



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HASTANESİNE BAŞVURAN HASTALARA AİT SERUM
ÖRNEKLERİNDE ÖLÇÜLEN TÜMÖR BELİRTEÇLERİNİN
REFERANS DEĞERLERİNİN BELİRLENMESİ

MUHAMMED MEHDİ ÜREMİŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2015

**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HASTANESİNE BAŞVURAN HASTALARA AİT SERUM ÖRNEKLERİNDE
ÖLÇÜLEN TÜMÖR BELİRTEÇLERİNİN REFERANS DEĞERLERİNİN
BELİRLENMESİ**

**Muhammed Mehdi ÜREMİŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ahmet ÇELİK

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Metin KILINÇ

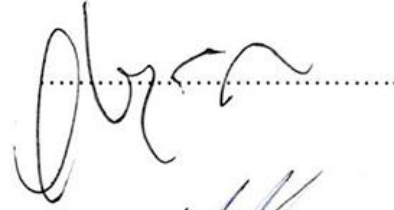
Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Edibe SARIÇİÇEK

KAHRAMANMARAŞ-2015

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Muhammed Mehdi ÜREMİŞ tarafından hazırlanan “Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine Başvuran Hastalara Ait Serum Örneklerinde Ölçülen Tümör Belirteçlerinin Referans Değerlerinin Belirlenmesi” adlı bu tez, jürimiz tarafından 25/12/2015 tarihinde oy birliği ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç Dr. Ahmet ÇELİK (DANIŞMAN)
Tıbbi Biyokimya ABD, KSÜ



Prof. Dr. Metin KILINÇ (ÜYE)
Tıbbi Biyokimya ABD, KSÜ

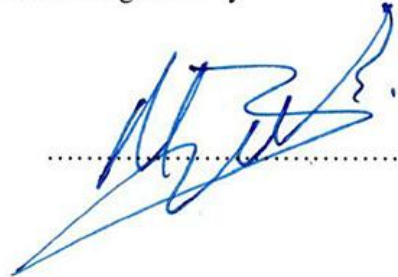


Yrd. Doç. Dr. Edibe SARIÇİÇEK (ÜYE)
Tıbbi Biyokimya ABD, Zirve Üniversitesi



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Mehmet BOŞNAK
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Muhammed Mehdi ÜREMİŞ

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince bilimsel ve sosyal alanda yol gösteren, bilgi ve deneyimleriyle her türlü desteği veren ve bu çalışmayı yönlendirip sorunların çözümünde yardımcı olan tez danışmanım, değerli hocam Doç. Dr. Ahmet ÇELİK'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Biyokimya eğitiminin sağladığı olanaklardan en iyi şekilde yararlanmam için beni yönlendirip destekleyen Sayın Prof. Dr. Metin KILINÇ, Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN'a teşekkür ederim.

Her zaman desteğini yanımda hissettiğim, sevgili eşim Arş. Gör. Nuray ÜREMİŞ'e yardımları, sabrı ve sevgisi için sonsuz teşekkür ederim.

Aralık - 2015

Muhammed Mehdi ÜREMİŞ

**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HASTANESİNE BAŞVURAN HASTALARA AİT SERUM ÖRNEKLERİNDE
ÖLÇÜLEN TÜMÖR BELİRTEÇLERİNİN REFERANS DEĞERLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Muhammed Mehdi ÜREMİŞ

ÖZET

Klinik laboratuvar testlerinin referans aralıklarının tıbbi karar için bilinmesi gerekir. Referans aralık değerlerinin cinsiyet, yaş, ırk, coğrafi bölge, genetik ve diyet gibi faktörlere bağlı olarak değişmesi nedeniyle her laboratuvar kendi referans aralık değerlerini belirlemelidir. Bu çalışmada, AFP, CA 15.3, CA 19.9, CA 125, CEA, fPSA, PSA ve TG'e ait referans aralıklarının hesaplanması amaçlandı.

Çalışmada KSÜ Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda 01.01.2007 ile 01.11.2015 tarihleri arasında çalışılan veriler kullanılmıştır. Tüm parametrelerde normal dağılım görülmediği için indirek ve non-parametrik yüzdellik tahmin yöntemiyle referans aralıkları belirlenmiştir.

AFP için alt ve üst değer: 0,52 ve 3,76 IU/mL, ortalama ve standart sapma: $1,82 \pm 0,84$, ortanca değer: 1,68 olarak bulundu. CA 15.3 için alt ve üst değer: 5,0 ve 37,60 U/mL, ortalama ve standart sapma: $18,28 \pm 8,51$, ortanca değer: 17,4 olarak bulundu. CA 19.9 için alt ve üst değer: 2,46 ve 29,5 U/mL, ortalama ve standart sapma: $11,84 \pm 7,57$, ortanca değer: 9,82 olarak bulundu. CA 125 için alt ve üst değer: 2,89 ve 22,7 U/mL, ortalama ve standart sapma: $10,56 \pm 5,37$, ortanca değer: 9,50 olarak bulundu. CEA için alt ve üst değer: 0,11 ve 3,67 ng/mL, ortalama ve standart sapma: $1,56 \pm 0,94$, ortanca değer: 1,40 olarak bulundu. fPSA için alt ve üst değer: 0,02 ve 0,75 ng/mL, ortalama ve standart sapma: $0,29 \pm 0,19$, ortanca değer: 0,25 olarak bulundu. PSA için alt ve üst değer: 0,14 ve 2,31 ng/mL, ortalama ve standart

sapma: $0,94 \pm 0,58$, ortanca değer: 0,80 olarak bulundu. TG için alt ve st değer: 0,34 ve 30,13 ng/mL, ortalama ve standart sapma: $11,6 \pm 8,23$, ortanca değer: 10,7 olarak bulundu.

AFP, CA 19.9, CA 125, CEA, PSA ve TG için hastanemizde kullanılmakta olan ve üretici firma tarafından önerilmiş olan referans aralıklarına göre bulduğumuz referans aralıklarının daha dar sınırlar içinde olduğu görülmüştür. Ek olarak CA 15.3 referans aralıkları da daha dar olmakla birlikte bizim referans aralıklarımıza daha yakındır.

Referans aralıklarının ortaya konmasının klinik biyokimyadaki önemi düşünüldüğünde, üretici firmaların bize önerdiği referans aralıkları bizim toplumumuzun değerleriyle tam olarak örtüşmemektedir. Bu nedenle her laboratuvarın kendi popülasyonuna ait referans değerlerini belirlemesi daha verimli olacaktır.

Anahtar Kelimeler : Referans aralık, AFP, CA 15.3, CA 19.9, CA 125, CEA, fPSA, PSA, Tiroglobulin

Sayfa Adedi : 98

Danışman: Doç. Dr. Ahmet ÇELİK

DETERMINATION OF REFERENCE INTERVALS FOR SERUM TUMOR MARKERS IN PATIENTS APPLIED KSU MEDICAL FACULTY HOSPITAL

Master Thesis

Muhammed Mehdi ÜREMİŞ

ABSTRACT

The reference intervals of the clinical laboratory tests have to be known for accurate medical decision. As reference interval values vary due to factors such as sex, age, ethnicity, geographical district, genetic and feeding, all laboratories have to determine their own values. The aim of this study was to determine the reference intervals of AFP, CA 15.3, CA 19.9, CA 125, CEA, fPSA, PSA and TG.

This study performed at the Clinical Biochemistry Laboratory of KSU Medical Hospital between 01.01.2007 and 01.11.2015 by using patients' data with indirect method. Because of in all parameters not observed normal distribution, reference intervals were determined by indirect and non-parametric percentile estimation method.

Lower and upper values for AFP: 0,52 ve 3,76 IU/mL, mean and standard deviation: $1,82 \pm 0,84$, median: 1,68 was found. Lower and upper values for CA 15.: 5,0 ve 37,60 U/mL, mean and standard deviation: $18,28 \pm 8,51$, median: 17,4 was found. Lower and upper values for CA 19.9: 2,46 ve 29,5 U/mL, mean and standard deviation: $11,84 \pm 7,57$, median: 9,82 was found. Lower and upper values for CA 125: 2,89 ve 22,7 U/mL, mean and standard deviation: $10,56 \pm 5,37$, median: 9,50 was found. Lower and upper values for CEA: 0,11 ve 3,67 ng/mL, mean and standard deviation: $1,56 \pm 0,94$, median: 1,40 was found. Lower and upper values for fPSA: 0,02 ve 0,75 ng/mL, mean and standard deviation: $0,29 \pm 0,19$, median: 0,25 was found. Lower and upper values for PSA: 0,14 ve 2,31 ng/mL, mean and standard deviation: $0,94 \pm 0,58$, median: 0,80 was found. Lower and upper values for TG: 0,34 ve 30,13 ng/mL, mean and standard deviation: $11,6 \pm 8,23$, median: 10,7 was found.

According to reference intervals of AFP, CA 19.9, CA 125, CEA, PSA and TG being used in our hospital and suggested by the manufacturer, we found that reference intervals were within narrow limits. In addition, as well as the CA 15.3 reference intervals is narrow, it is close to our reference intervals.

Considering the importance of reference intervals in terms of clinical biochemistry, manufacturers' reference intervals suggested to us does not match exactly with our society's values. Therefore, the determination of their population reference values of each laboratory would be more efficient.

Key Words : Reference intervals, AFP, CA 15.3, CA 19.9, CA 125, CEA, fPSA, PSA, Thyroglobulin

Page Number : 98

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Ahmet ÇELİK

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Kanser	3
2.2. Klinik Uygulamalar	5
2.3. Klinik Kullanılabilirliğin Değerlendirilmesi	7
2.3.1. Referans aralıkları.....	7
2.3.2. Tahmini değer modeli.....	7
2.3.3. Belirteçlerin dağılımı	7
2.3.4. Hastalık yönetimi	8
2.4. Klinik İlkeler.....	8
2.5. Analitik Metotlar	9
2.6. Enzimler.....	9
2.6.1. Alkalen fosfataz (ALP).....	10
2.6.2. Laktat dehidrogenaz (LDH).....	10
2.6.3. Nöron-spesifik enolaz (NSE).....	11
2.6.4. Prostatik asit fosfataz (PAP).....	11
2.6.5. Prostat spesifik antijen (PSA)	11
2.6.6. Ürokinaz-plazminojen aktivatör sistem.....	14
2.6.7. Katepsinler	15
2.7. Hormonlar.....	16
2.7.1. Adrenokortikotropik hormon.....	17
2.7.2. Kalsitonin.....	18
2.7.3. Koriyonik gonadotropin (CG)	19
2.8. Onkofetal Antijenler	19

2.8.1. Alfa-fetoprotein (AFP)	20
2.8.2. Karsinoembriyonik antijen (CEA).....	21
2.9. Karbonhidrat Belirteçler	23
2.9.1. Müsinler	23
2.9.2. CA19-9.....	26
2.10. Proteinler.....	27
2.10.1. İmmünglobulin.....	28
2.10.2. Nükleer matriks proteini (NMP 22).....	28
2.10.3. Mesane tümörü-ilişkili antijen (BTA)	29
2.10.4. Tiroglobulin (TG)	29
2.11. Reseptörler ve Diğer Belirteçler	30
2.11.1. Östrojen ve progesteron reseptörleri.....	30
2.12. Genetik Belirteçler	30
2.12.1. Onkogenler.....	30
2.12.2. Baskılayıcı genler	33
2.13. Referans Aralığı ve Tanımlamalar	34
2.14. Referans Birey	35
2.14.1. Referans Bireylerin Seçimi.....	35
2.15. Referans Kitesinin Gruplandırılması	40
2.16. Birey Örneklerinin Toplanması ve Analitik Prosedür	40
2.16.1. Preanalitik evre	41
2.16.2. Analitik evre	42
2.16.3. Postanalitik evre.....	43
2.17. Referans Değerlerin İstatistiksel Analizi	43
2.17.1. Verilerin toplanması	43
2.17.2. Referans değerlerin gruplara ayrılması	44
2.17.3. Referans gruplardaki veri sayısının önemi	46

2.17.4.	Dağılımın incelenmesi	46
2.17.5.	Aşırı uç değerlerin belirlenmesi.....	47
2.17.6.	Referans kitlesinin dağılım tipinin değerlendirilmesi.....	48
2.17.7.	Referans sınırların saptanması	50
2.18.	Veri Transformasyonu	53
2.19.	Referans Aralıklarının Transfer Edilebilirliği.....	53
3.	GEREÇ ve YÖNTEM.....	55
3.1.	Çalışma Grupları.....	55
3.2.	Örneklerin Toplanması ve Serum Eldesi.....	55
3.3.	Kullanılan Cihaz ve Kitler	55
3.4.	Biyokimyasal Testlerin Metotları ve Çalışma Prensipleri.....	56
3.4.1.	CA 15-3.....	56
3.4.2.	CA 125	56
3.4.3.	CA 19-9.....	56
3.4.4.	AFP	57
3.4.5.	CEA	57
3.4.6.	fPSA.....	57
3.4.7.	PSA	58
3.4.8.	Tiroglobulin	58
3.5.	Referans Aralığı Saptanması Yolunun Belirlenmesi.....	58
3.6.	Referans Bireyleri Dışlama ve Gruplandırma	59
3.7.	Kullanılan Bilgisayar Programları ve İstatistiksel Yöntemler.....	59
4.	BULGULAR	61
5.	TARTIŞMA	81
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	86
7.	REFERANSLAR	87
8.	ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	94

9.	TABLolar DİZİNİ	96
10.	ÖZGEÇMİŞ	98

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFP	: Alfa-Fetoprotein
CEA	: Karsinoembriyonik Antijen
CA 15.3	: Karbonhidrat Antijeni 15.3
CA 19.9	: Karbonhidrat Antijeni 19.9
CA 125	: Karbonhidrat Antijeni 125
fPSA	: Free Prostat Spesifik Antijen
PSA	: Prostat Spesifik Antijen
TG	: Tiroglobulin
NCCLS	: National Committee for Clinical Laboratory Standards; Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi
IFCC	: International Federation of Clinical Chemistry; Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbi Federasyonu
DNA	: Deoksi Ribo Nükleik Asit
PSA	: Prostat Spesifik Antijen
ALP	: Alkalen Fosfataz
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
CG	: Koriyonik Gonadotropin
ng	: Nanogram
pg	: Pikogram
SD	: Standart sapma
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
rpm	: Revolutions Per Minute (Dakikada Devir Sayısı)

1. GİRİŞ

Bireylerin hastalık ve sağlık durumlarının belirlenmesinde referans verilerine başvurulmaktadır. Referans verileri tıbbi anamnezlerden, klinik muayenelerden ve destek incelemelerden elde edilirler (1). Referans veriler klinikte tedavinin ve takibin her aşamasında klinisyenlere ışık tutmaktadır. Referans aralığı, referans bireylerin oluşturduğu örnek referans dağılımından belli istatistiksel yöntemlerin kullanılması ile gözlemlenen referans değerlerin oluşturduğu dağılımdan hesaplanan limitler arasındaki değerlere denilmektedir (2).

Laboratuvar sonuçlarını değerlendirmede güvenilir referans aralıklarının önemli bir yeri vardır. Referans aralıkları tıbbi kararların verilmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Üretici firma tarafından önerilen referans aralığı mevcut olsa da bu aralığın hitap ettiği toplumun referans aralığını tam olarak yansıttığı söylenemez. Coğrafi alan, diyet, cinsiyet, yaş ve referans grubunun seçimine bağlı olarak laboratuvarlar ve bölgelerde oluşan farklı etmenlerden dolayı her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi son derece önemlidir (3,4).

Referans aralıkları belirlemede, referans bireylerinin seçimi direkt veya indirekt yöntemle olabilir. Direkt yöntem, belirlenmiş kriterler kullanarak, sağlıklı olarak tanımlanmış kişilerden, bir hazırlık döneminin ardından örnek alımının gerçekleştirildiğı yöntemdir. Indirekt yöntem ise hem sağlıklı hem de sağlıksız bireyleri içeren tıbbi veri bankasını kullanır. Indirekt yöntemler, bankadaki veri kümesinin, parametrik dağılım gösteren sağlıklı bireyler ile rastgele patolojik bireyleri içerdiği varsayımına dayanır. Yeterli sayı içeren veri kümesinde bu yöntemler uygulandığında sağlıklı ve sağlıksız örnekler güvenilir şekilde birbirinden ayrılabilir. Patolojik örneklerin sağlıklı topluma ait referans aralıklarına etkisi bu durumda söz konusu değildir. Sağlıklı örneklere ait altta yatan dağılım istatistik yöntemlerle kestirilebilir ve bu dağılımın 2,5 ile 97,5 yüzdeleri, referans aralıklarını tanımlar (5).

Bu çalışmada, referans aralığının belirlenen popülasyon kullanılarak hesaplanabilirliği araştırılmıştır. Laboratuvarımızda çalışılan ve klinisyen tarafından sık kullanılan 6 tümör belirteci testinin indirekt yöntemle hesaplanarak referans değerlerimizin oluşturulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Bir tümör belirteci, bir tümörü normal dokudan ayırt eden, bir tümöre yanıtta konak veya tümörün kendisi tarafından üretilen ya da kan veya salgıların ölçümlerine dayalı bir tümör varlığını tespit etmek için kullanılan maddedir (6,7). Hücrede, dokuda veya vücut sıvısında bulunan bu maddeler, kalitatif ya da kantitatif olarak ölçülebilmektedirler.

Morfolojik olarak kanser dokusu, patologlar tarafından normal erişkin farklılaştırılmış dokusundan ziyade fetal dokuya benzediği kabul edilmektedir. Tümörler farklılaşma derecesine göre iyi farklılaşmış, kötü farklılaşmış ya da anaplastik olarak sınıflandırılır (form olmadan). Genelde bazı tümör belirteçleri embriyojenik olarak yakından ilişkili dokular tarafından üretilen maddelerin re-ekspresyonunu temsil ederler (Tablo 1).

Tablo 1. Onkogenetik Tümör Belirteçleri

Çeşitli Dokular Tarafından Tümör Belirteçlerinin Üretimi				
Belirteç	Normal Üretim	Embriyojenik Olarak Yakından İlişkili	Uzak Olarak İlişkili	İlişkisiz
CEA	Kolon	Mide, karaciğer, pankreas	Akciğer, göğüs	Lenfoma
AFP	Karaciğer, yolk kesesi	Kolon, mide, pankreas	Akciğer	
CG	Plasenta	Jerminal tümörler	Karaciğer	Epidermal akciğer
Serotonin	Enteroendokrin	Adrenal karsinoid	Küçük hücre, akciğer	Epidermal akciğer

Bazı tümör belirteçleri tek tip kanser ile ilişkililikten diğerleri çeşitli kanser tiplerinde görülürler. Birçok iyi bilinen bazı belirteçler ise kanser olmayan durumlarda da görülmektedir. Sonuç olarak tümör belirteçleri kanser tanısında kesin olarak kullanılmazlar. Ancak tümör belirteçlerinin kandaki konsantrasyonu tümörün aktivite ve yoğunluğunu yansıtmaktadır.

Klinik olarak ideal bir tümör belirteci, kanser türüne spesifik ve erken tanı ya da görüntüleme esnasında tespit edilecek kadar hassas olmalıdır. Ne yazık ki pek az belirteç tek bir özel tümör için spesifikken çoğu belirteç aynı doku türünün farklı tümörleriyle bulunur. Tümör belirteçleri, kanser dokusu veya kanser hastalarının kanında, benin tümör veya sağlıklı bireylere göre daha fazla miktarda bulunmaktadır. Pratikte mevcut tümör belirteçleri, ilk

tedaviden sonra hastalığın ilerlemesini değerlendirmek ve daha sonraki tedavi yöntemlerini izlemek için çok yararlıdır.

İlk bilinen tümör belirteci 1846 yılında Henry Bence - Jones tarafından bulunan, multiple myelomalı hasta idrarında bulunan, 50°C'de çöken ve kaynatılınca kaybolan Bence-Jones proteini'dir. Monoklonal immunglobulinin hafif zinciridir ve halen tümör belirteci olarak kullanılmaktadır (8). Bu proteinin idrardaki konsantrasyonu ile tümör kitlesi arasında doğru ilişki gösterilmiştir. 1960'ın sonlarına doğru karsinoembriyonik antijenin (CEA) kolorektal kanserle ilişkisi ve bunun Radyoimmünassay (RIA) ile ölçülebilmesi tümör markırları konusundaki çalışmaları hızlandırmıştır (9).

2.1. Kanser

2012'de tüm dünyada tahmin edilen yeni kanser vakası (deri kanseri hariç) 14,1 milyon iken kanserden ölüm sayısı ise 8,2 milyondur. En yaygın dört kanser türü akciğer, meme, bağırsak ve prostat kanserleridir. Bu dört kanser türü tüm yeni kanser vakalarının %42'sini oluşturmaktadır. 2012'de halen yaşayan kadın ve erkek 32,5 milyon kanser hastası bulunduğu tahmin edilmektedir. Bunlardan çoğu meme, bağırsak veya prostat kanserleridir. 2030 itibariyle dünyada her yıl 23,6 milyon yeni kanser vakasının olacağı tahmin edilmektedir. En son verilere göre ülkemizde ise her yıl yaklaşık 97 bin erkek, 62 bin kadın ve toplamda 159 bin kişi kansere yakalanmaktadır (10,11).

Kanser basit tanımıyla dokunun otonom büyümesidir. Ulusal Kanser Kuruluşu kanseri, hücrelerin kontrolsüz olarak anormal büyümesi ve diğer dokulara yayılması olarak tanımlamaktadır. Bu otonom ve anormal büyümenin neden veya nedenlerini anlamak tedavi bulmada kolaylık sağlayacaktır. Kanser için bir tedavi aramanın ayrıca önemi ise hangi karsinojenin (kansere neden olan madde veya etmen) belirli bir kanserden sorumlu olduğunu anlamaktır. Örneğin bir karsinojen fiziksel (örneğin radyasyon), kimyasal (örneğin polisiklik hidrokarbon) ya da biyolojik (örneğin virüs) olabilir. Bu etmenlere maruz kalmak, DNA'ya doğrudan genotoksik etkiler oluşturarak (örneğin radyasyon ile) ya da hücre çoğalmasının artmasıyla (örneğin bir hormon aracılığıyla) kansere yol açabilir veya her iki yolla da kansere yol açabilir (örneğin tütün kullanımıyla) (12).

Moleküler genetikteki gelişmeler insan kanserinin kökeninin daha iyi anlaşılmasına olanak sağlamıştır. Normal hücrelerin çoğalması, büyümeyi arttıran onkogenler ve büyümeyi kısıtlayan tümör baskılayıcı genlerin dengelenmesiyle düzenlendiği düşünülmektedir.

Kanserin gelişimi, onkogenlerin aktivasyonu, onkogen ekspresyonunun değişmesini ya da bir tümör baskılayıcı genin kaybı veya inaktivasyonunu kapsamaktadır.

Kanserin erken tanısı tedavi için en iyi şansı sunar çünkü tümör bu aşamada cerrahi olarak tamamen ortadan kaldırmak için yeterince küçüktür. Ne yazık ki çoğu kanser, cerrahi olarak ortadan kaldırmak için çok büyük olana kadar ya da kanserli hücreler diğer dokulara yayılana (metastaz) kadar semptom göstermemektedirler.

Kimyasal toksinler veya ışın uygulaması gibi diğer tedavi şekilleri birçok tümör hücresini yok etmede etkili olmasına rağmen, genellikle tedavi edici değildir. Çok az artık yaşayabilir tümör hücresi çoğalabilir, tedaviye karşı direnç gösterebilir ve nihayetinde ölüme sebep olabilir (12).

Tablo 2. Tümör markerleri ve ilişkili olduğu kanser türleri (13)

Tümör Belirteçleri	Normal Değer	Primer Tümör	İlişkili olduğu Maligniteler	Benign Durumlar
CEA	<2.5 ng/ml (sigara içmeyenlerde) <5 ng/ml (sigara içenlerde)	Kolorektal kanser	Meme, akciğer, mide, pankreas, mesane, baş boyun	Sigara, ülser, pankreatitis
CA 19-9	<37 U/ml	Pankreas kanseri, Safra yolu kanseri	Kolon,özefagus ve hepatik kanserler	Pankreatitis, sarılık, safra hastalıkları
AFP	<5.4 U/ml	Hepatoselüler karsinoma, Nonseminomatoz germ hüç. tümör	Mide ve pankreas kanseri	Sarılık, viral hepatit, gebelik
β -hCG	<5 U/ml	Nonseminomatoz germ hücreli tümör	Nadiren mide barsak kanserleri	Hipogonadol durumlar, Marihuana kullanımı
CA 125	<35 U/ml	Ovaryum kanseri	Endometrial, fallopi tüpü, meme, akciğer, özefagus ve pankreatik kanser	Menstruasyon, gebelik, fibroidler, ovaryum kistleri, pelvik inflamasyon, endometriosis
PSA	<4 ng/ml	Prostat kanser	-	Prostat iltihabı, benign prostatik hipertrofi, prostatik travma

CA 27-29	<38 U/ml	Meme kanseri	Kolon, mide, karaciğer, akciğer, pankreas, over ve prostat kanseri	Meme, karaciğer ve böbrek hastalıkları, ovaryum kistleri
CA 15-3	<58 U/ml	Meme kanseri		

2.2. Klinik Uygulamalar

Tümör belirteçlerinin yaygın kullanımları Tablo 3’de özetlenmiştir. Tümör belirteçleri genelde;

- 1- Tanı, prognoz ve tahmin
- 2- Uygulanan terapinin etkilerini gözleme
- 3- Yerini saptamak için kullanılırlar.

İdeal olan bir tümör belirteci, tümör hücreleri tarafından üretilmeli ve vücut sıvılarında tespit edilebilir olmalıdır. Sağlıklı insanlarda ve benin durumlarda mevcut olmamalıdır. Bu nedenle, genel popülasyonda asemptomatik bireylerde kanserin varlığı saptamak için tarama amaçlı olarak kullanılabilir. Ancak çoğu tümör belirteçleri normal, benin ve kanserli dokularda mevcuttur ve özgünlükten yoksundur. Ancak eğer kanser insidansı belli nüfuslarda yüksek ise, tarama mümkün olabilir. Çin ve Alaska’da hepatosellüler karsinoma taramasında α -fetoprotein (AFP) kullanımı buna bir örnektir. Prostat-spesifik antijen (PSA) prostat kanserinin erken teşhisi için dijital rektal muayene (DRE) ile birlikte kullanılmıştır. Benin prostatik hiperplazi (BPH)’deki serum PSA seviyesinin yüksekliğinden dolayı, PSA hızı ve serbest PSA yüzdesi gibi yaklaşımlar, prostat kanserinin tespitini iyileştirmek ve PSA’nın spesifikliğini artırmak için kullanılır.

Tablo 3. Tümör Belirteçlerinin Güncel Uygulamaları ve Kısıtlamaları

Uygulama	Güncel Kullanılabilirliği
Kanser taraması	Kısıtlı
Kanser teşhisi	Kısıtlı
Kanser prognozunun değerlendirilmesi	Kısıtlı
Terapötik tepkinin tahmin	Önemli
Tümör evrelemesinin gerçekleştirilmesi	Kısıtlı
Tümör nüksünün bulgulanması yada gerilemesi	Tartışmalı
Tümör lokalizasyonu ve radyoterapötik ajanların yönlendirilmesi	Kısıtlı
Kanser tedavisinin etkinliğini izleme	Önemli

Kanserin klinik evrelemesi, tümör yükünün bir yansıması olarak kabul edilen belirtecin konsantrasyonunun miktarıyla desteklenmektedir. Tanı sırasında belirteç konsantrasyonu, hastalığın ilerlemesi ve sağ kalımın prognostik bir göstergesi olarak da kullanılabilir. Cerrahi gibi başarılı ilk tedaviden sonra, belirteç konsantrasyonu azaltmalıdır. Eğer tedaviden sonraki yarı-ömür beklenen yarılanma ömründen daha uzunsa, tedavi tümör giderme konusunda başarılı olmamıştır. Fakat azalmanın boyutu, hastalık tutulum derecesini ya da tedavinin başarısını yansıtabilir.

Onkolojide hedeflenen terapi daha etkili hale gelmektedir ve geleceğin tedavi seçimi olarak birçok kişi tarafından kabul edilmektedir. Tümör belirteçlerinin hedeflenen tedaviyi yönlendirici yeteneği, tedavi etkinliğini artıracak ve daha az toksisite üretecektir.

Çoğu tümör belirteç konsantrasyonunun tedavi ve terapiye yanıt etkinliği ile bağlantısı bulunmaktadır. Meme kanserinde CA 15-3 veya CA 27.29 gibi belirteçlerinin konsantrasyonu hastanın klinik bulgusu ve tedavisiyle değişebilir. Konsantrasyonlar genellikle kademeli hastalıklarla artar, remisyon ile azalır, stabil hastalıklarla ise önemli bir değişikliğe uğramazlar. Gerçekte, kanser takibinde tümör belirteci kinetiği daha karmaşık olabilir. Tedaviye yanıtta belirteç konsantrasyonları, beklenen değişikliği göstermeden önce ilk başta bir gecikme gösterebilir.

Buna ek olarak, radyoaktif olarak etiketlenmiş tümör belirteçleri antikoları, tümör kitlelerini sınırlamak için ya da tümör bölgesine saldırı için etiketlenmiş antikolara yön vermek için kullanılır. Örnekler, hepatoselüler karsinomu hedeflemek için karsinoembriyonik

antijenin (CEA) radyoaktif etiketli antikor kullanımını, kolon tümörlerini kısıtlamak için ve ferritine karşı etiketli antikorların uygulanmasını içermektedir. Bu yaklaşım aynı zamanda antikorun tümör belirteci epitoplarına bağlanmasına ve radyoaktivite dozuyla tümör hücrelerini öldürmeye izin vererek tedavi için kullanılır (12).

2.3. Klinik Kullanılabilirliğin Değerlendirilmesi

Bir tümör belirtecinin klinik yararını değerlendirmek için,

- 1- Referans aralıklarını belirlemek,
- 2- Tahmini değerlerini hesaplamak,
- 3- Belirteç konsantrasyonlarının dağılımını değerlendirmek ve
- 4- Hastalık yönetimindeki rolünü belirlemek gereklidir.

2.3.1. Referans aralıkları

Referans aralıkları, tercihen kanserle ilgisi olan aynı yaş ve cinsiyetteki bireyler kullanılarak sağlıklı bir nüfustan elde edilir. Pratikte referans aralıkları, fizyolojik olarak sınırları belirlenmiş konsantrasyonlarda analitlerle uygulanabilen sağlıklı bireyler kullanılarak tespit edilmiştir. Ancak, tanı ve kanser tedavisinde tümör belirteçlerinin kullanımı gibi nispeten spesifik uygulamalar ile test yapmak için, bir kesim noktası kararı, referans nüfusun üst sınırından daha uygun olabilir. Çoğu vakada benin hastalığı olan kişileri hasta olmayan grup olarak kullanmak sağlıklı bir nüfusu kullanmaktan daha uygundur. Kesim noktası kararı, tahmini değer modeli kullanılarak belirlenir.

2.3.2. Tahmini değer modeli

Tahmini değer modeli, klinik duyarlılık ve özgünlük ile testin tahmini değerini içerir. Aynı tip kanser için aynı analit veya çoklu belirteçler için çoklu testleri değerlendirmek için alıcı işletim karakteristiği (ROC) eğrisi faydalı bir yaklaşımdır.

2.3.3. Belirteçlerin dağılımı

Tümör belirteci konsantrasyon dağılımı genellikle sağlıklı, benin ve kanserli gruplarda çeşitli kesiklilik kullanılarak tespit edilmesi yüksek konsantrasyonlarla hastaların yüzdesi gibi

gösterilir. Mümkün olduğunda, uluslararası evreleme kriterleri kanser hastalarını sınıflandırmak için kullanılmalıdır. Tanı patolojik bulgulara dayanmalıdır. Örneğin göğüs kanserinde normal kadınlar karşılaştırma için sağlıklı kişiler olarak kullanılır. Malin olmayan veya benin gruplar, benin karaciğer hastalıkları, meme hastalıkları ve gebelik de dahil olmak üzere belirteç yüksekliğinin en olası nedenleri dikkate alınarak insanlar seçilir. Metastatik olmayan göğüs kanseri grupları endometriyal, kolon, akciğer, prostat, yumurtalık karsinoma ve diğer hastalar kullanılarak belirtecin özgünlüğünü göstermek için seçilir.

2.3.4. Hastalık yönetimi

Çoğu tümör belirteci tedavi ve kanserin ilerlemesini izlemek için kullanılır. Belirteçler, tedavi yönteminin etkinliğini izlemek ve kanserin nüksedip etmediğini tespit etmek için ilk tedavinin (örneğin, cerrahi, radyasyon) başarısını belirlemek için kullanılabilirler.

Kanser tedavisinin etkinliği izlenirken belirteç konsantrasyonu, kanserin gelişmesinde artmalı, kanser gerilemesinde azalmalı ve stabil hastalıklarda ise sabit kalmalıdır. Başarılı ilk tedaviden sonra kanserin nüksmesiyle, belirteç konsantrasyonu yarı-ömürüne göre beklenen süre içinde düşmeyebilir. Normalden daha yüksek bir stabil konsantrasyona düşebilir ya da sağlıklı bireylerin referans aralığına düşebilir. Belirteç konsantrasyonunda sonradan ortaya çıkan bir yükseliş kanser nüksünü göstermektedir.

Tedavisi uygulandığında belirteç konsantrasyonlarındaki değişiklikler hastalığın klinik ilerlemesini yansıtmalıdır. İlerleyici hastalık, belirteç konsantrasyonunda en az %25'lik bir artış ile tanımlanır. Örneklem, ilave delil için 2 ila 4 hafta içinde tekrar edilmelidir. Tedavi sırasında örneklem aralığı tümörün tipine bağlı olabilir ve klinik izlem ile ilişkili olmalıdır.

Belirteç konsantrasyonunda en az %50'lik bir azalma, tümör yükünün serum tümör belirteci konsantrasyonlarındaki değişiklikler ile ilişkili olması, kısmi gerilemenin göstergesidir.

2.4. Klinik İlkeler

Tanı ve kanser evrelemesi fizik muayene, görüntüleme ve laboratuvar çalışmaları da dâhil olmak üzere bir dizi araç içerir. Bu araçların uygulaması tarama, tanı, evreleme, prognoz ve tedavi yöntemlerini yönetmek için kullanılan birçok tümör belirteçleri ile neticelenmiştir.

Ancak, tüm tümör belirteçleri her türlü kullanım için uygun değildir ve tüm kanserler tümör belirteçlerini oluşturmamaktadır. Bu nedenle, kanserin her türü ve her tümör belirteci kullanım için doğru şekilde değerlendirilmeli ve klinisyenler kaynakları korumak için tümör belirteçlerinin doğru kullanımını konusunda eğitilmelidir.

Çeşitli ulusal ve uluslararası gruplar seçim ve tümör belirteçlerinin klinik kullanımı ile ilgili yönergeler yayımlamıştır. Bu gruplar, Ulusal Klinik Biyokimya Akademisi (NACB), Avrupa Tümör Belirteçleri Grubu (EGTM), Amerikan Kanser Derneği (ACS), Amerikan Klinik Onkoloji Derneği (ASCO) ve diğerleri sayılabilir. Tablo 20-3 bu grupları ve çeşitli önerilerini özetlemektedir (12).

2.5. Analitik Metotlar

Tümör belirteçleri, enzim testi, immünolojik test; reseptör testi gibi çeşitli analitik teknikler ile ve kromatografi, elektroforez; sıvı ya da gaz kromatografisi, kütle spektrometrisi ve mikrodizi gibi enstrümental teknikler ile ölçülmektedir.

2.6. Enzimler

Enzimler, belirlenen tümör belirteçlerinin ilk gruplardan biridir. Belirteçlerin yüksek aktiviteleri kanserin varlığını göstermek için kullanılmıştır. Bunların ölçümü, enzimatik aktivitenin spektrofotometrik ölçümüne göre daha kolaydır. 1950'lerin sonlarında radyoimmünojenik testlerin (RIA) tanıtılması ile, bir enzimin kütlesi katalitik aktivitesi yerine bir protein antijeni olarak ölçülebilmektedir.

Birkaç istisna dışında, bir enzim ya da izoenzim aktivitesi veya kütledeki bir artış kanserin türü ya da yer aldığı özel organları belirlemek için yeterince hassas ve spesifik değildir. Dolayısıyla, enzimler spesifik olmayan bir tümör belirteci olarak en uygun olanıdır. Yükselmiş enzimler malignite varlığını işaret ediyor olabilir. İzoenzimler ve enzimlerin çok formları fazladan organ spesifitesi sağlayabilir.

Bahsedilen enzimler şunlardır;

- 1- Alkalen fosfataz
- 2- Laktat dehidrogenaz
- 3- Nöron spesifik enolaz

- 4- Prostatik asit fosfataz
- 5- Prostat spesifik antijen
- 6- Ürokinaz-plazminojen aktivator sistem ve
- 7- Katepsinler

2.6.1. Alkalen fosfataz (ALP)

Karaciğer, kemik ve plasenta alkalen fosfatazın (ALP) birincil kaynaklarıdır. Normal yetişkin serumundaki ALP, başlıca karaciğer ya da safra yollarından türetilmiştir. Yükselmiş ALP birincil veya ikincil karaciğer kanserinde görülür. Kantifikasyon, kemik ya da karaciğer tutulumu ile metastatik kanser değerlendirilmesinde yardımcı olabilir. En fazla yükselme kemik metastazı olan prostat kanserlilerdeki gibi osteoblastik lezyonlu hastalarda görülür. Minimum yükselmeler kemik metastazı olan meme kanserlilerdeki gibi osteolitik lezyonlu hastalarda görülür.

Karaciğer metastazlarında, serum ALP düzeyi karaciğer tutulumu, diğer karaciğer fonksiyon testlerinin gösterdiğinden daha iyi bir korelasyon göstermektedir. Yüksek ALP kaynağını belirlemek için, diğer karaciğer enzim testleri yapılabilir. 5'-nükleotidaz veya γ -glutamilttransferaz'ın yüksekliği, yüksek ALP'nin karaciğer kökenli olduğunu göstermektedir. ALP izoenzimlerinin belirlenmesi daha fazla spesifite sağlayabilir. Lösemi, sarkoma ve hepatik infiltrasyon ile komplike lenfoma gibi diğer maligniteler, ayrıca alkalen fosfataz'ı artırabilir.

Plasental alkalen fosfataz (PALP) trofoblast tarafından sentezlenir ve hamile kadınların serumlarında yüksektir. PALP ilk kez Fishman ve arkadaşları tarafından 1968 yılında Regan izoenzimi olarak tanımlanmıştır ve α -fetoprotein ve CEA ile birlikte ilk onko gelişimsel belirteçlerden biri olarak tanınmıştır. Bu enzimler, seminom ve Hodgkin hastalıklarının yanı sıra yumurtalık, akciğer, trofoblast ve gastrointestinal kanser dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde yüksektir (12).

2.6.2. Laktat dehidrogenaz (LDH)

Glikolitik yolun bir enzimi olan laktat dehidrogenaz (LDH) hücre hasarının sonucunda salınır. Malin olgularında LDH artışı özgül değildir. Karaciğer; non-Hodgkin lenfoma; akut

lösemi; nonseminomatöz germ-hücreli testiküler kanser; seminoma, nöroblastoma ve meme, kolon, mide ve akciğer kanseri gibi diğer karsinomlarda arttığı gösterilmiştir. Solid tümörlerde serum LDH seviyesinin tümör kitlesi ile korele olduğu gösterilmiş olup hastalığın ilerlemesi için prognostik bir belirteç görevini de görür. Tedavinin izlenimindeki rolü kısıtlıdır. İzoenzimlerin organ tutulumu için sınırdaki özgüllükleri mevcuttur. Örneğin LDH-5 izoenziminin artışı karaciğer metastazı ile bağlantılıdır. Beyin omurilik sıvısında LDH-5 artışı santral sinir sistemi metastazının erken bir belirteci olabilir (12).

2.6.3. Nöron-spesifik enolaz (NSE)

Enolaz, fosfopiruvat hidrataz olarak da bilinen glikolitik enzimdir. Nöron-spesifik enolaz (NSE) enolazın nöronal dokular ile yaygın nöroendokrin sistem ve amin öncüllerini kullanan ve dekarboksilasyonunu (APDD) yapan dokularda bulunan bir şeklidir. NSE; küçük hücreli akciğer karsinomu (SCLC), nöroblastom, feokromositoma, karsinoid, tiroid medüller karsinomu, melonoma ve pankreatik endokrin tümörler gibi nöroendokrin kaynaklı tümörler ile bağlantılıdır.

2.6.4. Prostatik asit fosfataz (PAP)

Asit fosfatazlar, fosfat esterlerini pH 7,0 altındaki optimum pH'larda hidroliz eden bir grup enzimdir. Sekretuar epitel hücrelerinin lizozimlerinde bulunur. Asit fosfataz primer olarak prostat bezi tarafından üretilse de (prostatik asit fosfataz veya PAP) eritrosit, trombosit, lökosit, kemik iliği, kemik, karaciğer, dalak, böbrek ve barsak dokularında da mevcuttur. Önceleri PAP'ın enzimatik aktivitesi ölçülürken, şimdi RIA ile ölçülmektedir. Osteogenik sarkoma, multiplmyeloma, ve değişik kanserlerin kemik metastazı gibi çeşitli malignite durumlarında serum PAP düzeyleri artar. Benin prostat hiperplazisi (BPH), osteoporoz ve hiperparatiroidizm gibi bazı benin durumlarda da artar. PAP'ın klinik kullanımını yerini PSA'ya bırakmıştır.

2.6.5. Prostat spesifik antijen (PSA)

PSA temel olarak prostatın duktal ve asiner epitelinde ve periüretral bezlerde üretilen 33 kDa ağırlığında bir glikoproteindir (14). Serum PSA değerinde üst sınır, 4 ng/ml olarak kabul edilir. Ancak 4 ng/ml sınır değerinin her zaman malign-benign ayırımını yapamadığı gösterilmiştir. BPH'li olguların %20-25'inde PSA'nın 4 ng/ml'den büyük olduğu, klinik

önemli kanserlerin %20-50'sinde PSA değerinin 4 ng/ml'den düşük olduğu tespit edilmiştir. Prostat kanseri ve benign durumlardaki serum PSA değerleri zaman zaman çakışmakta, bu yararlı tümör belirleyicisinin prostat kanseri tanısında yetersiz duyarlılık ve özgüllüğü ile sonuçlanmaktadır (15). PSA değerlerinin BPH ve prostat kanserli hastalarda önemli oranlarda kesişmesi, prostat kanserinde PSA'nın spesifite ve sensitivitesinin yetersizliği araştırmacıları, prostat kanserinin erken tanı, evreleme ve izleminde kullanılmak üzere PSA bazlı farklı türevler geliştirmeye itmiştir. PSA'nın klinik uygulamadaki etkinliğini arttırmak amacıyla türetilen parametreler: PSA dansitesi, PSA hızı, yaşa özgü PSA referans aralığı ve serbest PSA'nın total PSA'ya oranıdır. Ancak unutulmaması gereken nokta PSA'nın spesifitesi arttırılırken kanser kaçırma riski, sensitivitesi atılırken de gereksiz biyopsi sayısı artmaktadır (16).

Yaşa özgü PSA: Normal erkekler için olan yaşa-bağlı PSA değerleri Tablo 1'te gösterilmiştir. Yaş yükseldikçe PSA'daki yükselmenin; BPH'a bağlı prostat glandındaki büyüme, subklinik prostatit insidansının yükselmesi ve mikroskopik, klinik olarak belli olmayan prostat kanseri prevalansının artması sonucu olduğu düşünülmektedir (17). Yaşa özgü PSA referans aralığına göre erkekler değerlendirildiğinde ise, genç erkeklerin %3'ü, yaşlıların ise sadece %9'u normal sınırlar üzerinde PSA değerine sahiptir. Bu yöntemle 60 yaşın altındaki kür şansı olan genç hastalara daha düşük evrelerde daha çok tanı konabilmekte, tedavinin gerekmediği yaşlı hastalarda ise daha az tanı konmaktadır.

Tablo 4. Yaşa göre değişen prostat spesifik antijen referans aralıkları

Yaş aralığı	PSA aralığı (ng/ml)
40-49	0 – 2,5
50-59	0 – 3,5
60-69	0 – 4,5
70-79	0 – 6,5

Standart PSA aralığı, yaşla ve prostat hacmi ile birlikte görülen PSA sapmalarını göz önünde bulundurmaz. Yaşa özgü PSA referans aralığı PSA'yı 60 yaş altındaki erkekler için daha duyarlı, 60 yaş üzerindeki için ise daha özgül bir tümör belirleyicisi haline getirmeyi amaçlar. Ancak PSA değeri 2,6 ng/ml'nin üzerinde olsa da (sırası ile) 3,5 ve 4,5 ng/ml'nin altında olan 50-59 ve 60-69 yaş arası tanı konmamış prostat kanserli hastaların yaşam beklentilerinin uzun olmasına rağmen tedavisiz kalmaları bu yöntemin en önemli açığıdır.

PSA Dansitesi: PSA değeri 4-10 ng/ml olan hastalarda biyopsi ile kanser yakalama oranı yaklaşık %25-30'dur. Geri kalan hastalarda PSA yüksekliğinin en olası nedeni BPH'a bağlı prostat hacmindeki artıştır. Bu nedenle Benson ve arkadaşları tarafından serum PSA düzeyini prostat ağırlığına göre düzeltmeyi amaçlayan PSA dansitesi (PSAD) yöntemi geliştirilmiştir (18). PSAD toplam PSA değerinin TRUS ile belirlenen prostat hacmine bölünmesi ile hesaplanır. Alınacak eşik değer konusunda görüş birliği olmamakla beraber genel kabul gören yaklaşım; saptanan değer 0,15'in üzerinde olmasının prostat kanserini, 0,15'in altında olmasının ise benign hastalığı işaret ettiği yönündedir. PSA dansitesi için 0,15 eşik değer olarak alındığında toplam PSA değeri 4-10 ng/ml olan olgularda prostat kanseri saptama oranı artmaktadır (19). Bunun yanında, eşik değerin 0,15 olmasının yaklaşık %50 olguda prostat kanseri tanısının atlanmasına yol açacağı da öne sürülmüştür (20). Ölçümdeki subjektiflik nedeniyle TRUS ile yapılan prostat hacmi ölçümlerinde %10-30 oranında farklı sonuçlar elde edilmesi, prostat konfigürasyonundaki bilinen farklılıklar nedeniyle kullanılan formüllerin hacim belirlemede sınırlı kalmaları, yaşla birlikte PSAD değerinde görülen oynamalar ve BPH dokusundaki epitel/stroma oranının hastadan hastaya değişiklik göstermesi gibi faktörler nedeniyle PSA dansitesinin yararlılığı tartışmalıdır (21). PSAD'nin yararlılığı konusundaki bu şüpheler nedeniyle Kalish ve ark. daha detaylı bir yöntem olan "transisyonel zon PSA dansitesi"ni tanımlamıştır. Bu yöntemde TRUS ile ölçülen transisyonel bölge hacmi esas alınmaktadır. PSA/TZ değeri 0,35'in üzerindeki olgularda prostat kanseri riski daha yüksek bulunmuştur (22).

PSA velositesi: PSA, prostat kanserli olgularda benign hiperplazili olgulara göre daha hızlı yükselir. Bu nedenle PSA'nın belirli bir zaman içindeki yükselme hızını temel alarak prostat kanserli olguların benign hiperplazili olgulardan ayırt edilmesini amaçlayan bir yaklaşımla PSA velositesi (PSAV) tanımlanmıştır. En az altı ay aralarla alınan üç PSA örneğine ihtiyaç olduğu için, PSA velositesi 18-24 aylık bir takip gerektirir (23). İlk tanımlandığı çalışmada 0,75 ng/ml veya daha yüksek yıllık PSA artışının %72 duyarlılık ve %95 özgüllükle prostat kanserini öngördüğü bildirilmiştir. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda, özellikle ilk PSA değeri 4 ng/ml'nin üzerinde olan olgularda düşük duyarlılık ve özgüllük değerleri elde edilmiştir (24). Hesaplanmasının zor olması, PSA'nın kansere özgü olmaması, uzun bekleme ve takip süresi gerektirmesi nedeniyle hastanın yaşam kalitesini olumsuz etkileyebilecek olması, PSAV'de yaşa bağlı değişimlerin öngörülememesi gibi sebeplerle bu yöntemin kullanımı çok yaygınlaşamamıştır.

Serbest PSA: Serumda PSA'nın yaklaşık %5'i serbest formda bulunur ve serbest PSA'nın serum toplam PSA'sı içindeki yüzdelik oranı prostat kanserli olgularda düşüktür. Serbest PSA ölçümü, toplam PSA değerinin normal sınırlarda olduğu hastalarda kanser saptama duyarlılığını artırmak; toplam PSA'nın yükseldiği (4-10 ng/ml) hastalarda ise özgüllüğü artırmak ve yapılan prostat biyopsisi sayısını azaltmak amacıyla kullanılmaktadır. Prostat kanserinin saptanmasında serbest PSA'nın kullanımı ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Çalışmalarda farklı "serbest/toplam PSA' (SPSA %) kullanılmış olmasına karşın, %19-64 orandaki hasta grubunda negatif prostat biyopsisinin önlenebileceği gösterilmiştir. Örneğin eşik değer olarak %25 oranı kabul edildiğinde, toplam PSA toplam PSA seviyesi 4-10 ng/ml arasında olan olgularda gereksiz biyopsi insidansı %20 oranında azalmakta ve %95 kanser saptama oranı elde edilmektedir (25). Yaş ve prostat hacmi SPSA %değerini bağımsız olarak etkileyebilir, serbest PSA'nın yaşla artabileceği gösterilmiştir. Prostat hacmi de serbest PSA değerini ve kullanılacak eşik değerlerin seçimini etkileyen bir parametredir.

2.6.6. Ürokinaz-plazminojen aktivatör sistem

Ürokinaz-plazminojen aktivatör sistemi üç ana bileşenden oluşur:

- 1- Enzim ürokinaz-plazminojen aktivatör (uPA; 53 KDa serin proteaz)
- 2- uPA, membrana bağlı reseptör (uPAR) ve
- 3- uPA inhibitörleri PAI-1 ve PAI-2.

Ürokinaz plazminojen aktivatörü, lisin 158 ve izolösin 159 arasındaki bölünme ile aktive olan tek bir inaktif polipeptid olarak üretilir. Bölünme, katepsin B, katepsin L ve hK2 içeren bir dizi proteazlar ile katalize edilmektedir. uPA'nın aktif formu hücre yüzeyi reseptörü uPAR ve katalitik olarak aktif bir B zinciri ile etkileşime giren bir A zincirin'den oluşur. uPA'nın en iyi karakterize aktivitesi, hücre dışı matris (ECM) bileşenlerini indirgeyen ve matris metaloproteinazlarını aktive eden plazminojenin aktif plazmin'e dönüşmesidir. Bunlar ECM'i daha fazla böler, aktive eder ve spesifik büyüme faktörlerini (fibroblast büyüme faktörü [FGF]-2 ve dönüştürücü büyüme faktörü [TGF]-5) salıverir. PAI-1 ve PAI-2: uPA aktivitesi iki inhibitör molekülü tarafından in vivo olarak kontrol edilir. Bunlar sadece uPA'yı inhibe etmez, aynı zamanda anjiyogenez, hücre adhezyonu ve göç ile apoptoz inhibisyonu dahil olmak üzere bir dizi diğer fonksiyonları da vardır.

Tarihsel açıdan uPA, insanlarda prognostik değer için metastaz ölçümünde ilk proteaz olarak rol oynar. Örneğin, birincil tümörlerde uPA'nın yüksek aktivitesiyle meme kanserli hastalar, düşük uPA aktivitesi olan hastalardan daha zayıf hastaliksız şablonuna sahiptir. uPA'nın prognostik etkisi, aksiller nod durumu, tümör boyutu, tümör derecesi ve östrojen reseptörü (ER) durumu gibi diğer geleneksel olarak kullanılan belirteçlerden bağımsız görünmektedir. Çalışmaların çoğunda, uPA tümör boyutu, tümör derecesi veya ER durumu genel sağkalımın daha güçlü bir belirleyicisidir ve nodal durumu kadar eşit güçtedir. ASCO, uPA/PAI'nın, yeni teşhis edilmiş nod-negatif hastalarda prognozu belirlemek için meme kanseri dokusunun 300 mg'ı ELISA ile ölçülerek; her iki belirtecin konsantrasyonlarının kemoterapötik tedavisinde fayda sağlamada yardımcı olabileceğini önermiştir.

uPA meme kanserinde prognostik belirteç olarak kullanılmıştır ve kolorektal kanserde fayda göstermiştir. Ön çalışmalar uPA'nın, gliomların yanı sıra yumurtalık, böbrek, hepatoselüler, pankreas, üriner, mesane, akciğer (adenokarsinom) ve servikal kanserlerinde bir prognostik belirteç olarak rol oynadığını ortaya çıkarmıştır. uPA'nın yüksek konsantrasyonları da hem mide hem de özofajiyal kanserlerinin agresif hastalığı ile ilişkilidir. Bu nedenle uPA kanserde genel bir prognostik belirteç olarak yararlı olabilir.

uPA için katalitik aktivitesini ölçen orijinal bir deney geliştirildi. Bu deney, enzim-bağlı immünosorbent testi (ELISA) ile değiştirildi ve çok sayıda araştırma ve ticari olarak temin edilebilen kitler tümör dokusunda uPA ve PAI-1 tespiti için geliştirilmiştir. Genellikle, uPA ve/veya PAI-1 konsantrasyonlarındaki artış zayıf prognozu gösterir. Toplam dokudaki 3 ng/mg uPA'nın altında ve 14 ng/mg PAI-1 altındaki konsantrasyon özellikle daha iyi prognoza sahiptir.

2.6.7. Katepsinler

Katepsinler lizozomal proteaz enzimleridirler; katepsin B, D ve L tümör gelişimi ve ilerlemesinde rolleri için incelenmiştir.

Diğer proteazlara benzer şekilde, katepsinler aktivasyon için işlem gerektiren yüksek moleküler ağırlıklı ön-maddeler olarak sentezlenmiştir. Örneğin, katepsin B (CB), normal olarak lizozomlarda bulunan bir tiol-bağımlı proteazdır ve katepsin D (CD) ve matris metaloproteinaz tarafından aktive edilir. Aktive olmuş CB sırayla uPA ve spesifik metaloproteinazları aktive eder. Katepsin L (CL) CB ile spesifikliği benzerdir; ancak, küçük

moleküler substratlar doğrultusunda çok az aktivitesi vardır. CB'ye benzer şekilde Katepsin D, bir lizozomal proteazdır; ancak, CD proteazların aspartil grubuna aittir.

CB'nin ekspresyonu ve lokalizasyonu, normal dokuya göre, tümörlerde değişmiş görülmektedir. Tümör dokusunda, CB, plazma membranı ile ilişkilidir veya salgılanmıştır. Artan ekspresyon, gliyomalar, melanomas ve osteoblastomas'ın yanı sıra meme, kolorektal, mide, akciğer ve prostat karsinomlarında tümör gelişimi ve/veya ilerlemesi ile bir bağlantı olduğunu göstermektedir. Değişmiş CB lokalizasyonu kolon, karsinom, tiroid kanseri, gliom ve meme epitel tümörü gibi çeşitli tümör dokularında görülmüştür. Değiştirilmiş ekspresyon ve lokalizasyon, ECM bozunması ve büyüme artışıyla doku invazyonuna karıştığı düşünülmektedir. ECM bozunması, uPA ve MMP gibi proteazlar ve CB'nin aktivasyonu ile gerçekleşir. ECM bozunmasına ek olarak, CB, temel fibroplast büyüme faktörü (bFGF), insülin-benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve ECM ile ilişkili TGF-p gibi büyüme faktörleri salgılar.

Sınırlı sayıda bazı çalışmalar, agresif hastalıklı çoklu tümör tiplerinde CB'nin yüksek değerleriyle ilişkilendirmiştir. Bir istisna dışında tümü, az sayıda hastayı içeren retrospektif çalışmalardır. Büyük bir çalışmada (n=1500 hasta) CB, meme kanseri hastalarında hem nüksetmeyen hemde genel sağkalım için bağımsız bir prognostik belirteç olduğu gösterilmiştir; ancak, uPA kadar iyi bir belirteç değildir. CD'nin prognostik değeri ile ilgili verilerin çoğu meme kanseri ile ilgilidir; ancak, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom (SCC), hepatosellüler karsinom ve gastrik adenokarsinomda faydalılığı sınırlı çalışmalarda araştırılmıştır.

Katepsin konsantrasyonları genellikle ELISA ile doku ekstratlarında ya da doğrudan immünohistokimya ile dokularda ölçülür.

2.7. Hormonlar

50 yıl önce özel bir hormon için spesifik RIA metotlarının tanınması ile, hormonlar, kanser hastalarının tedavisini izlemek için tümör belirteçleri olarak kullanılmıştır. Bu uygulama, monoklonal antikor bazlı immünoassay'in tanınması ve kullanımı ile daha yararlı olduğu kanıtlanmıştır.

Kanserde hormonların üretimi iki ayrı yolu içerir. İlk olarak, normalde zaten üreten endokrin dokusu, hormonu aşırı miktarda üretir. İkinci olarak, bir hormon, normalde hormon

üretmeyen bir non endokrin dokusu tarafından uzak bir yerde üretilir. Son durum ektopik sendrom olarak adlandırılır. Örneğin, adrenokortikotropik hormonun (ACTH) üretimi hipofiz beziyle normotrophic'tir ve akciğer küçük hücresiyle ektopik'tir. Sonuç olarak, belirli bir hormonun yüksekliği spesifik tümör teşhisi değildir çünkü bir hormon çeşitli kanserler tarafından üretilir.

Multipl endokrin neoplazi (MEN) sendromları (MEN-1, MEN-2A ve MEN-2B) hem benin hemde malin tümörler ile kendini gösteren otozomal dominant bir şekilde kalıtsal ailesel bozukluklardır. ACTH, kalsitonin, gastrin, glukagon, insülin, sekretin ve vazoaaktif intestinal polipeptidin gibi çeşitli polipeptit hormonları, pankreatik adacık hücre tarafından, MEN-1'de bulunan hipofiz tümörleri tarafından, MEN-2A'nın bir varyantı olan ailesel medüller tiroit kanseri'nin (FMTK) yanı sıra MEN-2A ve 2B'de bulunan medüller tiroit kanseri tarafından üretilir. Tümör belirteçleri olarak kullanılan hormon örnekleri Tablo 5'da listelenmiştir.

Tablo 5. Tümör Belirteci Olan Hormonlar

Hormon	Kanser Tipi
ACTH	Cushing sendromu, akciğer (küçük hücre)
Antidiüretik hormon	Akciğer (küçük hücre), adrenal korteks, pankreas, duodenal
Bombesin	Akciğer (küçük hücre)
Kalsitonin	Medüller tiroit
Gastrin	Glukagonom
Büyüme hormonu	Hipofiz bezi adenomu, böbrek, akciğer
CG	Embriyonal, koryokarsinom, testiküler (nonseminoma)
İnsan plasental laktojeni	Trofoblastik, gonatlar, akciğer, göğüs
Nörofiziner	Akciğer (küçük hücre)
Paratiroid hormonu	Akciğer, böbrek, göğüs, karaciğer,
Prolaktin	Hipofiz bezi adenomu, böbrek, akciğer
Vazoaaktif intestinal peptid	Pankreas, bronkojenik, feokromositom, nöroblastom

2.7.1. Adrenokortikotropik hormon

ACTH 39 amino asitli bir polipeptid hormondur ve 4500 Da'lık bir molekül ağırlığına sahiptir. Ön hipofiz bezinin kortikotropik hücreleri tarafından üretilir. 1928 yılında, şu an kortizol fazlalığı olarak bilinen hastalığın belirti ve semptomlarına sahip bir hasta, akciğer

küçük hücreli karsinoma sahip olarak tarif edilmekteydi. Az sayıda bu karsinomlar pro- ACTH'nin üretimi, yani ACTH'un öncüsü olarak bilinmektedir. Bu öncü madde 22,000 Da molekül ağırlığında, %5 biyoaktivite sahip ve ACTH'un immünaktivitesine sahiptir. Klasik RIA testleri, ektojik ACTH-üreten tümörlerin tespiti için yararlı olabilecek ACTH fragmanları ve intakt molekülün yanı sıra pro-ACTH ve pro-opiomelanokortin (POMC) öncülleri ölçmektedir halbuki immünometrik testin reaktivitesi kullanılan antikorlara bağlıdır ve öncüllerinin yanı sıra ACTH'u ölçebilir.

Artmış serum ACTH düzeyleri hipofiz veya ektojik kaynaklı olabilir. Yüksek ACTH düzeyi (>200 ng/L) ektojik kaynaklı olabilir. Deksametazon supresyonunun başarısızlığı da ektojik üretim lehinedir. Ektojik ACTH üretiminin yarısı küçük-hücreli akciğer karsinomundan kaynaklanır. Pankreatik, meme, gastrik ve kolon kanserleri ile kronik obstrüktif pulmoner hastalık, mental depresyon, obezite, hipertansiyon, diyabet ve stres gibi benign durumlar da ACTH düzeyinde artışa neden olur. ACTH'nin tedavi izlemindeki rolü henüz net değildir.

2.7.2. Kalsitonin

Kalsitonin, molekül ağırlığı 3.4 kD olan 32 amino asitli bir polipeptittir. Bu hormonu tiroidin C hücreleri üretir. Normalde, serum kalsiyum düzeylerindeki artışa yanıt olarak salgılanır. Kemikten kalsiyum salınımını baskılayarak serum kalsiyum düzeyini düşürür. Serum yarı-ömrü 12 dakikadır. Sağlıklı bireylerde düzeyi 0.1 µg/dL'nin altındadır. Artmış düzeyi tiroidin medüller karsinomu ile bağlantılıdır.

Uygulamada, kalsitonin konsantrasyonu tümör hacmi ve yerel veya uzak metastazda tümör tutulumu gibi hastalığın derecesini gösteren indikatörler ile ilişkili görünmektedir. Kalsitonin tedavinin izlenmesi ve hastalığın nüksetmesini tespit etmede oldukça yararlıdır.

Ayrıca kalsitonin konsantrasyonları, karsinoid tümörler ve akciğer, meme, böbrek ve karaciğer kanserli olan bazı hastalarda yükselmektedir. Ancak, bu malignitelerde kalsitonin yararı bir tümör belirteci olarak kanıtlanmamıştır. Kalsitonin yüksekliği, akciğer hastalığı, pankreatit, hiperparatiroidizm, pernisiyöz anemi, Paget kemik hastalığı ve gebelik gibi diğer non malign koşullarda bildirilmiştir.

2.7.3. Koriyonik gonadotropin (CG)

İnsan koriyonik gonadotropin, sağlıklı plasenta sinsityotrofoblastlarda hücreleri tarafından salgılanan bir glikoproteindir. CG'nin moleküler ağırlığı 45 kD'dur. Erkekler ve gebe olmayan kadınlarda üst referans sınırı 5.0 mIU'dur.

Artmış CG konsantrasyonları gebelik, trofoblastik hastalık ve germ hücreli tümörlerde görülür. CG, plasenta tümörleri (trofoblastik tümörler) ve bazı testis tümörleri için yararlı bir tümör belirteçidir. Ayrıca gebelik tanı ve izleminde de kullanılır. CG en fazla trofoblastik hastalığın ilerlemesinde ve tedaviyi izlemede yararlıdır. Artan CG düzeyleri tümör hacmi ile ilişkilidir.

Yüksek serum CG konsantrasyonlarının % 45 ile % 60'ı safra yolu ve pankreas kanserlerinde, % 10 ile % 30'u mesane, böbrek, prostat, karaciğer, kolorektal, akciğer, meme dahil olmak üzere diğer pek çok kanser türünde bulunurlar.

2.8. Onkofetal Antijenler

Fetal yaşam sırasında üretilen proteinlerdir. Bu proteinler fetusların serumunda yüksek konsantrasyona sahipken, doğumdan sonra düşük düzeylere iner veya kaybolurlar. Bu proteinler kanserli hastalarda tekrardan belirirler. Onkofetal antijenlerin üretimi hücrelerin malign transformasyonu sonucunda bazı genlerin yeniden aktivasyonunu gösterir.

1960'larda onkofetal antijenler AFP ve CEA'nın keşfi, tümör belirteçlerinde önemli bir dönüm noktası olmuştur. Tümör belirteçleri olarak kullanılan onkofetal antijenler Tablo 6'de listelenmiştir.

Tablo 6. Tümör Belirteci Olan Onkofetal Antijenler

Adı	Yapısı	Kanser Tipi
AFP	Glikoprotein, 70 kDa, %4 CHO	Hepatoselüler, germ hücresi (nonseminom)
Onkofetal antijen	80 kDa	Kolon
Karsinofetal ferritin	Glikoprotein, 600 kDa	Karaciğer
CEA	Glikoprotein, 22 kDa, %50 CHO	Kolorektal, gastrointestinal, pankreas, akciğer, göğüs
Pankreas onkofetal	Glikoprotein, 40 kDa	Pankreas
Yassı hücre antijeni	Glikoprotein, 44-48 kDa	Servikal, akciğer, cilt, baş ve boyun
Tennessee antijeni	Glikoprotein, 100 kDa	Kolon, gastrointestinal, mesane
Doku polipeptid antijeni	Sitokeratin 8, 18, 19	Çeşitli kanserler (göğüs, kolorektal, mesane, yumurtalık)

2.8.1. Alfa-fetoprotein (AFP)

Tek polipeptit zincirli bir glikoprotein olan alfa-fetoprotein 70.000 dalton molekül ağırlığında bir fetal antijendir. Embriyonel yolk salk, fetal karaciğer ve çok az miktarda hepatositlerde bulunmaktadır. Fötüste albuminden sonra en yoğun konsantrasyonda bulunan alfa-fetoprotein materno antikorlara karşı koruyucu görev yaptığı sanılmaktadır.

Fötüs alfa-fetoprotein düzeyi 13. hafta civarında en yüksek düzeye ulaşır. Doğumdan sonra normal düzeye inmesi için 6-12 ay geçmesi gerekir. AFP normal serumda, enzimimmünoassay veya radioimmünoassay yöntemleri ile saptanabilir. Normal erişkinlerde normalin üst sınırı 40 ng/mL olarak belirlenmiştir. Sağlıklı erişkinde serumda düşük konsantrasyonda bulunabilir (<15 ng/mL). Patosellüler kanserlerde erken evrelerde yükselebilir ve sensitivitesi % 70-90' dir. Özellikle tümör çapı 3 cm' yi geçtiğinde serum düzeyi artma eğilimindedir.

AFP'nin hepatoma için risk altındaki gruplarda (siroz, kronik B hepatiti, aflatoksin maruziyeti gibi) tarama testi olarak kullanılması tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar tarama sırasında AFP' nin yüksek bulunduğu hastalarda 1-3 ay içinde septomların ortaya çıktığı ve risk gruplarını taramanın hastanın yaşam süresini etkileyecek kadar erken tanıya imkan sağlamadığını öne sürmektedirler. Bazı araştırmacılar ise bunun aksine, AFP yüksekliği ile

asemptomatik dönenimde yakalanan hepatomalarda cerrahi reaksiyon şansının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (26). AFP, hepatomalı hastalarda tedaviye cevabı izlemede ve klinik relapsı belirlemede yararlıdır.

Serum AFP düzeyleri tam bir cerrahi rezeksiyon sonrası normale dönmektedir. Kemoterapi alan hastalardaki AFP düzeyinde % 50'lik bir azalma eğilimi tümör cevabını yansıtmaktadır. AFP'nin klinikteki diğer kullanım alanları; fetus nöral tüp defektlerinin taranması ve HCG ile birlikte testiküler germ hücreli neoplazmaların izlenmesidir. Akut viral ve toksik hepatit, kronik hepatit ve karaciğer sirozu gibi benign karaciğer hastalıklarında muhtemel artmış nekroz ve rejenerasyona bağlı olarak serum AFP düzeyleri yalancı pozitif olarak yükselmekte (500 ng/mL'ye kadar) ve hepatoma tanısındaki spesifitesini düşürmektedir.

2.8.2. Karsinoembriyonik antijen (CEA)

CEA immunoglobulin super ailesinden, yüksek molekül ağırlıklı (yaklaşık 180 000 dalton molekül ağırlığında) karmaşık yapıda bir glikoproteindir. Karboksi ucundaki hidrofobik bölge yardımıyla hücre membranına bağlanır. Hücre adezyonunda, immünitede ve apoptozda rol alan bir moleküldür. Homofilik ve heterofilik adezyon yeteneğinden dolayı metastaz oluşumunda da rol oynadığı bilinmektedir (27). Bu antijen ilk kez 1965'te kolon adenokarsinomlu bir hastada keşfedilmiştir. Değişken karbonhidrat içerikli tekli polipeptid zincirlerden oluşan heterojen bir yapıya sahiptir. CEA'de protein/karbonhidrat oranı, farklı tümörlere göre 1:1 ila 1:5 oranında değişmektedir.

Normal olarak CEA, fetal ince barsak, pankreas ve karaciğerde gebeliğin ilk iki trimesteri boyunca bulunur. Hassas radyoimmunoassay tekniklerinin gelişmesi ile CEA ve CEA benzeri maddelerin neoplastik ve fetal olmayan dokularda da varlığı gösterilmiştir. Normal kolon mukozası, plevra ve süt veren meme dokusunun anti-CEA antiserumuyla bağlandığı görülmüştür. Ancak bu bağlanma tümör dokusuna göre çok daha düşük düzeydedir.

Radyoimmunoassay ile saptanan CEA konsantrasyonları 0 ile 2.5 ve 3.0 nanogram/mL normal değişim aralığındadır. Yüksek CEA seviyesi, kolon karsinomu dışında çeşitli benign ve malign hastalıklarda görülebilir. CEA'nın yükselmesine neden olan benign durumlar: sigara içimi, bronşit, amfizem, gastrit, gastrik ülser, karaciğer hastalıkları, pankreatit, kolon ve rektumun polipleri, divertikülit, Crohn hastalığı, benign prostat hipertrofisi ve böbrek

hastalıklarıdır. Bir çalışmada, yüksek CEA seviyesine sahip ve bilinen karsinomu olmayan hastaların %13'ü ağır sigara içenler, %15-20'si pankreatit veya kolon ve rektum polipleri ve %10-50'si inflamatuvar barsak hastalığı bulunan hastalardan oluşmaktadır. Ciddi hepatosellüler hastalığı bulunan veya biliyer obstrüksiyonlu hastaların yaklaşık %50'sinde bozulmuş klirens sekonder serum CEA seviyelerinde artış vardır. Benign koşullarda CEA seviyelerindeki artış genellikle geçici ve çok nadiren büyüklük olarak 10 nanogram/mL'nin üzerine çıkar (28,29).

Kolon ve rektumun adenokarsinomuna ilaveten epitelial karsinomların birçok çeşidi CEA üretir. Pankreas, akciğer, meme, mide, tiroid bezi ve kadın üreme sistemi dahil böyle tümörlerdir. Kolon dışı karsinomlardan, CEA seviyesinde artış görülen tümörlerin çoğunluğunu pankreas (% 65–90) ve akciğer (% 52–77) karsinomları oluşturmaktadır. Meme, mide ve tiroid kanserli hastaların yaklaşık yarısında serum CEA seviyesi artmıştır. Serviks, endometrium ve over tümörleri dâhil kadın üreme sisteminin malign tümörlerine sahip hastaların ise % 25-40' ında serum CEA seviyeleri yüksektir.

CEA seviyelerinin takibi, kolon ve rektum karsinomlu hastalarda prognozu tahmin etmede ve tedaviye yanıtı takipte çok yararlıdır. Tam cerrahi rezeksiyondan sonra tipik olarak birkaç hafta içinde CEA normal seviyelerine düşer. 1981 yılında National Institute of Health (NIH) uzlaşma kararında daha önce kolorektal kanser tanısı almış hastalarda CEA'nin izlenmesinin rekürrenslerin belirlenmesinde invaziv olmayan en iyi teknik olduğu sunucuna varılmıştır. Küratif rezeksiyon sonrası 6 hafta içinde CEA'in normale seviyelerine indiği görüşü de yer almıştır (30).

CEA'nın kolorektal kanser tanısında rolü yoktur ve yalancı pozitiflik oranları yüksek olduğundan ASCO tarafından kolorektal kanser taramasında kullanımı önerilmemektedir. Ancak prognozun belirlenmesi, rekürrensin takibi ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılması önerilmektedir. Kolorektal kanserli hastalarda cerrahi tedavi öncesi anormal CEA değeri mutlaka belirlenmelidir. Çünkü çalışmaların çoğunluğunda, preoperatif anormal CEA değerlerinin yüksekliği ile kötü prognoz ve daha yüksek rekürrens arasında ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu nedenle son yıllarda CEA'nın kolorektal kanser için TNM sınıflaması içine alınması önerilmiştir. Bazı çalışmalarda, preoperatif yüksek CEA seviyelerinin Duke-B evresindeki hastaların %40-50' sinde agresif hastalığa sahip olduğu görülmüştür. Operasyon sonrası yüksek CEA de kötü prognoz göstergesidir, fakat bu bilgi her zaman güvenilir değildir (31).

CEA'nın kolorektal kanserli hastalarda cerrahiye takiben rekürrensi göstermede sensitivitesi yaklaşık % 80 (% 17-89) ve spesifitesi yaklaşık % 70 (% 34-91)' dir. CEA, özellikle hepatik veya retroperitoneal hastalığı göstermede daha duyarlıdır. Ancak lokal, peritoneal ve akciğer tutulumunda daha az duyarlıdır. Bazı araştırmacılar, CEA'daki yavaş artışın lokal rekürrensi, hızlı artışın ise karaciğer metastazını gösterdiği rapor edilmiştir. Evre II veya III'deki hastalarda, izole hepatik metastazın rezeksiyonundan sonra da CEA değerlerine iki yıl süreyle 2 ila 3 ay aralıklarla bakılmalıdır. Anormal CEA değerleri metastazı düşündürmelidir. Kolorektal kanserli hastaların kemoterapiye yanıtının takibinde de CEA faydalıdır. Ancak 5-florourasil ve levamizol tedavisini takiben CEA'da geçici yükselmelerin olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (28-31).

İleri evre kolorektal tümörlü hastalarda kemoterapinin amacı yaşam süresini uzatmak, semptomları kontrol altında tutabilmek ve hastanın yaşam kalitesini arttırmaktır. CEA bu süreç zarfında kontrol faktörü olarak kullanılabilir. Düşen CEA düzeyi hastanın geleceği açısından ümit verici olurken, yükselen düzeyler hastalığın ilerlediğini gösterir. Kolorektal kanserlerde cerrahi öncesi CEA düzeylerinin bilinmesi ve karaciğer metastazının belirlenebilmesi için CEA takip testi olarak kullanılmalıdır.

2.9. Karbonhidrat Belirteçler

Karbonhidrat ilişkili tümör belirteçleri ya tümör hücresi yüzeyindeki antijenlerdir veya tümör hücresi tarafından salınırlar. Bu antijenlere karşı monoklonal antikolar geliştirilmiştir. Bu belirteçler klinik olarak yararlı tümör belirteçlerinin yeni bir jenerasyonudur. Enzimler ve hormonlar gibi doğal olarak salınan belirteçlerden daha özgül olma eğilimindedirler. Karbonhidrat belirteçleri yüksek molekül ağırlıklı müsinler veya kan grubu antijenleridir. Karbonhidrat antijeni CA olarak kısaltılır (32,33).

2.9.1. Müsinler

CA 15-3 ve CA 27.29 testleri meme epiteli tarafından üretilen ve yüksek molekül ağırlıklı bir glikoprotein müsin olan episialin'i saptarlar. Dolaşımdaki episialin antijeni heterojen bir moleküldür. CA 15-3 ve CA 27.29 testleri episialin molekülü yüzeyinde benzer ama ayrı epitoplara tanınmaktadır. Yani bu testlerin sonucunda farklılıklar olabilir ama her üçü de meme karsinomu belirteçi olarak yararlıdır (33,34). Müsinler, CA 15-3, CA 27.29 ve CA 125 başlıkları altında daha detaylı incelenebilir.

2.9.1.1. CA 15-3

Yüksek molekül ağırlıklı bir müsin glikoproteindir (MUC-1). İnsanlardan karaciğere meme kanseri metastazından izole edilen pürifiye dokuya karşı ve insan sütü yağ-globulinine karşı geliştirilmiş monoklonal antikorlarla karakterizedir. Müsin tipi meme kanseri markırları CA15.3, BR27.29, CA549, MCA, CA-M26 ve CA-M29' dur. Ancak bunların spesifite ve sensitivite açısından sadece CA15.3 ve CA27.29 FDA tarafından metastatik meme kanserli hastaların klinik takibinde onay almıştır.

Sağlıklı bireylerde CA 15-3 konsantrasyonunun üst sınırı 25 kU/l' dir. Bu düzeyde 1050 normal kişinin % 5.5' inde, meme kanserlilerin % 23' ünde ve metastatik meme kanserlilerin % 60'ında artan CA 15-3 değerleri görülür. Artan CA 15-3 değerlerine diğer malignitelerde de rastlanır. Bunlar arasında pankreatik (% 80), akciğer (% 70), meme (% 69), over (% 64), kolorektal (% 63) ve karaciğer (% 48) kanseri sayılabilir. Bunlara ek olmakla birlikte daha az sıklıkta olmak üzere benign hastalığı olan bireylerde de CA 15-3 artabilir (örneğin benign karaciğer hastalığı % 42 ve benign meme hastalıkları % 16). Önceleri metastatik meme kanserlerinin takibinde CEA kullanılırken, daha sonra bir çok çalışmada CA15.3'ün daha üstün olduğu gösterilmiştir. Sensitivite ve spesifitesi düşüktür. Ancak meme Ca'nın metastazları konusunda yardımcı olur. Metastatik meme kanserli hastaların %60-80'inde CA15.3 seviyeleri yükselmiştir ve bu seviyeler klinik durum ve tümör tedavi yanıtındaki değişikliklerle de paraleldir. Metastatik hastalığın tedavisinde hastaların klinik seyrinin değerlendirilmesinde de işe yarar görünmektedir. Meme kanserinde tedaviye yanıtın takibinde progresyon ve gerilemenin göstergesi olarak bu tümör markırı kullanışlı olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Seri markır ölçümleri özellikle karaciğer ve kemik metastazlarının erken belirlenmesinde duyarlıdır. CA15.3 serumdan bakılmaktadır (30,35).

İleri evre primer meme kanserli ve metastatik hastalarda CA 15-3 tümör belirleyicisinin düzeyi ile tümör yükü ve tümörün biyolojik davranışı arasında ilişki olduğu bilinmektedir (36).

CA 15-3 serum kanser antijenidir, meme kanserli hastalara özgü olmakla birlikte gastrointestinal, akciğer ve jinekolojik tümörlerde de yüksek değerleri mevcuttur (37). Meme kanseri dışında (% 96), akciğer kanserlerinde (% 25), karaciğer kanserlerinde (% 30) ve over kanserlerinde (% 45) oranında yüksek bulunabilir. Bunun yanında kronik hepatit, karaciğer sirozunda, sarkoidoz, tüberküloz ve SLE'de de yükselebilir (38). En yaygın kullanım alanı

metastatik meme kanserinin tedavisini takip sürecindedir. Hastalığın artan evresiyle serum CA 15-3 düzeyi doğru orantılı olarak artmaktadır. Ayrıca artan metastaz sayısı ile CA 15-3 düzeyinin yüksekliği doğru orantılıdır. Bütün bu görüşlere göre CA 15-3' ün değişen değerleriyle metastatik kanserin tedaviye cevabı arasında ilişki mevcuttur.

2.9.1.2. CA 27.29

CA 27.29 metastatik meme kanserli hastaların asit içinde bir antijene karşı üretilen bir monoklonal antikör olan B27.29 tarafından tanımlanmıştır. CA 27.29, evre II veya evre III olan hastalarda tekrarlayan meme kanserinin tespitinde, evre IV (metastatik) olan hastalarda ise tedaviye yanıtın izlenmesinde klinik kullanım için FDA tarafından onaylanmıştır. Bu test CA 15-3 ile benzer bir bilgi sağlar.

2.9.1.3. CA 125

CA125 over kanserli kadınların % 85' inde artarken, evre I' dekilerin ancak %50' inde yüksek bulunur. Artan seviyeleri tümör yüküyle ilişkilidir ve müsinöz olmayan histolojiye sahip tümörlerde en fazladır. Asemptomatik over kanserli kadınların taranması için kullanışlı bir metot değildir. EGTM rehberinde CA125'in popülasyon bazlı taramaları önerilmemekle beraber National Institute of Health (NIH) konsensus kararlarında, her 6 ay aralarla transvaginal muayene ve ultrasonografik tetkikle birlikte CA125 ölçümü yer almaktadır. Küratif cerrahi ve sitotoksik kemoterapiyi takiben iki yıl her 3 ayda bir ölçülmesi gerekir.

CA125 seviyesinde 35 U/mL'nin üzerindeki artış veya bazal değerinin iki katına çıkması, nüks açısından ileri araştırmayı ve laparoskopiyi gerektirir. Asemptomatik pelvik kitleli postmenopozal kadınlarda CA125'in 65 U/mL' den daha fazla olması %98 over kanseri olduğunu da göstergesidir. Premenopozal kadınlarda CA125 yükselmesi daha fazla benign nedenlere bağlı olduğundan, bu popülasyonda önemi daha azdır (39).

Sağlıklı yetişkin kadınların % 95' inde CA125, 35 U/mL veya altındadır. Postmenopozal sağlıklı kadınlarda bu değer 20 U/mL ve altıdır. CA125 over kanseri için spesifik bir markır değildir. Tuba, endometrium, serviks, pankreas, kolon, akciğer ve memenin adenokarsinomlarında da yükselebilir. CA125 endometriozis, fibroidler, adenomyozis, pelvik inflamatuvar hastalık, menstruasyon ve gebeliğin 3. trimestiri gibi benign jinekolojik durumlarda da görülebilir. Benign asit veya periton, plevra veya perikardiyumun

inflamasyonu durumunda da CA125 seviyelerinde artış olabilir. Ciddi karaciğer hastalığı bulunanlarda da ister asit olsun veya olmasın CA125 artabilir (39).

Erken dönemde endometriyum kanserlerinin taranmasında kullanılacak tümör markırı bulunmamaktadır. Endometriyum kanserli hastaların takibinde CA125, rekürren endometriyum kanserli hastaların % 60'ında yüksek bulunması ile en iyi takip markırırır. Seröz uterus karsinomlu hastaların takibinde CA125'in rolü ise tartışmalıdır (40).

2.9.2. CA19-9

Çokça kullanılan bir tümör markeri olan CA 19-9 kolorektal ve pankreas kanserleri için kullanılan bir belirteçtir. Pankreas kanserli hastalarda törepatik cevabı takip için kullanılan değerli bir markerdir. Bununla birlikte, CA 19-9 tarayıcı marker olarak sınırlı bir değere sahiptir. CA 19-9 kanser küçük veya asemptomatik durumdayken normal seviyede kalabilirken, bazı benign durumlarda ise serum seviyesi yükselebilir. Diğer araştırma yapılan markerlerde teşhis doğruluğu için benzer sorunlar vardır. Bu konu ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (41).

İnsanların yaklaşık olarak % 10-15'i Lewis antijen durumundan dolayı CA 19-9'u salgılamazlar. Bu karbonhidrat antijeni bir glikolipid olup özel olarak ifade etmek gerekirse sialile lakto-N-fukopentoz II-gangliosid, LEa kan grubu antijeninin sialile bir türevidir ve Lexa olarak ifade edilir. Antijenin ekspresyonu için Lewis gen ürünü olan 1,4- fukozil transferaz gereklidir. CA 19-9 normal insan pankreatik ve bilier kanal hücreleriyle gastrik, kolonik, endometrial ve tükrük epitellerinden sentezlenir. Serumda müsün yüksek moleköl ağırlıklı (200-1000 kD) glikoprotein kompleksi olarak bulunur. Genotipik olarak Lea-b- olan bireyler (yaklaşık % 5) CA 19-9 eksprese etmezler. İnsan kolon kanseri hücre dizisi SW-1116 kullanılarak CA 19-9'a karşı monoklonal antikor geliştirilmiştir.

Hem tutucu hem de sinyal antikoru olarak CA 19-9 antikoru kullanan immunoradyometrik yöntem mevcuttur. Kalibrasyon eğrisi 0-120 kU/L arasındadır. Üst referans limiti 37 kU/L'dir. 1500 sağlıklı kan bankası vericilerinden % 99'unda CA 19-9 bu düzeyin altındadır. Bu düzeyin üzerinde (<37 kU/L) artmış değerlere pankreatik (% 80), hepatobilier (% 67), gastrik (% 40-50), hepatoselüler (% 30-50), kolorektal (%30), meme (% 15) kanserli bireylerde rastlanılır. Pankreatit ve diğer benign gastrointestinal hastalığı olan bireylerin bazılarında (% 10-20) 120 kU/L'nin üzerinde artışlar görülür. CA 19-9 düzeyleri pankreatik kanser evreleri ile ilişkilidir. Eşik değeri 37 kU/L kabul edildiğinde, rezeke

edilebilir pankreas tümörü olanların % 67'si ve rezeke edilemeyen pankreas tümörü olanların % 87'si bu değerin üzerinde değerlere sahiptir. Eşik değeri 1000 kU/L'ye yükseltildiğinde, rezeke edilemeyen tümörlerin % 35'i ve rezeke edilebilirlerin sadece % 5'inin CA 19-9 değeri yüksek bulunur. CA 19-9 pankreatik ve kolorektal kanserlerin izleminde yararlıdır. Artmış düzeyleri radyografi ve klinik belirtilerden 1-7 ay önce nüksü belirtebilir. Ne yazık ki, pankreas kanserinin etkin bir tedavisi olmadığı için hastalığın kötü gidişatının erken tanısı için yararlı olmayabilir (42).

Kolon kanserine karşı monoklonal antikor tarafından tanınan bir tümör ilişkili antijen olan CA 19-9 normal endoservikal bezlerde bulunmamakla birlikte erken safhali invaziv endoservikal karsinomlarda ve frakly invaziv karsinomlarda gösterilmiştir. Müsin ve seröz ovaryum karsinomlarında CA 19-9 sentezlenir fakat dağılımı homojen değildir. Bununla birlikte, CEA ve CA 125 gibi diğer markerlerle birlikte ovaryum kanserlerini takipte kullanılan bir parametredir. Pankreas, safra ve kolon orijinli gastrointestinal kanserlerde kuvvetli pozitiflik gösteren CA 19-9, mide kanseri çoğunlukta olan bir hasta grubunda yapılan çalışmada CEA ile birlikte kemoterapiyi takipte ve evrelemede faydalı olabileceğine dair veriler bulunmaktadır (43,44).

Japonya'da yayınlanan bir vaka raporunda, çoklu karaciğer metastazlı mide kanserli 59 yaşındaki bir bayan hastada yapılan kombine kemoterapiyi takipte CA 19-9 kullanılmış ve diğer kullanılan parametrelere paralel olarak anlamlı sonuçlar elde etmişlerdir (45). Başka bir vakada ise yine karaciğer metastazlı mide kanserli 74 yaşındaki bir erkek hastada CA 19-9 ve CEA kombine uygulanan kemoterapiyi izlemede kullanılmış ve başarı elde edilmiştir (46). Son zamanlarda yapılan pek çok çalışma ve incelenen pek çok mide kanserli vakada, özellikle de metastaz aşamasında uygulanan kemoterapiyi değerlendirmede, CA 19-9 diğer bazı markerler ile birlikte kullanılmaktadır (47,48).

2.10. Proteinler

Enzim ya da hormon olmayan ve karbonhidrat içeriği yüksek olmayan bu protein tümör belirteçleri Tablo 7'de listelenmiştir.

Tablo 7. Tümör Belirteci Olan Proteinler

Adı	Yapısı	Kanser Tipi
β 2-Mikroglobulin	11 kDa	Multipl miyeloma, B-hücre lenfoması, kronik lenfositik lösemi, Waldenstrom makroglobülinemisi
C-peptid	3,6 kDa	İnsülinoma
Ferritin	450 kDa demir bağlı protein	Karaciğer, akciğer, göğüs, lösemi
HER-2/neu	97-115 kDa, %20 CHO	Göğüs
İmmünglobulin	160-900 kDa, %3-12 CHO	Multipl miyelom, lenfoma
Melanom bağlı antijen	90-240 kDa	Melanoma
Pankreas bağlı antijen	100 kDa, %20 CHO	Pancreas, mide
Gebelik spesifik protein 1	10 kDa, %30 CHO	Trofoblastik, germ hücre
Pro-gastrin salgılayan peptid	Amino asit kalıntıları 31-98	Küçük hücreli akciğer
Protrombin öncüsü	Des-y-carboksi protrombin	Hepatoselüler
Çözünür mezotelin bağlı peptidler	Mezotelin/Megakaryosit güçlendirici faktör peptitler	Mezotelyoma, yumurtalık
Tümör bağlı tripsin inhibitör	6 kDa polipeptid	Akciğer, mide, yumurtalık

2.10.1. İmmünglobulin

Monoklonal immünglobulin multip myeloma belirteç olarak 100 yıldan fazla bir süredir kullanılmaktadır. Monoklonal paraproteinler myeloma komponentleri (MC olarak da bilinmektedir) serum elektroforezinde globulin bölgesinde keskin bantlar olarak belirir. Multipl myeloması olan hasta fazlasında bu elektroforetik şekil görülür. Malign olmayan monoklonal immünglobulinlerin varlığı yaş ile artar ve 75 yaşın üzerinde bireylerin %5'ine ulaşır. Bu malign olmayan bantlar malign bantlara göre daha düşük konsantrasyondadırlar ve Bence-Jones proteini ile bağlantılı değildirler. Bence-Jones proteini idrarda görülen serbest monoklonal immünglobulin hafif zinciridir. Tanı sırasında, monoklonal immünglobulin düzeyi hastalık ilerlemesi için prognostik bir belirteçtir. Tedavi sırasında idrar Bence-Jones proteinlerinin serum konsantrasyonu tedavinin başarısını yansıtabilir. Düşük düzeyler daha başarılı klinik beklentiler ile bağlantılıdır (49).

2.10.2. Nükleer matriks proteini (NMP 22)

İdrar yollarında tranzisyonel hücreli karsinomu olan hastaların tedavisinde idrar örneklerinde nükleer matriks proteinini, NMP 22, ölçmek için kullanılacak bir enzim

immünoassay (EIA) yöntemi FDA tarafından onaylanmıştır. Nükleer matriks proteini nükleus'un iç yapısını oluşturur. DNA replikasyonu ve RNA sentezi gibi çekirdekteki anahtar reaksiyonları düzenlemek ile bağlantılı fonksiyonu vardır (50).

2.10.3. Mesane tümörü-ilişkili antijen (BTA)

İdrarda mesane tümörü ilişkili (bladder tumor associated, BTA) antijen ölçümü için kalitatif bir test geliştirilmiştir. BTA antijenleri, bazal zar proteinleri ile kompleksleşmiş yüksek molekül ağırlıklı polipeptidlerden oluşmuştur. İdrarda BTA varlığı, tümör tarafından invaze edilen bazal zarı, immün cevabı ile bağlantılı olabilir. BTA testi, sistoskopi sonucu pozitif olan hastaların %40'ını tanımlarken, sitoloji %1'ini saptamıştır. Pozitif test daha yüksek oranda rekürrens şüphesini doğrulamaktadır (50,51).

2.10.4. Tiroglobulin (TG)

Tiroglobulin tiroid hormonunun prekürsörü olarak tiroid bezi tarafından üretilir. Tiroglobulin ölçümünün birincil kullanımı tiroid bezinin ablasyonu sonrası farklılaşmış tiroid kanseri tanısı olan hastaların izlenmesi içindir. Yaklaşık olarak bu hastaların üçte ikisinde operasyon öncesi yüksek bir Tiroglobulin konsantrasyonu vardır. Operasyon öncesi yükseltilmiş tiroglobulin konsantrasyonu, tümörün tiroglobulin salgılama yeteneğini ve tümör nüksünü izlemek için operasyon sonrası ölçümde kullanımını doğrular. İyi diferansiye tümörlerde, Tiroglobulin konsantrasyonlarında TSH uyarıldıktan sonra on kat artış görülür.

Anti-tiroglobulin antikoları rezidüel hastalık ve/veya nüks izlemek için önerilmiştir. Seri anti-tiroglobulin ölçümleri tedavinin bağımsız bir prognostik göstergesi olabilir çünkü anti-tiroglobulin antikolarında bir artış tümör nüksünü önerebilir.

İmmünetrik testler (IMA) ve RIA, tiroglobulin ölçümü için kullanılan iki ana yöntemdir. IMA testleri daha kısa bir inkübasyon süresine sahip olma avantajı sağlar ve otomatize edilmiştir; ancak, daha büyük girişimlere maruz kalabilmektedir. Anti-tiroglobulin antikoları tüm hastalarda doğrudan ölçülmüştür (12).

2.11. Reseptörler ve Diğer Belirteçler

Katekolaminter, poliaminler, lipit-ilişkili sialik asit ve reseptörlerin dahil olduğu diğer tümör belirteçleri klinik olarak değişik başarı düzeylerinde kullanılmaktadır. Bu grup içinde reseptörler olasılıkla ile en başarılı olanlardır.

2.11.1. Östrojen ve progesteron reseptörleri

Östrojen ve progesteron reseptörleri meme kanseri değerlendirmesinde hormonal tedavi belirteci olarak kullanılmaktadır. Reseptörü negatif olan olgulara kemoterapi gibi diğer tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. Hormon reseptörleri meme kanserinde prognostik faktör olarak da hizmet vermektedir. Tümör popülasyonunda reseptörü pozitif olan hastalar hormonlar ile tedavi edilmektedir. Bu hastaların sağ kalımı negatif reseptörlülere göre daha uzundur (49,52).

2.12. Genetik Belirteçler

Kanser, hücrelerin kalıtılabilir bir özelliğidir ve genetik değişiklikler sonucunda oluşmaktadır. Bir hücrenin normal durumundan, önce kanseröz duruma, daha sonrada metastatik yayılım yapacak şekilde transformasyon geçirmesi için çoklu genetik değişikliklerin incelenmesi, kanser riskinin değerlendirilmesi ve taramada geleneksel serum biyokimyasal belirteçlerinin boşluğunu doldurabilir. Kanser gelişiminde 2 sınıf gen etkindir. Onkogenler ve baskılayıcı genler (49,53).

2.12.1. Onkogenler

Proto-onkogenler tümör virüs genleri ile bağlantılı normal hücre genleridir. Proto-onkogenlerin aktivasyonu kanser ile bağlantılıdır. Bu genler büyüme faktörü sinyalizasyon yolu gibi normal hücre işlevlerinde rol oynayan ürünleri kodlarlar. Onkogenlerdeki ekspresyon fazlalığı anormal hücre büyümesine neden olur ve bu da malignite ile sonuçlanır. Bilinen 40'ın üzerinde onkogen sadece bir kaçını tümör belirteci olarak anılmaktadır.

2.12.1.1. RAS genleri

Ras genleri ilk defa hayvanlarda tümör oluşturan Harvey (H-ras) ve Kirsten (k-ras) sarkoma virüslerinin tümör oluşturuvcu özelliklerinden sorumlu olarak tanımlanmış ve insan hücrelerindeki hücresel eşdeğerlerinin insan tümörleri gelişiminde rol oynayabileceğine yönelik ilk ipuçlarını sağlamışlardır. Ras gen ürünleri plazma zarının iç yüzünde yerleşmiş proteinlerdir. Guanin nükleotidlerini bağlarlar ve büyüme faktörlerinden çekirdeğe sinyal ileti yolları ile aktarılan mitojenik sinyalleri düzenleyen moleküler kontrol noktaları ("switchehes") olarak çalışırlar (54,55).

Ras proteinleri protein-tirozin kinaz reseptörleri ile bağlantılı olarak aktiflenirler ve bir dizi hücre türünde büyüme faktörü proliferasyonu veya farklılaşması için gereklidirler. Ras, serin treonin kinazı olan Rafi aktivite ederek kinaz kaskadı boyunca (mitojen ile aktivite olan kinazlar) pozitif sinyaller yollarlar. Aktive olan hücreler hücre döngüsünün G1 fazına geçerler. Normal koşullarda, RasIRaf tarafından oluşturulan aşırı sinyallzasyon p21'i indükler ve S fazına geçişi bloke eder. Ancak, ras bir GTPaz olan ve p21 ekspresyonunu baskılayan Rho'yu da aktivite ederek hücre döngüsü blokajını kaldırır. Bu aşama karsinogenez için kritik bir aşamadır.

N-ras insanda 1 no'lu kromozom'un kısa kolunda yer alır. Mutasyona uğramış Nras geni nöroblastoma ve akut myeloid lösemisi olan bireylerde mevcuttur. Mutasyona uğramış k ras ise pankreatik kanserlerde % 95, kolon kanserlerinde % 40, akciğer ve meme kanserlerinde % 30 ve diğer kanserlerde daha düşük oranda mevcuttur. K-ras kodonundaki nokta mutasyonu ile p21 proteininde kodlanan glisin amino asidi valin'e değişmektedir. Bu mutasyon kanserlerde en sık rastlanan mutasyondur. K-ras mutasyonu akciğer adenokarsinomu ve endometriyal karsinamli bireylerde kötü prognoz ve daha kısa hastaliksız sağ kalım süresi ile ilişkilidir (49).

2.12.1.2. c-myc geni

8. kromozom üzerinde lokalize olan c-myc geni avian myelositoma virüsü proto-onkogenidir. DNA'ya bağlanır ve transkripsiyon regülasyonunda görev alır. Gen ürünü olan p62 transforme hücrelerinin çekirdeğinde bulunur ve cmyc düzeyi hücre bölünme hızı ile ilişkilidir. c-myc proteini DNA replikasyonu için temeldir ve mRNA transkripsiyonunu artırır. c-myc geni aktivasyonu B -ve T- hücreli lenfoma, sarkoma ve endotelilyoma ile

bağlantılıdır. Akut T-hücreli lösemilerde translokasyon, (8:14) (q24;q11) genin aktivasyonuna neden olur ve genin aktivasyonu kötü prognoz ile bağlantılıdır. Tedavinin başlamasından sonra azalan c-myc ekspresyonu iyi yanıtı düşündürür. Primer meme kanserli olguların %70-100'ünde immünohistokimya ile ölçülen p62 ekspresyon fazlalığı olabilir ve tümör evresi artıkça boyanma şiddeti de artar. Akciğer karsinomu ve gliyomalarda amplifikasyon klinik olarak saldırganlıkla ilişkilidir. Serum c-myc düzeyleri rekürrensi saptamada kullanılır, fakat kanser ile benign durumlar ayırt edemez. Bunlara ek olarak c-myc ekspresyonu adenomatöz polipozis koli geni ile de aktive olabilir (49,52).

2.12.1.3. c-erb B-2, HER-2 / neu geni

Nöral tümörlerle ilişkisinden dolayı c-erb B-2 genine HER-2 / neu geni adı da verilir. Ayrıca, bunun gen ürünü olan ve epitel hücrelerde eksprese edilen 185 kD 'lik transmembran protein, epidermal büyüme faktörü reseptörüne benzer. Meme, over ve gastrointestinal tümörü olan bireylerde c-erb B-2 amplifikasyonu bulunur. Meme kanserinde tüm sağ kalım prognostik göstergesi olarak kullanıldığında, gen tümör boyutu veya östrojen ve progesteron reseptör ekspresyonu kadar yararlı iken, metastaz ile tutulan lenf nodu sayısı kadar iyi değildir.

2.12.1.4. bcl-2

bcl-2 onkogenin ürünü primer olarak mitokondri ve diğer hücre zarlarında bulunan 239-amino asitli 25-kD ağırlığında bir integral zar proteindir. Bu proteinin apoptozu (programlanmış hücre ölümü) baskıladığı ve özellikle lenfoma ve lösemi hücrelerinde başta olmak üzere, kanser hücrelerinin sağ kalımına kadar bulunduğu bilinmektedir. bcl-2 proto-onkogeni, 14: 18 translokasyonu sonucunda bcl-2 immünglobulin ağır-zincir geninin olduğu foliküler lenfomalarda tanımlanmıştır. bcl-2 geninin immünoglobulin promotor ile aktivasyonu sonucunda yüksek miktarda bcl-2 - proteini oluşur.

Normal kolonda, bcl-2 pozitif hücreler bazal epitel hücrelerinde sınırlıyken, displastik polip ve karsinomalarda pek çok pozitif hücre parabazal ve yüzeysel bölgelerde bulunabilir. Buna ek olarak, bcl-2'nin aşırı ekspresyonu epitelyal tümörler ve lenfomada olduğu gibi çeşitli tümörlerin sitotoksik kanser kemoterapisine direnç gelişimi ile bağlantılıdır, Yani, bcl-2- gen ürününün saptanması tümör ilerlemesini belirtir. Gelecekte yapılacak çalışmalar kemoterapiye rezistansın öngörüsünde kullanılabilirliğini gösterebilir (50).

2.12.2. Baskılayıcı genler

Baskılayıcı gen çalışmaları normal hücre durumundan benign ve kanseröz durum ve metastaz gelişimi ile ilgili ipuçları sağlayabilir. Kolon kanseri gelişimi çeşitli mutasyonları içeren çoklu basamakları gerektirmektedir. 5.kromozomdaki bir genin kaybı hücre büyümesinde artışa neden olur. Adenoma erken dönemde DNA sarmalı üzerindeki metil gruplarının kaybı ile bağlantılıdır. Karsinoma 17. kromozom üzerindeki p53 geninin kaybı ile tanınır. Son olarak diğer kromozom kayıpları ile metastaz oluşur. Tümör baskılayıcı genlerin mutasyon saptamada klinik yararlılığı sadece kanserin tanı ve prognozunda değil, ayrıca meme kanseri genleri BRCA 1 ve BRCA 2 ile olduğu gibi mutasyonların germ hücrelerde bulunduğu durumlarda öngörü duyarlılığında da yatmaktadır (50).

2.12.2.1. Retinoblastoma geni

Retinoblastoma (RB) geni ilk bulunan tümör baskılayıcı genidir. RB, ender görülen bir çocuk tümörü olup, ailesel ve sporadik olarak görülebilir. Knudson'un aileye-özgü RB sıklığı üzerine zekice yaptığı bir analiz 2- başarılı hipotez geliştirmesine yol açmıştır. İlk hipotezde tümörün kalıtsal formunda bir mutasyonun germ hücreleri ve tüm vücut hücrelerinde, diğer mutasyonun ise somatik olarak gelişmekte olan retina hücrelerinden birinde oluştuğu sonucuna varmıştır. Sporadik formda ise her iki mutasyon somatik olarak gelişmekte olan retinoblastlarda oluşmaktadır ve bu ender rastlanan bir durumdur (49,50).

2.12.2.2. p53 (TP53) geni

17. kromozomun uzun kolunda bulunan p53 geni özel ilgi çekmektedir. Natif (yabanıl) veya "wild" p53 tipinin hücre bölünmesini S fazına girişi düzenleyerek kontrol ettiğine inanılmaktadır. Genin delesyonu veya yarışmalı mutant bir proteinin oluşumu bu kontrol edici etkinin kaybına neden olur. Kolon karsinomlarının yaklaşık %75-80'inde p53'ün bir allelinde delesyon ve diğerinde nokta mutasyonu görülür, yani tümörde wild-tip p53 proteini eksprese edilmez. p53 allelik delesyonu adenomalarda çok ender olarak (%10) görülür ve kolon karsinogenezinde p53 inaktivasyonunun göreceli olarak geç bir olay olduğunu düşündürür. Bunlara ek olarak, meme kanserlerinin % 70'inde de p53 delesyonu mevcuttur.

Ayrıca, aflatoksine maruz kaldığı için hepatoselüler karsinomun yüksek sıklıkta rastlandığı Afrika ve Asya'da yaşayan bireylerde kodon 249 üzerinde guanin-timin

mutasyonları bulunmuştur. Primer kolorektal kanserlerin yaklaşık %70'inde mutant proteinlerin aşırı ekspresyonu saptanmıştır (50,52).

2.12.2.3. p21 (WAF1 / C/P1) Wild-tip p53 geni

WAF1/ICP1 geni de dahil olmak üzere bir dizi genin transkripsiyonunu aktive etmektedir. Bu genin p21 protein ürünü hücre döngüsünün G1 fazında aktif olan siklin-ilişkili kinazlara bağlanır ve inhibe eder. Böylece p21 apoptozu (programlı hücre ölümünü) inhibe eder. p53, DNA hasarına karşı hücre döngüsünü durdurucu etkisini p21 aracılığı ile yapar. p21'e karşı monoklonal antikolar mevcuttur ve tümörlerde p21 ekspresyonunun klinik yararlarını belirlemek için kullanılmaktadır (51).

2.13. Referans Aralığı ve Tanımlamalar

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre sağlık; kişinin hastalık ya da güçsüzlük halinin olmaması, bedenlen ruhen ve sosyal yönden tam bir iyilik halinde olması demektir (56). Referans aralığı ise; 'Klinik Tanı Laboratuvarları'nın, mukayeseye dayanan testleri için, sağlıklı toplumdaki elde edilen 'Sağlıklı olmakla ilişkili' değer aralığının, gerekli en az düzeydeki şartları sağlayacak tarzda güvenli ve kullanışlı olacak şekilde belirlenmesidir (57). Bireylerin sağlıklı olup olmadıklarına karar verirken referans veriler değerlendirilerek karar verilir (58). Bu veriler, bireylerden alınan anamnezler, yapılan muayeneler ve istenen laboratuvar tetkiklerinden oluşur (56). Bir laboratuvar testinin en önemli unsurlarından biri referans aralığıdır (59). Laboratuvar test sonuçlarındaki referans aralıklarının belirlenmesinde daha çok sağlıklı olan kişilerden elde edilen değerler seçilir. Ancak referans aralığı sadece sağlam bireylere yönelik değil herhangi bir fizyolojik ve patofizyolojik bozukluğu ortaya çıkarmak içinde yapılabilir (60). Referans için seçilmiş bir bireyin kendine özgü fenotipinin klinik laboratuvarlarda gözlenmesi ya da ölçülmesi ile elde edilen değere referans değeri denir (61,62).

Popülasyon, diyet, teknik ve referans grubun seçimine bağlı olarak laboratuvarlar ve bölgeler arası farklılıklardan dolayı her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi en ideal olanıdır (3,63). Her laboratuvarın referans aralıklarını hesaplaması zor olduğu için birçok laboratuvar kendi referans aralıklarını kullanmak yerine, üretici firmanın referans aralıklarını kullanmaktadır (3,64). En yararlı yaklaşım belirli kriterlere göre seçilen laboratuvarların belirli bölge halkını temsil edecek şekilde referans aralıklarını hesaplamasıdır (3).

IFCC'nin önerdiği terminolojiye göre bazı terimlerin tanımı aşağıdaki gibidir (4,65):

Referans birey, iyi tanımlanmış kriterler temelinde test için seçilen kişidir. Referans bireylerin genellikle "sağlıklı" olduğu varsayılır; bununla beraber sağlık görecelidir ve kesin ölçülebilir tanımlamalardan yoksundur.

Referans popülasyonu, mümkün olan tüm referans bireylerden oluşan gruptur.

Referans örnek grubu, referans popülasyonu temsil etmek için seçilen yeterli sayıdaki kişidir.

Referans değeri, bir referans birey üzerinde belirli bir niceliğin ölçümü ve incelenmesiyle elde edilmiş test sonucu veya değeridir.

Referans dağılım, referans değer verilerinin istatistiksel dağılımıdır.

Referans sınır, referans dağılımdan bulunur ve tanımlayıcı amaç için kullanılır.

Referans aralığı, alt ve üst referans sınırları içine alan aralıktır. Bazı durumlarda tek bir referans sınır önemli olabilir. Bu durumlarda, genellikle üst sınır (X) önemlidir ve referans aralık, sıfır ile üst sınır arasındadır (0-X).

Gözlenen değerler, gözlem ve ölçümle belirlenen, tıbbi referans değerler, referans dağılım, referans sınırları ve aralıklarıyla karşılaştırılarak tıbbi karar vermek için kullanılan sayısal değerdir.

2.14. Referans Birey

Referans birey, klinik araştırma yapılan bireylerle karşılaştırılmak üzere tanımlanmış kriterlere göre seçilmiş bireydir

2.14.1. Referans Bireylerin Seçimi

Referans aralığı belirlenmesinde referans çalışmasına katılacak popülasyonun belirlenmesi en önemli aşamadır. Popülasyonu kişinin kendisi (kişinin sağlıklı olduğu dönemlerde elde var olan test sonuçları), hastane dışı yani sağlıklı bireylerin oluşturduğu popülasyonu veya hastane popülasyonu oluşturabilir (66).

National Committee For Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ve International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)'nin referans değerleri hesaplanırken koyduğu standart referans, bireylerin direkt yöntemle seçilmelerini önermektedir.

2.14.1.1. Direkt (doğrudan) örnekleme yöntemi

Bireylerin ana toplumdaki tanımlanmış kriterlere göre seçimidir. IFCC ve NCCLS'nin referans değerlerin hesaplanmasıyla ilgili standartları referans bireylerin direkt örnekleme ile seçilmelerini önermektedir. Bu yöntemde, belirlenmiş kriterlere göre hazırlanan anket formları doldurulup, sonra bireylerin tetkikleri yapılır. Şekil 1'de NCCLS C28-A standartlarına uygun olarak, örnek anket formundan yararlanılarak hazırlanan anket formu görülmektedir.

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

Şekil 1. Referans Aralık Saptama Anket Formu

Bireyler seçilirken tüm faktörler göz önüne alınır ve seçim sırasında iki şekilde uygulama yapılarak bireyler kullanılabilir (61);

Test öncesi örneklem (A priori); Örneklem içinden, tanımlanmış katılım kriterlerine uygunluklarına göre bireylerin direkt metotla seçilmesidir (67,68). Analiz yöntemi ile ilgili bilgiler çok sayıda ve çok iyi biliniyorsa bu yöntem tercih edilir. İleriye dönük bir ayıklamadır (69,70).

Test sonrası örneklem (A posteriori); Çok sayıda bireyin sonuçlarını içeren iyi düzenlenmiş, elimizdeki tüm koşulları sağlayan demografik bir veritabanından tanımlanmış katılım kriterlerine uyan bireylerin direkt metotla seçilmesidir (61,67). Analiz yöntemi ayrıntılı bilinmiyor ve hakkında yeterli bilgi toplanamıyorsa önce bireylerden örnek alınır. Analiz yapıldıktan sonra, ayırma ve alt gruplara bölme işlemi yapılır (69,70). Eğer veritabanı iyi düzenlenmemişse, yüzeysel ve kulaktan dolma bilgilerle referans bireyi seçimi yapılamaz. Bu durumda indirekt örnekleme yapmak ve istatistiksel analiz metodunu da buna göre seçmek daha yerinde olacaktır (61).

A priori ve A posteriori örneklem yaparken bireyler iki şekilde seçilir:

Rastgele örneklem; Her bireye eşit seçilme şansı veren bir işlemdir. Referans grup oluşturulmasında bireylerin rastgele olması daha uygundur. Çünkü grubun hepsinin referans grubu kriterlerini sağladığı düşünülür. Elde edilen veriler istatistiksel analiz ile değerlendirilir. Fakat bu şekildeki çalışmanın gerçek hayatta uygulanması zordur. Bu amaçla genellikle kan donörlerinden ve hastane çalışanlarından grup oluşturularak referans aralık hesaplanması sık yapılan, ancak rastgele örneklem tanımına uymayan bir işlemdir (69).

Rastgele olmayan örneklem; Bireylere eşit olmayan seçilme şansı veren bir işlemdir. Bu, çoğunlukla uygulanan bir yöntemdir.

2.14.1.2. İndirekt (dolaylı) örnekleme yöntemi

Bireylere dikkat edilmeksizin, analiz sonuçlarının kayıtlı bulunduğu veritabanından belli kurallara uygun şekilde test sonuçlarının seçimidir (67). Ancak yukarıdaki ölçütlere göre bir ayıklama yapılmaksızın veriler olduğu gibi alınır. Bu yöntem daha pratik bir yöntem olmakla beraber toplanan veri kitlesinin istatistiksel analizi daha farklı işlemler gerektirir (61).

Direkt örnekleme yöntemi uygulama zorluğu nedeniyle fazla popülarite kazanmamış, birçok araştırmacıyı kullanılabilirliği kolay yöntemler bulmaya zorlamıştır. İlk olarak 1999 yılında Ferré-Masferrer ve arkadaşları hasta verilerinin istatistiksel olarak aşırı karışık ve geniş dağılım göstermediği takdirde, referans aralığı belirlemede kullanılabileceğini göstermişlerdir (60,71) Nitekim takip eden çalışmalarda, klinik laboratuvarların hizmet verdikleri hasta kitlelerini kendi referans popülasyonları olarak almalarının daha güvenilir olacağını savunan araştırmacıların sayısı da artmıştır (72,73).

İndirekt örneklendirmenin temel prensibi şuna dayanmaktadır: Klinik laboratuvarlarda üretilen sonuçların çoğunluğu tam olarak Gaussian bir dağılım göstermeseler bile, normale yakın bir dağılım halinde çıkmaktadır. Çok fazla sapma veya herhangi bir gruplaşma olmamak şartı ile bu dağılımın içindeki gerçekte Gaussian tipe uyan bölümü alınabilir. Bu amaçla, indirekt örneklendirme ile toplanan verileri değerlendirebilen çeşitli istatistiksel analiz yöntemleri tanımlanmıştır. Bu metotlar bilgisayar sistemlerinin yardımı ile de oldukça kolay uygulanır hale gelmiş ve yaygınlaşmışlardır (61). Ancak bu yöntemlerin de bazı dezavantajları bulunmaktadır. Çünkü bu konuda tanımlanmış birden fazla yöntem vardır ve elde edilen alt ve üst referans limitleri tamamıyla o yöntemde kullanılan matematiksel metoda bağlı kalmaktadır. Bir diğer dezavantaj ise özellikle bazı araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir; elde edilen referans aralıkları o hastanenin belli bir dönemini yansıtmakta ve değerler hastaneden hastaneye farklılıklar gösterebilmektedir (61). Bu şekilde saptanan referans aralıklarının daha genel bir hasta popülasyonuna uygulanması sakıncalı görülmektedir.

İndirekt örneklendirme yoluyla veri toplanmasında da uyulması gereken bazı hususlar vardır (74); bunları şöyle sıralayabiliriz:

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

Görüldüğü gibi indirekt yöntem, direkt yöntemden daha kolaydır, sonuçta herhangi bir veri seçimi yapılmamaktadır. Ancak dağılımda bimodal görünüm ortaya çıkarsa, kesinlikle hasta tanısı ve demografisi kullanılarak muhtemel gruplaşmalar engellenmelidir.

Referans değerler belirlenirken projenin amacına göre bu örneklem stratejilerinden biri, diğerlerine üstün olabilir. Buna göre hangi metodun kullanıldığı, uygulama sonrası belirtilmelidir (67).

Sonuç olarak, her iki yolla da örnekleme yapılabilir ve bunlara göre seçilen referans bireyleri de farklı istatistiksel metotlarla değerlendirilebilir. Ne kadar sağlıklı bir veri seçimi yapılırsa daha sonraki basamaklarda, dağılımlarda gruplaşmaya ve uç değerlere o kadar az neden olur.

Sıklıkla kullanılan bir diğer kriter de hastanın taburcu olduğu andaki kaydına geçen tanısıdır. Genellikle bu tanı kullanılarak hastanın tüm test sonuçları yerine, bazı test sonuçları dışlanmakta ve o tanıda belirtilen patolojinin etkilemediği test sonuçları örnek referans kitlesine dahil edilmektedir. Bu yöntem aslında bir çeşit A posteriori örneklemedir ve yapılan şey hastanın demografik bilgilerinin yanı sıra tanısının da kullanılmasıdır.

2.15. Referans Kitlesinin Gruplandırılması

Referans aralığı hesaplanırken mevcut verilerin gruplara ayrılmasının gerekli olup olmadığına karar vermek oldukça önemlidir (1). Elde edilen verilerin Gaussian dağılıma uyması arzu edilir. Ancak biyolojik veriler sıklıkla Gaussian dağılıma uymazlar çünkü biyolojik verilerde modülasyona yol açan faktörler çok fazladır. Dağılımlardaki bu gruplaşmanın çeşitli nedenleri bulunmaktadır. Bunlar; yaş, diyet, egzersiz, coğrafi yerleşim, ırk, cinsiyet, gebelik, tütün kullanımı gibi faktörlerdir.

Yaş ve cinsiyet en fazla kullanılan kriterlerdir. Bir çalışmada dışlama kriteri kabul edilen bir faktör başka bir çalışmada dağılımları gruplara ayırmada kullanılabilir. Çalışmanın sonunda istatistiksel olarak gruplar arasında önemli bir fark olup olmadığına bakılabilir, bu amaçla Student's t-test kullanılan en yaygın analiz yöntemidir. Bu test iki farklı grubu karşılaştırmada kullanılır; ANOVA (Analysis Of Variance; Varyans Analizi) yöntemi ise ikiden fazla grubun olduğu durumlarda kullanılmaktadır (75).

2.16. Birey Örneklerinin Toplanması ve Analitik Prosedür

Referans aralığı belirlenecek analitin özellikleri iyi bilinmeli, laboratuvar koşulları, ölçüm yöntemi ve ölçüm cihazı iyi laboratuvar uygulamaları çerçevesinde standardize edilmelidir.

Bir testin analiz prosedürü klinisyen tarafından istenmesinden, test sonuçlarının klinisyene ulaşmasına kadar geçen süreyi kapsar. Referans aralığı belirleme çalışmalarında da

buna benzer bir prosedür uygulanır. Üç aşamadan oluşur. Bunlar preanalitik evre, analitik evre ve postanalitik evredir.

2.16.1. Preanalitik evre

Örnekler toplanmadan önce bireylerin hazırlanması, laboratuvar koşullarının sağlanması ve analizden önceki işlemler gibi preanalitik standardizasyonun sağlanması hem biası engeller veya minimize eder, hem de bu etkenlerden dolayı varyasyonun ortaya çıkmasına engel olur. Preanalitik faktörler biyolojik ve metodolojik olarak iki ana başlık altında etki ederler (67,69,72,76).

Tablo 8. Preanalitik Biyolojik ve Metodolojik Faktörler

Preanalitik Biyolojik Faktörler		Preanalitik Metodolojik Faktörler	
İnternal Faktörler	<ul style="list-style-type: none"> • Kişisel değişimler • Yaş • Irk • Cinsiyet 	Örnek Alınırken Etki Eden Faktörler	<ul style="list-style-type: none"> • Örnek alınmadan önceki dinlenme süresi • Örneğin alındığı zaman • Ekipman • Kullanılan malzemenin temizliği • Örnek alındığı yer ve alınma şekli • Kan alınan tüp ve kullanılan antikoagulan • Örneğin etiketlenmesi
Eksternal Faktörler	<ul style="list-style-type: none"> • Egzersiz, fiziksel aktivite • Hastaneye yatma ve hareketsizlik • Gebelik, menstrüel siklus • Diyet ve yenilen şeylerin etkisi • Kahve, tütün, alkol kullanımı • İlaç etkileşimleri • Başka hastalıklarla etkileşim • Sirkadiyen değişiklikler • Ateş, şok, travma, stres • Transfüzyon ve infüzyon • Seyahat • Çevre şartları • Mevsimsel değişimler • Şişmanlık • Örnek alınırkenki vücut postürü 	Örneğin Analize Hazırlık Aşamasındaki Faktörler	<ul style="list-style-type: none"> • Örneğin taşıma şekli • Pıhtılaşma süresi • Serum / plazmanın ayrılması • Örneğin korunma ve saklanması • Analize Hazırlık

Laboratuvarda örneklerin tiplerine göre toplanma/alınma, analize hazırlık ve korunmaları konusunda prosedürler oluşturulmalı, referans bireylerden örnekler prosedürlere uygun alınmalıdır.

2.16.1.1. Kan örneklerinin alınması

Standardizasyon kan örneklerinin alınmasında önemli bir ölçüttür. Her ölçümden önce preanalitik faktörlerin değerlendirilmesi ve tüm aşamaların standardize edilmesi dağılımların gruplaşmaya neden olmaması için gereklidir (77). NCCLS bu tip örneklerin nasıl alınması gerektiğini çeşitli prosedürlerle belirlemiştir (72). Ayrıca acil hastalar için ayrı referans kriterleri tanımlanması uygun bir yaklaşımdır (77).

2.16.1.2. Kan örneklerinin transferi ve ayrılması

Alınan kan örnekleri laboratuvara hızlı bir şekilde transfer edilmeli ve tetkik edilecek analite uygun şartlarda taşınmalıdır. Kan amonyak düzeyi, kan gazları, asit fosfataz, laktat ve piruvat ölçümleri; gastrin, renin, PTH gibi hormonal testlerin ölçümleri için alınan kanlar +4°C'de transfer edilmelidir. Bunun için buzlu su içeren bir kapta taşımak en uygun yoldur. Ayrıca, bu gibi sıcaklığa duyarlı analitler için kan örnekleri soğutulmuş santrifüjlerde çevrilmelidir.

Alınan kan örneği 20-30 dakika bekletildikten sonra iki saat içinde santrifüj edilmelidir. Erken ayrılan serumlarda fibrin oluşumu devam ettiğinden otoanalizörde tıkanma veya hatalı ölçümlere neden olabilir. Ayrılan serumlar ışıktan korunmalı ve bekletilmeden analiz edilmelidir. Bu şekilde, bekletilme ile serum analitlerinin hipokonsantre olması engellenecektir. Eğer hemen analiz işlemi yapılmayacaksa +4-7°C'de 24 saat; 3 güne kadar -20°C'de saklanabilir; daha uzun süre saklanacaksa -80°C'de tutulmalıdır. Bu örnekler çıkartıldığında çözümleri için 25°C'de su banyosunda tutulmalı ve 20 defa ters yüz edilmeli, ardından kullanılmalıdır. Çözülmüş örnekler yeniden dondurulmamalıdır (57,61).

2.16.2. Analitik evre

Referans değerlerin kullanılabilmesi için analitik performansı etkileyen faktörler; ekipmanın tanımlanması, su da dahil reaktifler, ham verinin tipi ve hesaplama yöntemleri de dahil analiz yöntemi, kalite kontrol ve uygunluk kriterleri, gün içi ve günler arası değişkenler,

kalibrasyon standartları gibi koşul olan özelliklerin açıklanması gerekir. Eksternal kalite değerlendirme programları sonuçları ile doğruluk verileri de değerlendirilir (69,72).

Açıklanan bu özellikler diğer araştırmacıların aynı çalışmayı yapabileceği ve rutin laboratuvarlarda hasta sonuçları alındığı zaman referans değerlerin karşılaştırılabileceği şekilde olmalıdır. Referans ve gözlenen değerlerin karşılaştırılabilir olması için aynı analitik yöntem kullanılmış olmalıdır (72).

2.16.3. Postanalitik evre

Postanalitik evre, test sonuçlarının çıkmasından klinisyene veya araştırmacıya ulaşmasına kadar geçen süredir. Bu evrede otomatize cihazlarla donatılmış laboratuvar bilgi sistemleri bulunan laboratuvarlarda hata olasılığı oldukça düşüktür. Ancak çıkan sonuçlar el ile kayıt ediliyorsa laboratuvar çalışmasının dikkatsizliği veya dalgınlığı hata oranını artırmaktadır.

2.17. Referans Değerlerin İstatistiksel Analizi

Referans için alınan birey örneklerinin analizinden sonra veriler bir araya toplanarak istatistiksel olarak incelenir. Bu incelemeler referans değerlerin uygun gruplara ayrılmasını, her grubun dağılımının değerlendirilmesini, aşırı uç değerlerin belirlenmesini ve referans aralıklarının saptanmasını içerir (72).

2.17.1. Verilerin toplanması

Analiz sonrası elde edilen referans verileri hangi bireylerden oluşursa oluşsun, tıbbi geçerlilik için tanımlanmış uygun koşullarda elde edilen verilerden hesaplanmalıdır. Referans değerlerin kullanılabilmesi için, aşağıdaki koşullara mutlaka uyulmalıdır (69,70).

1. Referans bireyler açık ve ayrıntılı olarak tanımlanmalı ve kaydedilmelidir.
2. Klinik karar verilirken, karşılaştırılan parametreden başka, karşılaştırılan grup referans grubuyla benzer olmalıdır. Örneğin: Hastalık var/yok kararında, hasta, sağlıklı olduğuna karar verilmiş olan referans grubuyla karşılaştırılırken, terapötik ilaç izlemede doz ayarlamada aynı hastalığı geçirmiş ve semptomları ilaçla yok edilmiş grup referans alınır.

3. Birey örneklerinin alındığı analiz örneklerinin hazırlandığı koşullar standardize edilmelidir.
4. Ölçü birimleri aynı olmalıdır.
5. Sonuçların elde edildiği analiz yöntemleri mümkün olduğu kadar standardize olmalı ve analitik kalite kontrolü kanıtlanmış olmalıdır.
6. Tüm testlerin tanısal duyarlılığı, tanısal özgüllüğü, prevalansı ve yanlış kararlara neden olduğu zaman yol açtığı mali ve klinik zarar mutlaka bilinmelidir.

2.17.2. Referans değerlerin gruplara ayrılması

Referans değerler yaş, cinsiyet ve diğer karakteristiklere göre alt gruplara ayrılabilirler. Gruplama yapılırken örnek olarak şu kıstaslar göz önüne alınabilir:

- Yaş (eşit aralıklarda kategorize edilmesi gerekmez)
- Cinsiyet
- Genetik faktörler
 - Irk (etnik köken)
 - Kan grupları (ABO)
 - Histokompatibilite antijenleri (HLA)
- Fizyolojik faktörler
 - Menstrüel döngü evresi
 - Gebelik evresi
 - Fiziksel durumlar
- Diğer faktörler
 - Sosyoekonomik
 - Çevresel
 - Kronobiyolojik

Gruplara ayırma tabakalama, kategorizasyon veya alt gruplara ayırma olarak da adlandırılmaktadır. Gruplara ayırmanın amacı bireyler arasındaki varyasyonların en aza indirilmesidir. Sınıf içi varyasyon ne kadar az ise o kadar dar ve duyarlı referans aralık hesaplanır. Genel olarak, sınıflar arasında istatistiksel olarak farklılık varsa referans değerler alt gruplara ayrılmalıdır (78).

Gruplara ayırmada en önemli ve en sık kullanılan iki ölçüt cinsiyet ve yaştır. Sıklıkla postnatal, infant, puberte, premenopozal menopozal ve yaşlılık hallerinde değişim daha belirgindir (69). NCBI (National Center for Biotechnology Information; Ulusal Biyoteknoloji Bilgilendirme Merkezi)'ın internet sitesinde yaşa göre gruplara ayırma Tablo 9'da gösterilmiştir. Birçok araştırmacı bu ayırımı kullanmaktadır.

Tablo 9. Referans gruplarının yaşa göre sınıflandırılmasına bir örnek

Çağı	Yaş Aralığı
Tüm İnfantlar	Doğum-23 ay
Tüm çocuklar	0 yaş-18 yaş
Tüm yetişkinler	19 yaş ve daha büyük
Yenidoğan	Doğum-1 aylık
İnfant	1 ay-23 ay
Okul öncesi çocuk	2 yaş-5 yaş
Çocuk	6 yaş-12 yaş
Adolesan	13 yaş-18 yaş
Yetişkin	19 yaş-44 yaş
Orta yaş	45 yaş-64 yaş
Yaşlı	65 yaş ve daha büyük
80 ve üzeri	80 yaş ve daha büyük

Kemik yaşı, boy ve vücut kütle indeksi gibi ölçütler, çocukların sınıflandırılması için, gerçek yaştan daha iyi belirleyicidirler (79).

Ayrıca bir laboratuvar değişkeni büyük ölçüde yaş ve cinsiyet gibi sağlık alanındaki araştırmalar için çok önemli olan demografik değişkenlerle korelasyonludur. Bireyler arasındaki bu çeşitlilikten kaynaklı olarak popülasyona ait referans aralıklarının mümkün olduğu kadar özel bir aralık olarak hesaplanması gerekir. Bu nedenle de referans aralığı oluşturulurken bu özel aralığı oluşturabilmek için popülasyon daha homojen alt gruplara ayrılmalıdır. Bu alt gruplara ayırma işlemi hekimlere bireylerin sonuçlarını bireyin demografik karakterine göre farklı bir aralıkta eşleştirme olanağı sağlar.

Fakat laboratuvar verilerini ayırmak için standart istatistiksel tekniklerin kullanılması (iki grup ortalamasının, varyansının karşılaştırılması) uygun değildir.

2.17.3. Referans gruplardaki veri sayısının önemi

NCCLS dökümanlarında, non-parametrik yöntemlerle 120 verinin % 90 güven aralığı için yeterli olacağı belirtilmektedir (62,80). % 95 güven aralığında 153 veri ve % 99 güven aralığında ise 198 veri gerektiği ortaya konmaktadır. Benzer bir çalışma Horn ve arkadaşları tarafından da yapılmıştır; burada 20, 40, 60, 80, 100, 120 denek sayılarında nonparametrik, parametrik transformasyon ve bu iki metodun modifiye tipleri kullanılmıştır (81). Sonuçlara göre 120 veriden yöntemler arasında minimal fark varken veri sayısı düştükçe özellikle non-parametrik yöntemler etkilerini yitirmektedir. 120 verinin altındaki denek sayılarında modifiye nonparametrik yöntemler ise daha iyi sonuçlar vermiştir. Başka bir çalışmada Gaussian istatistiği yani parametrik yöntemlerle, minimum 30 veri ile çalışma yapmanın mümkün olacağı ileri sürülmektedir (62). Veri sayısının artması Gaussian istatistiğini daha kuvvetli kılmaktadır, ancak dağılımda uç değerlerin daha fazla bulunmasına yol açabilmektedir. Bu konuda yapılmış diğer çalışmalarda da bu durum ele alınmaktadır (62,82,83).

İstatistiksel olarak da; gruplardaki veri sayısı önemlilik testlerinde güçlü bir etmendir. Çünkü:

1. Gruplardaki veri sayısı arttıkça kullanılan testin gücü ve güvenilirliği artar.
2. Kullanılacak testin uygun olarak seçiminde önemli bir kriterdir. Gruplardaki veri sayısı az olduğunda parametrik olmayan testler kullanılmalıdır. Çünkü veri sayısı azaldıkça parametrik testlerde varsayımların bozulma olasılığı artar (84,85)

2.17.4. Dağılımın incelenmesi

Referans dağılımının histogramı çizilerek grafiksel olarak gözle değerlendirilmesi önerilir. Dağılım aşağıda belirtilen maddeler dikkate alınarak değerlendirilmelidir (70,72).

1. Dağılım sınırlarından çok fazla sapan veriler (aşırı uç değerler) yanlış değerleri gösterebilir. Aşırı uç değerlerin araştırılarak, hesap dışı bırakılması gerekir.
2. Dağılımın bimodal veya polimodal olması, birden fazla alt grubun bulunduğu gösterir. Bu durumda referans bireylerinin seçimindeki kriter yeniden değerlendirilmelidir veya yaş, cinsiyet ve diğer faktörlere göre gruplara ayırma gözden geçirilmelidir.

3. Dağılımda asimetri ve normalden farklı tepeleşmelerde, diklik veya basıklık birlikte değerlendirilmelidir.

4. Görsel incelemenin diğer yararı da hesaplamalardan elde edilecek aralıklar hakkında bilgi vermesidir.

2.17.5. Aşırı uç değerlerin belirlenmesi

Hatalı bir değer izlendiği zaman, ilk önce belirlenen prosedürdeki büyük bir sapmadan kaynaklandığı gözlenebilir. Böyle değerler ya uygun referans değerlerden çok uzak değerdedir (aşırı uç değerler) veya referans dağılımın içinde gizli olabilmektedir. Sadece çok titizlikle hazırlanan ve her aşamada izlenen bir protokol ile gizlenmiş olan hatalar ortaya çıkabilir (57). En çok şu problemlerle karşılaşmaktadır:

- İstatistik testlerinde çoğu testler kullanılmadan önce gerçek dağılımın tipi öngörülebilmektedir. Bazı testler spesifik olarak Gaussian dağılımına gereksinim duyar. Fakat, biyolojik dağılımların çoğu Gaussian dağılımı göstermez ve tipleri nadiren bilinir. Aralık 'range' testi oldukça sağlam bir testtir ve iki en yüksek (veya en düşük) değer arasındaki fark, tüm değerlerin aralık değerinin 1/3'ünü geçiyorsa o değere aşırı uç değer uygulaması yapılır ve hesaba alınmaz (4,57,86).
- Aşırı uç değer saptama testlerinin bazılarında tek aşırı uç vardır. Bundan dolayı aralık testi birden fazla aşırı uç olduğu durumlarda işe yaramamaktadır (57).

Sapan değerler aşırı uç eğiliminde olsalar da hemen aşırı uç uygulaması yapılmamalıdır. Değerlerin hesaplama alınması veya hesaplama alınmaması kararı mantığa dayalı olmalıdır. Şüpheli değerlerin kayıtları kontrol edilmeli, hata var ise düzeltilmelidir (57).

Parametrik istatistik kullanılacaksa dağılımın normal dağılıma uygunluğu kabul edildikten sonra, aritmetik ortalamanın ± 3 SD veya ± 4 SD sınırları dışındaki değerler atılır ve hesaplamalara katılmaz. Non-Parametrik istatistik kullanılacaksa aşırı uç değer saptanması Dixon Aralık İstatistiği, D/R Kuralı kullanılarak yapılır.

D; en uçdeğer –yanındaki değer

R; tüm veriler arasındaki aralık

$D/R > 0.33$ ise veri hesaba katılmaz.

Dixon metodunda dağılımın alt ve üst noktalarında bulunabilecek uç değerler aranır. Burada veriler küçükten büyüğe doğru sıralanır (62,87).

Eğer $x(n)$ 'in uç değer olduğu test edilecekse,

$$r = \frac{x(n) - x(n-1)}{x(n) - x(1)}$$

Yukarıdaki formül ile r bulunur. Bu bir oranı ifade eder; r 'in büyüklüğü $1/3$ ' ün üzerinde ise $x(n)$ bir uç değerdir ve atılmalıdır. Eğer birinci değer test edilecekse, aşağıdaki formül kullanılır:

$$r = \frac{x(2) - x(1)}{x(n) - x(1)}$$

r değeri $1/3$ ' ün üzerinde ise birinci değer, yani $x(1)$ bir uç değerdir ve atılmalıdır. Burada dikkat edilmesi gereken ikisi de uç değer olan iki değeri formüle koyarak kıyaslamamaktır. Bu durumda yanıltıcı olarak ayıklama yapılamayabilir. Hatayı önlemek için mutlaka; en sondan 3. değeri de aynı formülle test etmek gerekir (62,88).

2.17.6. Referans kitlesinin dağılım tipinin değerlendirilmesi

Referans kitlesinin dağılımı Gaussian veya non-gaussian olabilir. Dağılım tipinin belirlenmesi referans kitlesine uygulanacak referans aralığı belirleme yönteminin hangisi olacağının bilinmesi açısından önemlidir. Çünkü Gaussian dağılımlarda parametrik, non-gaussian dağılımlarda ise non-parametrik yöntemler kullanılır.

Normal dağılıma uygunluğun belirlenmesi çeşitli istatistiksel yöntemleri kullanmayı gerektirir. Bu yöntemler bilgisayar programları tarafından desteklenip kolaylıkla uygulanabilir hale getirilmiştir. Referans aralığının belirlenmesinde en çok kullanılan normal dağılıma uygunluğun test edildiği yöntemler şunlardır:

Chi-Square (Ki-kare; X^2) Uygunluk testi: İlk olarak 1900'lü yılların başında çok sık kullanılmaya başlanan bu test homojen olmayan ve gruplandırılmış dağılımlarda yetersiz sonuçlar vermektedir (89,90). Bu yüzden özellikle referans aralığı hesaplamalarında kullanımı terk edilmiştir.

Kolmogorov-Simirnov (K-S) Testi: X^2 uygunluk testlerinin alternatifi olan K-S testi, Kolmogorov tarafından 1933 yılında önerilmiştir. Kolmogorov, tek örnek için uyum iyiliği testini önermiştir. 1939 yılında ise bir Rus matematikçisi olan Simirnov tarafından iki bağımsız örnek için uyum iyiliği testi geliştirilmiştir. Kolmogorov ve Simirnov testi benzerlik nedeniyle uygulamada, Kolmogorov–Simirnov uyum iyiliği testleri olarak bilinirler. X^2 testinin uygulanabilmesi için beklenen frekansların 5’den büyük olması istenir. K-S testi böyle bir şarta dayanmadığı için kolayca uygulanabilmektedir. X^2 testinde beklenen frekansların 5’ten büyük olması için ya örneklerin büyük hacimli olması gerekir (bu masraflı bir iştir) ya da sınıflar birleştirilmek suretiyle beklenen frekansların 5’den büyük olması sağlanır. Bu durumda ise bilgi kaybı söz konusudur. Oysa K-S testinde beklenen frekanslar için bir alt limit söz konusu değildir. Özellikle yaş, cinsiyet gibi faktörler sonucu dağılım gruplar halinde tanımlanmış ise, K-S testini kullanmamız daha uygun olacaktır. Bu test daha güvenilir ve kuvvetli bir analiz yöntemidir ve dağılımın gruplandırılmasından etkilenmemektedir (91).

Her iki test ile dağılımın yatıklığı ve basıklığı değerlendirilebilir.

Shapiro-Wilk testi: Bu test K-S testi ile sadece veri sayısı ihtiyacı bakımından farklılık gösterir. Düşük veri sayılarında iyi sonuçlar üretir ve hatta bu veri miktarlarında K-S testinden daha güvenli sonuçlar üretebilmektedir¹.

Katsayı tabanlı testler: IFCC normalite uygunluk testlerinin kullanılmasını daha uygun görmektedir; eğer transformasyon yapılıyorsa, bu durumda dağılımdaki değişimin, katsayı tabanlı testler ile takip edilmesini önermektedir³. İki şekilde ifade edilir:

1. Yatıklık katsayısı
2. Basıklık katsayısı

Teorik olarak olması gereken normal bir dağılımdır ve bu dağılımın özelliği olarak ortalamanın her iki tarafında homojen ve eşit sayıda dağılmış değerler bulunur. Oysa yatık dağılımlarda grafiğe bakıldığında bir orta nokta tanımlanamaz, çünkü değerler histogramda eşit olarak dağılmamışlardır. Böyle bir durumda ortalama değer tanımlamak anlamsızdır; bu gibi dağılımları tanımlamanın en iyi yolu medyan değer kullanılmasıdır. Yine çok basık dağılımlar ortaya çıkabilir ve böyle dağılımlarda hemen hemen her değer frekansı birbirine çok yaklaşmıştır, en uçtaki değer frekansı, en ortadaki değer frekansına oldukça yakındır.

Bu tip dağılımlarda, aynı zamanda yatıklık da varsa, bunun düzeltilmesi için logaritmik transformasyon yapılması sonucunda basıklıkta artış ortaya çıkabilir. Bu nedenle logaritmik transformasyon sonrası dağılımın basıklığı kesinlikle kontrol edilmelidir. Bunun tam tersi çok dik dağılımlar da görülebilir; yatıklığın ve basıklığın yönü katsayının işaretine bağlıdır; Normal dağılımın yatıklık ve basıklık katsayısı sıfırdır.

Bütün bu işlemlerin sonucunda dağılımın tipi saptanmış olur ve veri sayısının da göz önünde bulundurulması ile birlikte kullanılması en uygun olan istatistiksel analiz yöntemi seçilir.

2.17.7. Referans sınırların saptanması

Klinik yorumlamalarda hastanın laboratuvar sonuçları iki sınır arasındaki referans aralığıyla karşılaştırılır. Bu aralık farklı yollarla hesaplanabilir. Üç çeşit referans aralık önerilmektedir. Bunlar; tolerans aralığı, öngörü aralığı ve yüzdeler arasındaki aralık. Belirli çok iyi tanımlanmış istatistik problemler için üçünden birinin seçimi önemli olmaktadır (72).

Yüzdeler arasındaki aralık hesaplanması en kolay olanıdır, oldukça yaygın kullanılır ve IFCC tarafından önerilmektedir. Referans dağılımın iki yüzdeliği ile belirlenen aralık olarak tanımlanır. Yüzdeler referans, dağılımı bölen bir düzeydir. Bu düzeyin yeri temsil ettiği yüzde değerdedir veya onun sınırladığı değer altındadır. Referans aralığının değerleri %2,5 ve %97,5 düzeylerin arasında kalan %95'lik merkezi alandır. Bu alanın neye göre seçildiği tam anlamıyla bir temele dayanmamaktadır, fakat geleneksel olarak kabul görmektedir (72).

Yüzdeler arasındaki aralık hesaplama iki ana istatistiksel yöntemle belirlenir. Bunlar:

1. Parametrik yöntemler
2. Non-parametrik yöntemler

Bu iki yöntem de kendi içinde birçok modifiye yöntem içerir. Modifikasyonlar yöntemin gücünün artırır ve daha düşük veri miktarlarında anlamlı sonuçlar üretir. Özellikle biyolojik veriler Gaussian forma uymazlar. Bu nedenle biyolojik verilerde non-parametrik yöntemler tercih edilir. Ancak bu yöntemlerde daha yüksek verilere gerek duyulması bir dezavantajdır (61).

Parametrik yöntemde yüzdeler ve güven aralıkları hesaplanırken dağılımın belirli tipte olduğu varsayılır ve hesaplamalarda ortalama ve standart sapma (SD) gibi popülasyon parametreleri kullanılır. Örneğin, parametrik yöntemde referans verilerinin Gaussian dağılımına uyduğuna inanılır ve referans sınırları (yüzdeleri) ortalamanın $\pm 2SD$ altında ve üzerinde olarak hesaplanır. Referans dağılım non-gaussian bir dağılım ise, verilerin logaritmik transformasyonu yapılır, transformasyondan sonra dağılımın Gaussian olması beklenir.

Parametrik olmayan yöntemde dağılım için hiçbir varsayımda bulunulmaz ve hesaplamalarda dağılım parametreleri kullanılmaz. Yüzdeler her iki uçtan gereken yüzdeden kesilir.

2.17.7.1. Parametrik yöntemler

Parametrik yöntem non-parametrik yöntemle göre çok daha komplikedir ve veri sayısı yüksek olunca bilgisayar istatistik programları gerekir. Parametrik yöntemde yüzdelerin hesaplanmasında dağılımın Gaussian dağılım olduğu varsayılır. Bundan dolayı parametrik yöntemde, kritik aşama, verilerin dağılımının hipotetik Gaussian dağılımına göre uyum iyiliği testi ile değerlendirilmesi gerekliliğidir. En basit test kümülatif dağılım grafiğinin Gaussian olasılık kağıdında çizilmesidir. Gaussian olasılık kağıdında, Gaussian dağılımı temeline dayalı, lineer olmayan dik eksen vardır. Dağılım Gaussian ise eğri düz çizgi olmalıdır. Fakat düz çizgiden sapmaların görsel olarak değerlendirilmesi çok zordur, çünkü grafikteki dik uzaklıklar lineer değildir. Uyum iyiliği testi yapan birçok istatistik program bulunmaktadır (Çarpıklık ve diklik katsayılarına dayalı test, Kolmogorov-Smirnov testi veya Anderson-Darling testi gibi).

Referans dağılım Gaussian dağılımından anlamlı olarak farklı değilse, 2,5 ve 97,5 yüzdeler ortalamanın her iki tarafına iki SD eklenerek hesaplanır.

Daha kesin hesaplamak için,

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

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

Referans dağılım Gaussian değil ise, matematiksel transformasyon ile Gaussian dağılımına uyması sağlanabilir. Sıklıkla karşılaşılan bir gözlem sağa çarpık (pozitif çarpıklık) dağılımların logaritmik transformasyonlarının daha çok Gaussian dağılıma uyum

gösterdiği. Diğer durumlarda karekök transformasyonların daha uyum sağladığı gözlenmektedir. Logaritmik ve karekök transformasyonların daha çok kullanılması bu nedenlerden dolayı önerilmektedir. Bu iki transformasyon ile başarılı olunamazsa başka transformasyonlar denenebilir. Bu konuda çeşitli yayınlar bulunmaktadır (72).

Gaussian dağılımlarda elde edilen güven aralıkları non-parametrik yöntemlerin güven aralıklarından daha dar çıkmaktadır; bu da daha kesin bir yaklaşımda bulunulmasına olanak sağlar (61,92). Bazı yazarlar referans aralığı tayininde bu yöntemin kullanılmasının daha uygun olacağını ileri sürmektedirler (61,93).

2.17.7.2. Non-parametrik yöntemler

Bu yöntemler non-Gaussian dağılımlarda tercih edilirler. Özellikle hastane kayıtlarının kullanıldığı veri setlerinde tercih edilirler. Ancak dikkat edilmesi gereken nokta her bir alt grup için gerekli veri sayısı en az 120 olmalıdır. Bu sayının altındaki veri setlerinde ise modifiye yöntemler kullanılır.

Bunlardan en çok kullanılanı “Non-parametrik yüzde tahmini yöntemidir”. Bu yöntem alt ve üst değerleri kesin olarak bildirir. Bu nedenle modifiye yöntemlerin çoğu bu yöntemi baz almaktadır. Burada dağılımın %95’lik kısmını kapsayan %2,5 ile %97,5’luk alana eşdeğer noktalar aranır. Bunun için veriler küçükten büyüğe doğru sıralandıktan sonra aşağıdaki formüller kullanılır:

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

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

‘n’ veri sayısını belirtmektedir. Eğer küsürlü rakamlar çıkarsa yuvarlama yapılır. Örneğin, 10,5 çıkan bir alt değer 11’e yuvarlanır. Böylece 11. Sıradaki veri dağılımının alt noktası olarak tanımlanır, aynı şekilde üst nokta da belirlenir (62,94).

Diğer bir yöntem Wilks tarafından tanımlanan “non-parametrik tolerans aralığı yöntemidir” (95). Veriler küçükten büyüğe doğru sıralanır ve sıra numaralarına eşdeğer olan değerler veri sayısı ve güven aralığına göre bu tablolardan çıkartılır (96). Burada yüzde tahmin yönteminde olduğu gibi dağılımın kesin bir yüzdesine uyan sıra değeri yerine, tablodan veri sayısı ve güven aralığına uyan değerler elde edildiği için %95’lik bölge

dağılımında değişen bölgelerde lokalize olabilmekte ve güven aralığının derecesine göre fazla geniş ya da dar çıkabilmektedir.

2.18. Veri Transformasyonu

Gaussian forma uymayan dağılımlarda parametrik yöntemler kullanılamaz. Ancak veri transformasyonu ile dağılım Gaussian forma yaklaştırılabilir. Bu yaklaştırma belli ölçüde bir hata payı içereceğinden transformasyon sonrası dağılımın tipi yeniden test edilmelidir. Yeni oluşan dağılımda, yatıklık ve basıklık katsayılarına bakılarak değerlendirme yapılmalıdır. Veri transformasyonu “logaritmik transformasyon”, “trigonometrik transformasyon” ve “karekök normalizasyonu” gibi metotlarla yapılabilir.

Logaritmik transformasyon içlerinde en yaygın kullanılanıdır. Bunların dışında farklı birçok normalizasyon şekli de vardır. Daha önce belirtildiği gibi Gaussian olmayan dağılımlar sağa (negatif yatıklık) ya da sola (pozitif yatıklık) yatık dağılımlar halinde çıkarlar; ayrıca oldukça dik (pozitif basıklık) ya da oldukça basık (negatif basıklık) şeklinde de gözükebilirler. Pozitif yatıklıkta çoğunlukla logaritmik transformasyon ya da karekök normalizasyonu kullanılır. Her ikisi de uygulanması oldukça basit yöntemlerdir ve herhangi bir tablolama yöntemi ile datanın transformasyonu rahatlıkla yapılabilir.

2.19. Referans Aralıklarının Transfer Edilebilirliği

Bir laboratuvarın test listesindeki her test için güvenilir referans aralığının belirtilmesi ana görevlerdendir. Fakat her laboratuvarın hesaplama kapasitesi bulunmamaktadır. Bundan dolayı, başka bir laboratuvarda hesaplanmış olan referans değer diğer bir laboratuvarda kullanılabilir. Yalnız kullanılabilmesi için aşağıdaki koşullar yerine getirilmelidir:

1. Popölasyonlar tanımlanmalı ve özellikleri birbirleriyle örtüşmelidir.
2. Her iki laboratuvar verileri de aralarında analitik bias bulunma durumu açısından kontrol edilmelidir.
3. Her iki laboratuvarın analitik performansı birbirleriyle uyumlu olmalıdır.
4. Örnek alınmadan önce bireylerin hazırlanması ve örneklerin alınması ve işlenmesi her iki laboratuvarda standardize programlarla yapılmalıdır (72).

Son olarak, klinik laboratuvar tarafından üretilen sonuçların referans aralıklarına göre nasıl sunulması gerektiği de önemli bir konudur. Üretilmiş olan bir sonucun raporda tek

başına verilmesi yerine, yanında referans aralığı ile birlikte sunulması gerekir. Buna ek olarak raporda, çıkan sonucun referans aralığına göre yüksekliği ya da düşüklüğü de belirtilmelidir. Sonuçlar referans aralıkları ile aynı sırada, o test için kullanılan birimler de mutlaka verilmelidir. Eğer referans aralığı cinsiyet ve yaş gibi faktörlere göre ayrı ayrı saptanmış ise bu durumda raporda da referans aralıkları bu faktörlere göre gruplandırılarak sunulmalıdır (62).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Grupları

Bu çalışma retrospektif bir çalışmadır ve kullanılan test verileri indirekt olarak elde edilmiştir. Çalışma grupları, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında 01.01.2007 ile 01.11.2015 tarihleri arasında (8 yıl) serum tümör belirteç testleri çalışılan ve sadece bir kez polikliniğe başvuran hastaların kayıtlı verileri ile oluşturulmuştur. Yatan hastaların verileri değerlendirmeye alınmamıştır. Değerlendirmeye alınan testler, popülasyonlar arası varyasyona uğrayabilen 8 adet serum tümör belirteci testidir. Çalışmada cinsiyete ve yaşlara göre alt gruplara ait referans aralıkları da belirlenmiştir. fPSA ve PSA parametrelerinde tüm bireyler erkek olduğundan cinsiyet bazında gruplandırma yapılmamış olup sadece yaşlara göre alt gruplara ait referans aralıkları belirlenmiştir.

3.2. Örneklerin Toplanması ve Serum Eldesi

Analiz için alınan kan örnekleri hastanemize ayaktan başvuran hastalardan elde edilmiştir. Hastaların kanları sabah saat 08:00 ile 10:00, öğleden sonra ise 13:00 ile 16:00 saatleri arasında alınmıştır. Kan alımları bölüm 2.16.1.1 ve 2.16.1.2’de belirtilen flebotomi kriterlerine uygun olarak yapılmıştır.

Uygun şartlarda laboratuvara ulaştırılan kan örnekleri, 20 dakika bekletildikten sonra 4000 devir/dakika’da 10 dakika santrifüj edilerek serumlarına ayrılmış ve bu serumlar otoanalizöre yüklenmiştir.

3.3. Kullanılan Cihaz ve Kitler

Hasta verileri, hastanemiz biyokimya laboratuvarında kullanılan Advia Centaur XP Immunoassay System (Siemens, Erlangen, Germany) hormon analizöründen elde edilen sonuçlardan toplanmıştır.

Bu çalışmada seçilen parametreler CA15-3, CA 125, CA 19-9, AFP, CEA, fPSA, PSA ve Tiroglobulin’dir. Cihazda Siemens Healthcare Diagnostics firmasından temin edilen orijinal kitler kullanılmıştır.

Kitlerin kalibrasyonu aynı firma tarafından sağlanan kalibratör ile yapılmıştır. İç kontrol Tiroglobulin için aynı firma, CA15-3, CA 125, CA 19-9, AFP, fPSA, PSA ve CEA için ise Bio-Rad Laboratories tarafından sağlanan serumlar ile yapılmıştır. Dış kalite kontrolü ise Randox International Quality Assessment Scheme ve Bio-Rad Laboratories firmaları tarafından sağlanan kontrol serumları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.4. Biyokimyasal Testlerin Metotları ve Çalışma Prensipleri

3.4.1. CA 15-3

CA 15-3 testi direkt kemiluminesans teknolojisinin kullanıldığı iki basamaklı bir tam otomatik sandviç immün testidir. Lite Reaktif akridinyum esteri ile işaretlenmiş, CA 15-3'e spesifik monoklonal fare antikoru DF3 içermektedir. Konjugat Reaktif floresein ile işaretlenmiş, CA 15-3 için spesifik olan monoklonal fare antikoru 115D8 içerir. Solid Faz paramanyetik partiküllere kovalent bağlanmış, saflaştırılmış fare monoklonal yakalama antikorundan oluşmaktadır. Örnek eşzamanlı olarak Konjugat Reaktif ve Katı Faz ile 4,66 dakika süresince inkübe edilir. İnkübasyondan sonra immün kompleks yıkanır ve Lite Reaktif eklenir, ilave bir 21,66 dakika boyunca inkübasyon uygulanır ve ardından yeniden yıkama uygulanır. Bu testte kullanılan iki aşamalı protokol yüksek doz paradoks etkisini ortadan kaldırmaktadır.

3.4.2. CA 125

CA 125 testi, CA 125 için spesifik olan iki monoklonal fare antikoru kullanılan direkt kemiluminometrik teknoloji kullanılarak gerçekleştirilen iki bölgeyi bir sandviç immün testidir. Birinci antikor M11 antijen bölgesine yöneliktir ve akridinyum esteri ile işaretlidir. İkinci antikor OC 125 antijen bölgesine yöneliktir ve floresein ile işaretlidir. CA 125 ile oluşan immün kompleks Katı Faz içindeki paramanyetik partiküllere bağlanmış monoklonal fare anti-floresein antikoru ile yakalanır.

3.4.3. CA 19-9

CA 19-9 testi, hem Solid Faz hem de Lite Reaktif için tek bir monoklonal antikorun kullanıldığı direkt kemiluminometrik teknoloji kullanılan iki basamaklı bir sandviç immün testidir. Antikor Solid Faz içindeki paramanyetik partiküllere kovalent bağlıdır ve aynı antikor

klonu, Lite reaktif içinde akridinyum esteri ile işaretlidir. Örnek ve Katı Faz 37°C'de 21 dakika inkübe edilir ve bunu bağlanmamış antijen fazlasının uzaklaştırılması amaçlı bir yıkama aşamasına takip eder. Ardından Lite Reaktif ilave bir 21,66 dakikalık inkübasyon için Solid Faza bağlı CA 19-9 antijenleriyle reaksiyona sokulur. Dolayısıyla yüksek doz paradoks etkisi bu testte elimine edilmektedir.

3.4.4. AFP

AFP katı fazlı, iki bölgeci ardışık immünometrik kemilüminesans teste dayanmaktadır.

AFP, istenilen hassasiyetin derecesine bağlı olarak, çok sayıda immünolojik teknik ile ölçülebilir. Radyal immünodifüzyon, karşı akım immünoelektroforez ve roket immünoelektroforez, araştırma uygulamaları için oldukça uygun olan üç tekniktir. Enzim bağlı immünosorban miktar tayinleri ve hem kompetitif hem de non-kompetitif tasarıma sahip radyoimmünoassay'ler maternal serum ve amniyotik sıvı ölçümleri için klinik olarak başarılı şekilde uygulanmıştır.

3.4.5. CEA

CEA testi, iki antikordan sabit miktarlarda kullanılan bir direkt kemiluminometrik teknoloji kullanılarak gerçekleştirilen iki bölgeci bir sandviç immün testidir. Lite Reaktif içindeki birinci antikor, akridinyum esteri ile işaretli, saflaştırılmış bir poliklonal tavşan anti-CEA antikorudur. Katı Faz içindeki ikinci antikor, paramanyetik partiküllere kovalent bağlanmış monoklonal fare anti-CEA antikorudur.

3.4.6. fPSA

fPSA testi, iki monoklonal fare antikorunu kullanılan bir direkt kemiluminometrik teknoloji kullanılarak gerçekleştirilen iki bölgeci bir sandviç immün testidir. Lite Reaktif içindeki birinci antikor, akridinyum esteri ile işaretlenmiş olan bir anti-PSA antikorudur. Katı fazdaki ikinci antikor, biyotin ile işaretlenmiş ve streptavidin paramanyetik partiküllere bağlı bir anti-serbest PSA antikorudur.

3.4.7. PSA

PSA testi, iki antikordan sabit miktarlarda kullanılan bir direkt kemiluminometrik teknoloji kullanılarak gerçekleştirilen iki bölgeyi bir sandviç immün testidir. Lite Reaktif içindeki birinci antikor, akridinyum esteri ile işaretlenmiş olan bir poliklonal keşi anti-PSA antikorudur. Katı faz içindeki ikinci antikor, paramanyetik partiküllere kovalent bağlanmış bir monoklonal fare anti-PSA antikorudur.

3.4.8. Tiroglobulin

Tiroglobulin katı fazlı, immünometrik kemilüminesans teste dayanmaktadır.

Bu prohormonun ölçümünün majör klinik uygulamaları, dolaşımdaki hormonun tek kaynağının fonksiyone eden tiroid dokusuymuş gibi görüldüğü gerçeğine dayanmaktadır. Buna uygun olarak, tiroglobulin belirlemeleri, fonksiyone eden tiroid dokunun saptanmasında yada bireysel olarak belirlenmiş bir başlangıca göre bu tür dokuda bir artış olduğunun varlığının veya yokluğunun saptanmasında bir yardım olarak iyot sintigrafisi ve diğer teknikleri (ultrason veya immunohistokimyasal boyama gibi) yaygın olarak kullanılmaktadır. Konjenital hipotiroidizmin ayırıcı tanısı serum tiroglobulin ölçümünün bu uygulamada kullanımı için oldukça yerleşmiş bir bağlamdır.

3.5. Referans Aralığı Saptanması Yolunun Belirlenmesi

- Analitik interferansların ve biyolojik değişkenlerin belirlenmesi.
- Dışlama ve gruplama kriterlerinin oluşturulması.
- Dışlamaların yapılması.
- Güven aralığında olacak şekilde referans kişi sayısına karar verilmesi
- Sonuçların eldesi ve analiz edilmesi.
- Referans değer verilerinin gözlemlenmesi ve histogramların hazırlanması.
- Muhtemel veri hatalarının ve/veya aykırı değerlerin tanımlanması.
- Referans değerlerinin analiz edilip referans sınırlar ve referans aralık için metodun seçilmesi.

3.6. Referans Bireyleri Dışlama ve Gruplandırma

Birçok faktörün varyasyonları etkileyebileceğinden bu faktörlerin elenmemesi durumunda çalışmada olumsuz sonuçlar doğurabileceğinden dışlama uygulanmıştır. Dışlama kriterleri kişiyi referans örneklerinden ayrı tutmak için belirlenip, yapılan referans çalışmasında değerlendirilen parametrenin niteliğine göre farklılık göstermektedir.

Uygulanan ilk dışlama kriteri; acil poliklinik, yoğun bakım gibi tedavi alan veya sağlıklı olarak nitelendirilemeyeceğimiz kişilere ait olma ihtimali yüksek olan tüm test sonuçlarının çalışmadan çıkarılmasıdır. Çeşitli aralıklarla tekrarlanmış test sonuçlarının hasta olma ihtimali yüksek bireylere ait olduğu varsayımı ile, uygulanan ikinci dışlama kriteri; bir bireyde belirli bir test tekrar edilmişse bu bireye ait test sonuçları çalışmadan çıkarılmasıdır. Bu kriterlere ek olarak, aynı kişiye ait aynı örnek numarasından elde edilmiş farklı test sonuçları arasında uyumsuzluk içerenler çalışmadan çıkarılmıştır.

Referans gruplarını mümkün alt gruplara ayırmak için kullanılan gruplama kriterleri arasında yaş ve cinsiyet, fizyolojik ve genetik faktörler yer almaktadır. Ancak bu çalışmada ise referans bireyler yaş ve cinsiyetlere göre alt gruplara ayrılmıştır.

3.7. Kullanılan Bilgisayar Programları ve İstatistiksel Yöntemler

Çalışmaya kaynak olan hasta verileri, kayıtlı olduğu otomasyon (ENLİL Hasta Yönetim Bilgi Sistemi, Can Eroğlu Bilgi Sistemleri Ltd. Şti.) sisteminin kayıtlarından Microsoft Office Excel programına aktarıldı.

Çalışmaya dâhil olan her test için 01.01.2007 ile 01.11.2015 tarihleri arasında aynı hasta numarasındaki aynı teste ait yinelenmiş sonuçlar elimine edildi. Böylece hastanemize 8 yıl içinde herhangi bir nedenle sadece bir kez aynı tetkiki yaptıran, ayaktan başvuran hastaların verileri değerlendirmeye alınması sağlanmış oldu. Değerlendirmeye alınan bu hastaların sekiz yıl içinde sadece bir kez polikliniğe başvurarak laboratuvar tetkiki yaptırmasından dolayı, verilerin hastane popülasyonundan oluşmakla birlikte sağlıklı olması kuvvetle muhtemel bireylerden oluştuğu öngörüldü.

Hesaplama yapmadan önce her alt grup için aşırı uç değerler tespit edildi. Bunun için SPSS programı kullanılarak her bir test verisinin histogramı çizildi, aşırı uç değerler tarandı.

Hiç aşırı uç değer kalmayınca kadar aynı işlem tekrarlandı. Bu işlemden sonra ise uç değer kalmadığına emin olmak amacıyla verilere Dixon kuralı uygulandı.

Veriler üzerinde yukarıda anlatılan elemeler yapıldıktan sonra her bir test için veriler cinsiyet bazında (erkek-kadın) ve yaş gruplarına ayrıldı. Referans aralığı hesaplanacak yaşlar veya alt grupların normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilks testi uygulandı. Normal dağılıma uyan veri bulunmadığı için parametrik yöntemle referans aralığı belirlenmedi. Tüm veriler normal dağılıma uymadığı için non-parametrik yüzde tahmini yöntemiyle %95 güven aralığında referans aralıkları hesaplandı. Bunun için veri analizinde SPSS 15.0 paket istatistik programı kullanıldı. Veriler cinsiyetlere ve yaşlara göre alt gruplara ayrıldı. Tanımlayıcı istatistik ölçütleri (aritmetik ortalama, medyan, standart sapma, 2.5 ve 97.5 yüzdelerlik değerleri) hesaplandı (SPSS 15.0: Analyze → Descriptive Statistics → Frequencies).

Tüm parametreler için referans aralıklarına ait her alt grubun sonuçları grafik ve tablolar ile birey sayısı, mean, medyan ve standart sapma değerleri verildi.

4. BULGULAR

Uygulama zorluğu ve masraf gibi etkenler düşünüldüğünde indirekt yöntemin kullanılması avantaj sağlamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda ele alınan 8 adet tümör belirteci parametresinin yaş ve cinsiyete göre referans aralıklarının belirlenmesi indirekt yöntem kullanılarak yapılmıştır.

Elde edilen veriler normal dağılım göstermediği ($p < 0,05$) için non-parametrik yüzde tahmini yöntemiyle popülasyonumuza ait referans aralıkları hesaplandı.

Tablo 10'de çalışmaya alınan testler ve referans kitlesinin dağılımı görülmektedir. Tabloda aşırı uçların atıldığı ve eliminasyonun yapıldığı ve aşırı uçlar atılmamış ve eliminasyon edilmemiş veriler yer almaktadır.

Tablo 10. Çalışmaya alınan testler ve taranan popülasyonun testlere ve cinsiyete göre dağılımı

Test Adı	Aşırı uçlar atılmamış ve eliminasyon yapılmamış veriler			Aşırı uçlar atılmış ve eliminasyon yapılmış veriler		
	n					
	Kadın	Erkek	Toplam	Kadın	Erkek	Toplam
AFP	10953	6237	17190	2404	2105	4509
CA 15.3	5592	834	6426	2185	510	2695
CA 19.9	5375	3009	8384	2214	1043	3257
CA 125	6886	517	7403	2772	289	3061
CEA	5965	3088	9053	2084	1169	3253
Tiroglobulin	2139	403	2542	276	57	333
fPSA	0	2011	2011	0	852	852
PSA	0	11678	11678	0	3213	3213
Toplam	36910	27777	64687	11935	9238	21173

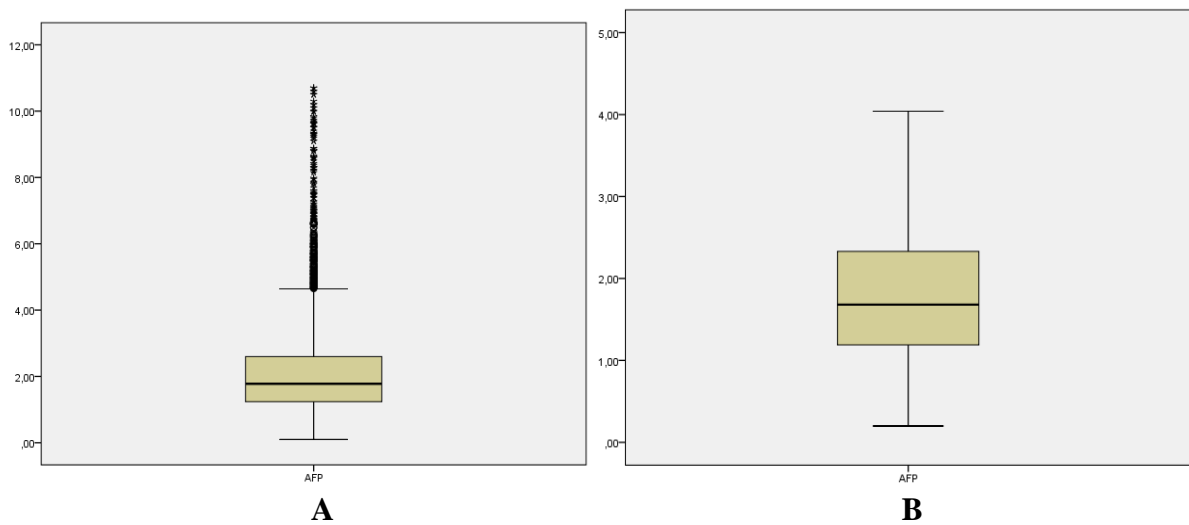
n: veri sayısı

Tablo 11'de çalışmaya dâhil edilen tümör belirteci parametrelerine ait hastanemizde kullanılmakta olan mevcut referans aralıkları yer almaktadır.

Tablo 11. KSÜ Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarında kullanılmakta olan referans aralıkları

Parametre	Referans Aralık		Birim
	Alt Limit	Üst Limit	
AFP	0,5	5,5	IU/ml
CA 15.3	6,4	38,4	U/ml
CA 19.9	0	37	U/ml
CA 125	0	35	U/ml
CEA	0	5	ng/ml
fPSA	0,05	0,42	ng/ml
PSA	0,04	4	ng/ml
TG	1,6	59,9	ng/ml

İstatiksel analiz sırasındaki aşırı uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre (Şekil 2) AFP için çalışmamızın örnek referans kitlesini, 2-97 yaşları arasında 2105'i erkek ve 2404'ü kadın olmak üzere, toplam 4509 kişi oluşturmuştur. Çalışma gruplarına göre elde edilen referans aralıkları Tablo 12 ve Tablo 13'te gösterilmektedir.



Şekil 2. AFP için aşırı uç değerlerin atılması (A: aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B: aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).

Tablo 12. AFP için cinsiyete göre referans aralığı, mean, medyan ve SD değerleri

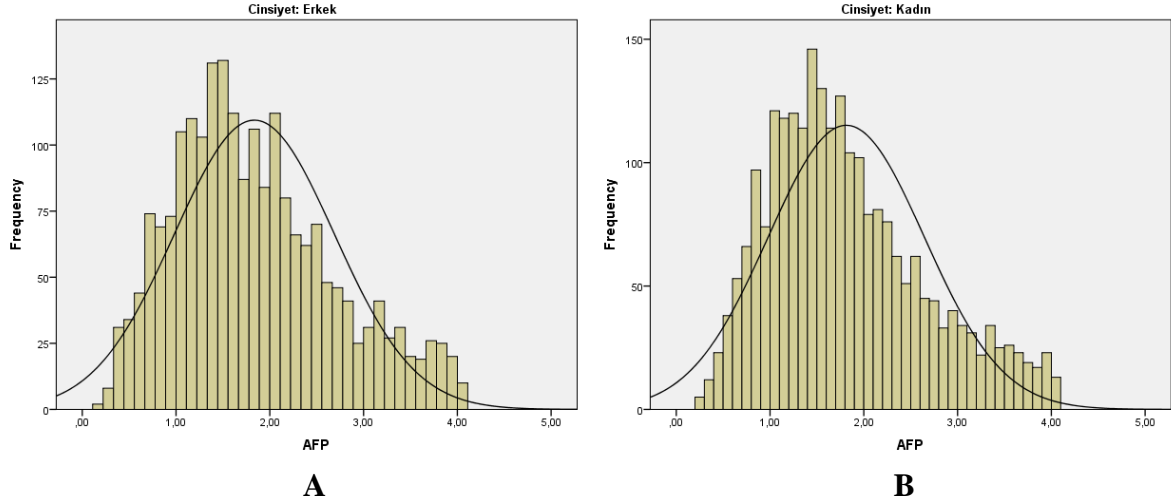
Cinsiyet	n	Referans Aralık (IU/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
Erkek	2105	0,50	3,78	1,83	1,70	0,85
Kadın	2404	0,55	3,73	1,81	1,66	0,83
Genel	4509	0,52	3,76	1,82	1,68	0,84

n: veri sayısı, SD: standart sapma

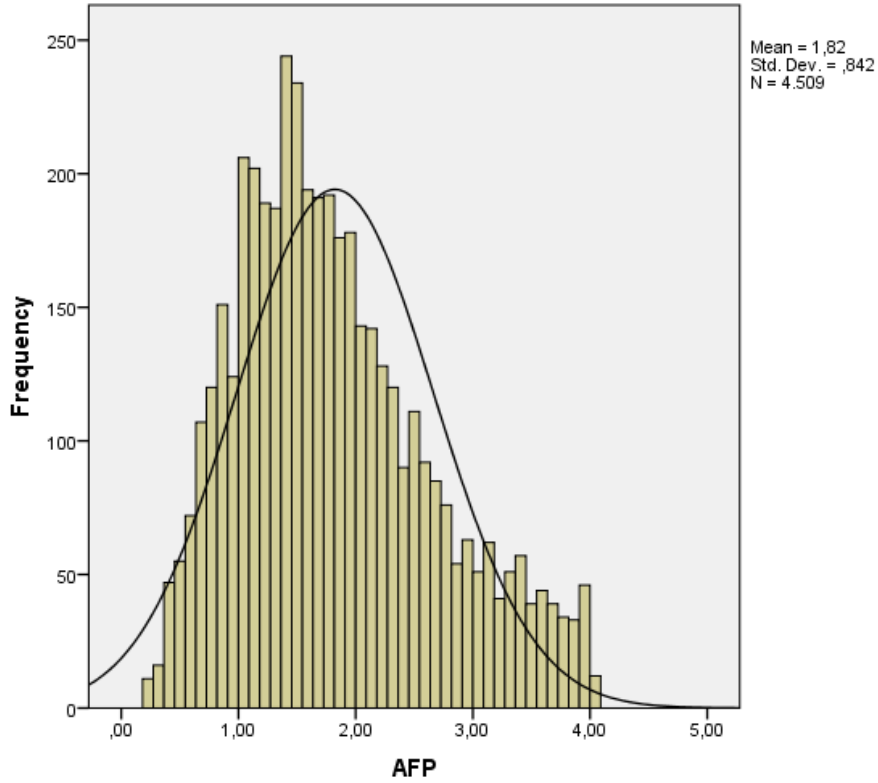
Tablo 13. AFP için yaş gruplarında cinsiyete göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri

Yaş Aralığı / Cinsiyet	n	Referans Aralık (IU/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
1-20 yaş arası						
Erkek	100	0,24	3,35	1,32	1,19	0,72
Kadın	140	0,35	3,58	1,30	1,17	0,74
21-40 yaş arası						
Erkek	557	0,46	3,80	1,69	1,52	0,85
Kadın	615	0,53	3,68	1,70	1,51	0,80
41-60 yaş arası						
Erkek	621	0,52	3,80	1,91	1,83	0,83
Kadın	947	0,62	3,83	1,93	1,79	0,83
60 yaş ve üstü						
Erkek	827	0,54	3,76	1,92	1,81	0,84
Kadın	702	0,62	3,70	1,84	1,74	0,82
Genel	4509	0,52	3,76	1,82	1,68	0,84

n: veri sayısı, SD: standart sapma

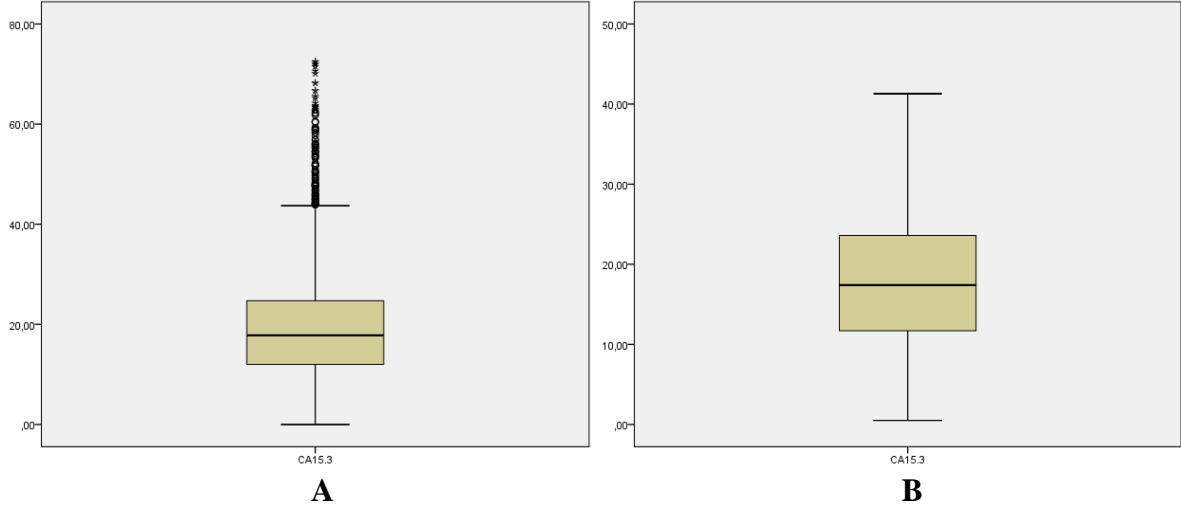


Şekil 3. AFP için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram dağılımı



Şekil 4. AFP genel referans aralığına ait histogram

İstatiksel analiz sırasındaki aşırı uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre (Şekil 5) CA 15.3 için çalışmamızın örnek referans kitlesini, 6-97 yaşları arasında 510'u erkek ve 2185'i kadın olmak üzere, toplam 2695 kişi oluşturmuştur. Çalışma gruplarına göre elde edilen referans aralıkları Tablo 14 ve Tablo 15'da gösterilmektedir.



Şekil 5. CA 15.3 için aşırı uç değerlerin atılması (A: aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B: aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).

Tablo 14. CA 15.3 için cinsiyete göre referans aralığı, mean, medyan ve SD değerleri

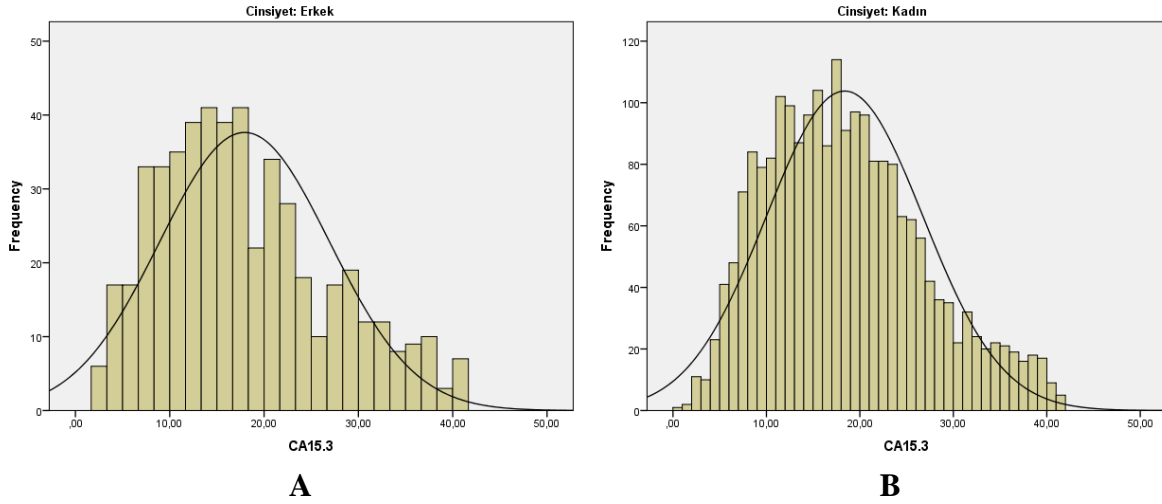
Cinsiyet	n	Referans Aralık (U/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
Erkek	510	4,17	38,02	17,93	16,20	9,01
Kadın	2185	5,10	37,53	18,36	17,50	8,39
Genel	2695	5,00	37,60	18,28	17,40	8,51

n: veri sayısı, SD: standart sapma

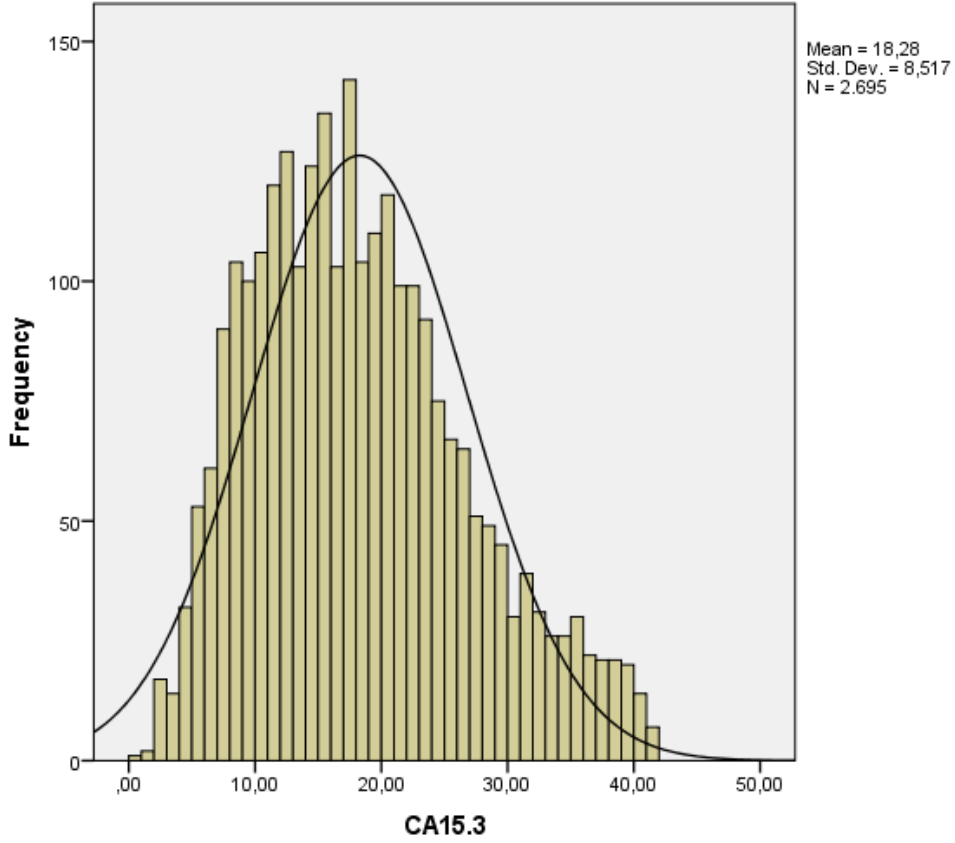
Tablo 15. CA 15.3 için yaş gruplarında cinsiyete göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri

Yaş Aralığı / Cinsiyet	n	Referans Aralık (U/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
1-40 yaş arası						
Erkek	53	4,87	38,48	16,34	15,00	7,09
Kadın	646	5,60	36,64	17,61	16,75	7,93
41-60 yaş arası						
Erkek	157	4,39	37,58	17,93	16,20	9,17
Kadın	916	4,80	37,30	18,51	17,80	8,31
60 yaş ve üstü						
Erkek	300	3,75	38,19	18,21	17,00	9,21
Kadın	623	4,98	38,84	18,92	17,70	8,93
Genel	2695	5,00	37,60	18,28	17,40	8,51

n: veri sayısı, SD: standart sapma

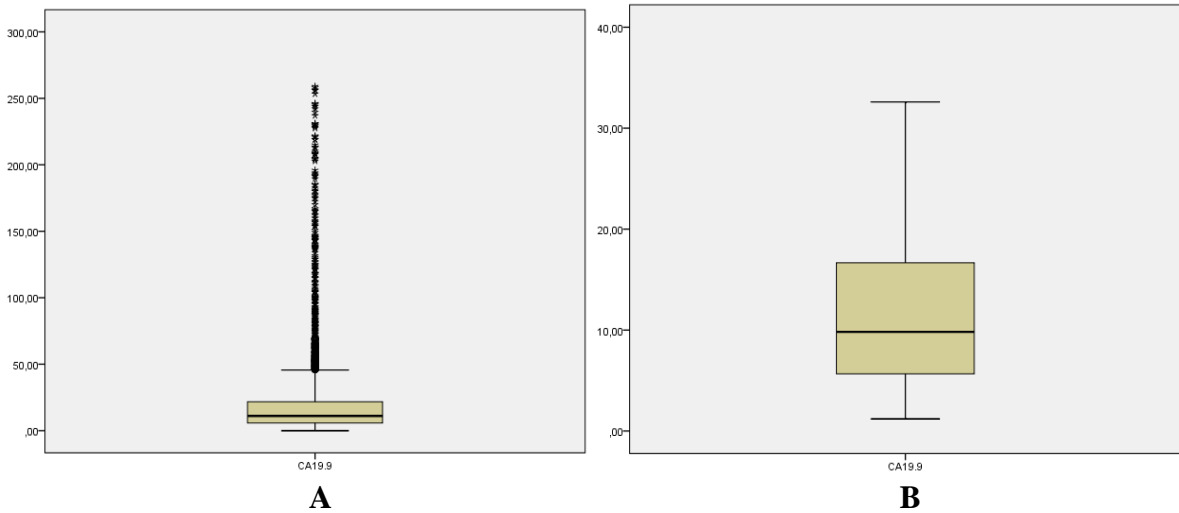


Şekil 6. CA 15.3 için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram dağılımı



Şekil 7. CA 15.3 genel referans aralığına ait histogram

İstatiksel analiz sırasındaki aşırı uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre (Şekil 8) CA 19.9 için çalışmamızın örnek referans kitlesini, 3-98 yaşları arasında 1043'u erkek ve 2214'i kadın olmak üzere, toplam 3257 kişi oluşturmuştur. Çalışma gruplarına göre elde edilen referans aralıkları Tablo 16 ve Tablo 17'de gösterilmektedir.



Şekil 8. CA 19.9 için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).

Tablo 16. CA 19.9 için cinsiyete göre referans aralığı, mean, medyan ve SD değerleri

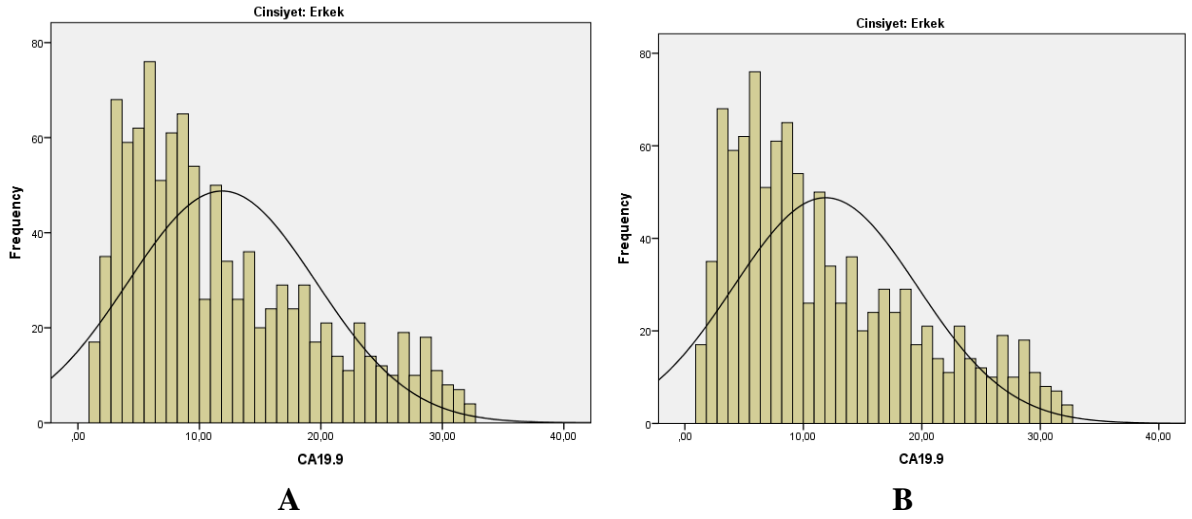
Cinsiyet	n	Referans Aralık (U/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
Erkek	1043	2,12	29,67	11,86	9,53	7,75
Kadın	2214	2,56	29,50	11,83	9,92	7,48
Genel	3257	2,46	29,50	11,84	9,82	7,57

n: veri sayısı, SD: standart sapma

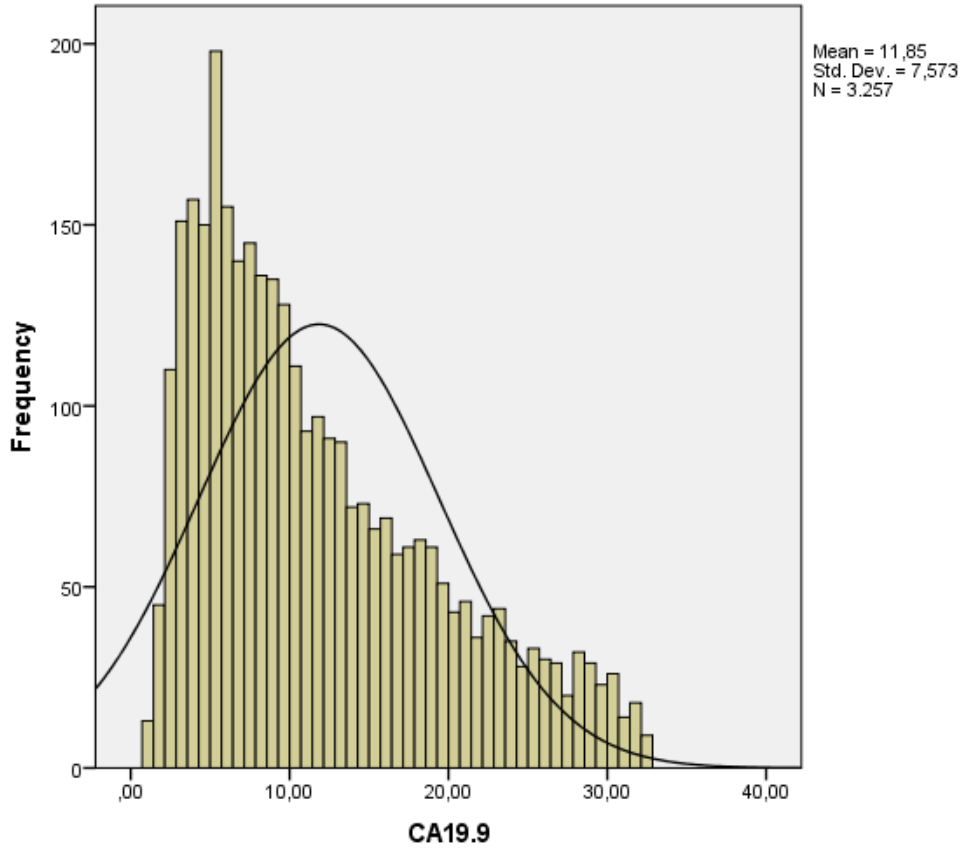
Tablo 17. CA 19.9 için yaş gruplarında cinsiyete göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri

Yaş Aralığı / Cinsiyet	n	Referans Aralık (U/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
1-40 yaş arası						
Erkek	123	1,86	26,36	9,45	7,87	6,31
Kadın	638	2,47	29,92	11,87	9,76	7,76
41-60 yaş arası						
Erkek	330	1,67	28,87	11,33	9,18	7,58
Kadın	914	2,54	28,61	11,39	9,84	7,11
60 yaş ve üstü						
Erkek	590	2,54	30,04	12,67	10,78	7,99
Kadın	662	2,57	30,13	12,39	10,30	7,68
Genel	3257	2,46	29,50	11,84	9,82	7,57

n: veri sayısı, SD: standart sapma

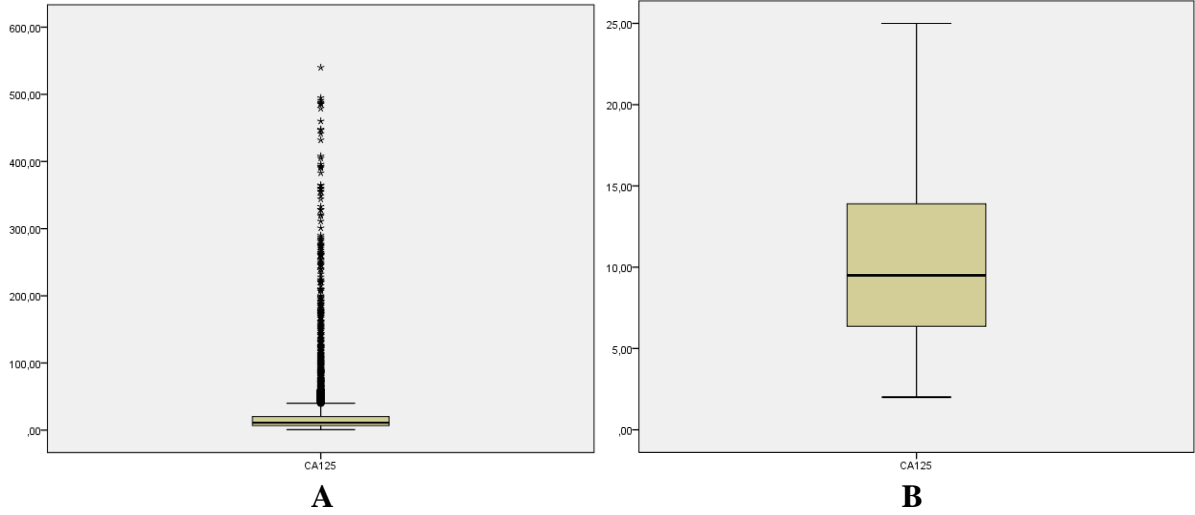


Şekil 9. CA 19.9 için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram dağılımı



Şekil 10. CA 19.9 referans aralığına ait histogram

İstatiksel analiz sırasındaki aşırı uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre (Şekil 11) CA 125 için çalışmamızın örnek referans kitlesini, 6-97 yaşları arasında 289'u erkek ve 2772'i kadın olmak üzere, toplam 3061 kişi oluşturmuştur. Çalışma gruplarına göre elde edilen referans aralıkları Tablo 18 ve Tablo 19'de gösterilmektedir.



Şekil 11. CA 125 için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).

Tablo 18. CA 125 için cinsiyete göre referans aralığı, mean, medyan ve SD değerleri

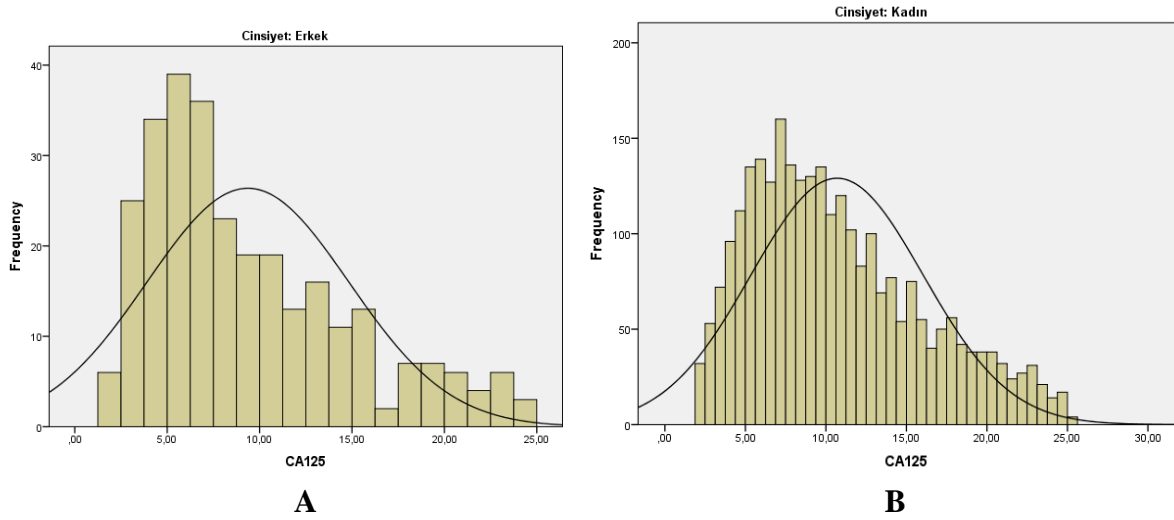
Cinsiyet	n	Referans Aralık (U/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
Erkek	289	2,53	22,70	9,36	7,60	5,46
Kadın	2772	2,97	22,76	10,68	9,60	5,35
Genel	3061	2,89	22,70	10,56	9,50	5,37

n: veri sayısı, SD: standart sapma

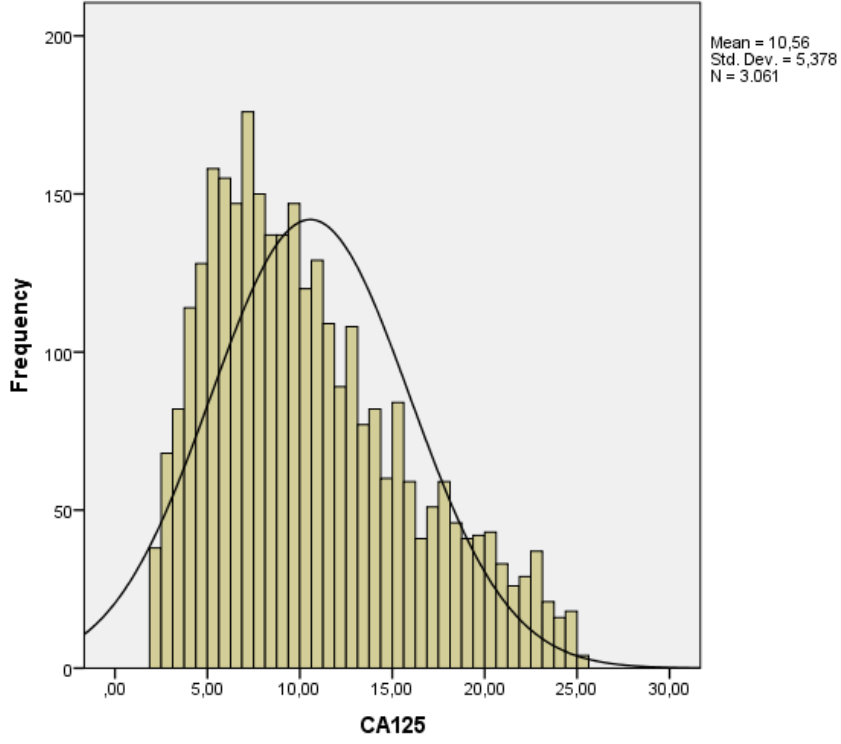
Tablo 19. CA 125 için yaş gruplarında cinsiyete göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri

Yaş Aralığı / Cinsiyet	n	Referans Aralık (U/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
1-20 yaş arası						
Erkek	4	8,00	-	12,61	9,82	6,84
Kadın	120	3,60	22,88	11,50	10,55	4,91
21-40 yaş arası						
Erkek	29	2,21	-	6,73	6,40	2,83
Kadın	993	3,19	23,43	11,41	10,50	5,41
41-60 yaş arası						
Erkek	101	2,68	22,53	9,78	9,04	5,25
Kadın	1151	2,94	22,60	10,56	9,49	5,34
60 yaş ve üstü						
Erkek	155	2,48	22,99	9,50	7,50	5,81
Kadın	508	2,59	21,82	9,36	8,08	5,07
Genel	3061	2,89	22,70	10,56	9,50	5,37

n: veri sayısı, SD: standart sapma

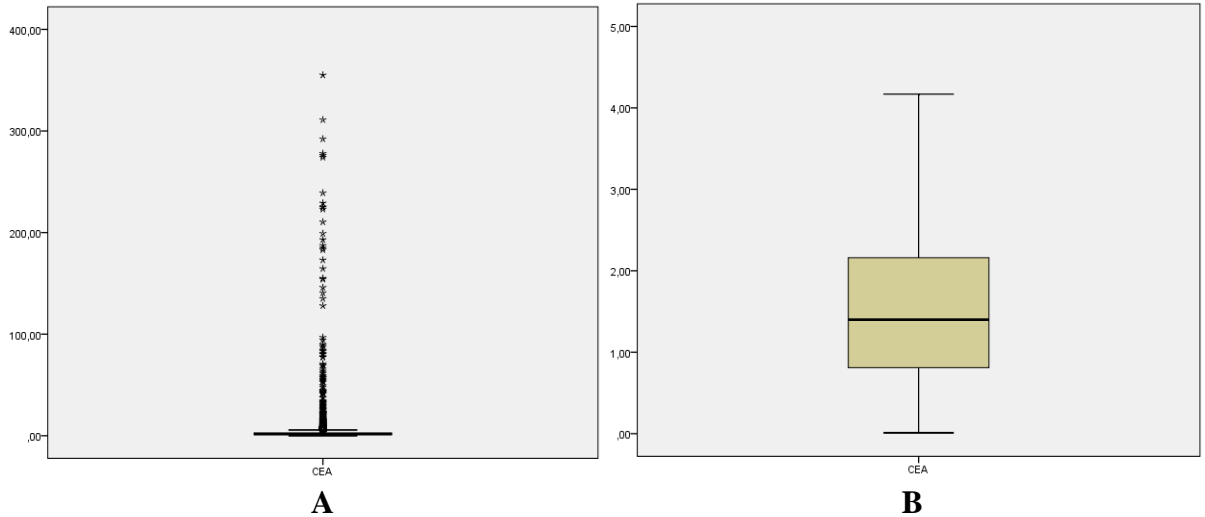


Şekil 12. CA 125 için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram dağılımı



Şekil 13. CA 125 referans aralığına ait histogram

İstatiksel analiz sırasındaki aşırı uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre (Şekil 14) CEA için çalışmamızın örnek referans kitesini, 4-97 yaşları arasında 1169'u erkek ve 2084'i kadın olmak üzere, toplam 3253 kişi oluşturmuştur. Çalışma gruplarına göre elde edilen referans aralıkları Tablo 20 ve Tablo 21'de gösterilmektedir.



Şekil 14. CEA için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).

Tablo 20. CEA için cinsiyete göre referans aralığı, mean, medyan ve SD değerleri

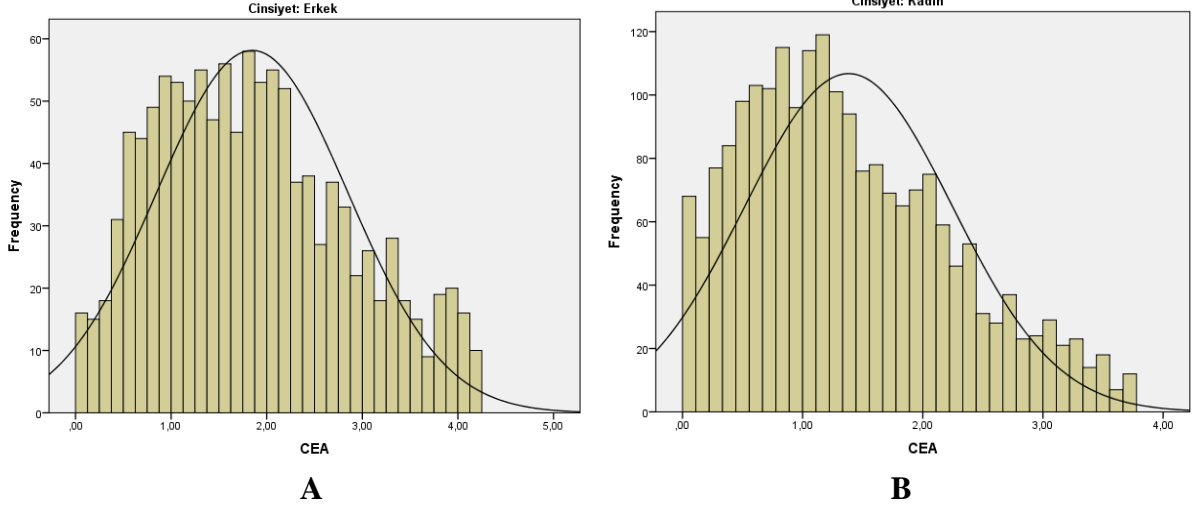
Cinsiyet	n	Referans Aralık (ng/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
Erkek	1169	0,24	3,97	1,84	1,76	1,00
Kadın	2084	0,08	3,33	1,38	1,24	0,86
Genel	3253	0,11	3,67	1,54	1,40	0,94

n: veri sayısı, SD: standart sapma

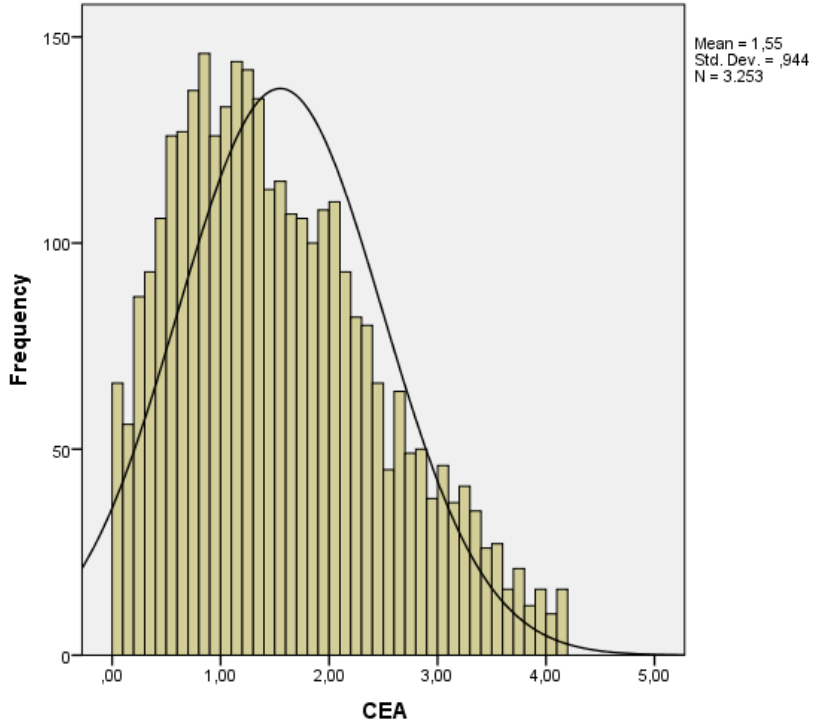
Tablo 21. CEA için yaş gruplarında cinsiyete göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri

Yaş Aralığı / Cinsiyet	n	Referans Aralık (ng/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
1-40 yaş arası						
Erkek	125	0,10	3,59	1,23	1,02	0,89
Kadın	546	0,02	2,84	1,06	0,90	0,73
41-60 yaş arası						
Erkek	366	0,21	3,97	1,78	1,66	0,98
Kadın	839	0,08	3,35	1,32	1,18	0,83
60 yaş ve üstü						
Erkek	678	0,37	4,02	1,99	1,90	0,98
Kadın	699	0,18	3,47	1,69	1,67	0,89
Genel	3253	0,11	3,67	1,54	1,40	0,94

n: veri sayısı, SD: standart sapma

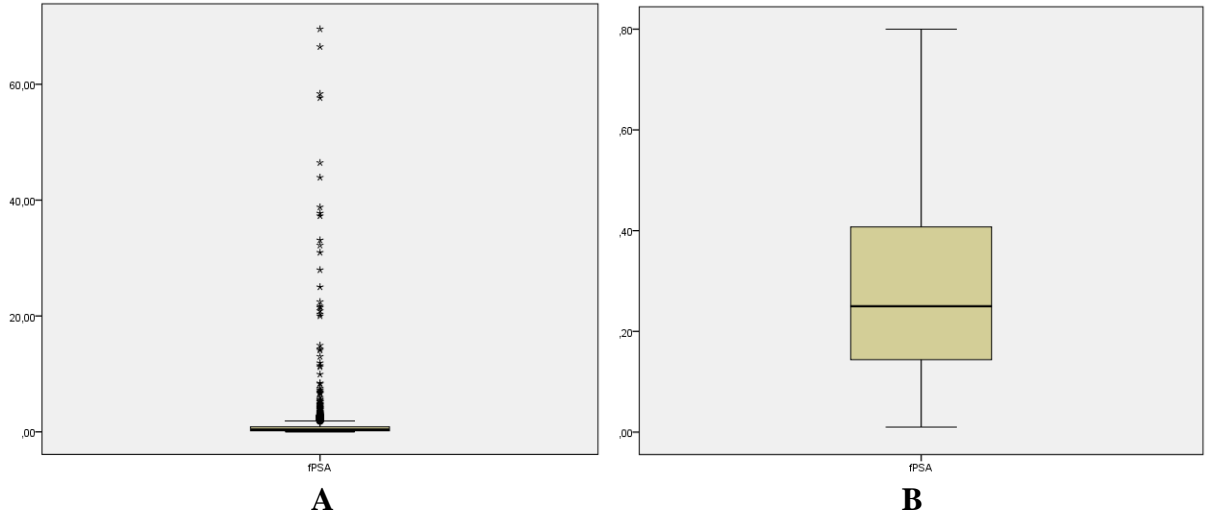


Şekil 15. CEA için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram dağılımı



Şekil 16. CEA referans aralığına ait histogram

İstatiksel analiz sırasındaki aşırı uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre (Şekil 17) fPSA için çalışmamızın örnek referans kitlesini toplam 852 kişi oluşturmuştur. Çalışma gruplarına göre elde edilen referans aralıkları Tablo 22’de gösterilmektedir.

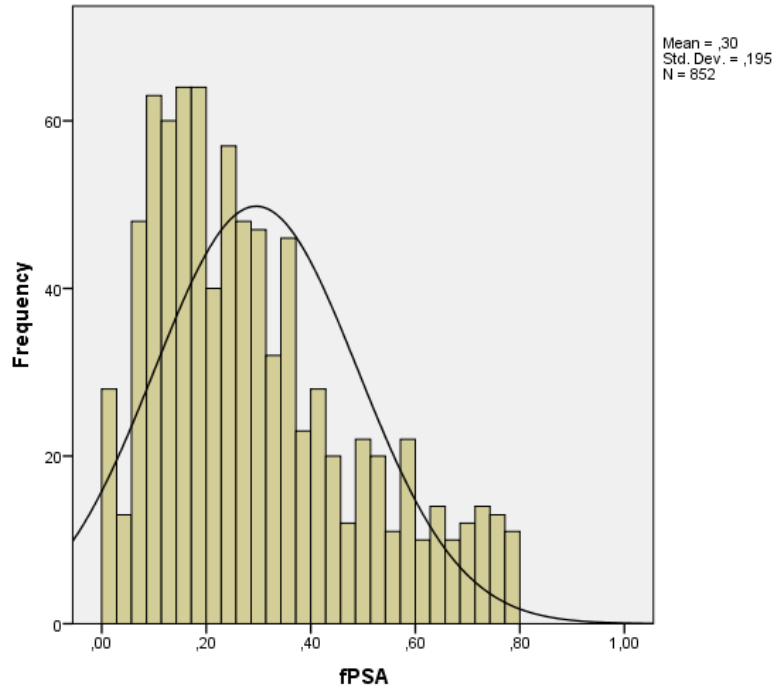


Şekil 17. fPSA için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).

Tablo 22. fPSA için yaş gruplarına göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri

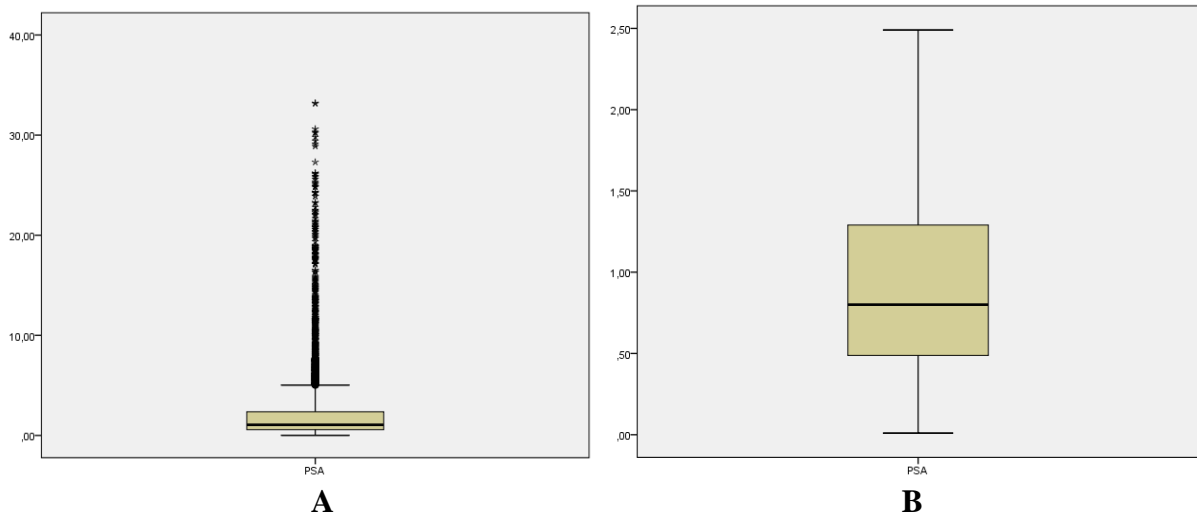
Yaş Aralığı	n	Referans Aralık (ng/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
1-40 yaş arası	50	0,01	0,70	0,21	0,20	0,16
41-60 yaş arası	246	0,03	0,72	0,25	0,22	0,16
60 yaş ve üstü	556	0,02	0,75	0,32	0,28	0,20
Genel	852	0,02	0,75	0,29	0,25	0,19

n: veri sayısı, SD: standart sapma



Şekil 18. fPSA referans aralığına ait histogram

İstatiksel analiz sırasındaki aşırı uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre (Şekil 19) PSA için çalışmamızın örnek referans kitlesini toplam 3213 kişi oluşturmuştur. Çalışma gruplarına göre elde edilen referans aralıkları Tablo 23'te gösterilmektedir.

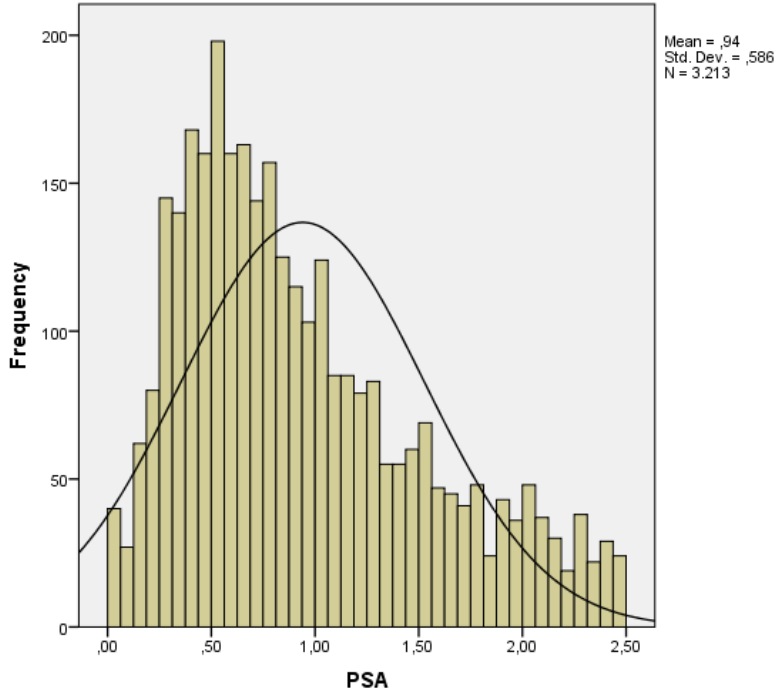


Şekil 19. PSA için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).

Tablo 23. PSA için yaş gruplarına göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri

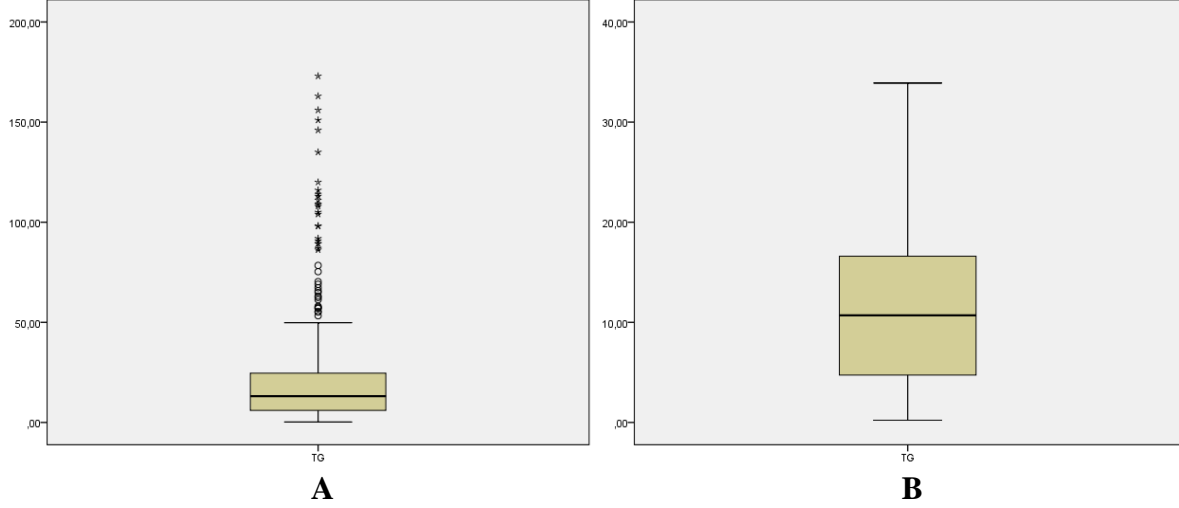
Yaş Aralığı	n	Referans Aralık (ng/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
1-40 yaş arası	164	0,02	1,87	0,59	0,51	0,41
41-60 yaş arası	1448	0,19	2,11	0,86	0,75	0,51
60 yaş ve üstü	1601	0,12	2,38	1,04	0,90	0,63
Genel	3253	0,11	3,67	1,54	1,40	0,94

n: veri sayısı, SD: standart sapma



Şekil 20. PSA referans aralığına ait histogram

İstatiksel analiz sırasındaki aşırı uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre (Şekil 21) TG için çalışmamızın örnek referans kitlesini, 1-83 yaşları arasında 57’u erkek ve 276’i kadın olmak üzere, toplam 333 kişi oluşturmuştur. Çalışma gruplarına göre elde edilen referans aralıkları Tablo 24 ve Tablo 25’te gösterilmektedir.



Şekil 21. TG için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).

Tablo 24. TG için cinsiyete göre referans aralığı, mean, medyan ve SD değerleri

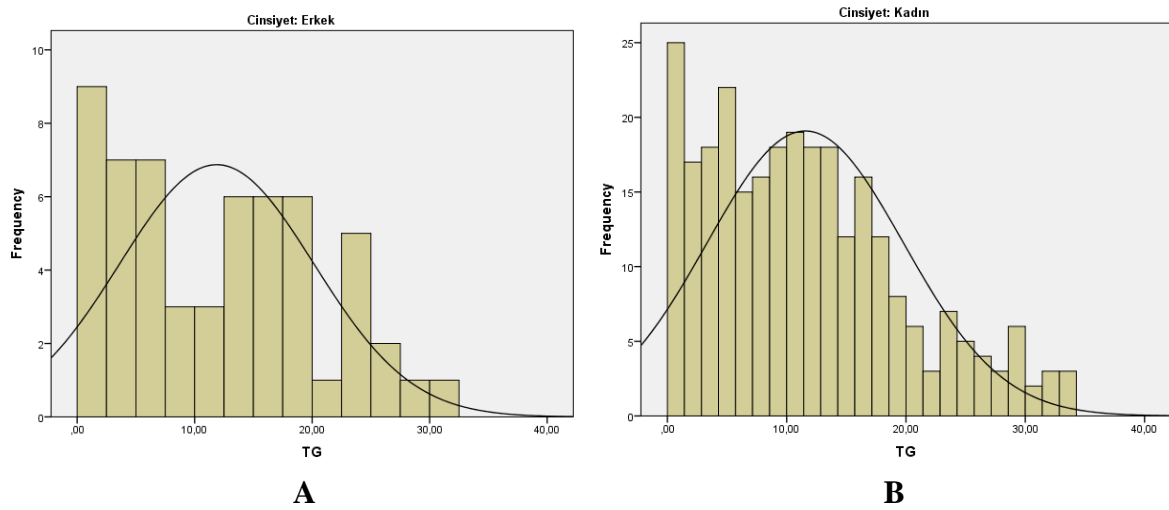
Cinsiyet	n	Referans Aralık (ng/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
Erkek	57	0,35	29,14	11,87	11,90	8,27
Kadın	276	0,33	31,43	11,55	10,40	8,24
Genel	333	0,34	30,13	11,60	10,70	8,23

n: veri sayısı, SD: standart sapma

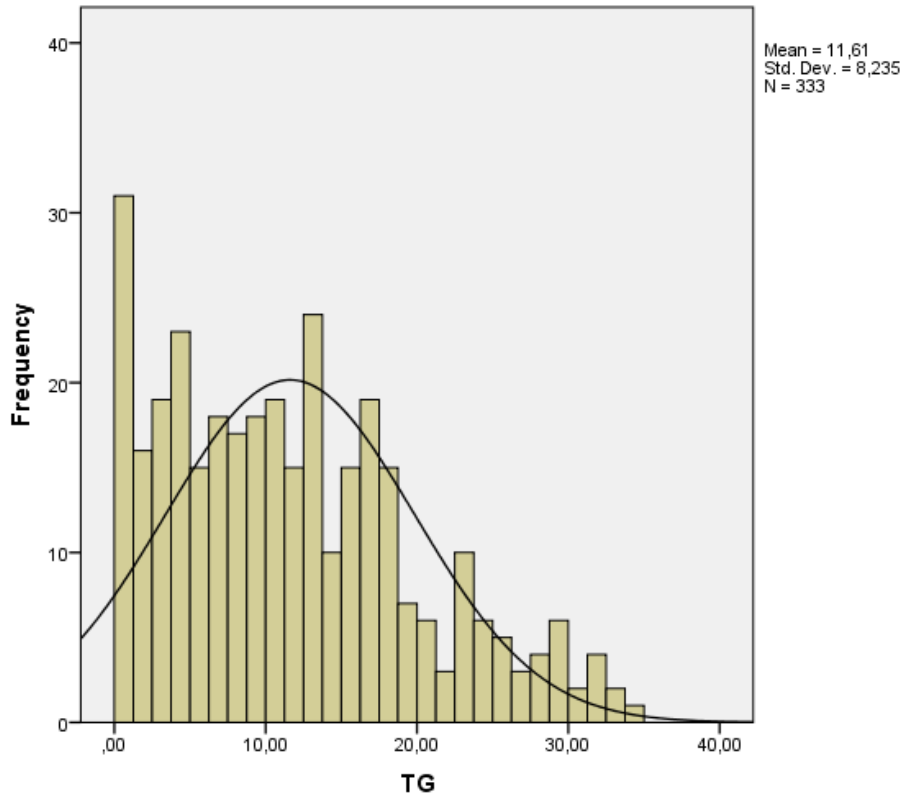
Tablo 25. TG için yaş gruplarında cinsiyete göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri

Yaş Aralığı / Cinsiyet	n	Referans Aralık (ng/mL)		Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit			
1-40 yaş arası						
Erkek	23	0,35	-	13,58	14,30	8,14
Kadın	181	0,46	29,33	12,18	11,50	7,47
41-60 yaş arası						
Erkek	19	0,78	-	10,68	7,51	8,28
Kadın	80	0,31	33,05	10,00	7,93	9,13
60 yaş ve üstü						
Erkek	15	0,35	-	11,81	11,30	7,44
Kadın	15	0,26	-	12,23	9,50	11,24
Genel	333	0,34	30,13	11,60	10,70	8,23

n: veri sayısı, SD: standart sapma



Şekil 22. TG için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram dağılımı



Şekil 23. TG referans aralığına ait histogram

Tablo 26. Tüm parametreler için bulunan referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri

Parametre	n	Referans Aralık		Birim	Mean	Medyan	SD
		Alt Limit	Üst Limit				
AFP	4509	0,52	3,76	IU/ml	1,82	1,68	0,84
CA 15.3	2695	5,00	37,60	U/ml	18,28	17,40	8,51
CA 19.9	3257	2,46	29,50	U/ml	11,84	9,82	7,57
CA 125	3061	2,89	22,70	U/ml	10,56	9,50	5,37
CEA	3270	0,11	3,75	ng/ml	1,56	1,40	0,96
fPSA	852	0,02	0,75	ng/ml	0,29	0,25	0,19
PSA	3213	0,14	2,31	ng/ml	0,94	0,80	0,58
TG	333	0,34	30,13	ng/ml	11,60	10,70	8,23

n: veri sayısı, SD: standart sapma

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, tüm testler genelinde hesaplamış olduğumuz indirekt referans aralıkları firma tarafından sunulmuş aralıkların (Tablo 11) aksine daha dar aralıklar içermektedir.

Çalışmamızda AFP referans aralıklarına ait alt sınır 0,52 IU/mL, üst sınır ise 3,76 IU/mL bulunmuştur. Hastanemizde mevcut kullanılan referans aralıklarına göre bulduğumuz referans aralıklarının daha dar olduğu görülmektedir.

Tümör belirteçlerinin referans aralıkları, cut-off değerlerini belirleme ile ilgili dünyanın farklı bölgelerinde birçok çalışma yapılmıştır. Qin ve arkadaşları Çin’de belirli bir bölgeye ait erkek bireylerde serum AFP referans aralıklarını belirlemişlerdir. Çalışmaya 1400 sağlıklı erkek dahil edilmiş olup AFP’e ait referans aralığının üst limitini 4,76 IU/mL olarak belirlemişlerdir. Bu değer, bizim belirlemiş olduğumuz üst sınırdan daha düşük bir değerdir (97). Bjerner ve arkadaşlarının Norveç’te 498 sağlıklı bireyde yaşa göre AFP referans değerlerini belirlemişlerdir. Buna göre üst limitin 20’li yaşlarda 3,82 IU/mL ve 60’lı yaşlarda 8,70 IU/mL olduğu tespit edilmiştir (98). Bizim bulgularımız Bjerner ve arkadaşlarının elde ettiği sonuçlara göre 20’li yaşlardaki üst limite göre daha yüksek, 60’lı yaşlardaki üst limite göre ise daha düşüktür.

Çalışmamızda CA 15.3 referans aralıklarına ait değerler 5,0 - 37,6 U/mL olarak bulunmuştur. Kullanılmakta olan referans aralıklarına göre alt sınır ve üst sınır daha düşük bulunmuştur. Ri ve arkadaşları Japonya’da CA 15.3’ün belirlenen diğer tümör belirteçleriyle korelasyonlarını incelemişlerdir. Çalışma için 460 gönüllüye ait serum test sonuçları incelenmiştir. Sonuç olarak CA 15.3 için erkeklere ait referans aralığını 2,4 - 32,1 U/mL, kadınlara ait referans aralığını ise 0,7 – 25,0 U/mL olarak belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızdaki referans aralığına ait alt ve üst sınırlarımız Ri ve arkadaşlarının iki cinsiyet içinde bulunduğu alt ve üst sınırların üzerindedir (99). Bjerner ve arkadaşlarının çalışmasına göre CA 15.3’ün yaşla arttığı ve üst referans limitinin 40’lı yaşlarda 31,7 U/mL ve 70’li yaşlarda 37,5 U/mL olduğu bulunmuştur (98). Bizim belirlediğimiz referans aralığı ise Bjerner ve arkadaşlarının belirlediği 40 ve 70 yaşlardaki üst limitin her ikisine göre daha yüksek belirlenmiştir.

Çalışmamızda elde edilen CEA ve CA 19.9 sonuçlarının Woo ve arkadaşlarının belirlediği referans aralıklarına göre daha dar bir aralıkta olduğu bulunmuştur. Woo ve

arkadaşları Kore’de yetişkinlerde 7 tane tümör belirteci için referans aralığı belirlemişlerdir. 20-60 yaş grubu 1364 sağlıklı erişkinde yaptığı çalışmada CEA, CA 19.9 ve CA 125 referans aralıklarının yaşla artış gösterdiği, CEA değerlerinin sigara içme ile arttığı gösterilmiştir. Referans aralıkları CEA için 0,00-4.51 ng/mL, CA 19.9 için 0.60-30.61 U/mL olarak bulunmuştur (100). Qin ve arkadaşlarının CEA için belirledikleri referans aralığına göre üst sınır 5,57 ng/ml’dir (97). Bizim belirlediğimiz referans aralığına göre ise üst sınırimız Qin ve arkadaşlarınınkinden daha düşük tespit edilmiştir. Bjerner ve arkadaşlarının çalışmasına göre CEA konsantrasyonunun yaşla arttığı ve üst limitin 50’li yaşlarda 3,59 ng/mL ve 70’li yaşlarda 4,12 ng/mL olduğu belirlenmiştir. CA 19.9 için üst referans limit 28,3 U/mL bulunmuştur (98). Çalışmamızda CEA ve CA 19.9 üst limitlerinin Bjerner ve arkadaşlarının bulduğu sonuçlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Behbehani ve arkadaşlarının Kuveyt’te 232 sağlıklı bireyde yaptığı çalışmada CEA referans düzeyleri erkeklerde kadınlara göre daha yüksek bulunmuştur. Tüm grupta CEA referans üst sınırı 4,4 ng/mL, CA 19.9 referans üst sınırı 35 U/mL bulunmuştur. Sigara içenlerde içmeyenlere göre daha yüksek bir referans düzeyi bulunmuştur (101). Bizim çalışmamıza ait referans aralıkları ise Behbehani ve arkadaşlarına göre incelendiğinde, CEA üst sınırimız daha yüksek iken, CA 19.9 üst sınırimız daha düşük elde edilmiştir.

Belirlemiş olduğumuz CA 125 referans aralığının alt ve üst sınırları Barcelo ve arkadaşlarının belirlediği referans aralığına (102) göre farklılık göstermektedir. Barcelo ve arkadaşları 3,0 – 25,00 U/mL olarak belirlediği aralığa göre bizim alt ve üst sınırimız daha düşük bulunmuştur. Woo ve arkadaşlarının (100) CA 125’e ait belirlediği referans aralık 6.39-43.20 U/mL olarak belirlenmiş olup bizim belirlediğimiz referans aralığı Woo ve arkadaşlarının çalışmasıyla kıyaslandığında daha düşük değerlere sahip olduğu görülmektedir. Bjerner ve arkadaşlarının CA 125 için belirlediği konsantrasyonların yaşa bağlı artış gösterdiği ve üst referans limitinin 35,8 U/mL olduğu bulunmuştur (98). Biz çalışmamızda ise CA 125 için üst limiti 22,70 U/mL olarak belirledik ve bizim üst limitimiz Bjerner ve arkadaşlarının belirlediği üst limite daha düşük olduğu görülmektedir.

fPSA ve PSA tümör belirteçlerine ait referans aralıklarını belirlemek için uluslararası birçok çalışma mevcuttur. Liu ve arkadaşları Çin’de prostat kanserli olmayan erkeklerde PSA referans aralığı belirlemişlerdir. Çalışmaya 9374 yetişkin erkek dahil edilmiş olup 40-49 yaş grubu için PSA üst limitini 2,15 ng/ml, 50-59 yaş grubu için 3,20 ng/ml, 60-69 yaş grubu için 4,10 ng/ml, 70-79 yaş grubu için ise 5,37 ng/ml olarak belirlemişlerdir (103). Bizim çalışmamızda ise elde ettiğimiz üst sınır değeri Liu ve arkadaşlarının 40-49 yaş grubuna ait

üst sınır haricindeki tüm gruplarda daha düşük bulunmuştur. Gelpi-Mendez ve arkadaşları İspanyada 63926 kişilik işçi grubunda yaptıkları çalışmada PSA için üst sınırları belirlemiştir. Üst sınırları, 40 yaş altındaki bireyler için 1,40 ng/ml, 40-49 yaş grubundaki bireyler için 1,70 ng/ml, 50-59 yaş grubundaki bireyler için 3,30 ng/ml ve 60-64 yaş grubundaki bireyler için 5,18 ng/ml olarak belirlemiştir (104). Çalışmamızdaki üst sınırimız, Gelpi-Mendez ve arkadaşlarının çalışmasındaki 40 yaş altındaki ve 40-49 yaş grubundaki üst sınırlardan daha yüksekken, diğer iki yaş grubundan ise daha düşük belirlenmiştir. Kalish ve McKinlay, prostat kanseri olmayan erkeklerde yaşa bağlı PSA ve fPSA'e ait referans aralıklarını belirlemiştir. Çalışmaya göre PSA için üst sınırlar 50-59 yaş grubu için 2,84 ng/ml, 60-69 yaş grubu için 5,87 ng/ml, 70-79 yaş grubu için 9,03 ng/ml olarak bulunmuştur. fPSA için ise üst sınırlar 50-59 yaş grubu için 0,61 ng/ml, 60-69 yaş grubu için 1,33 ng/ml, 70-79 yaş grubu için 1,75 ng/ml olarak belirlenmiştir (105). Çalışmamız, Kalish ve Mckinlay'ın çalışmasıyla kıyaslandığında belirlediğimiz PSA üst sınırı daha düşük bulunmuştur. fPSA için belirlediğimiz üst sınır ise 50-59 yaş grubu haricindeki yaş gruplarından daha düşük belirlenmiştir. Oesterling ve arkadaşları ise fPSA için üst sınırları, 40-49 yaş grubu için 0,5 ng/ml, 50-59 yaş grubu için 0,7 ng/ml, 60-69 yaş grubu için 1,0 ng/ml, 70-79 yaş grubu için 1,2 ng/ml olarak belirlemiştir (106). Oesterling ve arkadaşlarının 40-49 ve 50-59 yaş grupları için belirledikleri üst sınırlar bizim çalışmamıza ait üst sınırdan daha düşükken, 60-69 ve 70-79 yaş grubuna ait üst sınırlar daha yüksek bulunmuştur.

TG için bulunan referans aralığına ait alt sınırimız 0,34 ng/mL, üst sınırimız ise 30,13 ng/mL olarak bulunmuştur ve hastanemizdeki referans aralıklarından daha düşük değerler elde edilmiştir. Giovanella ve arkadaşları sağlıklı bireylerde serum tiroglobulin referans aralıklarını araştırmışlardır. Çalışmaya 438 sigara içmeyen (209 erkek, 229 hamile olmayan kadın) birey dahil edilmiştir. Çalışmaya göre erkekler için referans aralığı 1,40 – 29,2 ng/mL iken, kadınlar için ise referans aralığı 1,50 – 38,5 ng/mL olarak tespit edilmiştir. Her iki cinsiyete ait alt sınırlar bizim çalışmamızda elde ettiğimiz alt sınıra göre yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda bulduğumuz üst sınır ise Giovanella ve arkadaşlarının tespit ettiği erkekler için üst sınırdan yüksekken, kadınlar için belirlenen üst sınırdan daha düşük belirlenmiştir (107). Nakamura ve arkadaşları Japonya'da sağlıklı bireylerde tiroglobulin konsantrasyonlarında yaş ve cinsiyete bağımlı farkın olup olmadığını araştırmıştır. Çalışmaya göre 53 sağlıklı erkeğe ait tiroglobulin aralığı 1,0 – 25,9 ng/ml, kadınlara ait aralık ise 1,0 – 27,7 ng/ml olarak bulunmuştur (108). Çalışmamızda referans aralığımızın alt sınırı Nakamura ve

arkadaşlarınınkine göre daha düşükken, üst sınır daha yüksek belirlenmiştir. Feldt-Rasmussen ve arkadaşları ise kadın ve erkeklerde 40 yaşa kadar ve 40 yaş üzeri olmak üzere farklı gruplarda tiroglobulin için referans aralıkları belirlemişlerdir (109). Erkeklerde 40 yaşa kadar bireylerde üst limit 36 ng/mL, 40 yaş üzeri için 44 ng/mL iken kadınlarda 40 yaşa kadar bireylerde üst limit 30 ng/mL, 40 yaş üzeri için ise 60 ng/mL olarak bulunmuştur. Bizim belirlediğimiz referans aralıklarımız, Feldt-Rasmussen ve arkadaşlarının belirttiği kadın ve 40 yaşa kadar olan alt grup dışındaki tüm üst limitlere göre daha düşüktür.

Bir tümör belirteci için üst sınır değerinin düşük olması testin taranan hastalığın tanısı için duyarlılığını artırırken, özgüllüğünü azaltır. Örnek olarak CA 19.9 sonucu 35 U/mL olarak bulunan bir hasta için bizim referans değerlerimize göre safra kesesi ve safra yolları malignitesi açısından ileri araştırma yapmak gereklidir. İleri araştırma sonucunda malignite veya safra yollarına ait enfeksiyon gibi patolojiler bulunabilir. Malignite bulunduğu takdirde CA 19.9 testi oldukça duyarlı olarak değerlendirilecektir. Kolesistit bulunması halinde bu test yine duyarlı olmakla beraber özgüllüğü düşük olarak değerlendirilecektir. Buna karşılık üretici firmanın referans değerleri esas alındığında bu hasta için 35 U/mL değeri normal sınırlarda kabul edilecek ve ileri araştırmaya gerek kalmayacaktır. İlerleyen zamanlarda hastada safra yollarına ait malignite geliştiği takdirde CA 19.9 testi duyarlılığı düşük olarak değerlendirilecektir.

Yukarıda tartışılan durum bu çalışmada söz konusu olan bütün parametreler için geçerlidir. Tarama testleri için üst sınırların düşük tutulması duyarlılığını artırıp kaçırılmış malignite tanısını azaltacaktır. Bununla beraber özgüllüğünü bir miktar düşürebilir. Yine de kaçırılmış malignite tanısı özgüllüğün düşük olmasının yanında istenmeyen bir durumdur. Tarama testleri için referans aralıklarının bölgesel, etnik, yaş ve cinsiyet gibi etkenler göz önüne alınarak belirlenmesi tarama testinin etkinliğini artıracaktır.

Teşhis, tedavi, izlem ve yatış-çıkış gibi kritik aşamaların çoğunda, klinik laboratuvarlarda ölçülen bu test sonuçlarını yorumlayarak karara varmaktadırlar. Klinisyenler test sonuçlarını yorumlarken ilk yararlandıkları kaynak referans aralıklarıdır. Bu değerlerin hekimin kararını etkilemesinin yanında, buna bağlı olarak hastanın yaşamında olumsuzluklara neden olabilecek etkilere sahiptirler. Bu sebeple referans aralıklarının, klinik laboratuvarların hizmet sunduğu popülasyonu temsil etmesi gerekmektedir.

Referans aralıklarında değişikliklere neden olabilen, kullanılan metoda bağımlı ve bağımsız pek çok neden vardır (110,111). Yaşanılan bölge, yaş, cinsiyet, beslenme

alışkanlıkları, test ölçümünde kullanılan metot ve ilişkili birçok faktör referans değerlerini etkilemektedir. Bu nedenlerle referans aralık çalışmaları bölgesel olarak hatta mümkünse her laboratuvar tarafından yapılmalıdır. Bu referans aralıkları çoğunlukla metodolojik ya da etnik köken farklılıkları barındırmaktadır (112). Bu nedenlerle IFCC her laboratuvarın kendi referans değerlerini üretmesi gerektiğini belirtmektedir (113).

Günümüzde bazı laboratuvarlar kendi referans aralıklarını oluşturmak yerine literatürde belirtilen veya firmaların sağladıkları kitlerde verilen referans aralıklarını kullanmaktadır. Bu çalışmalarda seçilen referans bireyler genellikle kit üreticisi firmanın yer aldığı ülkelerdeki popülasyondan seçilmektedir.

Referans toplumu en iyi şekilde temsil eden referans bireylerin seçiminde direkt ve indirekt yöntem kullanılmaktadır. Direkt yöntem, bireylerin ana toplumundan tanımlanmış kriterlere göre seçimidir ve bu yöntemde, belirlenmiş kriterlere göre hazırlanan anket formları doldurulup, dikkat edilmesi gereken ve ölçüm sonucunu etkileyebileceği düşünülen durumları engellemeye yönelik hazırlık döneminin ardından örnek alımı gerçekleştirilir. IFCC, indirekt yöntem ile elde edilen sonuçların yaklaşık sonuçlar olduğunu belirtmiş ve örneklemenin direkt olarak gerçekleştirilmesini tavsiye etmektedir (114).

Sonuç olarak yapmış olduğumuz çalışma ile hastanemize ait 6 adet tümör belirteci testleri için referans aralıkları saptandı. Elde ettiğimiz veriler ile kullanmış olduğumuz referans değerlerin uyumluluğunun değerlendirilme imkânı bulundu. Referans değerlerin belirlenmesi ve referans aralıklarının ortaya konmasının klinik biyokimyadaki önemi düşünüldüğünde, üretici firmaların bize önerdiği referans aralıkları bizim toplumumuzun değerleriyle tam olarak örtüşmemektedir. Bu nedenle her laboratuvarın kendi popülasyon değerlerini belirlemesinin ve laboratuvarlar arasında iletişimin sağlanarak bölgesel farklılıkların, eğilimlerin ortaya konmasıyla daha verimli bir sağlık politikasının oluşturulabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Tıbbi laboratuvarlarda elde edilen test sonuçlarının karar verme sürecinde kullanılabilmesi için her testin referans aralıklarının bilinmesi gerekir.
2. Referans aralık değerleri coğrafi bölge, ırk, cinsiyet, yaş ve beslenme alışkanlıkları gibi faktörlere bağlı olarak değişir. Bu yüzden, her laboratuvar kendi referans aralık değerlerini belirlemelidir.
3. Referans aralık çalışmaları zahmetli, pahalı, uzun bir zaman ve emek isteyen çalışmalar olması nedeniyle her klinik laboratuvar tarafından yapılamamaktadır. Ancak yapılması sonucunda elde edilen referans aralıklarının yanında, popülasyonun demografik ve sosyo ekonomik verileri hakkında bilgiler sağlanması bu çalışmaları çok değerli kılmaktadır.
4. Bugün ülkemizde yapılan ulusal referans aralık çalışması ve yapılacak olan benzer bölgesel çalışmalar referans değerlerin rutin kullanıma girmesine olanak sağlayacaktır.
5. Üretici firmanın önerdiği referans aralıkları bizim toplumumuzun değerlerini tam olarak yansıtmadığı görülmüştür. Her bölgenin kendi referans aralıklarını belirlemesi ve laboratuvarlar arasında bilgisayar informasyon sistemi kurularak bölgesel farklılıkların ortaya konmasıyla daha verimli bir ulusal sağlık politikası sunulabileceği düşünülmektedir.

7. REFERANSLAR

1. Solberg HE. Establishment and Use of Reference Values. Ed: Burtis CA, Ashwood ER, Tietz Textbook Of Clinical Chemistry. 3th Edition, pp. 336-356, Philadelphia: Saunders, 1999.
2. Jang JH, Seo JY, Bang SH, Park IA, Kim HJ, Kim SH. Establishment of reference intervals for von Willebrand factor antigen and eight coagulation factors in a Korean population following the Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2010; 21:251-255.
3. İlçöl YÖ, Aslan D. Bursa İlinde Sağlıklı Bireylerde Kan Biyokimyası Profili Referans Aralıklarının Saptanması. *Türk Biyokimya Dergisi* 2004; 29(2): 183-92.
4. Solberg HE. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values, and International Committee for Standardization in Haematology (ICSH), Standing Committee on Reference Values. Approved Recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25:337-342.
5. Zierk J, Arzideh F, Haeckel R, Rascher W, Rauh M, Metzler M. Indirect determination of pediatric blood count reference intervals. *Clin Chem Lab Med* 2013; 51:863-872.
6. Diamandis EP, Fritche HA, Lilja H, Chan DW, Schwartz MK. *Tumor Markers: Physiology, Pathobiology, Technology and Clinical Applications*. AACC Press, Washington, DC, USA, 2002.
7. Sturgeon CM, Lai LC, Duffy MJ. Serum tumour markers: how to order and interpret them. *BMJ* 2009; 339: 3527.
8. Diamandis EP. Tumor markers: Past, Present and Future. In *Tumor Markers: Physiology, Pathobiology, Technology and Clinical Applications*. AACC Press, Washington DC: 3 -8, 2002.
9. Gold P, Freedman SO. Demonstration of Tumor-Specific Antigens in Human Colonic Carcinomata by Immunological Tolerance and Absorption Techniques. *J Exp Med* 1965; 121:439-462.
10. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144:646-674.
11. Dailey UG. Cancer, Facts and Figures about. *J Natl Med Assoc* 1922; 14:7-9.
12. Burtis CA, Bruns DE. *Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics*. Ed: Sokoll LJ, Rai AJ, Chan DW, *Tumor markers and cancer genes*. 7th Edition, pp. 337-363, Elsevier/Saunders, USA, 2015.
13. Perkins GL, Slater ED, Sanders GK, Prichard JG. Serum tumor markers. *Am Fam Physician* 2003; 68:1075-1082.
14. Pollen JJ, Dreilinger A. Immunohistochemical identification of prostatic acid phosphatase and prostate specific antigen in female periurethral glands. *Urology* 1984; 23:303-304.
15. Catalona WJ, Ramos CG, Carvalhal GF, Yan Y. Lowering PSA cutoffs to enhance detection of curable prostate cancer. *Urology* 2000; 55:791-795.
16. Pentylala SN, Lee J, Hsieh K, Waltzer WC, Trocchia A, Musacchia L ve ark. Prostate cancer: a comprehensive review. *Med Oncol* 2000; 17:85-105.
17. Tanagho EA. *Anatomy of the genitourinary tract*. Ed: Tanagho TA, McAninch JE: *Smith's General Urology*, 14. Edition, Nonvalk, Appleton & Lange, 1995.
18. Benson MC, Olsson CA. Prostate specific antigen and prostate specific antigen density. Roles in patient evaluation and management. *Cancer* 1994; 74:1667-1673.

19. Seaman E, Whang M, Olsson CA, Katz A, Cooner WH, Benson MC. PSA density (PSAD). Role in patient evaluation and management. *Urol Clin North Am* 1993; 20:653-663.
20. Catalona WJ, Richie JP, deKernion JB, Ahmann FR, Ratliff TL, Dalkin BL ve ark. Comparison of prostate specific antigen concentration versus prostate specific antigen density in the early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves. *J Urol* 1994; 152:2031-2036.
21. Holtgrewe HL, Valk WL. Factors influencing the mortality and morbidity of transurethral prostatectomy: a study of 2,015 cases. *J Urol* 1962; 87:450-459.
22. Kalish J, Cooner WH, Graham SD, Jr. Serum PSA adjusted for volume of transition zone (PSAT) is more accurate than PSA adjusted for total gland volume (PSAD) in detecting adenocarcinoma of the prostate. *Urology* 1994; 43:601-606.
23. Carter HB, Pearson JD. Prostate-specific antigen velocity and repeated measures of prostate-specific antigen. *Urol Clin North Am* 1997; 24:333-338.
24. Carter HB, Pearson JD, Metter EJ, Brant LJ, Chan DW, Andres R ve ark. Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without prostate disease. *JAMA* 1992; 267:2215-2220.
25. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, Brawer MK, Flanigan RC, Patel A ve ark. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *JAMA* 1998; 279:1542-1547.
26. Sato Y, Nakata K, Kato Y, Shima M, Ishii N, Koji T ve ark. Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profiles of alpha-fetoprotein. *N Engl J Med* 1993; 328:1802-1806.
27. Hammarstrom S. The carcinoembryonic antigen (CEA) family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. *Semin Cancer Biol* 1999; 9:67-81.
28. Fletcher RH. Carcinoembryonic antigen. *Ann Intern Med* 1986; 104:66-73.
29. Johnson PJ. The role of serum alpha-fetoprotein estimation in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis* 2001; 5:145-159.
30. Duffy MJ. Carcinoembryonic antigen as a marker for colorectal cancer: is it clinically useful? *Clin Chem* 2001; 47:624-630.
31. Filella X, Molina R, Pique JM, Grau JJ, Garcia-Valdecasas JC, Biete A ve ark. CEA as a prognostic factor in colorectal cancer. *Anticancer Res* 1994; 14:705-708.
32. Ohkura H. [Clinical usefulness of circulating tumor markers]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2004; 31:1131-1134.
33. Sari R, Yildirim B, Sevinc A, Bahceci F, Hilmioglu F. The importance of serum and ascites fluid alpha-fetoprotein, carcinoembryonic antigen, CA 19-9, and CA 15-3 levels in differential diagnosis of ascites etiology. *Hepatogastroenterology* 2001; 48:1616-1621.
34. Halme L, Karkkainen P, Isoniemi H, Makisalo H, von Bogulawski K, Hockerstedt K. Carbohydrate 19-9 antigen as a marker of non-malignant hepatocytic ductular transformation in patients with acute liver failure. A comparison with alpha-fetoprotein and carcinoembryonic antigen. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34:426-431.
35. Cheung KL, Graves CR, Robertson JF. Tumour marker measurements in the diagnosis and monitoring of breast cancer. *Cancer Treat Rev* 2000; 26:91-102.
36. Hayes DF, Henderson IC, Shapiro CL. Treatment of metastatic breast cancer: present and future prospects. *Semin Oncol* 1995; 22:5-19; discussion 19-21.
37. Hayes DF, Bast RC, Desch CE, Fritsche H, Jr., Kemeny NE, Jessup JM ve ark. Tumor marker utility grading system: a framework to evaluate clinical utility of tumor markers. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88:1456-1466.

38. Tondini C, Hayes DF, Gelman R, Henderson IC, Kufe DW. Comparison of CA15-3 and carcinoembryonic antigen in monitoring the clinical course of patients with metastatic breast cancer. *Cancer Res* 1988; 48:4107-4112.
39. Bonfrer JMG, Duffy MJ, Radtke M, Segurado O, Torre GC, van Dalen A. Tumour markers in gynaecological cancers--EGTM recommendations. European Group on Tumor Markers. *Anticancer Res* 1999; 19:2807-2810.
40. Price FV, Chambers SK, Carcangiu ML, Kohorn EI, Schwartz PE, Chambers JT. CA 125 may not reflect disease status in patients with uterine serous carcinoma. *Cancer* 1998; 82:1720-1725.
41. Abrams RA, Grochow LB, Chakravarthy A, Sohn TA, Zahurak ML, Haulk TL ve ark. Intensified adjuvant therapy for pancreatic and periampullary adenocarcinoma: survival results and observations regarding patterns of failure, radiotherapy dose and CA19-9 levels. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999; 44:1039-1046.
42. Chan DW, Stewart S. Tumor Markers. Ed: Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. 5nd Edition, pp. 403, Saunders Company, New York, USA, 2005.
43. Szymendera JJ. Clinical usefulness of three monoclonal antibody-defined tumor markers: CA 19-9, CA 50, and CA 125. *Tumour Biol* 1986; 7:333-342.
44. Motoyama T, Watanabe H, Takeuchi S, Watanabe T, Gotoh S, Okazaki E. Cancer antigen 125, carcinoembryonic antigen, and carbohydrate determinant 19-9 in ovarian tumors. *Cancer* 1990; 66:2628-2635.
45. Meguro E, Kimura T, Noda Y, Matsumoto Y, Irinoda T, Hayakawa Y ve ark. [A case of advanced gastric cancer successfully treated with TS-1/CDDP combination chemotherapy, able to maintain CR for more than two years against multiple liver metastases]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2007; 34:249-252.
46. Takahashi T, Fujisaki M, Hirahata S, Maeda D, Tokura H, Ohyama T ve ark. [A case of advanced gastric cancer with multiple liver metastases successfully treated with TS-1/low-dose CDDP/lentinan combination chemotherapy]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2006; 33:2061-2063.
47. Mizutani S, Oyama T, Hatanaka N, Uchikoshi F, Yoshidome K, Tori M ve ark. Unresectable gastric cancer with multiple liver metastases effectively treated with combined paclitaxel and doxifluridine chemotherapy. *Int J Clin Oncol* 2006; 11:471-474.
48. Jiang J, Xu N, Wu C, Deng H, Lu M, Li M ve ark. Treatment of advanced gastric cancer by chemotherapy combined with autologous cytokine-induced killer cells. *Anticancer Res* 2006; 26:2237-2242.
49. Mıstık İ, Balık İ. Türkiyede Viral Hepatitlerin Epidemiyolojik Analizi. Ed: Kılıçturgay K. Badur S, *Viral Hepatit*. pp. 9-55, 2001. Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 2000.
50. Hann HW, Lee J, Bussard A, Liu C, Jin YR, Guha K ve ark. Preneoplastic markers of hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2004; 64:7329-7335.
51. Sohda T, Iwata Y, Shijo H, Egashira Y, Egashira K, Okumura M. Increased expression of proliferating cell nuclear antigen in autoimmune hepatitis in a patient with raised serum concentration of CA19-9. *J Clin Pathol* 1998; 51:167-169.
52. Stein DF, Myaing M. Normalization of markedly elevated alpha-fetoprotein in a virologic nonresponder with HCV-related cirrhosis. *Dig Dis Sci* 2002; 47:2686-2690.
53. Kadayıfci A, Simsek H, Savas MC, Toppare M. Serum tumor markers in chronic liver disease. *Neoplasma* 1996; 43:17-21.
54. Wilfredo Canchis P, Gonzalez SA, Isabel Fiel M, Chiriboga L, Yee H, Edlin BR ve ark. Hepatocyte proliferation in chronic hepatitis C: correlation with degree of liver disease and serum alpha-fetoprotein. *Liver Int* 2004; 24:198-203.

55. Chu CW, Hwang SJ, Luo JC, Lai CR, Tsay SH, Li CP ve ark. Clinical, virologic, and pathologic significance of elevated serum alpha-fetoprotein levels in patients with chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol* 2001; 32:240-244.
56. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 5nd Edition, pp. 425-446:1118-1141, Elsevier Saunders Company, New York, USA, 2006.
57. Burtis C, Ashwood E. Establishment and Use of Reference Values: in *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. W.B Saunders Company, USA, 1999.
58. Horn PS, Pesce AJ. Reference intervals: an update. *Clin Chim Acta* 2003; 334:5-23.
59. Horowitz GL. Estimating reference intervals. *Am J Clin Pathol* 2010; 133:175-177.
60. Laleli Y. Referans kavramı ulusal referans politikası ve hasta verilerinin kullanımı. *Türk Biyokimya Dergisi* 2003; 2884:225-227.
61. Toprakçı M. Hastane Laboratuvar Test Verileri Kullanılarak Klinik Testlerin Referans Aralıklarının Saptanması. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2000.
62. Balcı Y. Laboratuvar Hasta Verileri Kullanılarak Biyokimya Testlerinde Referans Aralıkları Belirlenmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2006.
63. Akbayır S, Fidancı ŞB, Şen F, Bakır AY, Temel GO, Ünal N ve ark. Mersin Bölgesinde Homosistein Vitamin A ve Vitamin E Düzeylerine Ait Referans Aralıklarının Belirlenmesi. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2011; 4(1): 7-11.
64. Baskın Y, Yiğitbaşı T, Afacan G, Akgün F, Dere R. Sağlıklı Bireylerde İmmunglobulin (IGA, IGG, IGM) ve IGG Alt Grupları Referans Aralıkları. *Türk Biyokimya Dergisi* 2010; 35(4): 325-32.
65. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory, Approved Guideline*. 3rd Edition, Wayne, PA: CLSI, 2008.
66. Hızlı ZB. Bursa İlinde 18-45 Yaş Arası Sağlıklı Bireylerde Vitaminlerin ve Antioksidan Parametrelerin Referans Aralıklarının Belirlenmesi. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Uzmanlık Tezi, Bursa, 2006.
67. Kutay FZ. Laboratuvar Verilerinin İstatistiksel Değerlendirmesi. Ed: Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ, *Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi Kitabı*. pp. 53-70, 2004.
68. Grasbeck R, Alstrom T. *Reference Values in Laboratory Medicine: The Current State of the Art*. John Wiley & Sons Ltd, England, 1981.
69. Enli Y. Denizli'de Yaşayan 18-40 Yaş Arası Bireylerde Farklı Yöntemlerle Referans Aralıklarının Sptanması. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Denizli, 2001.
70. Aslan D. Referans Aralıkların Hesaplanması. Ed: Gezer S, Güner G, Tuncel P, *Klinik Laboratuvarlarda Yöntem Seçimi Değerlendirilmesi ve Laboratuvara Uygulanması Kurs Kitabı*. pp. 80-119, İzmir, 2000.
71. Ferre-Masferrer M, Fuentes-Arderiu X, Puchal-Ane R. Indirect reference limits estimated from patients' results by three mathematical procedures. *Clin Chim Acta* 1999; 279:97-105.
72. Solberg HE. Referans Değerlerin belirlenmesi ve Kullanılması. Ed: Aslan D, *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler*. pp. 251-161, Palme Yayıncılık, Ankara, 2005.
73. Solberg HE. Using a Hospitalized Population to Establish Reference Intervals - Pros and Cons. *Clinical Chemistry* 1994; 40:2205-2206.

74. Kairisto V, Poola A. Software for Illustrative Presentation of Basic Clinical Characteristics of Laboratory Tests - Graphroc for Windows. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 1995; 55:43-60.
75. Werner M, Tolls RE, Hultin JV, Mellecker J. Influence of sex and age on the normal range of eleven serum constituents. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1970; 8:105-115.
76. Mehmetoğlu İ. *Klinik Biyokimya Laboratuvarı El Kitabı*. s. 343-354, 2. Basım, İnci Ofset, Konya, 2002.
77. Statland BE, Winkel P. Effects of preanalytical factors on the intraindividual variation of analytes in the blood of healthy subjects: consideration of preparation of the subject and time of venipuncture. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 1977; 8:105-144.
78. International Federation of Clinical chemistry and International Committee for Standardization in hematology: Approved Recommendation (1986) on the theory of reference values. Part I. The concept of reference values. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1987; 25:337-342.
79. Young DS. Determination and validation of reference intervals. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116:704-709.
80. Geffre A, Friedrichs K, Harr K, Concordet D, Trumel C, Braun JP. Reference values: a review. *Vet Clin Pathol* 2009; 38:288-298.
81. Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. A robust approach to reference interval estimation and evaluation. *Clin Chem* 1998; 44:622-631.
82. Harris E, Boyd J. *Statistical Bases of Reference Values in Laboratory Medicine*. CRC Press, New York, 1995.
83. Lott JA, Mitchell LC, Moeschberger ML, Sutherland DE. Estimation of reference ranges: how many subjects are needed? *Clin Chem* 1992; 38:648-650.
84. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. *Biyostatistik*. s. 299, Hatiboğlu Yayınları, Ankara, 2007.
85. Özdamar K. *SSPS ile Biyoistatistik*. s. 122, Nisan Kitabevi, Eskişehir, 2003.
86. Solberg HE, PetitClerc C. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988; 26:593-598.
87. Reed H. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clin. Chem.* 1971; 17:275-284.
88. Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ. *Tıbbi laboratuvarlarda standardizasyon ve kalite yönetimi*. s. 124-128, 2002.
89. Bircan H, Karagöz Y, Kasapoğlu Y. Ki-Kare Ve Kolmogorov Smirnov Uygunluk Testlerinin Simulasyon İle Elde Edilen Veriler Üzerinde Karşılaştırılması. *C.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Dergisi* 2003; 4.
90. Stephens MA. EOF statistics for goodness-of-fit and some comparisons. *J. Am. Stat. Asso.* 1974; 69: 730-737.
91. Massey F. The Kolmogorov-Smirnov test for goodness-of-fit. *J. Am. Statist. Asso.* 1951; 46:69-78.
92. Linnet K. Two-stage transformation systems for normalization of reference distributions evaluated. *Clin Chem* 1987; 33:381-386.
93. Boyd JC, Lacher DA. A multi-stage Gaussian transformation algorithm for clinical laboratory data. *Clin Chem* 1982; 28:1735-1741.
94. Lumsden JH, Mullen K. On establishing reference values. *Can J Comp Med* 1978; 42:293-301.
95. Wilk S. Statistical prediction with special reference to the problem of tolerance limits. *Ann. Math. Statist.* 1941; 13:400. 52.

96. Somerville PN. Tables for obtaining non-parametric tolerance limits. *Ann. Math. Statist.* 1958; 29:599.
97. Qin X, Lin L, Mo Z, Lv H, Gao Y, Tan A ve ark. Reference intervals for serum alpha-fetoprotein and carcinoembryonic antigen in Chinese Han ethnic males from the Fangchenggang Area Male Health and Examination Survey. *Int J Biol Markers* 2011; 26:65-71.
98. Bjerner J, Hogetveit A, Wold Akselberg K, Vangsnes K, Paus E, Bjoro T ve ark. Reference intervals for carcinoembryonic antigen (CEA), CA125, MUC1, Alfa-foetoprotein (AFP), neuron-specific enolase (NSE) and CA19.9 from the NORIP study. *Scand J Clin Lab Invest* 2008; 68:703-713.
99. Ri G, Ohno S, Yamamoto T, Ito E, Furutani M, Furutani Y ve ark. Serum levels of CA15-3, KL-6 and BCA225 are positively correlated with each other in the general population. *Anticancer Res* 2009; 29:4239-4242.
100. Woo HY, Kim YJ, Park H. [Establishment of reference intervals of tumor markers in Korean adults]. *Korean J Lab Med* 2008; 28:179-184.
101. Behbehani AI, Mathew A, Farghaly M, van Dalen A. Reference levels of the tumor markers carcinoembryonic antigen, the carbohydrate antigens 19-9 and 72-4, and cytokeratin fragment 19 using the Elecsys Relecsys 1010 analyzer in a normal population in Kuwait. The importance of the determination of local reference levels. *Int J Biol Markers* 2002; 17:67-70.
102. Barcelo B, Ayllon O, Belmonte M, Barcelo A, Vidal R, Forteza-Rey J ve ark. Proposed reference value of the CA 125 tumour marker in men. Potential applications in clinical practice. *Clin Biochem* 2008; 41:717-722.
103. Liu ZY, Sun YH, Xu CL, Gao X, Zhang LM, Ren SC. Age-specific PSA reference ranges in Chinese men without prostate cancer. *Asian J Androl* 2009; 11:100-103.
104. Gelpi-Mendez JA, Gomez-Fernandez E, Martin-Barallat J, Cortes-Arcas MV, Monsonis-Artero JV, Calvo-Mora A. [Reference values of prostate specific antigen (PSA) in 63926 workers without prostatic symptoms who participated in prostate screening cancer developed by the Ibermutuamur Prevention Society in 2006]. *Actas Urol Esp* 2010; 34:669-676.
105. Kalish LA, McKinlay JB. Serum prostate-specific antigen levels (PSA) in men without clinical evidence of prostate cancer: age-specific reference ranges for total PSA, free PSA, and percent free PSA. *Urology* 1999; 54:1022-1027.
106. Oesterling JE, Jacobsen SJ, Klee GG, Pettersson K, Pironen T, Abrahamsson PA ve ark. Free, complexed and total serum prostate specific antigen: the establishment of appropriate reference ranges for their concentrations and ratios. *J Urol* 1995; 154:1090-1095.
107. Giovanella L, Imperiali M, Ferrari A, Palumbo A, Furlani L, Graziani MS ve ark. Serum thyroglobulin reference values according to NACB criteria in healthy subjects with normal thyroid ultrasound. *Clin Chem Lab Med* 2012; 50:891-893.
108. Nakamura S, Sakata S, Minamori Y, Komaki T, Kojima N, Kamikubo K ve ark. Serum thyroglobulin (Tg) concentration in healthy subjects: absence of age- and sex-related differences. *Endocrinol Jpn* 1984; 31:93-98.
109. Feldt-Rasmussen U, Hyltoft Petersen P, Date J. Sex and age correlated reference values of serum thyroglobulin measured by a modified radioimmunoassay. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1979; 90:440-450.
110. Solberg HE, PetitClerc C. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. *Clin Chim Acta* 1988; 177:S3-11.

111. Grossi E, Colombo R, Cavuto S, Franzini C. The REALAB project: a new method for the formulation of reference intervals based on current data. *Clin Chem* 2005; 51:1232-1240.
112. Friedberg RC, Souers R, Wagar EA, Stankovic AK, Valenstein PN, College of American P. The origin of reference intervals. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131:348-357.
113. Baadenhuijsen H, Smit JC. Indirect estimation of clinical chemical reference intervals from total hospital patient data: application of a modified Bhattacharya procedure. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985; 23:829-839.
114. Hilsted L, Rustad P, Aksglaede L, Sorensen K, Juul A. Recommended Nordic paediatric reference intervals for 21 common biochemical properties. *Scand J Clin Lab Invest* 2013; 73:1-9.

8. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

ŞEKİLLER

Şekil 1. Referans Aralık Saptama Anket Formu	37
Şekil 2. AFP için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).	62
Şekil 3. AFP için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram dağılımı	64
Şekil 4. AFP genel referans aralığına ait histogram	64
Şekil 5. CA 15.3 için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).....	65
Şekil 6. CA 15.3 için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram dağılımı.....	66
Şekil 7. CA 15.3 genel referans aralığına ait histogram	67
Şekil 8. CA 19.9 için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).....	67
Şekil 9. CA 19.9 için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram dağılımı.....	69
Şekil 10. CA 19.9 referans aralığına ait histogram	69
Şekil 11. CA 125 için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).....	70
Şekil 12. CA 125 için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram dağılımı.....	71
Şekil 13. CA 125 referans aralığına ait histogram	72
Şekil 14. CEA için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).	73
Şekil 15. CEA için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram dağılımı	74
Şekil 16. CEA referans aralığına ait histogram	74
Şekil 17. fPSA için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).	75
Şekil 18. fPSA referans aralığına ait histogram	76
Şekil 19. PSA için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).	76
Şekil 20. PSA referans aralığına ait histogram.....	77

Şekil 21. TG için aşırı uç değerlerin atılması (A:aşırı uç değerlerin atılmadan önceki, B:aşırı uç değerlerin atıldıktan sonraki boxplot grafiği).	78
Şekil 22. TG için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram dağılımı	79
Şekil 23. TG referans aralığına ait histogram.....	80

9. TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Onkogelişimsel Tümör Belirteçleri	2
Tablo 2. Tümör markerleri ve ilişkili olduğu kanser türleri (13)	4
Tablo 3. Tümör Belirteçlerinin Güncel Uygulamaları ve Kısıtlamaları.....	6
Tablo 4. Yaşa göre değişen prostat spesifik antijen referans aralıkları	12
Tablo 5. Tümör Belirteci Olan Hormonlar	17
Tablo 6. Tümör Belirteci Olan Onkofetal Antijenler	20
Tablo 7. Tümör Belirteci Olan Proteinler.....	28
Tablo 8. Preanalitik Biyolojik ve Metodolojik Faktörler	41
Tablo 9. Referans gruplarının yaşa göre sınıflandırılmasına bir örnek	45
Tablo 10. Çalışmaya alınan testler ve taranan populasyonun testlere ve cinsiyete göre dağılımı.....	61
Tablo 11. KSÜ Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarında kullanılmakta olan referans aralıkları.....	62
Tablo 12. AFP için cinsiyete göre referans aralığı, mean, medyan ve SD değerleri....	63
Tablo 13. AFP için yaş gruplarında cinsiyete göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri.....	63
Tablo 14. CA 15.3 için cinsiyete göre referans aralığı, mean, medyan ve SD değerleri	65
Tablo 15. CA 15.3 için yaş gruplarında cinsiyete göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri	66
Tablo 16. CA 19.9 için cinsiyete göre referans aralığı, mean, medyan ve SD değerleri	68
Tablo 17. CA 19.9 için yaş gruplarında cinsiyete göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri	68
Tablo 18. CA 125 için cinsiyete göre referans aralığı, mean, medyan ve SD değerleri	70
Tablo 19. CA 125 için yaş gruplarında cinsiyete göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri	71
Tablo 20. CEA için cinsiyete göre referans aralığı, mean, medyan ve SD değerleri ...	73

Tablo 21. CEA için yaş gruplarında cinsiyete göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri.....	73
Tablo 22. fPSA için yaş gruplarına göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri.....	75
Tablo 23. PSA için yaş gruplarına göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri.....	77
Tablo 24. TG için cinsiyete göre referans aralığı, mean, medyan ve SD değerleri.....	78
Tablo 25. TG için yaş gruplarında cinsiyete göre referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri.....	79
Tablo 26. Tüm parametreler için bulunan referans aralıkları, mean, medyan ve SD değerleri.....	80

10. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Muhammed Mehdi ÜREMİŞ
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 27.02.1986 - İran
Medeni hali : Evli
Telefon : 05423383494
e-posta : mmuremis@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	2015
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü	2010
Lise	Çorum Eti Lisesi	2003

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Tarihi
1 yıl	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	2015 Ocak - Devam
1 yıl	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	2013 Kasım-2015 Ocak

Yabancı Diller

İngilizce

Hobiler

Sinema, müzik, gezmek, kitap okumak, web tasarımı.