919601	0,429288
2,9	3,5	3,3	2233	3,348889	0,034388
3,5	4,1	3,8	2417	3,383277	-0,33097
4,1	4,7	4,4	1128	3,052309	-0,3577
4,7	5,3	5	495	2,694605	-0,99564
5,3	5,9	5,4	50	1,69897	-1,69897

Tablo 10. PTH için her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri

Alt Sınır	Ust Sınır	Orta Nokta	Frekans	Log Frekans	Delta
1,464102	3,655102	2,431704	151	2,178977	0,370026
3,656854	5,847854	5,071068	354	2,549003	0,371642
5,848567	8,039567	7,121403	833	2,920645	0,220177
8,059821	10,25082	9,224972	1383	3,140822	0,045286
10,26377	12,45477	11,32666	1535	3,186108	-0,10225
12,46375	14,65475	13,44021	1213	3,083861	-0,22173
14,66133	16,85233	15,57839	728	2,862131	-0,26553
16,85736	19,04836	17,83935	395	2,596597	-2,5966

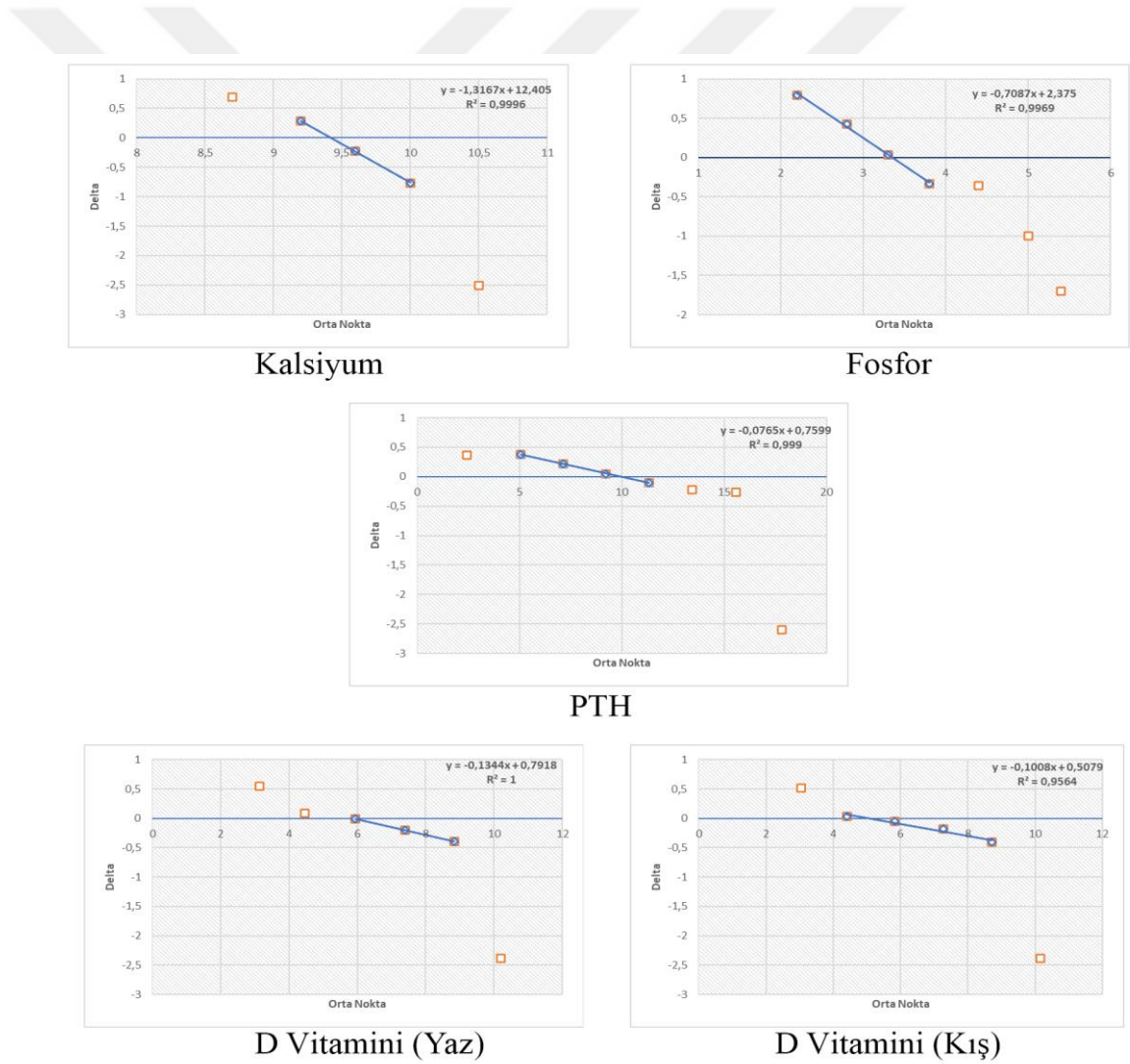
Tablo 11. Yaz dönemi D vitamini her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri

Alt Sınır	Üst Sınır	Orta Nokta	Frekans	Log Frekans	Delta
2,09878	3,619183	3,134193	228	2,357935	0,544068
3,621388	5,14179	4,452906	798	2,902003	0,087892
5,144228	6,664631	5,932213	977	2,989895	-0,00492
6,667179	8,187582	7,4	966	2,984977	-0,20394
8,188229	9,708631	8,837896	604	2,781037	-0,39543
9,709825	11,23023	10,1918	243	2,385606	-2,38561

Tablo 12. Kış dönemi D vitamini her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri

Alt Sınır	Üst Sınır	Orta Nokta	Frekans	Log Frekans	Delta
2,09878	3,587695	3,043807	306	2,485721	0,512538
3,589275	5,07819	4,414047	996	2,998259	0,03234
5,079548	6,568463	5,838367	1073	3,0306	-0,05655
6,569714	8,058629	7,267146	942	2,974051	-0,18096
8,059821	9,548736	8,718209	621	2,793092	-0,40749
9,551623	11,04054	10,14907	243	2,385606	-2,38561

Kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamin kış ve D vitamin yaz dönemi testi için her bir orta değer ile elde edilen delta değerlerinin saçılım grafiği Şekil 17’de gösterildi.



Şekil 17. Kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamin kış ve D vitamin yaz dönemi testi için her bir orta değer ile elde edilen delta değerlerinin saçılım grafiği

Sağlıklı olduğu düşünülen doğrusal noktalar kümesindeki orta noktalar ile delta değerleri arasındaki korelasyon katsayıları kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamini (yaz) ve D vitamini (kış) için sırasıyla -0,9996, -0,9969, -0,999, -1 ve -0,9564 olarak bulundu.

Sağlıklı olarak kabul ettiğimiz alt gruplar için hesaplanan regresyon denklemleri;

$$\text{Kalsiyum: } y=12,405-1,3167x$$

$$\text{Fosfor: } y=2,375-0,7087x$$

$$\text{PTH: } y=0,7599-0,0765x$$

$$\text{D vitamin yaz: } y=0,7918-0,1344x$$

$$\text{D vitamin kış: } y=0,5079-0,1008x$$

Her test için bulduğumuz doğruların y-ekseninde 0'ı kestiği λ değeri hesaplandı. λ değeri kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamini (yaz) ve D vitamini (kış) için sırasıyla 9,42; 3,35; 9,93; 5,89 ve 5,04 olarak hesaplandı. Bulunan bu değerlerden yola çıkarak her testin ortalama (μ) ve standart sapma (σ) değerleri Eşitlik 1 ve Eşitlik 2 yardımı ile hesaplandı.

$$\text{Ortalama}=\mu=\lambda+h/2 \quad \text{Eşitlik 1}$$

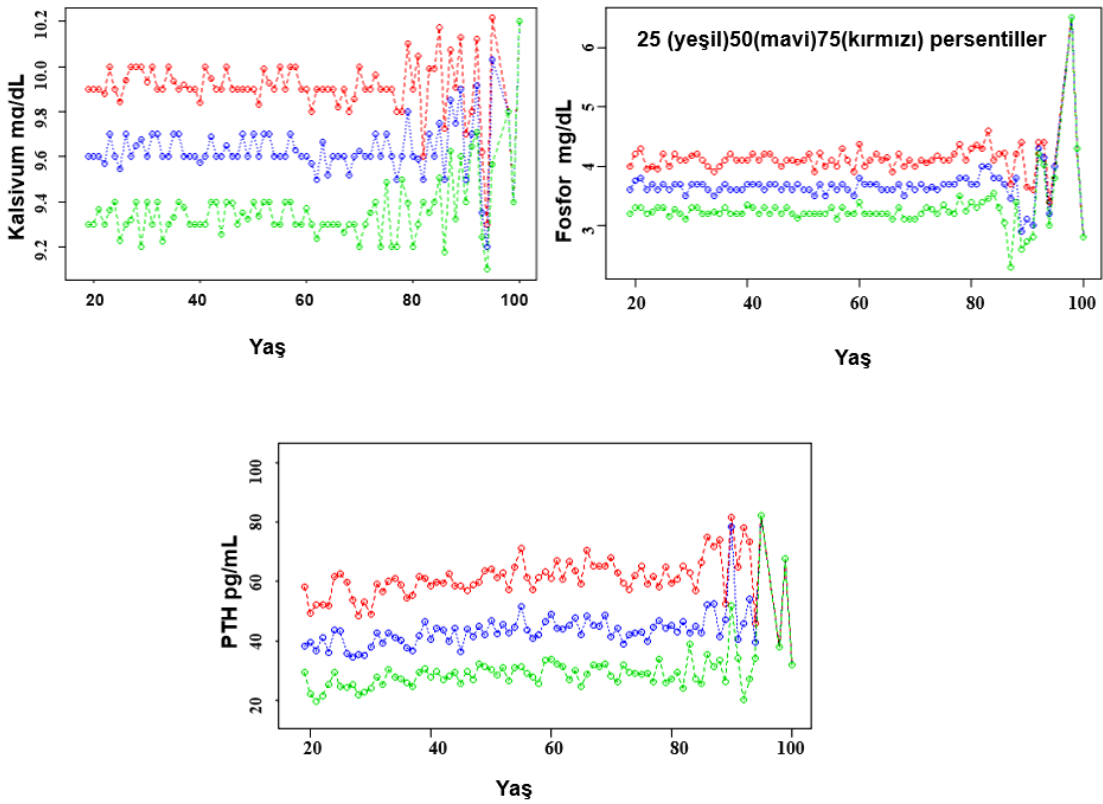
$$\text{Varyans}=\sigma^2=-h/eğim-h^2/12 \quad \text{Eşitlik 2}$$

Formülde $\mu \pm 2 \sigma$ yerine konularak referans aralıklar hesaplandı. Hesaplanan referans aralıklar Tablo 13'de gösterildi.

Tablo 13. Bhattacharya yöntemi ile bulunan kalsiyum, fosfor, PTH ve D vitamini yaz-kış referans aralıkları

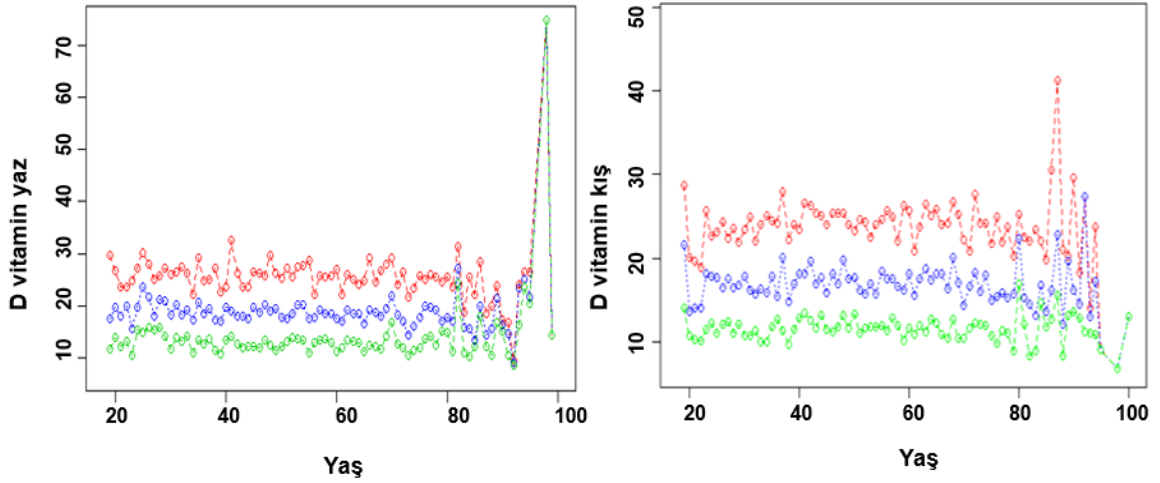
Çalışılan Testler	Referans Aralık
Kalsiyum	8,5-10,8 mg/dL
Fosfor	1,9-5,3 mg/dL
PTH	16,2-68,7 pg/dL
D vitamin yaz	4,8-32,4 ng/mL
D vitamin kış	4,2-31,7 ng/mL

Arzideh yönteminde veri analizinden önce ilk olarak yaş ve aylara göre değişim düzeyleri değerlendirildi. Şekil 18’de, kalsiyum, fosfor ve PTH sonuçlarının yaşa göre medyan değerleri ve 25. ile 75. persentil aralıkları gösterilmektedir. Grafiğe göre, kalsiyum düzeylerinin 75 yaşına kadar istikrarlı bir seyir izlemektedir. Ancak, 75 yaşından itibaren kalsiyum düzeylerinde dalgalanmalar meydana geldiği görülmektedir. 85 yaşından itibaren de fosfor düzeylerinde belirgin dalgalanmalar olduğu görülmekte olup, ortalama 100 yaşında pik yapmıştır. Kalsiyum ve fosfor kadar istikrarlı olmasa da PTH da ortalama 90 yaşına kadar düzenli olup daha sonra dalgalanma göstermiştir.



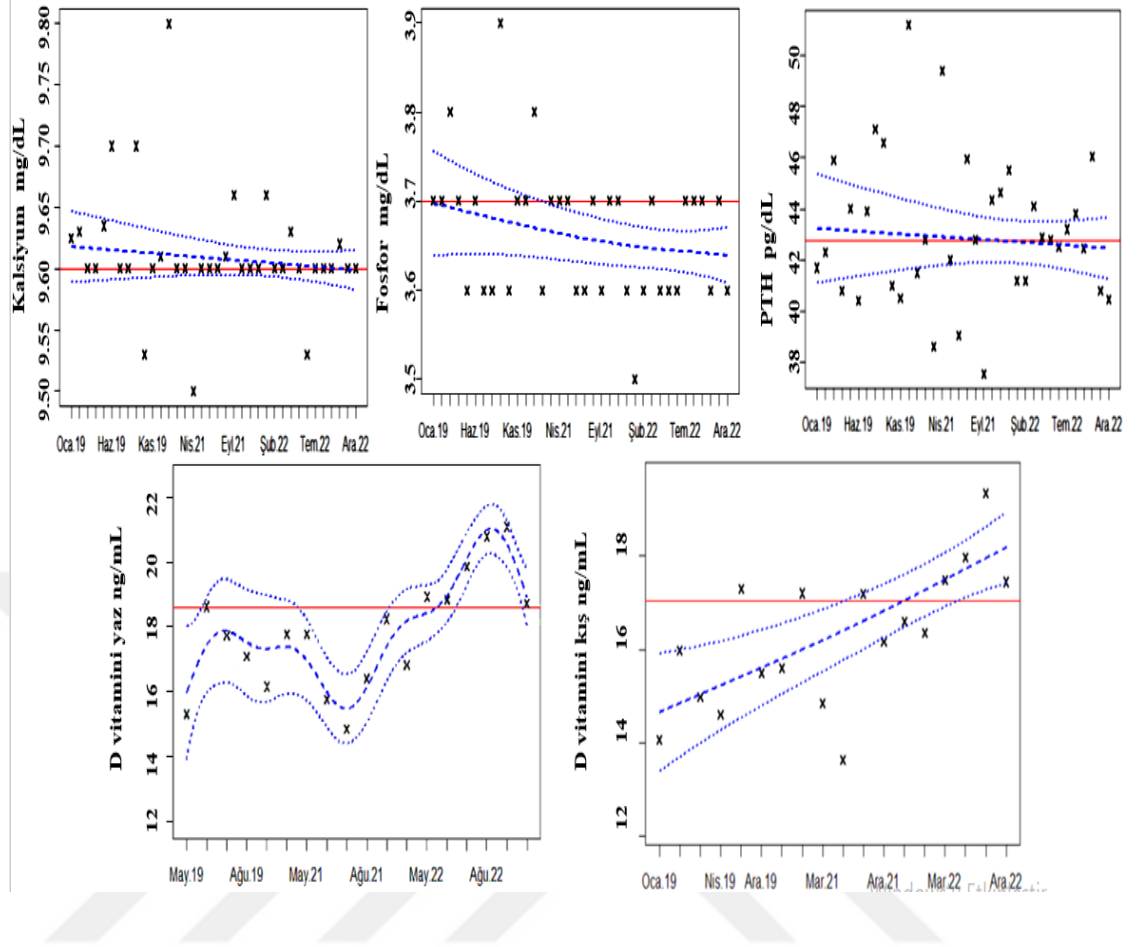
Şekil 18. Kalsiyum, fosfor ve PTH testinde yaşa göre persentil grafiği

Şekil 19’da, D vitamin yaz ve kış sonuçlarının yaşa göre medyan değerleri ve 25. ile 75. persentil aralıkları gösterilmektedir. Grafik incelendiğinde, D vitamin düzeylerinin 80 yaşına kadar istikrarlı bir seyir izlediği görülmektedir. Ancak, 80-90 yaş arasında dalgalanmalar farkedilmektedir. Ortalama 95-100 yaş aralığında tüm çizgilerde D vitamin yaz dönemi düzeylerinde belirgin bir pik olduğu görülmektedir.



Şekil 19. D vitamini yaz ve kış dönemi yaşa göre persentil grafiği

Şekil 20’de, 2019 yılının ocak ayından 2022 yılının aralık ayına kadar elde edilen kalsiyum, fosfor, PTH ve D vitamini yaz-kış sonuçlarının aylık medyan değerleri gösterilmektedir. Medyan değerleri kalsiyum için 9,5 – 9,8 mg/dL; fosfor için 3,5-3,9; PTH için 37,6 – 51,2 pg/mL, D vitamini (yaz) için 14,5 – 20,7 ve D vitamini (kış) için 13,3-19 ng/mL ve aralığında değişmektedir. Aylık medyan değerlerindeki varyasyon katsayıları kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamini (yaz) ve D vitamini (kış) için sırasıyla 0,5; 2,1; 6,7; 9,8 ve 9,2 olarak bulunmuştur (Şekil 19).



Şekil 20. Kalsiyum, fosfor, PTH ve D vitamini testlerinde medyan değerlerin zaman grafiği

Tablo 14’te, çalışmaya dahil edilen bireylerin kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamini (yaz) ve D vitamini (kış) düzeylerine ait Arzideh yönteminde kullanılan temel tanımlayıcı istatistiksel parametreler gösterilmektedir. Bu parametreler, ilgili testlerin dağılımlarını ve merkezi eğilimlerini özetlemektedir.

Tablo 14. Arzideh yöntemi - tanımlayıcı değerler

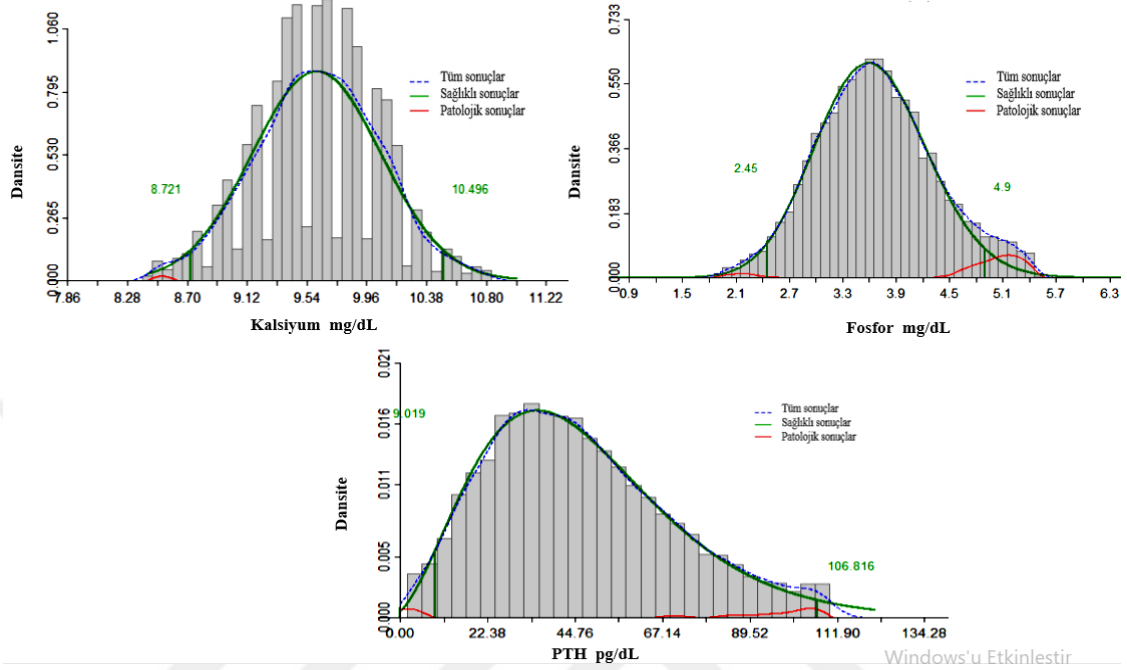
	N	Mod	Ortalama	Medyan	SD	Min	Maks
Kalsiyum	7408	9,6	9,6	9,6	0,44	8,4	10,8
Fosfor	7707	3,63	3,7	3,7	0,7	1,5	9,2
PTH	6592	32,7	46	42,8	23,7	3	110,2
D Vitamini (Yaz)	3946	11,6	20,5	18,6	11,2	4,2	150
D Vitamini (Kış)	4301	11,3	19,2	17,1	11,2	4,2	150

Tablo 15, çalışmaya dahil edilen bireylerin kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamini (yaz) ve D vitamini (kış) düzeylerine ait ortalama (μ), standart sapma (σ), dönüşüm parametresi (λ), Arzideh yöntemi ile elde edilen alt ve üst limit değerlerini (güven aralıklarıyla birlikte) özetlemektedir.

Tablo 15. Arzideh yöntemi ile bulunan referans aralıklar

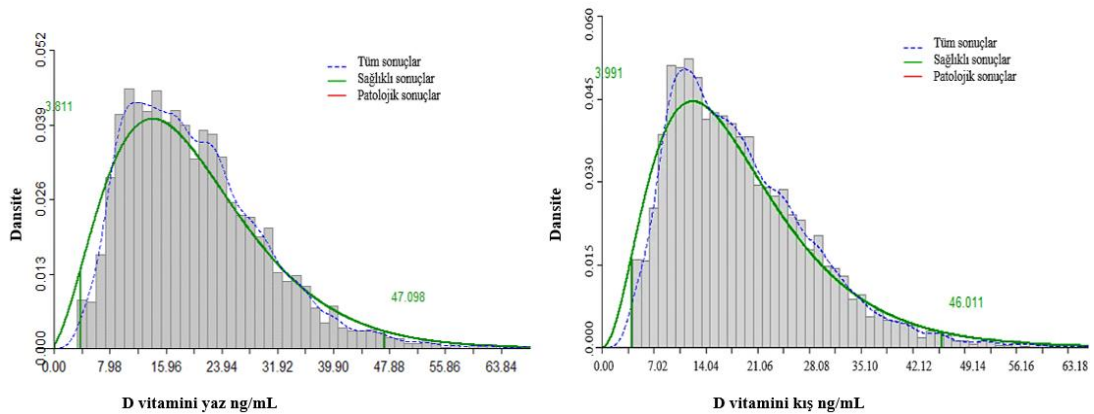
	μ	σ	λ	Alt limit (GA)	Üst limit (GA)
Kalsiyum	8,6	0,45	1	8,7 (8,5 – 9)	10,5 (10,2- 10,8)
Fosfor	2,1	0,44	0,7	2,45 (2,3 – 2,6)	4,9 (4,6- 5,2)
PTH	9,9	3,1	0,5	9 (7,6 - 10,5)	106,8 (97- 116,7)
D Vitamini (Yaz)	5,4	1,8	0,4	3.8 (3,2 - 4,4)	47,1 (42.- 51,5)
D Vitamini (Kış)	4,2	1,3	0,3	4 (3.4 - 4,6)	46 (41,8 -50,2)

Şekil 21’de kalsiyum, fosfor, PTH testleri için Arzideh yöntemi ile hesaplanan sonuçların dansiteye göre konsantrasyon grafikleri verilmiştir.



Şekil 21. Kalsiyum, fosfor, PTH arzideh yöntemi sonuçları dansiteye göre konsantrasyon grafikleri

Şekil 22’de D vitamini (yaz) ve D vitamini (kış) için Arzideh yöntemi ile hesaplanan sonuçların dansiteye göre konsantrasyon grafikleri verilmiştir.



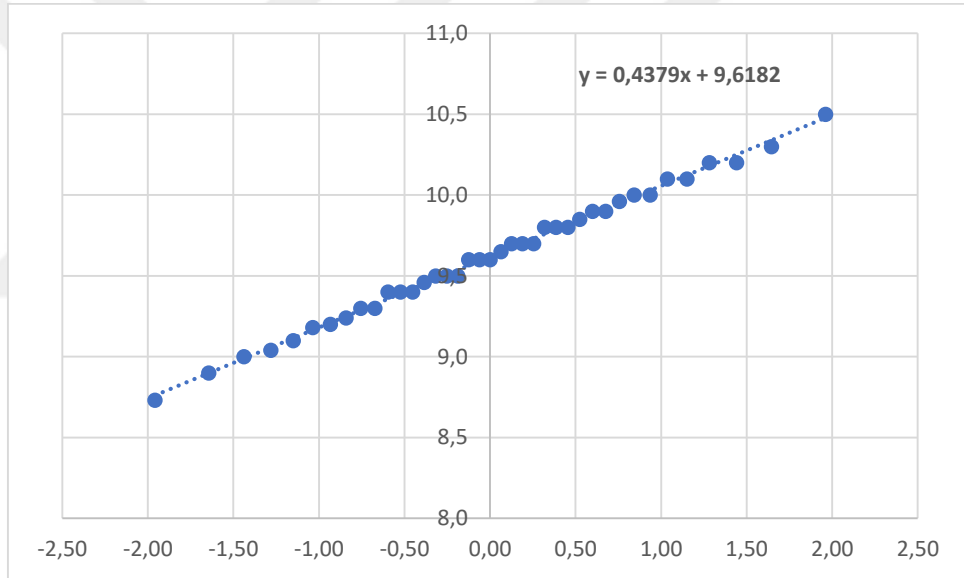
Şekil 22. D vitamini yaz ve kış dönemi arzideh yöntemi sonuçları dansiteye göre konsantrasyon grafikleri

Şekil 21 ve Şekil 22’de, tüm veri seti (mavi çizgi), patolojik olmayan değerler (yeşil çizgi) ve patolojik değerlerin (kırmızı çizgi) tahmini dağılımları gösterilmektedir. Şekilde kalsiyum ve fosfor değerlerinin yoğunluk dağılımı mg/dL, PTH yoğunluk dağılımı pg/mL, D vitamini yoğunluk dağılımı cinsinden ng/mL yatay eksen ve yoğunluklar (dansite) dikey eksen de belirtilmiştir. Tüm veri setinin dağılımı, mavi kesikli çizgi ile gösterilmiş olup, test değerlerinin genel dağılımını temsil etmektedir. Patolojik değerlerin dağılımı kırmızı, patolojik olmayan değerlerin dağılımı yeşil eğri ile temsil edilmiştir. Gri sütunlar, gözlemlenen test değerlerinin frekans dağılımını göstermektedir ve bu sütunlar üzerinde mavi, yeşil ve kırmızı çizgilerle belirtilen teorik dağılımlar gözlemlenebilir.

Şekil 21’de, kalsiyum lambda (λ) değeri 1 ve fosfor lambda (λ) değeri 0,7 olması bu testlerde dağılım şeklinin normal olduğunu gösterir. Grafikten elde edilen bilgilere göre, kalsiyum için 8,721 mg/dL ile 10,496 mg/dL arası; fosfor için 2,45 mg/dL ile 4,9 mg/dL arası referans aralıkları olarak belirlenmiştir. Kalsiyum patolojik değerleri belirtilen aralık dışında kalmakta ve düşük frekanslarda görülmektedir. Fosforun patolojik değerleri de belirtilen aralık dışında kalmakta; hem düşük hem de yüksek frekanslarda görülmektedir. Her iki durum, kalsiyum ve fosforun genellikle normal sınırlar içinde seyrettiğini ve patolojik değerlerin nadir olduğunu ifade etmektedir. PTH lambda (λ) değeri 0,5 olup 9,019 pg/dL ile 106,816 pg/dL arası referans aralığı olarak belirlenmiştir. Şekil 21’de görüldüğü üzere PTH patolojik değerleri düşük frekanslarda nadir olup genellikle yüksek frekanslarda yoğunlaşmıştır.

Şekil 22’de D vitamin kış ve yaz dönemi dağılımının şekilleri sola çarpıktır. Her iki grafikte de patolojik değerler düşük frekanslardadır. D vitamin kış dönemi lambda (λ) değeri 0,3; D vitamin yaz dönemi lambda (λ) değeri ise 0,4’tür. Grafiklerden elde edilen bilgilere göre, D vitamin kış değeri için 4 mg/dL ile 46 pg/mL arası; D vitamin yaz için 3,8 ile 47,1 ng/mL arası referans aralığı olarak belirlenmiştir. Patolojik değerler bu aralıkların dışında kalmıştır.

Hoffman yöntemi ile elde edilen referans aralıkları, test düzeylerinin popülasyondaki dağılımını ve bu dağılımın güvenilir aralıklarını göstermektedir. Hoffman yöntemi ile oluşturulan şekiller incelendiğinde, x ekseninde standart sapmaların ve y ekseninde test düzeylerinin doğrusal ilişki gösterdiği görülmektedir. Elde edilen ortalama değerleri kalsiyum ve fosfor için sırasıyla 9,6 ve 3,7; Box-Cox ile dönüştürülen PTH, D vitamini (yaz) ve D vitamini (kış) testleri için sırasıyla 9,6; 3,7; 11,1; 6,6 ve 6,3 olduğu görülmektedir. Tüm testlerde, verilerin ortalamaya yakın değerlerde yoğunlaştığı ve testlerin değerlerinde geniş yayılım olmadığı anlaşılmaktadır. Tüm testler için Hoffman grafikleri Şekil 23 ile Şekil 27 arasında gösterilmektedir.



Şekil 23. Kalsiyum-Hoffman Q-Q (çeyrek-çeyrek) dilim grafiği

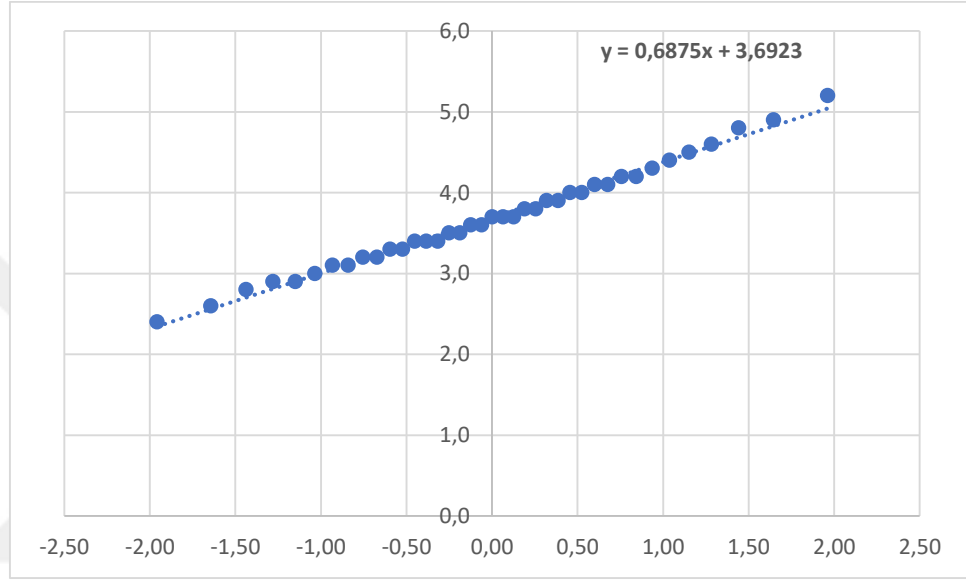
Hoffmann yöntemi ile oluşturulan şekilde görülen doğrusal regresyon denklemi $y = 0,4379x + 9,6182$

Bu denkleme göre, kalsiyum değerlerinin ortalama ve standart sapma (SD) değerleri aşağıdaki gibidir:

- Ortalama değeri: 9,6 mg/dL
- SD: 0,44 mg/dL

Referans aralık tahminleri ise şu şekildedir:

- Alt limit tahmini: 8,8 mg/dL
- Üst limit tahmini: 10,5 mg/dL



Şekil 24. Fosfor-Hoffman Q-Q (çeyrek-çeyrek) dilim grafiği

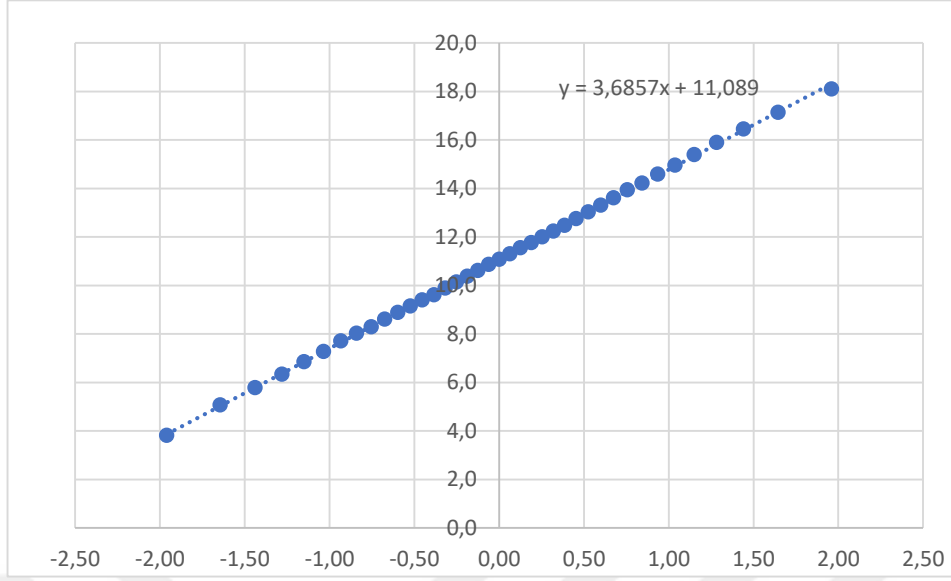
Hoffmann yöntemi ile oluşturulan şekilde görülen doğrusal regresyon denklemi $y = 0,6875x + 3,6923$

Bu denkleme göre, fosfor değerlerinin ortalama ve standart sapma (SD) değerleri aşağıdaki gibidir:

- Ortalama değeri: 3,7 mg/dL
- SD: 0,7 mg/dL

Referans aralık tahminleri ise şu şekildedir:

- Alt limit tahmini: 2,3 mg/dL
- Üst limit tahmini: 5 mg/dL



Şekil 25. PTH-Hoffman Q-Q (çeyrek-çeyrek) dilim grafiği

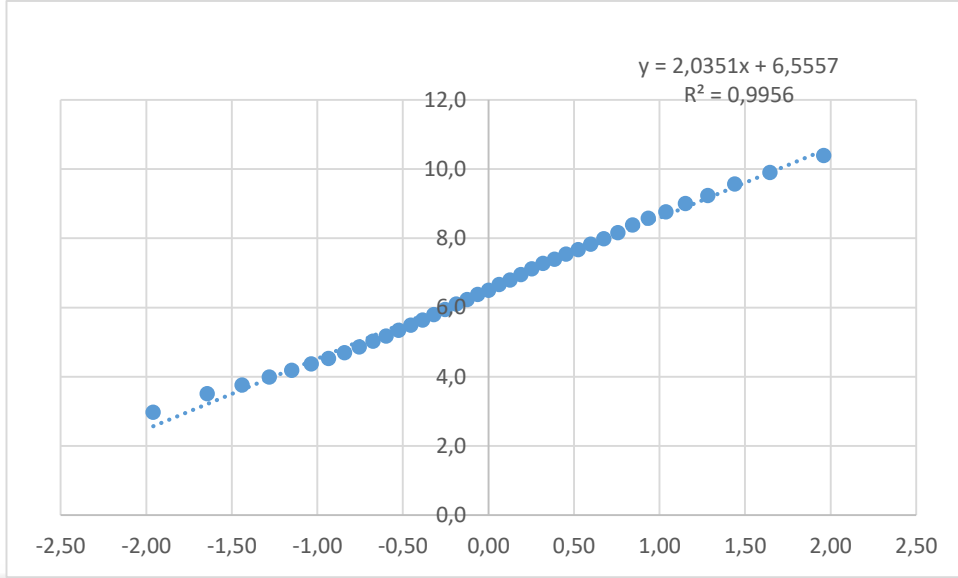
Hoffmann yöntemi ile oluşturulan şekilde görülen doğrusal regresyon denklemi $y = 3,6857x + 11,089$

Bu denkleme göre, PTH değerlerinin ortalama ve standart sapma (SD) değerleri aşağıdaki gibidir:

- Ortalama değeri: 11,1
- SD: 3,7

Referans aralık tahminleri, Box-Cox dönüşümünün tersine çevrilmesinden sonra aşağıdaki gibidir:

- Alt limit tahmini: 8,6 pg/mL
- Üst limit tahmini: 103,2 pg/mL



Şekil 26. D vitamin yaz dönemi Hoffman Q-Q (çeyrek-çeyrek) dilim grafiği

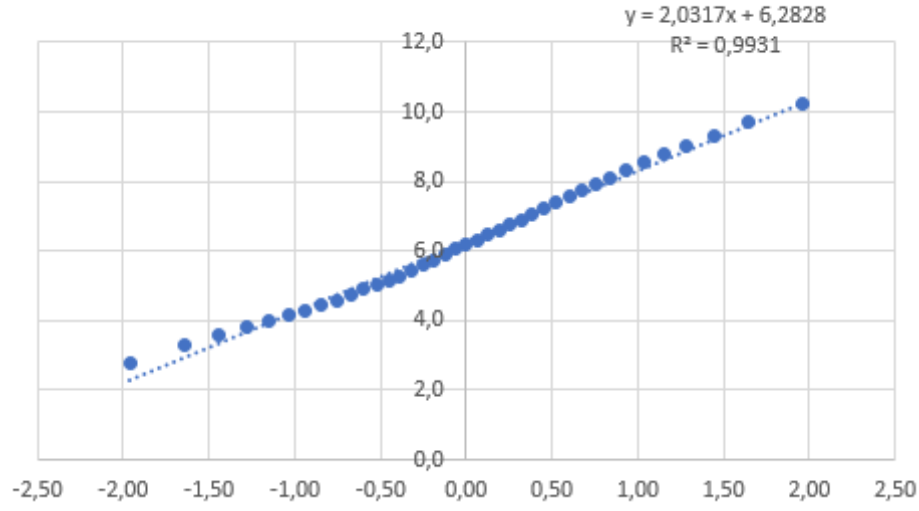
Hoffmann yöntemi ile oluşturulan şekilde görülen doğrusal regresyon denklemi $y = 2,0351x + 6,5557$

Bu denkleme göre, D vitamini yaz dönemi değerlerinin ortalama ve standart sapma (SD) değerleri aşağıdaki gibidir:

- Ortalama değeri: 6,1
- SD: 2

Referans aralık tahminleri, Box-Cox dönüşümünün tersine çevrilmesinden sonra aşağıdaki gibidir:

- Alt Limit tahmini: 5,2 ng/mL
- Üst Limit tahmini: 39,3 ng/mL



Şekil 27. D vitamin kış dönemi Hoffman Q-Q (çeyrek-çeyrek) dilim grafiği

Hoffmann yöntemi ile oluşturulan şekilde görülen doğrusal regresyon denklemi $y = 2,0317x + 6,2828$

Bu denkleme göre, D vitamini yaz dönemi değerlerinin ortalama ve standart sapma (SD) değerleri aşağıdaki gibidir:

- Ortalama değeri: 6,5
- SD: 2

Referans aralık tahminleri, Box-Cox dönüşümünün tersine çevrilmesinden sonra aşağıdaki gibidir:

- Alt Limit tahmini: 4,62 ng/mL
- Üst Limit tahmini: 37,61 ng/mL

Nonparametrik yöntem kullanılarak belirlenen referans aralık değerleri Tablo 16’da gösterilmiştir.

Tablo 16. Nonparametrik yöntemle belirlenen referans aralıkları

Çalışılan testler	Referans aralıklar
Kalsiyum	8,7-10,5 mg/dL
Fosfor	2,4-5,2 mg/dL
PTH	11-67 pg/dL
D vitamin yaz	6,2 – 38,4 ng/mL
D vitamin kış	5,7 – 37,5 ng/mL

Dört yöntem ile elde edilen referans aralıkları, üretici firmanın kit insörtlğinde belirtilen referans aralıklar ve hastanede mevcut kullanılan referans aralık değerleri Tablo 17’da gösterilmiştir.

Tablo 17. Kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamini yaz ve D vitamini kış dönemi referans aralıkları

	Kalsiyum (mg/dL)	Fosfor (mg/dL)	PTH (pg/dL)	D vitamini yaz (ng/mL)	D vitamini kış (ng/mL)
Kit insörtü	8,7-10,4	2,4-5,1	18,5-88	7,4 - 44	7,4 – 44
Hastane	8,4-10,2	2,3-5,1	11-67	15,7 – 60,3	8,8 – 46,3
Nonparametrik	8,7-10,5	2,4-5,2	8,46-101	6,2 – 38,4	5,7 – 37,5
Arzideh	8,7-10,5	2,5-4,9	9-106,8	3,8 – 47,1	4 - 46
Hoffmann	8,8-10,5	2,3-5	8,6-103,2	5,2 - 39,3	4,6 – 37,6
Bhattacharya	8,5-10,8	2-5,3	16,2- 68,7	4,8 – 32,4	4,2 – 31,7

5. TARTIŞMA

Hatay bölgesi Eti-Türk yoğun olan bir bölge olup nüfus yapısı yönünden Türkiye’den farklılık göstermektedir (112). Mevcut çalışmada hastanemize başvuran hastaların laboratuvar sonuçları üzerinden nonparametrik, Arzideh, Hoffman ve Bhattacharya yöntemleri kullanılarak D vitamini, kalsiyum, fosfor ve PTH için referans aralıkları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar üretici firma ve hastanemizde kullanılmakta olan referans aralıkları ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda, elde edilen sonuçların analitik performansını değerlendirmek amacıyla testlerin aylara göre medyan değerleri ve bu değerlerin varyasyon katsayıları hesaplanmıştır. Aylık medyan değerlerindeki varyasyon katsayıları kalsiyum, fosfor, PTH, D vitamini (yaz) ve D vitamini (kış) için sırasıyla %0,5; %2,1; %6,7; %9,8 ve %9,2 olarak bulunmuştur (Şekil 18). Hastaneye başvuran bireylerin değişkenlik gösterdiği göz önünde bulundurularak, bu varyasyon katsayılarının performansı bireyler arası biyolojik varyasyon (CVG) değerleri ve analitik varyasyon (CVA) değerleri ile kıyaslanarak değerlendirilmiştir. EFLM biyolojik varyasyon sayfasında belirtilen CVG medyan değerleri, kalsiyum için %2,7, fosfor için %10,7, PTH için %28,9 ve D vitamini için %30,1'dir (136). Üretici firma kit insörtlğinde belirtilen CVA değerleri ise kalsiyum, fosfor, PTH ve D vitamini için sırasıyla; % 1,4; % 2,6; % 4,6 ve % 9,9'dur. Çalışmamızda, tüm testler için aylık medyan değerlerinin CVG ve CVA değerlerinden küçük olduğu ve tüm aylarda elde edilen medyan değerlerinin CVG ile hesaplanan sınırlar içerisinde kaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, analiz sürecinde herhangi bir kit ve kalibrasyon lot değişikliği gibi nedenlere bağlı olarak sonuçlarda bir sapma olmadığını ve cihaz arızası veya kit ve kalibrasyon hataları gibi sistematik hataların olmadığını göstermektedir. Elde edilen bu veriler, analitik süreçlerin doğruluğunu ve güvenilirliğini teyit etmektedir. Bu nedenle, referans aralıklarının belirlenmesinde tüm dönem boyunca elde edilen verilerin kullanılması uygun görülmektedir. Dolayısıyla, referans aralık hesaplamalarında herhangi bir ay dışlanmamıştır. Bu çalışmada, analitik performansın güvenilir bir şekilde değerlendirilmesi ve sonuçların doğruluğunun teyit edilmesi, tıbbi kararların güvenilirliğini artırmakta ve klinik uygulamalarda doğru tanı ve tedavi süreçlerine katkı sağlamaktadır.

Çalışmamızda, kalsiyum ve fosfor için, Bhattacharya dışında diğer yöntemlerle bulduğumuz referans aralıklar birbirine benzerdi. Bhattacharya yöntemi ile bulduğumuz kalsiyum ve fosfor referans aralıklar ise diğerlerinden daha geniştir.

Ülkemizde Bhattacharya yöntemi referans aralık belirlemede sık kullanılmıştır (Tablo 18). Tablo 18 incelendiğinde; kalsiyum ve fosfor değerlerimizin İstanbul(137) ve Erzurum (139) illerindeki çalışmalara benzer olduğu, Trabzon (138) ve Gaziantep (140) illerinde yapılan çalışmalarla farklılık gösterdiği görülmektedir.

Tablo 18. Bhattacharya yöntemini kullanarak bulunan kalsiyum ve fosfor referans aralık değerleri

Referans Aralıklar	Kalsiyum (mg/dL)	Fosfor (mg/dL)
Elde edilen referans aralık	8,5-10,8	2-5,3
İstanbul (137)	8,4-10,3	2- 4,7
Erzurum (138)	8,2-10,8	2,1 -4,7
Trabzon (139)	8,8-10,3	2,6-4,7
Gaziantep (140)	9-10,6	2,4 -4,5
Danimarka (141)	9-10,2	-

Danimarka’da 2018 yılında Bhattacharya yöntemi ile yapılan bir çalışmada kalsiyum referans aralığı: 9-10,2 mg/dL bulunmuştur (141) (Tablo 18).

Toprakçı’nın nonparametrik yöntemle retrospektif kalsiyum referans aralık çalışmasından elde ettiği 8,8-10,5 mg/dL aralığı bizim nonparametrik yöntemle bulduğumuz başta olmak üzere Hoffmann, Arzideh yöntemleri ve firma aralıklarına benzerdir (126).

Çin’de, 2014-2018 yılları arası nonparametrik yöntemle LBYS’ten yapılan bir çalışmada kalsiyum referans aralığı: 8,4-10,1 mg/dL; fosfor referans aralığı: 2,6-4,7 mg/dL olarak bulunmuştur (142). Bu aralıklar hastanemiz aralıklarına çok benzemektedir. Bizim üst limitlerimiz daha yüksektir.

Literatürde Hoffmann yöntemi ile LBYS’den kalsiyum referans aralık belirleme çalışması sınırlıdır. Amerika Birleşik Devletleri’nde hastane verileri kullanılarak Hoffmann yöntemi ile kalsiyum referans aralığı 8,9-10 mg/dL bulunmuştur (143). Bu çalışmanın alt limiti Hoffmann alt limitimizle uyumluyken,

bizim üst limitimiz yüksektir. Bununla birlikte Hoffmann ve arkadaşlarının manuel Hoffmann yöntemi ile elde ettiği kalsiyum referans aralığı, bizim Hoffmann yöntemi ile bulduğumuz referans aralıklarla uyumludur (143). Çin ve Amerika'daki çalışmalarla kalsiyum üst limitlerimizin farklılığının, kullanılan cihaz ve kit farklılığı, diyet alışkanlıkları veya genetik farklılıklardan kaynaklandığı düşünülebilir.

Fosfor için Tablo 18 incelendiğinde; bizim alt limitimiz, kalsiyum alt limitinde olduğu gibi, en çok İstanbul ilindeki Anayurt çalışmasına benzerdir (137). Erzurum ilinde Polat'ın bulduğu alt limite de çok yakındır (139). Üst limitler değerlendirildiğinde İstanbul, Trabzon, Erzurum birbiriyle aynı, Gaziantep ili bunlara yakındır. Bizim üst limitimiz ise hepsinden yüksektir (137-140). Dolayısıyla daha önce farklı illerde Bhattacharya yöntemi ile bulunmuş fosfor referans aralıklarından daha geniş bir fosfor aralığına sahip olduğumuz söylenebilir. Literatürde Bhattacharya yönteminin daha geniş referans aralıkları belirleme eğiliminde olduğu belirtilmiştir. Çünkü bu yöntemde veri seti içindeki bileşenler ayrılırken varyans ve dağılım özellikleri dikkate alınmaktadır. Bizim çalışmamızda fosfor referans aralığının diğer çalışmalara ve yöntemlere kıyasla daha geniş olmasının nedeninin fosforun varyansının yüksek olmasından kaynaklandığı söylenebilir.

Bursa ilinde LBYS'den 2011-2016 yılları arasındaki veri tabanı ile Hoffmann, Bhattacharya ve Arzideh yöntemi kullanılarak bulunan kalsiyum ve fosfor referans aralıkları Tablo 19'da gösterilmiştir (144).

Tablo 19. Bursa ili indirekt yöntemle kalsiyum ve fosfor referans aralıkları (144)

Referans Aralıklar		
İndirekt Yöntemler	Kalsiyum (mg/dL)	Fosfor(mg/dL)
Hoffmann	8,6 - 10,3	2,3 - 4,7
Bhattacharya	8,6 - 10,2	2,4 - 4,6
Arzideh	8,7 - 10,2	2,4 - 4,6

Bu aralıklarla bizim elde ettiklerimiz aralıklar uyumludur. Ancak karşılaştırıldığında; klinik ve istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bizim üst limitlerimizin yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 19).

Türkiye’de direkt ya da indirekt yöntemle PTH referans aralık çalışması sınırlı sayıdadır. Kocaeli ilinde sağlıklı bireylerle yapılan çalışmada D vitamini yanında PTH’un da referans aralığı hesaplanmıştır. Bu aralık 6,1-66,8 pg/mL’dir ve özellikle şuan kullandığımız hastane aralığıyla uyumludur. LBYS’ten Bhattacharya yöntemiyle hesapladığımız 16,2-68,5 pg/mL aralığına göre bizdeki üst ve alt limitler yüksektir. Ancak yine de aralıklar karşılaştırılabilir. Diğer aralıklarımızın hiçbiri karşılaştırılabilir değildir (145).

İstanbul ilinde 2017-2018 yıllarında sağlıklı gönüllülerle PTH referans aralık çalışması yapılmıştır. Katılımcıların D vitamin düzeyi durumuna göre PTH değerleri sınıflandırılmış, daha sonra D vitamininden bağımsız genel PTH aralığı hesaplanmıştır. Bu çalışmanın değerleri Tablo 20’de verilmiştir (146).

Tablo 20. İstanbul ili D vitaminine bağlı PTH referans aralıkları (146)

D vitamin Düzeyi (ng/mL)	PTH Referans Aralığı (pg/dL)
D vit < 20	37,2-143,3
20< D vitamin<30	31,1-139,7
D vitamin>30	17,6-90,8
D vitamin bağımsız genel popülasyon	20-128

İstanbul ilindeki çalışmada tüm alt ve üst limitler bizim PTH için farklı yöntemlerle bulduğumuz alt ve üst limitlerden çok daha yüksektir (Tablo 20).

Tablo 20 incelendiğinde yeterli D vitamini düzeyi (>30 ng/mL) durumunda, PTH aralığının, kit insörtümümüzdeki sunulan aralıkla uyumlu olduğu görülmektedir. D vitamin düzeyleri düştükçe PTH referans aralığının genişlediği, üst referans sınırın D vitamin düzeyleri ile ters orantılı olduğu anlaşılmaktadır. Bu da çalışmamıza ait PTH üst limitlerinin kit ve hastane limitlerinden çok yüksek çıkmasının sebeplerinden birisinin Hatay ilindeki düşük D vitamini seviyeleri olabileceğini akla getirmektedir.

Erzurum ilinde direkt yöntem ile kadın ve erkekte ayrı ayrı PTH referans aralıkları belirlenmiştir. PTH referans aralığı kadınlarda 15,1- 84,9 pg/mL; erkeklerde 15,1-73,6 pg/mL olarak hesaplanmıştır. D vitamin düzeyi diğer birçok çalışmada

kadınlarda erkeklere göre daha düşük çıktığından bu çalışma için de bu geçerli varsayılabilir. Dolayısıyla kadındaki üst limit yüksekliği D vitamini - PTH ilişkisi ile açıklanabilir. Erzurum ve Elazığ illeri aynı bölgede yer alır. İkisi de kuzeydedir. Bu yüzden Erzurum ili D vitamin düzeylerinin Hatay iline kıyasla düşük olduğu varsayımı akılcıdır. Nitekim Bhattacharya yöntemiyle bizim PTH üst limitimizin bu çalışmaya göre daha düşük olması bu varsayımı desteklemektedir. Erzurum ilindeki PTH referans aralıklarına en yakın olanlar Bhattacharya yöntemi ile bulduğumuz, şu an kullandığımız ve firmanın önerdiği referans aralıklarıdır (147).

PTH obez ve/veya ileri yaşta bireylerde daha yüksektir. Obezlerin D vitamin düzeyi daha düşük olduğu için PTH daha yüksek olabilir. Aynı şekilde, ileri yaşta D vitamin düşüklüğü ya da böbrek glomeruler filtrasyon hızının gençlere göre nispi azalışı PTH yüksekliği oluşturabilir. Literatürde çelişkili sonuçlar olsa da, D vitamini düzeyinin ileri yaşta düştüğünü gösteren çalışmalar mevcuttur. Bizim çalışmamıza dahil edilen bireyler 18-100 yaş arasında olduğundan elde ettiğimiz sonuçlarda yaşın etkisi olabilir. Ancak PTH sadece bu nedenlerle mi yükseliyor yoksa obezite ve yaşlılık farklı mekanizmalarla da PTH'ı yükseltiyor mu sorusunun cevabı halen araştırılmaya muhtaçtır (148).

İndirekt yöntemle D vitamini için referans aralık belirleme çalışmaları ülkemizde Balıkesir, Elazığ, Yozgat gibi illerde yapılmıştır. Bu çalışmaların hepsindeki veri dışlama kriterleri bizim çalışmamıza benzerdir. Balıkesir ilinde 2010-2014 yıllarındaki LBYS veri tabanından bulunan D vitamini genel referans aralığı 6,43-30,0 ng/mL; yaz değerleri 6,73-32,04 ng/mL iken kış değerleri 6,18-26,31 ng/mL 'dir (149). Elazığ ilinde 2013-2015 yıllarındaki LBYS'ten D vitamini genel referans aralığı 5,20-35,20 ng/mL bulunmuştur. Bu çalışmadaki yaz değerleri 5,38-29,16 ng/mL ve kış değerleri 5,20-22,40 ng/mL'tir (150). Her iki çalışmada nonparametrik yöntem kullanılmıştır. Yozgat ilinde ise Bhattacharya yöntemi ile 2015-2017 LBYS taramasında D vitamini referans aralığı 9,5-20,7 ng/mL olup; yaz değerleri 8,4-34,4 ve kış değerleri 3,4-29 ng/mL'dir (151).

Kütahya ilinde yapılan 2017-2021'de yapılan LBYS çalışmasında D vitamin değerleri yaz için 7,1-29,6 ng/mL, kış için 4,7-26 ng/mL'dir. Bizim tüm alt limitlerimiz bu çalışmadaki yaz değerleri alt limitinden düşüktür. Üst limitlerimiz bu çalışmanın

üst limitinden yüksektir. Buna göre bizim bütün aralıklarımız bu çalışmadan daha geniştir. Bu çalışmanın yazın alt limiti kit insörtüne çok benzese de üst limiti kit insörtündekine yakın değildir. Kütahya ilinde kış dönemi üst limitinin de Bhattacharya yöntemi dahil, bize göre çok düşük olduğu dikkat çekmektedir (152). Tablo 21’de birbirine yakın yıllarda indirekt yöntemle bulunan D vitamin referans aralıkları gösterilmiştir.

Tablo 21. İndirekt yöntemle D vitamin referans aralıkları

D vitamin referans aralıkları (Yozgat ili bhattacharya diğerleri nonparametrik)	Yöntem	Yaz	Kış
Hatay	NP	6,15 - 38,37	5,65 - 37,52
Balıkesir (149)	NP	6,73-32,04	6,18-26,31
Kütahya (152)	NP	7,1-29,6	4,7-26
Elazığ (153)	NP	5,38-29,16	5,2-22,4
Yozgat (151)	B	8,4-34,4	3,4-29

Tablo 21’de görüldüğü gibi hem yaz hem de kış döneminde D vitamini üst seviyesi Hatay ili’nde diğerlerinden belirgin yüksektir. Her iki mevsimde D vitamini üst seviyesi en düşük çıkan kuzeydoğudaki Elazığ ili olmuştur. Kış döneminde Balıkesir, Kütahya ve Elazığ illerindeki aralıklar birbirleriyle örtüşmektedir. Yozgat ili bunlara yakındır. Kışın kapalı ortam, kalın giysiler, güneş ışınlarının eğik açıyla gelmesi her ilde birbirine yakın düşük D vitamini değerlerine sebep olabilir. Hatay ilindeki üst limitin yüksekliği ise bu ilin en güneyde olmasından dolayı ılıman kış şartlarına bağlanabilir. Yaz döneminde Hatay iline en yakın aralık Balıkesir iline aittir. Bu, Balıkesir’in kıyı Ege’de yer almasını ve bazı bölgelerinin turistik özelliğini, dolayısıyla popülasyonun yazın açık giyime alışmış olmasını akla getirmektedir. Kütahya, Elazığ, Yozgat illerinde yaz mevsimi üst limitleri düşük çıkmıştır.

Ülkemizde direkt yöntemle yapılan birçok D vitamin düzeyi belirleme çalışması mevcuttur. Ege bölgesinde 2007 kış döneminde yapılmış bir çalışma D vitamin düzeyini 3,8-29,9 ng/mL bulmuştur. Bu çalışma sağlıklı olduğu varsayılan bireylerle yürütülmüştür (154). Gaziantep ili 2016 kış döneminde 18-90 yaş arası bireylerle yapılmış bir çalışma D vitamin düzeyini 9,71-23,51 ng/mL bulmuştur (155).

Bizim üst limitlerimiz bunların üst limitinden yüksektir. Yine benzer şekilde Kayseri ili 2016 yaz döneminde sağlıklı görünen bireylerle yapılan bir çalışmada D vitamini düzeyi 6,04-24,18 ng/mL arasındır. Bulunan alt limit bizim nonparametrik yöntem ile bulduğumuz alt limitle hemen hemen aynı olup, diğer yöntemlerin ve kitin alt limitine yakındır. Ancak üst limitlerimizin tümü bu çalışmanın üst limitinden belirgin yüksektir (156). Bu durum Hatay ilinin coğrafi konumu nedeniyle yazın güneş ışınlarının daha dik açıyla gelmesi, güneşli gün sayısının fazla olması ve giyim tarzı farklılıkları gibi nedenlerden dolayı olabileceği düşünülmektedir.

Kocaeli ilinde sağlıklı bireylerden örnek toplanarak nonparametrik yöntem ile D vitamini referans aralıkları belirlenmiştir. Belirlenen yaz ve kış aralıkları sırasıyla 6,6-42 ng/mL ve 4-34,6 ng/mL'dir. Yaz aralığı kullandığımız kitin aralığına çok benzemektedir. Hesapladıklarımızın içerisinde de en çok nonparametrik ve Hoffmann yöntemi ile elde edilenlere paraleldir (145).

Avustralya'da 2008-2010 yıllarında direkt yöntemle yapılan bir çalışmada Avustralya popülasyonunun yaklaşık beşte birinde D vitamini düzeyi 50 ng/mL 'den az bulunmuştur. Avustralya'nın bol güneşli bir kıta olduğu düşünüldüğünde bu oranın ciddiyeti anlaşılır. D vitamininin özellikle obez bireylerde daha düşük olduğu bu çalışmada da görülmüştür. Avustralya halkı cilt kanserleri konusunda bilinçli bir halktır. Bu nedenle güneşten kaçınma ve GKF kullanımı yaygındır. Çalışmada bunun halkın önemli bir kısmında D vitamini eksikliğine yol açmış olabileceği belirtilmiştir (157).

Japonya'da 2019-2020 yıllarında direkt yöntemle yapılan bir çalışmada D vitamini yaz-kış genel referans aralığı 6-30 ng/mL olarak bulunmuştur. Diyabet olmayan, böbrek ve karaciğer testleri normal olan bireyler çalışmaya katılmıştır. D vitamin ölçümü için altın standart olan tandem kütle spektrometresi kullanılmıştır. Çalışmadan ortaya çıkan sonuç, bireylerin neredeyse tamamında D vitamin eksikliği olduğudur. Çalışmanın yapıldığı Tokyo bol güneşli olduğundan, bu sonucun coğrafi koordinatlarla ilişkili olduğu düşünülmemiştir. D vitamin eksikliği daha ziyade kentsel yaşamın artık çok yaygınlaşması, katılımcıların ofis çalışanı olması, dışarı çıkmadan önce GKF kullanımı gibi modern uygulamaların artmasıyla ilişkilendirilmiştir (158).

Yapılan tüm bu çalışmalarda D vitamini referans aralığının kentsel yaşam, GKF kullanımı, güneşe maruziyetin değişkenliği, coğrafik konum gibi faktörlere göre değiştiği görülmektedir. Hatay ili Türkiye'nin güneyinde olması ve giyim tarzı farklılıkları özellikle yaz aylarında güneş ışınlarına maruziyet süresinin daha uzun ve fazla olmasına neden olmaktadır. D vitamini referans aralık üst sınırının daha yüksek olması bunlarla açıklanabilir. Kış ayları için durum farklıdır. İlginç bir şekilde, yapılan çalışmalardaki (145, 151, 159) kış değerleri bizdeki Bhattacharya sonuçlarına paraleldir. Nonparametrik ve Hoffmann yöntemiyle bulduklarımız da yakın sayılabilir. Ancak hiçbir bölgedeki kış aralığı firmanın verdiği referans aralıkla uyumlu değildir. Hastanemizde kullanılan D vitamini referans aralıkları hem yaz hem de kış dönemi için, çalışmamızla karşılaştırılabilir değildir.

Ülkemizin güneyinde yer alan ve yıl boyu güneş alan Hatay ilinde dahi D vitamin eksikliğinin görülmesi olumsuz VDR gen polimorfizmlerini akla getirebilir. Bazı VDR gen polimorfizmleri D vitamin eksikliğine karşı koruyucu iken bazıları D vitamini eksikliği riskini artırıcı olabilir (159). Yunanistan'da bu konuyla ilgili ilk kez yapılan bir çalışma, Çakır ve ark. (2023) İzmir ilinde yaptığı çalışma ile benzer sonuçlar vermiştir (55). Ancak, VDR polimorfizminin D vitamin seviyelerini etkileyip etkilemediği, etkiliyor ise riskli polimorfizmlerin atanmış bir kategorisi, D vitamini takviyesine olan yanıtların toplumdaki varyasyonu VDR polimorfizmi arasında ilişki olup olmadığı gibi sorulara kesinlik kazandırmak şu an için mümkün değildir. Türkiye'de genetik çalışmaların her alanda olduğu gibi bu konuda da ilerleyeceği varsayılırsa; önümüzdeki yıllarda tıbbi laboratuvarlar kendi genotip profillerini çıkarabileceği öngörülebilir. VDR polimorfizmlerini 25(OH)D ölçümleriyle birlikte değerlendirmek, buna göre referans popülasyonu gruplayıp referans aralık belirlemek daha akılcı ve ekonomik D vitamin takviyesi kullanımının önünü açabilir.

Çalışmamızda bazı kısıtlamalar dikkati çekmiştir. İlk olarak, çalışmamızın retrospektif olması nedeniyle, hastaların kayıtlarında düzenli olarak belirtilmeyen obezite, D vitamin takviyesi veya GKF kullanımı gibi faktörleri dışlamamız mümkün olmamıştır. İkinci olarak, hastaların kan verme öncesi preanalitik varyasyonlara yol açabilecek alkol tüketimi, sigara kullanımı, fiziksel egzersiz gibi durumlarını tespit edebilmemiz mümkün değildir. Hastanemizin kadın doğum kliniğine başvurusu olmayan kadınların gebelik durumunu tespit edip bunları dışlamamız da zordur. Ayrıca

Çalışmamız tek hastahannede yapılmıştır, eğer ilimizdeki diğ er hastaneleri de dahil edebilseydik daha fazla veri ile referans aralığı belirlemiş olacaktık. Bununla birlikte, tüm bu sınırlamalar, hastane veri tabanlarından yapılan indirekt referans aralık belirleme yöntemlerinin ortak zorluklarıdır. Belirttiğimiz sınırlamaların, indirekt yöntemlerde kullanılan istatistiksel yöntemler ile minimuma indirgendiğı varsayılmıştır.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

- 1- Mevcut çalışmada kalsiyum metabolizmasıyla ilişkili ve sık istemi yapılan dört biyokimya parametresi (PTH, D vitamini, kalsiyum ve fosfor) belirlenmiştir.
- 2- Çalışmamıza aynı anda dört parametrenin de istemi yapılmış olan 7707 hastaya ait sonuçlar dahil edilmiştir.
- 3- Literatürde ilk defa ülkemizde LBYS’de kayıtlı hasta sonuçları kullanılarak PTH, D vitamini, kalsiyum ve fosfor testlerinin referans aralıkları dört ayrı indirekt yöntem (Arzideh, Hoffmann, Bhattacharya ve nonparametrik yöntem) ile belirlenmiştir.
- 4- Dört farklı yöntem ile elde edilen referans aralıkları, üretici firmaya ait kit insörtlere ve hastanede mevcut kullanılan referans aralıklarıyla karşılaştırılmıştır.
- 5- Kalsiyum ve fosfor için dört indirekt yöntem ile belirlenen referans aralıkların üretici firmaya ait referans aralıklar ile benzer olduğu bulunmuştur.
- 6- PTH için Bhattacharya yöntemi dışında kalan diğer üç yöntemde elde edilen referans aralıkların üretici firmanın referans aralıklarından daha geniş olduğu görülmüştür. Diğer yandan Bhattacharya yöntemi ile belirlenen referans aralık değerlerinin üretici firmanın belirlediği referans aralığına en yakın olduğu anlaşılmıştır.
- 7- Fosfor için Bhattacharya yöntemi ile elde edilen referans aralık sonuçlarının alt ve üst limitlerinin çok geniş olduğu görülmüştür.
- 8- Kalsiyum, fosfor ve D vitamini kış için indirekt yöntem ile yaptığımız çalışmada, hastane tarafından elde edilen değerlere kıyasla benzer sonuçlar bulunmuştur.
- 9- PTH için indirekt yöntem ile yaptığımız çalışmada, hastane tarafından elde edilen değerlere göre yüksek sonuçlar bulunmuştur.
- 10- D vitamin yaz için indirekt yöntem ile yaptığımız çalışmada, hastane tarafından elde edilen değerlere göre düşük sonuçlar bulunmuştur.
- 11- Çalışmamızda CLSI ve IFCC tarafından önerildiği gibi her hastanenin kendi referans aralıklarını belirlemesi ve kullanmasının gerekliliği bir kez daha ortaya konmuştur.
- 12- Tıbbi laboratuvarların kendi belirleyecekleri referans aralıklar dışında diğer kaynaklardan elde edilen referans aralıkları kullanmaları durumunda hasta sonuçlarında değişimlerin olabileceği görülmüştür.

7. KAYNAKÇA

1. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiological reviews*, 2016;96(1), 365-408.
2. Demer LL, Hsu JJ, Tintut Y. Steroid hormone vitamin D: Implications for cardiovascular disease. *Circulation research*, 2018; 122(11), 1576-1585.
3. Melguizo-Rodríguez L, Costela-Ruiz VJ, García-Recio E, De Luna-Bertos E, Ruiz C, Illescas-Montes R. Role of vitamin D in the metabolic syndrome. *Nutrients*, 2021;13(3), 830.
4. Saponaro F, Saba A, Zucchi R. An Update on Vitamin D Metabolism. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21:6573.
5. Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chemistry & biology*, 2014; 21(3), 319-329.
6. Delrue C, Speeckaert MM. Vitamin D and Vitamin D-Binding Protein in Health and Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24, 4642.
7. Ramasamy I. Vitamin D Metabolism and Guidelines for Vitamin D Supplementation. *Clin Biochem Rev.* 2020;41(3):103-126.
8. Miller WG, Sandberg S, Rifai N, Chiu RWK, Young I, Burnham CAD, Wittwer CT. *Tietz textbook of laboratory medicine*, 2022.
9. Giustina A, Bilezikian JP, Adler RA, Banfi G, Bikle DD, Binkley NC. et al Consensus statement on Vitamin D status assessment and supplementation: whys, whens, and hows. *Endocrine Reviews*, 2024.
10. Veldurthy V, Wei R, Campbell M, Lupicki K, Dhawan P, Christakos S. 25-Hydroxyvitamin D3 24-hydroxylase: a key regulator of 1, 25 (OH) 2D3 catabolism and calcium homeostasis. In *Vitamins & Hormones*. 2016; (Vol. 100, pp. 137-150). Academic Press.
11. Yu OB, Arnold LA. Calcitroic acid-a review. *ACS chemical biology*, 2016; 11(10), 2665-2672.
12. Olivia BY, Webb DA, Di Milo ES, Mutchie TR, Teske KA, Chen T, Arnold LA. Biological evaluation and synthesis of calcitroic acid. *Bioorganic chemistry*, 2021; 116, 105310.
13. Bennour I, Haroun N, Sicard F, Mounien L, Landrier JF. Vitamin D and Obesity/Adiposity-A Brief Overview of Recent Studies. *Nutrients* 2022; 14, 2049.

14. Lee S, Chung HJ, Jung S, Jang HN, Chang SH, Kim HJ, Cho MC. 24, 25-Dihydroxy Vitamin D and Vitamin D Metabolite Ratio as Biomarkers of Vitamin D in Chronic Kidney Disease. *Nutrients*, 2023;15(3), 578.
15. Lips P. "Vitamin D physiology." *Progress in biophysics and molecular biology* 92.1. 2006;4-8.
16. Jensen MB, Dissing S. Non-genomic effects of vitamin D in human spermatozoa. *Steroids*, 2012; 77(10), 903-909.
17. Haussler MR, Livingston S, Sabir ZL, Haussler CA, Jurutka PW. Vitamin D receptor mediates a myriad of biological actions dependent on its 1, 25-dihydroxyvitamin D ligand: distinct regulatory themes revealed by induction of klotho and fibroblast growth factor-23. *Journal of Bone and Mineral Research Plus*, 2021;5(1), e10432.
18. Fathi N, Ahmadian E, Shahi S, Roshangar L, Khan H, Kouhsoltani M et al. Role of vitamin D and vitamin D receptor (VDR) in oral cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019;109, 391-401.
19. Khattar V, Wang L, Peng JB. Calcium selective channel TRPV6: Structure, function, and implications in health and disease. *Gene*, 2022;817,146192.
20. Christakos S, Dhawan P, Porta A, Mady LJ, Seth T. Vitamin D and intestinal calcium absorption. *Molecular and cellular endocrinology*, 2011;347(1-2), 25-29.
21. De Barboza GD, Guizzardi S, De Talamoni NT. Molecular aspects of intestinal calcium absorption. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 2015;21(23),7142
22. Liao QS, Du Q, Lou J, Xu JY, Xie R. Roles of Na⁺/Ca²⁺ exchanger 1 in digestive system physiology and pathophysiology. *World Journal of Gastroenterology*, R 2019;25(3), 287.
23. Hernando N and Wagner CA. Mechanisms and regulation of intestinal phosphate absorption. *Comprehensive Physiology*, 2011; 8(3), 1065-1090.
24. Marks J. The absorbing life of bile acids. *Kidney International*, 2020;97(6), 1099-1102.
25. Peng JB, Suzuki Y, Gyimesi G, Hediger MA. TRPV5 and TRPV6 calcium-selective channels. Calcium entry channels in non-excitable cells, 2017; 241-274.
26. Erben RG. Physiological actions of fibroblast growth factor-23. *Frontiers in endocrinology*, 2018;9, 372269.

27. Silva ICJ, Lazaretti-Castro M. Vitamin D metabolism and extraskeletal outcomes: an update. *Archives of Endocrinology and Metabolism*. 2022; 66,748-755.
28. Holick MF. Vitamin D deficiency. *New England journal of medicine*, 2007; 357(3), 266-281.
29. Khundmiri SJ, Murray RD, Lederer E. PTH and vitamin D. *Comprehensive Physiology*, 2011; 6(2), 561-601.
30. Pike JW, Meyer MB, Lee SM, Onal M, Benkusky NA. The vitamin D receptor: contemporary genomic approaches reveal new basic and translational insights. *The Journal of clinical investigation*, 2017;127(4), 1146-1154.
31. Liu W, Zhang L, Xu HJ, Li Y, Hu CM, Yang JY, Sun MY. The anti-inflammatory effects of vitamin D in tumorigenesis. *International journal of molecular sciences*, 2018; 19(9), 2736.
32. Thacher TD, Clarke BL. Vitamin D insufficiency. In *Mayo Clinic Proceedings* 2011 ,january ;Vol. 86, No. 1, pp. 50-60 Elsevier.
33. Cashman KD. Vitamin D deficiency: defining, prevalence, causes, and strategies of addressing. *Calcified tissue international*, 2020;106(1), 14-29.2
34. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Osteoporoz ve Metabolik Kemik Hastalıkları Tanı ve Tedavi Kılavuzu 2018: 119-27.
35. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *The American journal of clinical nutrition*, 2004; 80(6), 1678S-1688S.
36. AlAnouti F, Abboud M, Papandreou D, Mahboub N, Haidar S, Rizk R. Effects of vitamin D supplementation on lipid profile in adults with the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*, 2020;12(11), 3352.
37. Sizar O, Khare S, Goyal A, Givler A. Vitamin D deficiency. 2018.
38. Mendes MM, Darling AL, Hart KH, Morse S, Murphy RJ, Lanham-New SA. Impact of high latitude, urban living and ethnicity on 25-hydroxyvitamin D status: a need for multidisciplinary action?. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 2019; 188, 95-102.
39. Giustina A, Bouillon R, Dawson-Hughes B, Ebeling PR, Lazaretti-Castro M, Lips P, Bilezikian JP. Vitamin D in the older population: a consensus statement. *Endocrine*, 2023;79(1), 31-44

40. Binkley N, Ramamurthy R, Krueger D. Low vitamin D status: definition, prevalence, consequences, and correction. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 2010; 39(2), 287-301.
41. Thacher TD, Fischer PR, Strand MA, Pettifor JM. Nutritional rickets around the world: causes and future directions. *Annals of tropical paediatrics*, 2006;26(1), 116
42. Agarwal A, Gulati D, Rath S, Walia M. Rickets: a cause of delayed walking in toddlers. *The Indian Journal of Pediatrics*, 2009;76, 269-272.
43. Chanchlani R, Nemer P, Sinha R, Nemer L, Krishnappa V, Sochetti E, Raina R. An overview of rickets in children. *Kidney international reports*, 2020; 5(7), 980-990.
44. Cianferotti L. Osteomalacia is not a single disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022;23(23), 14896.
45. Zimmerman L, McKeon B. Osteomalacia. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. 2023.
46. Russell, LA. Osteoporosis and osteomalacia. *Rheumatic Disease Clinics*, 2010; 36(4), 665-680.
47. Antonucci R, Locci C, Clemente MG, Chicconi E, Antonucci L. Vitamin D deficiency in childhood: old lessons and current challenges. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 2018; 31(3), 247-260.
48. Morris HA, Anderson PH. Autocrine and paracrine actions of vitamin D. *The Clinical Biochemist Reviews*, 2010; 31(4), 129.
49. Gupta D, Vashi PG, Trukova K, Lis CG, Lammersfeld CA. Prevalence of serum vitamin D deficiency and insufficiency in cancer: Review of the epidemiological literature. *Experimental and therapeutic medicine*, 2011; 2(2), 181-193.
50. De la Guía-Galipienso, F. Martínez-Ferran, M. Vallecillo N, Lavie CJ, Sanchis-Gomar F, Pareja-Galeano H. Vitamin D and cardiovascular health. *Clinical Nutrition*, 2021 ;40(5), 2946-2957.
51. Berridge MJ. Vitamin D deficiency and diabetes. *Biochemical Journal*, 2017; 474(8), 1321-1332.
52. Zipitis CS, Akobeng AK. Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Archives of disease in childhood*, 2008; 93(6), 512-517.
53. Pierrot-Deseilligny Charles, Jean-Claude Souberbielle. "Vitamin D and multiple sclerosis: An update." *Multiple sclerosis and related disorders*, 2017; 14: 35-45.

54. Bozkaya ÖG. Klinisyenler için mutasyon ve polimorfizm. Türkiye Klinikleri Journal of Pediatrics, 2009;18(2), 47-53.
55. Divanoglou N, Komninou D, Stea EA, Argiriou A, Papatzikas G, Tsakalof A, Petridou E. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with serum vitamin D levels in a Greek rural population (Velesino Study). Lifestyle Genomics, 2021; 14(3), 81-90.
56. Ciosek Ż, Kot K, Kosik-Bogacka D, Łanocha-Arendarczyk N, Rotter I. The effects of calcium, magnesium, phosphorus, fluoride, and lead on bone tissue. *Biomolecules*, 2021; 11(4), 506.
57. Matikainen N, Pekkarinen T, Ryhänen EM, Schalin-Jäntti C. Physiology of calcium homeostasis: an overview. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 2021; 50(4), 575-590.
58. Goodman WG, Quarles LD. Development and progression of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease: lessons from molecular genetics. *Kidney Int.* 2008;74(3):276-88.
59. Chen JC, Castillo AB, Jacobs CR. Cellular and molecular mechanotransduction in bone. *Osteoporosis*, 2013; 453-475.
60. Gasmi A, Björklund G, Peana M, Mujawdiya PK, Pivina L, Ongenae A, Severin B. Phosphocalcic metabolism and the role of vitamin D, vitamin K2, and natto kinase supplementation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022; 62(25), 7062-7071.
61. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Shapses SA. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2011; 96(1), 53-58.
62. Washington DC. Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. The National Academies Press; 2011.
63. Peacock M. Calcium metabolism in health and disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010; Jan;5 Suppl 1:S23-30.
64. Shkembi B, Huppertz T. Calcium absorption from food products: Food matrix effects. *Nutrients*, 2021; 14(1), 180.
65. Hoenderop JG, van der Kemp AW, Hartog A, van de Graaf SF, van Os CH, Willems PH, Bindels RJ. Molecular identification of the apical Ca²⁺ channel in 1, 25-dihydroxyvitamin D₃-responsive epithelia. *Journal of Biological Chemistry*, 1999; 274(13), 8375-8378.
66. Guéguen L, Pointillart A. The bioavailability of dietary calcium. *Journal of the American College of Nutrition*, 2000;19(sup2), 119S-136S.

67. Lameris AL, Nevalainen PI, Reijnen D, Simons E, Eygensteyn J, MonnensL, Hoenderop JG. Segmental transport of Ca^{2+} and Mg^{2+} along the gastrointestinal tract. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2015; 308(3), G206-G216.
68. Goltzman D. Functions of vitamin D in bone. *Histochemistry and cell biology*, 2018; 149(4), 305-312.
69. Matikainen N, Pekkarinen T, Ryhänen EM, Schalin-Jäntti C. Physiology of calcium homeostasis: an overview. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 2021; 50(4), 575-590.
70. Fleet JC. Vitamin D-mediated regulation of intestinal calcium absorption. *Nutrients*, 2022; 14(16), 3351.
71. Song L. Calcium and bone metabolism indices. *Advances in clinical chemistry*. 2017; 82, 1-46.
72. Baird GS. Ionized calcium. *Clinica chimica acta*, 2011; 412(9-10), 696-701.
73. Khan M, Jose A, Sharma S. Physiology, parathyroid hormone. 2018
74. Roszko KL, Bi RD, Mannstadt M. Autosomal dominant hypocalcemia (hypoparathyroidism) types 1 and 2. *Frontiers in physiology*. 2016; 7, 214121.
75. Sundararaman SS, van der Vorst EP. Calcium-sensing receptor (CaSR), its impact on inflammation and the consequences on cardiovascular health. *International journal of molecular sciences*, 2021; 22(5), 2478.
76. Payne RB, Little AJ, Williams RB, Milner JR. Interpretation of serum calcium in patients with abnormal serum proteins. *Br Med J*. 1973; 4(5893), 643-646.
77. Demay MB, Krane SM, Kronenberg HM. Bone and Mineral Metabolism in Health and Disease. *Harrison's Princ. Intern. Med*. 2005; 16, 2238-86.
78. Pepe J, Colangelo L, Biamonte F, Sonato C, Danese VC, Cecchetti V, Cipriani, C. Diagnosis and management of hypocalcemia. *Endocrine*, 2020; 69, 485-495.
79. Han P, Trinidad BJ, Shi J. Hypocalcemia-induced seizure: demystifying the calcium paradox. *Asn Neuro*, 2015; 7(2).
80. Iacovelli E, Gilio F, Mascia ML, Scillitani A, Romagnoli E, Pichiorri F et al. Acute and chronic effects of hypercalcaemia on cortical excitability as studied by 5 Hz repetitive transcranial magnetic stimulation. *The Journal of physiology*, 2011; 589(7), 1619-1626.

81. Marcucci G, Cianferotti L, Brandi ML. Clinical presentation and management of hypoparathyroidism. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2018;32(6), 927-939.
82. Murphy G, Bartle S. Hypocalcemic laryngospasm and tetany in a child with renal dysplasia. *Pediatric emergency care*, 2006;22(7), 507-509.
83. Srivastava A, Ravindran V. Stridor secondary to hypocalcemia in the elderly: an unusual presentation. *European Journal of Internal Medicine*, 2008; 19(3), 219-220.
84. Iwuala SO, Kirupakaran J, Trusty R, Curry S, Williams B, Daruwala O et al. A Case of Vocal Cord Paralysis and Severe Hypocalcemia. *Journal of the Endocrine Society*, 2021; 5(Suppl 1), A173.
85. Auron A, Alon US. Hypercalcemia: a consultant's approach. *Pediatric Nephrology*, 2018; 33, 1475-1488.
86. Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Tucker KL. *Modern nutrition in health and disease*. Jones & Bartlett Learning. 2020
87. Wagner CA. The basics of phosphate metabolism. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2024; 39(2), 190-201.
88. Penido MGM, Alon US. Phosphate homeostasis and its role in bone health. *Pediatric nephrology*, 2012; 27, 2039-2048.
89. Gallant KMH, Vorland CJ. Intestinal phosphorus absorption: recent findings in translational and clinical research. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 2021; 30(4), 404-410.
90. Fukumoto K, Mizoguchi H, Takeuchi H, Horiuchi H, Kawanokuchi J, Jin S, Suzumura A. Fingolimod increases brain-derived neurotrophic factor levels and ameliorates amyloid β -induced memory impairment. *Behavioural brain research*, 2014;268, 88-93.
91. Lederer E, Wagner, CA. Clinical aspects of the phosphate transporters NaPi-IIa and NaPi-IIb: mutations and disease associations. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 2019; 471, 137-148.
92. Adhikari S, Mamlouk O, Rondon-Berrios H, Workeneh BT. Hypophosphatemia in cancer patients. *Clinical Kidney Journal*, 2021;14(11), 2304-2315.
93. Morris MA, Saboury B, Ahlman M, Malayeri AA, Jones EC, Chen CC, Millo C. Parathyroid imaging: past, present, and future. *Frontiers in endocrinology*, 2022; 12, 760419.
94. Skugor M, Gupta M, Navaneethan SD. Evolution and current state of assays for measuring parathyroid hormone. *Biochemia Medica*, 2010;20(2), 221-228.

95. Evenepoel P, Bover J, Torres PU. Parathyroid hormone metabolism and signaling in health and chronic kidney disease. *Kidney international*, 2016; 90(6), 1184-1190.
96. Chen H, Han X, Cui Y, Ye Y, Purrusing Y, Wang N. Parathyroid hormone fragments: new targets for the diagnosis and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder. *BioMed research international*, 2018; 2018.
97. Morris MA, Saboury B, Ahlman M, Malayeri AA, Jones EC, Chen CC, Millo C. Parathyroid imaging: past, present, and future. *Frontiers in endocrinology*, 2022; 12, 760419.
98. Alexander RT, Dimke H. Effects of parathyroid hormone on renal tubular calcium and phosphate handling. *Acta Physiologica*. 2023;238(1), e13959.
99. Silva BC, Bilezikian JP. Parathyroid hormone: anabolic and catabolic actions on the skeleton. *Current opinion in pharmacology*, 2015;22, 41-50.
100. Martin TJ, Sims NA. Integrating Endocrine and Paracrine Influences on Bone; Lessons From Parathyroid Hormone and Parathyroid Hormone-Related Protein. In *Genetics of Bone Biology and Skeletal Disease*, 2018;(pp. 283-299). Academic Press.
101. Van Goor MK, Hoenderop JG, van der Wijst J. TRP channels in calcium homeostasis: from hormonal control to structure-function relationship of TRPV5 and TRPV6. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 2017; 1864(6), 883-893.
102. Kritmetapak K, Pongchaiyakul C. Parathyroid hormone measurement in chronic kidney disease: from basics to clinical implications. *International Journal of Nephrology*, 2019; 2019(1), 5496710.
103. d'Amour P. Circulating PTH molecular forms: what we know and what we don't. *Kidney International*, 2006;70, S29-S33.
104. CLSI and IFCC. C28-A3 document; Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline-third edition, 2010.
105. Ozarda Y, Sikaris K, Streichert T, Macri J, IFCC Committee on Reference intervals and Decision Limits (C-RIDL). Distinguishing reference intervals and clinical decision limits-A review by the IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 2018; 55(6), 420-431.
106. Chai J, Sun Z, Zhang S, Zhou Q, Xu J. An indirect approach for reference intervals establishment of immunoglobulin A, G and M: the combination of

- laboratory database and statistics. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 2022; 82(4), 311-322
107. Farrell CJL, Nguyen L. Indirect reference intervals: harnessing the power of stored laboratory data. *The Clinical biochemist Reviews*, 2019; 40(2), 99
 108. NCCLS Document C 28-a2 Vol.20 No:13
 109. Mishra P, Pandey CM, Singh U, Gupta A, Sahu C, Keshri A. Descriptive statistics and normality tests for statistical data. *Annals of cardiac anaesthesia*, 2019; 22(1), 67-72.
 110. Jones GR, Haeckel R, Loh TP, Sikaris K, Streichert T, Katayev A. IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits: Indirect methods for reference interval determination–review and recommendations. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 2018; 57(1), 20-29.
 111. Timbrell NE. The Role and Limitations of the Reference Interval Within Clinical Chemistry and Its Reliability for Disease Detection. *British Journal of Biomedical Science*.2024; 81, 12339.
 112. Yavuz B. Mustafa Kemal Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Laboratuvar Verileri Kullanılarak Klinik Biyokimya Testlerinin Referans Aralık Analizi Yüksek lisans Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hatay, 2018.
 113. Geffre A, Friedrichs K, Harr K, Concordet D, Trumel C, Braun JP. Reference values: a review. *Veterinary clinical pathology*, 2009; 38(3), 288-298.
 114. CLSI and IFCC. C28-A3 document; Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline-third edition, 2008.
 115. Örkmez M. Gaziantep İlinde Yaşayan 18-45 Yaş Arası Bireylerde Bazı Kan Biyokimya Parametreleri İçin Referans Aralıklarının Hesaplanması. , Uzmanlık tezi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gaziantep, 2013.
 116. Ma S, Yu J, Qin X, Liu J. Current status and challenges in establishing reference intervals based on real-world data. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 2023;60(6), 427-441.
 117. Kanmaz-Özer M. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'ne Başvuran Pediyatrik Yaş Gruplarında Biyokimyasal Testlerin Referans Aralıkları Çalışması. Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2013.
 118. Laleli Y. Referans kavramı, ulusal referans politikası ve hasta verilerinin kullanımı. *Turk J Biochem*, 28(4), 225-7. *Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem]*, 2003 28(4); 225-227

119. CLSI Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions, 4th Edition. 2016.
120. Jones GR, Haeckel R, Loh TP, Sikaris K, Streichert T, Katayev A. IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits: Indirect methods for reference interval determination—review and recommendations. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 2018; 57(1), 20-29.
121. Ozarda Y, Ichihara K, Barth JC, Klee G, & on behalf of the Committee on Reference Intervals and Decision Limits (C-RIDL), International Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Protocol and standard operating procedures for common use in a worldwide multicenter study on reference values. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 2013;51(5), 1027-1040.
122. Ozarda Y. Establishing and using reference intervals. *Turkish Journal of Biochemistry*. 2020; 45(1), 1-10.
123. Chai J, Sun Z, Zhang S, Zhou Q, Xu J. An indirect approach for reference intervals establishment of immunoglobulin A, G and M: the combination of laboratory database and statistics. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 2022; 82(4), 311-322
124. Yang D, Su Z, Zhao M. Big data and reference intervals. *Clinica Chimica Acta*, 2022; 527, 23-32.
125. Ovla HD, Taşdelen B. Aykırı değer yönetimi. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2012; 5(3).
126. Toprakçı M. Hastane Laboratuvar Test Verileri Kullanılarak Klinik Testlerin Referans Aralıklarının Saptanması, Uzmanlık Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul, 2000.
127. Schwertman NC, Owens MA, Adnan R. A simple more general boxplot method for identifying outliers. *Computational statistics & data analysis*, 2004;47(1), 165-174.
128. Kim TK, Park JH. More about the basic assumptions of t-test: normality and sample size. *Korean journal of anesthesiology*, 2019;72(4), 331-335.
129. Horn PS, Pesce AJ. Reference intervals: an update. *Clinica chimica acta*, 2003;334(1-2), 5-23.
130. Zhang Y, Ma W, Wang G, Lv Y, Peng Y, Peng X. Limitations of the Hoffmann method for establishing reference intervals using clinical laboratory data. *Clinical Biochemistry*, 2019; 63, 79-84.
131. Bhattacharya CG. A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components. *Biometrics*, 1967;115-135.

132. Arzideh F, Wosniok W, Gurr E, Hinsch W, Schumann G, Weinstock N, Haeckel R. A plea for intra-laboratory reference limits. Part 2. A bimodal retrospective concept for determining reference limits from intra-laboratory databases demonstrated by catalytic activity concentrations of enzymes, 2007.
133. Hoffmann RG. Statistics in the practice of medicine. JAMA 1963; 185: 864–73.
134. S  by K, Jensen PB, Werge T, S  rensen S. Mining of hospital laboratory information systems: a model study defining age- and gender-specific reference intervals and trajectories for plasma creatinine in a pediatric population. Clin Chem Lab Med 2015; 53: 1621-30.
135. P  czkowska S, Terpi  ska M, Piwowar A. Establishing laboratory-specific reference intervals for TSH and FT4 by use of the indirect Hoffmann method. PLoS One. 2022; 17.
136. Aarsand AK, Fernandez-Calle P, Webster C, Coskun A, Gonzales-Lao E, Diaz-Garzon, J. & Aslan, B.. The EFLM biological variation database. 2022.
137. Anayurt E  . Bazı klinik biyokimya testlerinin referans aralıklarının direkt ve indirekt yöntemlerle belirlenmesi. 2023.
138. Polat H. Bazı biyokimyasal testlerin referans aralık belirleme   alışması. Atatürk Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2014.
139. Tat M. Klinik laboratuvarlarda veri yönetim sistemi ile referans aralık temelli veri analiz yöntemlerinin geliştirilmesi; Trabzon deneyimi. 2018.
140. Kutluay   G. Gaziantep bölgesinde indirekt yöntemle farklı biyokimya parametreleri için referans aralığı çalışması ve değerlerin verifikasyonu. 2022.
141. Lykkeboe S, Nielsen CG, Christensen PA Indirect method for validating transference of reference intervals. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), 2018; 56(3), 463-470.
142. Wang D, Ma C, Zou Y, Yu S, Li H, Cheng X, Xu T. Gender and age-specific reference intervals of common biochemical analytes in Chinese population: Derivation using real laboratory data. Journal of Medical Biochemistry, 2020; 39(3), 384.
143. Katayev A, Balciza C, Seccombe DW. Establishing reference intervals for clinical laboratory test results: is there a better way?. American journal of clinical pathology, 133(2), 2010; 180-186.
144. Ozarda Y, Ichihara K, Jones G, Streichert T, Ahmadian R. Comparison of reference intervals derived by direct and indirect methods based on compatible datasets obtained in Turkey. 2021;Clinica Chimica Acta, 520, 186-195.

145. Koç Ş. Kocaeli ili ve çevresinde sağlıklı bireylerde 25 (OH) vitamin d, parathormon ve magnezyum'un referans aralıklarının saptanması (Master's thesis, Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü). 2021.
146. Toy BE. D vitamini bağımlı paratiroid hormon referans değer çalışması. Sağlık Bilimleri Üniversitesi 2018.
147. Bakan E, Polat H, Ozarda Y, Ozturk N, Baygutalp NK, Umudum FZ, Bakan N. A reference interval study for common biochemical analytes in Eastern Turkey: a comparison of a reference population with laboratory data mining. *Biochemia medica*, 2016;26(2), 210-223.
148. Souberbielle C, Brazier F, Piketty ML, Cormier C, Minisola S, Cavalier E. How the reference values for serum parathyroid hormone concentration are (or should be) established?. *Journal of Endocrinological Investigation*, 2017; 40, 241-256.
149. Alpdemir M, Alpdemir MF. Determination of reference range with the indirect method of the 25-hydroxyvitaminD3 test in the Balıkesir region, Turkey. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 2016; 46(5), 1512-1517.
150. Çatak Z. Elazığ Bölgesinin 25 Hidroksivitamin D Düzeylerinin Değerlendirilmesi ve Popülasyona Dayalı Yeni Referans Aralıklarının Belirlenmesi. *Fırat tıp Dergisi*, 2018 23(1), 6-10.
151. Vurgun E. 25-hidroksivitamin D Düzeylerinin Popülasyona Dayalı Referans Aralıklarının Belirlenmesi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2020; 18(1), 8-16.
152. Arık Ö, Arıkan İ, Kilit TP, Koçak, H. Evaluation of Vitamin D Levels in Kütahya Province: A Hospital-Based Retrospective Study. *Phoenix Medical Journal*, 2023; 5(3), 164-170.
153. Çatak Z. Elazığ Bölgesinin 25 Hidroksivitamin D Düzeylerinin Değerlendirilmesi ve Popülasyona Dayalı Yeni Referans Aralıklarının Belirlenmesi. *Fırat tıp Dergisi*, 2018 23(1), 6-10.
154. Hekimsoy Z, Dinç G, Kafesçiler S, Onur E, Güvenç Y, Pala T, Özmen B. Vitamin D status among adults in the Aegean region of Turkey. *BMC Public Health*, 2010; 10, 1-7.
155. Öztürk ZA, Gol M, Türkbeyler İH. Prevalence of vitamin D deficiency in otherwise healthy individuals between the ages of 18 and 90 years in southeast Turkey. *Wiener klinische Wochenschrift*, 2017; 129, 854-855.
156. Durmuş H, Çetinkaya F. Vitamin D status of adults in Kayseri, Turkey: Summer time population based cross-sectional study Türkiye Kayseri ili yaz aylarında yetişkinlerin vitamin D durumu: toplum tabanlı kesitsel çalışma. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 2017; 1, 325.

157. Gill TK, Hill CL, Shanahan EM, Taylor AW, Appleton SL, Grant JF, Adams RJ. Vitamin D levels in an Australian population. BMC public health, 2014; 14, 1-11.
158. Miyamoto H, Kawakami D, Hanafusa N, Nakanishi T, Miyasaka M, Furutani Y, Ochi S. Determination of a Serum 25-Hydroxyvitamin D Reference Ranges in Japanese Adults Using Fully Automated Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. The Journal of Nutrition, 2023;153(4), 1253-1264.
159. Çakır M, Koç EM, Soyöz M, Karahan Çöven Hİ, Aydogmus S, Sozmen K. The effects of VDR gene polymorphisms and lifestyle features on vitamin D levels of post menopausal women. Ankara Medical Journal, 2023; 23(3).



8. EKLER

EK 1

HMKÜ						
GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL						
KARAR FORMU						
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 13			Tarih: 26/07/2023		
	KARAR 13- Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. Serdar DOĞAN'ın (Arş.Gör.Dr.Elif Meltem YILDIZ'ın uzmanlık tezi) "Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi laboratuvar verileri kullanılarak parathormon, vitamin D, kalsiyum ve fosfor testlerinin referans aralıklarının indirekt yöntemle belirlenmesi" isimli çalışması görüşülmüş olup; çalışma gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve etik kurallara uygun bulunmuş olup; çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.					
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Çalışma Esası:	İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu					
Etik Kurul Başkanı	Prof.Dr.İbrahim Halil ÇERÇİ					
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Ünvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki		Katılım
Prof.Dr.İbrahim Halil ÇERÇİ Başkan	Veteriner	HMKÜ Veteriner Fakültesi	E	☐	H✓	E✓
Prof.Dr.Hülya YALÇIN Başkan Yrd.	Nükleer Tıp	HMKÜ Tıp Fakültesi	K	☐	H✓	E✓
r.Öğr.Üyesi Emre DİRİCAN Başkan Yrd.	Biyoistatistik	HMKÜ Tıp Fakültesi	E	☐	H✓	E✓
Doç.Dr.Doğan ÜSTÜN Üye	Beden Eğitimi	HMKÜ BESYO	E	☐	H✓	E✓
Doç.Dr. Fatma ÖZ Üye	Anatomi	HMKÜ Tıp Fakültesi	K	☐	H✓	E✓
Doç.Dr Fundagül B. ZORTUK Üye	Dış Hekimi	HMKÜ Dış Hekimliği Fakültesi	K	☐	H✓	E✓
Doç.Dr.Yener AKYUVA Üye	Beyin ve Sinir Cerrahisi	HMKÜ Tıp Fakültesi	E	☐	H✓	E✓
Doç.Dr. Oğuz AKKUŞ Üye	Kardiyoloji	HMKÜ Tıp Fakültesi	E	☐	H✓	E✓
Doç.Dr.Sibel SEVİNÇ Üye	Hemşirelik	HMKÜ Sağlık Bilimleri Fakültesi	K	☐	H✓	E✓
Öğr.Üyesi Semih AŞIKOVALI Üye	Tıbbi Genetik	HMKÜ Tıp Fakültesi				
Öğr.Üyesi Mehmet ERDEM Üye	Halk Sağlığı	HMKÜ Tıp Fakültesi				

9. ÖZGEÇMİŞ

■■■■■' de ■■■■ tarihinde doğdum. İlköğretim ve liseyi İstanbul'da tamamladım. 2015 yılında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. 2020 tarihinde Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım ve halen aynı bölümde görevime devam etmekteyim.

