

T.C
SAĞLIK BAKANLIĞI
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
ATATÜRK EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ
TİBBİ BİYOKİMYA

LABORATUVAR TESTLERİ ÜZERİNE DİÜRNAL
VARYASYONUN ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

DR. ALPEREN HALİL İHTİYAR

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. MEHMET HİCRİ KÖSEOĞLU

İZMİR

TEMMUZ-2017

T.C
SAĞLIK BAKANLIĞI
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
ATATÜRK EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ
TIBBİ BİYOKİMYA

**LABORATUVAR TESTLERİ ÜZERİNE DİÜRNAL
VARYASYONUN ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. ALPEREN HALİL İHTİYAR**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MEHMET HİCRİ KÖSEOĞLU**

Bu tez İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından 47104536-799-E.10958 proje numarası ile desteklenmiştir.

**İZMİR
TEMMUZ-2017**

I. TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, birikim ve deneyimlerinden yararlandığım, tez çalışmamın her aşamasında desteği ile yanımda olan danışman hocam Prof. Dr. Mehmet Hicri KÖSEOĞLU'na,

İhtisasım süresince eğitim alma şansına sahip olduğum, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Figen NARİN, klinik eğitim görevlileri, Uzm.Dr.Ayşenur ATAY, Yrd. Doç. Dr. Saliha AKSUN, Uzm. Ecz. Tayfun ONUR, Yrd. Doç. Dr. Burcu FENERCİOĞLU ŞİRİN'e,

Mesleki bilgi ve deneyimleriyle her biri ayrı ayrı ve çok kıymetli katkılar sunan İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi eğitim görevlileri Uzm. Ecz. Baysal KARACA, Uzm. Dr. Nuriye UZUNCAN, başasistan Dr. Giray BOZKAYA ve başasistan Dr. Sibel BİLGİLİ'ye,

Uzmanlık eğitim süreci içerisinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tıbbi biyokimya kliniği uzman doktorları Uzm. Dr. Serap ÇUHADAR, Uzm. Dr. Leyla ARGUN DEMİR, Uzm. Dr. Hülya ÜNAL TAŞ, Uzm. Dr. Esra ZOR DOĞAN, Uzm. Dr. Özgür GÜNEY, Uzm. Dr. Serra MENEKAY'a,

İhtisas süresi boyunca beraber çalıştığım, çalışmaktan keyif aldığım asistan arkadaşlarım Huriye ERBAK YILMAZ, Gül Zakire SARAÇ, Hasan Orhan ÇETİN, **Candeğer AVŞAR**, Hayat ÖZKANAY, Gülcan SAĞLAM, Yeter ŞİRİN, Sezen ŞAHİN, Murat AKŞİT, Özlem UĞURLU DEMİREZEN, Özge ESENLIK'e,

Tüm teknisyen arkadaşlarıma ve personellerimize,

Bugünlere gelmemde çok emeği olan annem Saniye İHTİYAR, babam İsmail İHTİYAR ve kardeşlerim Elif Kübra İHTİYAR ve Hatice Nur İHTİYAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Alperen Halil İHTİYAR

Temmuz-2017

II. İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
I. Teşekkür	I
II. İçindekiler	II
III. Kısaltmalar	III
IV. Tablo Listesi	VI
V. Şekil listesi	VII
1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1. Rutin Biyokimya Parametreleri	3
2.2. Hormon Parametreleri	16
3. Materyal Metot	27
3.1. Rutin Biyokimya, Hormon ve 25 hidroksi Vitamin D Testleri Ölçüm Prensipleri	29
3.1.1. Rutin Biyokimya Testleri Ölçüm Prensipleri	29
3.1.2. Hormon Testleri Ölçüm Prensipleri	44
3.1.3. 25 hidroksi Vitamin D Ölçüm Prensipleri	46
3.2. İstatistiksel Analiz	47
4. Bulgular	49
5. Tartışma	66
6. Sonuç	79
7. Özet	80
8. Summary	81
9. Kaynaklar	82

III. KISALTMALAR LİSTESİ

ADH	Anti Diüretik Hormon
ADP	Adenozin difosfat
ALB	Albumin
ALP	Alkalen Fosfataz
ALT	Alanin Transaminaz
AST	Aspartat Transaminaz
ATP	Adenozin trifosfat
B12	Vitamin B12
BCG	Brom kresol yeşili
BUN	Kan Üre Azotu
CEA	Karsinoembriyonik antijen
Ci	Dahili dolgu solüsyonunda iyon konsantrasyonu
Ct	Test solüsyonunda iyon konsantrasyonu
CK	Kreatin kinaz
Cl ⁻	Klor
CNP	2- kloro-p-nitrofenol
CO	Karbon Monoksit
CO ₂	Karbon Dioksit
CoA	Koenzim A
D.BİL	Direkt Bilirubin
DBP	D vitamini Bağlayıcı Protein
DNA	Deoksiribo Nükleik asit
E2	Östradiol
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EMF	Elektrod potansiyeli
f	Aktivite katsayısı
F	Faraday sabiti
Fe ⁺²	Ferröz Demir
Fe ⁺³	Ferrik Demir
FSH	Folikül Stimüle Edici Hormon
g	Santifüj kuvveti
G-6-P	Glukoz-6 Fosfat
GGT	γ -Glutamil Transferaz, gama - glutamil transpeptidaz
GH	Growth hormon, büyüme hormonu
GPO	Gliserol fosfat oksidaz
GLU	Glukoz
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HBA	Hidroksibenzoik asit
hCG	İnsan Koryonik Gonadotropin Hormonu

HCl	Hidroklorik Asit
HCO ₃ ⁻	Bikarbonat
HDL- kol	Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol
HPLC	Yüksek performans likit kromatografi
IFCC	Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu
In	Doğal logaritma (taban e)
ISE	İyon-Seçici Elektrod
IUBC	Doymamış demir bağlama kapasitesi
LDH	Laktat dehidrojenaz
LH	Luteinizan hormon
LDL- kol	Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol
Mg ⁺²	Magnezyum
n	iyon yükü
Na ⁺	Sodyum
Na ⁺ -K ⁺ -ATPaz	Sodyum- Potasyum ATPaz kanalı
NAD	Nikotin adenzin dinükleotid
NADH ⁺	İndirgenmiş nikotin adenzin dinükleotid
NADP ⁺	+1 değerlikli nikotin adenzin dinükleotid fosfat
NADPH	İndirgenmiş nikotin adenzin dinükleotid fosfat
NH ₄ ⁺	Amonyum
NaHCO ₃	Sodyum Bikarbonat
nm	Nanometre
PAP	Prostatik asit fosfataz
PEG	Polietilen Glikol
pNP	p-Nitrofenol
pNPP	p-Nitrofenil fosfat
PRL	Prolaktin
provitamin D ₃	Kolekalsiferol
PSA	Prostat Spesifik Antijen
PTH	Parathormon
RBC	Kırmızı kan hücresi
REM	Hızlı göz hareketi (Rapid eye movement)
RLU	Rölatif ışık birimi
SCN	Suprakiazmatik çekirdek
SD	Standart sapma
Sn	Saniye
sT ₃	Serbest T ₃ – serbest triyodotironin
sT ₄	Serbest T ₄ – serbest tiroksin
T	Sıcaklık
T.BİL	Total Bilirubin
T.Kolesterol	Total kolesterol
T.Protein	Total protein

T ₃	Triyodotironin
T ₄	Tiroksin
TOOS	<i>N</i> -etil- <i>N</i> -(2-hidroksi-3-sülfopropil)- <i>m</i> - toluidini
TSH	Tiroid Stimulating Hormon - Tiroid Uyarıcı Hormon
TRH	Tirotropin Salgılatıcı Hormon
UV	Ultraviyole
VDR	Vitamin D reseptörü
VLDL- kol	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol
1-25-(OH) ₂ D ₃	Kalsitriol
4-PAP	4-aminofenazonın
7-DHC	7-dehidroksikolesterol
25-(OH) D ₂	Ergokalsiferol- vitamin D ₂
25-(OH) D ₃	Kolekalsiferol- vitamin D ₃



IV. TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Laboratuvar testlerinin ölçüm içi varyasyon katsayısı değerleri

Tablo 2: Glukoz, BUN, Kreatinin, AST, ALT ve ALP'nin saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri, p değerleri

Tablo 3: GGT, CK, albumin, total protein, total ve direkt bilirubin saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri

Tablo 4: Sodyum, potasyum, klor, kalsiyum, fosfor ve magnezyumun saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri

Tablo 5: Demir, UIBC, total kolesterol, HDL- kol ve trigliseridin saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri

Tablo 6: Amilaz ve lipazın saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri

Tablo 7: TSH, sT₃, sT₄, vitamin B12, folat, PSA (sadece erkeklerde)'nın saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri

Tablo 8: FSH (kadın ve erkeklerde), LH (kadın ve erkeklerde), estradiolun (kadın ve erkeklerde)'ün saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri

Tablo 9: Prolaktin (kadın ve erkeklerde), parathormon ve 25-OH vitamin D₃'ün saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri

V. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Total bilirubin düzeyinin saatlere göre değişimi

Şekil 2: Direkt bilirubin düzeyinin saatlere göre değişimi

Şekil 3: Demir düzeyinin saatlere göre değişimi.

Şekil 4: Triglicerid düzeyinin saatlere göre değişimi.

Şekil 5: Lipaz enzim aktivitesinin saatlere göre değişimi.

Şekil 6: TSH düzeyinin saatlere göre değişimi.

Şekil 7: Prolaktin düzeyinin saatlere göre değişimi (kadınlarda).

Şekil 8: Prolaktin düzeyinin saatlere göre değişimi (erkeklerde).

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Herhangi bir nedenle hastaneye başvuran hastaları klinik olarak değerlendiren, anamnez ve fizik muayeneden sonra, düşünülen tanıyı desteklemek, ayırıcı tanıyı yapmak, verilen tedaviye yanıtı takip etmek, tedaviye bağlı yan etkileri görmek ve bazen de subklinik hastalıkları taramak için hastaların tamamına yakınından laboratuvar tetkikleri istenmektedir. Klinisyenlerin hastalıkların tanısına ve tedavisine, yaklaşık % 70 oranında laboratuvar testlerine göre karar verdikleri bilinmektedir (1).

Klinik laboratuvarlarda hasta örneklerinin çalışılması oldukça kompleks bir süreç olup multidisipliner bir yaklaşım gerektirir. Laboratuvar sonucunu etkileyen bir takım faktörler ve süreçler olabilmektedir. Bu süreçler, preanalitik evre, analitik evre ve postanalitik evre olmak üzere 3 grupta incelenebilir. Preanalitik süreçler laboratuvar dışı birimlerin de katılımını gerektirdiğinden standardize edilmesi diğer süreçlere göre nispeten daha zordur ve hata kaynaklarının çoğunun (% 46-68.2) bu süreçte olduğu çeşitli yayınlarda gösterilmiştir (2, 3).

Genel olarak preanalitik süreç, klinisyenin hastalığa uygun laboratuvar testleri seçmesinden başlayıp, alınan kan, idrar vs. numunelerinin, çalışılması için cihazlara verilmesi arasındaki sürecin tamamını içermektedir. Hastalara ait kişisel değişimler, hasta yaşı, cinsiyeti, demografik özellikleri, gebelik, kan alınma sırasında vücut postürü, örnek alınan yer ve alınma şekli, numunenin alındığı tüp ve içerdiği antikoagülan, örneğin etiketlenmesi, örneğin laboratuvara ulaşması sırasındaki süreç, örneğin laboratuvarında gördüğü işlemler (uygun santrifüj ve saklanma koşulları...) preanalitik fazı oluşturmaktadır (4, 5).

Preanalitik faz sürecinde yer alan faktörlerden biri de hastalarla ilgili kişisel faktörlerdir. Başta FSH (Folikül Stimulating Hormon), LH (Luteinizan hormon), östradiol, progesteron olmak üzere birçok laboratuvar testi bayanlarda menstrasyon döngüsüne bağlı olarak önemli derecede değişiklik gösterebilmektedir ve klinisyenlerin hastaları değerlendirirken bu durumu dikkate almaları gerekmektedir. Ayrıca 25-dihidroksikolekalsiferol düzeyinde de mevsimsel değişiklik görülebilmekte; yaz aylarındaki düzeyleri kış mevsimine göre daha yüksek seviyede

ölçülebilmektedir (5). Laboratuvar testleri sadece mevsimsel veya mensturasyon döngüsüne göre değişiklik göstermez, gün içerisinde de bazı analitlerin salınımı, metabolizması ya da dolaşıma çıkmasında değişiklikler görülebilir.

Organizmanın davranışı ve fizyolojisi günlük 24 saatlik ışık ve karanlık döngü boyunca ritmik olarak değişmektedir. Günlük bu değişimler, başta hipotalamik suprakiazmatik çekirdeklerdeki yer alan endojen biyolojik saatin yanı sıra periferik dokulardaki saatlerden oluşan dahili bir zaman işleyişi sistemi tarafından düzenlenir. Aynı zamanda klinik biyokimyasal kan parametreleri de gün içi değişikliklere maruz kalmaktadır, ancak 24 saatlik diüurnal varyasyonun muhtemel etkisi, klinik uygulamada nadiren dikkate alınmaktadır. Çünkü gece-gündüz döngüsünün insan metabolizmasına etkisi hakkında çok az şey bilinmektedir.

Genellikle klinisyenler kan tahlillerinin yapılması için uygun zaman konusunda, hastalarından daha çok sabah 9 saatlerinde ve açken kan alınmasını tercih etmektedir. Ancak genel olarak başta yataklı servislerde ve acillerde olmak üzere hastalardan günün çeşitli vakitlerinde numune alınabilmektedir ve günün herhangi bir saatinde alınan numune sonucu değerlendirilirken diüurnal varyasyonun etkisi göz ardı edilmekte ve laboratuvar testleri için gün boyunca aynı referans aralığı kullanılmaktadır. Bu durum hastalıkların tanısında ve özellikle takibinde klinisyenleri yanıltabilmekte ve hastaların yanlış tanı konulup tedavi almalarına neden olabilmektedir.

Bazı laboratuvar testlerinin diüurnal varyasyon gösterdiği bilinmesine rağmen literatürde bu konudaki çalışmalar yetersizdir. Özellikle TSH, demir, doymamış demir bağlama kapasitesi gibi bazı parametrelerin gün içinde yaklaşık % 50'ye kadar değişiklik gösterdiği bilinmektedir (6-8).

Günümüzde sık kullanılan bazı biyokimya, hormon parametreleri ve 25 hidroksi Vitamin D'nin gün içindeki değerleri arasında farklılık olup olmadığının tespit edilmesi amacı ile bu çalışma planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

Bu çalışmada 25 adet rutin biyokimyasal parametrenin, 11 adet hormon parametresinin ve 25 hidroksi Vitamin D düzeylerinin gün içindeki değişimleri incelenmiştir.

Çalışılan parametreler:

- Rutin parametreler: Glukoz, BUN (kan üre nitrojeni), kreatinin, AST (Aspartat transaminaz), ALT (Alanin transaminaz), ALP (Alkalen fosfataz), GGT (Gama Glutamil Transferaz), CK (Kreatin kinaz), albumin, total protein, total bilirubin, direkt bilirubin, sodyum (Na⁺), potasyum (K⁺), klor (Cl⁻), HDL- kolesterol (yüksek yoğunluklu lipoprotein- kolesterol), total kolesterol, trigliserid, demir (Fe⁺²), IUBC (doymamış demir bağlama kapasitesi), kalsiyum (Ca⁺²), fosfor, magnezyum, amilaz, lipaz
- Hormon parametreleri: TSH (Tiroid Stimulating Hormon - Tiroid Uyarıcı Hormon), sT₃ (serbest T₃ – serbest Triyodotironin), sT₄ (serbest T₄ – serbest tiroksin) , FSH (Folikül Stimulating Hormon), LH (Luteinizan hormon), E2 (Östradiol), prolaktin, B12 (vitamin B12), folat, PSA (Prostat Spesifik Antijen), PTH (Parathormon), 25 hidroksi Vitamin D

2.1. Rutin Biyokimya Parametreleri

Glukoz

Glukoz, kanda bulunan başlıca karbonhidrattır. Vücudun başlıca hücrel enerji kaynağı, glukozun yükseltgenmesi ile elde edilen ATP'dir. Fazla glukozdepolanması için karaciğerde glikojene, yağ dokusunda yağ asitlerine dönüştürülür. Kandaki glukoz konsantrasyonu, başta pankreas hormonları olan insülin ve glukagon olmak üzere, bir çok hormon tarafından kontrol edilir.

Hipergliseminin en sık bilinen nedeni, insülin sentezinde veya etkisinde meydana çıkan bir problem nedeniyle oluşan diabetes mellitustur. Bunun dışında pankreatit, karaciğer hastalığı, böbrek yetmezliği ve tiroid fonksiyon bozukluğunda da hiperglisemi görülebilir (9).

Hipoglisemi daha az sıklıkla görülür. İnsülinoma, karaciğer yetmezliği, hipopituitarizm, glikojen eksikliğine neden olan glikojen depo hastalıkları, karbonhidrat metabolizma bozuklukları (herediter fruktoz intoleransı, galaktozemi...) ekzojen fazla doz insülin alımına bağlı olarak hipoglisemi görülebilir (10).

Üre:

BUN, protein metabolizmasının son yıkım ürünüdür. Amino asitlerin deaminasyonu ile üretilen amonyaktan üre döngüsü ile karaciğer içinde sentezlenir. Ürenin çok büyük bir kısmı böbreklerden atılmakla birlikte, çok az bir miktarı terle de atılmaktadır.

Kanda ürenin tayin edilmesi böbrek fonksiyonunu değerlendirmek için en sık kullanılan tarama testlerinden birisidir. Serum kreatinin tayinleri ile birlikte kullanıldığında prerenal, renal ve postrenal olmak üzere üç tip azoteminin ayırt edici tanısına yardımcı olabilir (11).

Kanda üre azotu konsantrasyonunda yükselmeler yetersiz renal perfüzyon, şok, kan hacminde azalma (prerenal nedenler), kronik nefrit, nefroskleroz, tübüler nekroz, glomerüler nefrit (renal nedenler) ve idrar yolu tıkanıklığında (postrenal nedenler) görülür. Proteinin fazla alındığı dönemlerde de geçici yükselmeler görülebilir. Karaciğer hastalıklarında tahmin edilemeyen seviyeler meydana gelebilir.

Kreatinin

Kreatinin, kas kasılmasında ihtiyaç duyulan enerjinin önemli bir kısmını karşılayan fosfokreatin'in bir yıkım ürünüdür ve fosfokreatin'in dehidratasyona uğraması ve halkalaşması sonucu meydana gelmektedir. Kreatin ise, glisin, arjinin ve metionin amino asitlerinden sentezlenir (12).

Kreatinin düzeyleri kas kitlesi ile orantılı olduğundan kas kitlesinin azaldığı durumlarda düşük olabilir (yaşlılık, kas atrofisi...).

Serum veya idrarda bakılan kreatinin testi böbrek fonksiyonunun değerlendirilmesinde en sıklıkla kullanılan testlerden biridir. Genelde BUN düzeyini arttıran birçok hastalıkta kreatinin düzeyleri de artmaktadır. Kan kreatinin düzeyinin arttığı durumlar; akut ve kronik böbrek yetmezliği, glomerülonefritler, idrar yolu enfeksiyonu, idrar yollarının tıkanması, kalp yetmezliğidir.

AST

AST, özellikle karaciğer, eritrosit, iskelet kası, akciğer, böbrek ve kalp dokularında önemli miktarda bulunmaktadır. Bu dokularla ilgili patolojilerde serum AST aktivitesi yükselmektedir. Serum AST aktiviteleri siroz, hepatit gibi karaciğer hastalıklarında, miyokard ve akciğer enfarktüsünde, alkol ve ilaç toksikasyonlarında, hemolitik anemi de yükselir. Miyokard enfarktüsün ardından 6 saat sonra serum AST aktivitesi yükselir ve 2 gün sonra tepe noktasına ulaşır (13).

Vitamin B6 eksikliği veya renal diyaliz olan hastalarda, serum AST aktivitesi azalabilir. AST'deki bu azalma, transaminasyon reaksiyonunda koenzim olarak görev alan piridoksal fosfattaki azalmaya bağlıdır.

AST'ın sitoplazmik ve mitokondriyal olmak üzere iki izoenzimi vardır. Normal serumda sadece sitoplazmik AST bulunurken, mitokondriyal AST özellikle hepatobiliyer hastalığı olan hastaların serumlarında bulunmaktadır (14).

ALT

ALT, birçok dokuda bulunmakla birlikte başlıca kaynağı karaciğerdir. Bu nedenle ALT aktivitesinin hepatik hastalıkların tanısı için AST'ye göre daha spesifik olduğu kabul edilmektedir. Hepatit, siroz, obstrüktif sarılık, karaciğer karsinomu ve kronik alkol bağımlılığında serum ALT aktivitelerinde yükselme görülmektedir. ALT aktivitesindeki yükselmeler AST aktivitesindeki yükselmelerden daha uzun süre devam etmektedir.

Vitamin B6 eksikliği olanlarda, serum ALT seviyesi azalabilir. ALT'deki bu azalma, transaminasyon reaksiyonunda koenzim olarak görev alan piridoksal fosfattaki azalmaya bağlıdır (14).

ALP

Alkalin fosfataz enzimi alkali ortamda fosfat esterlerini yıkan hidroliz enzimidir. Serumda alkalik fosfatazın 4 adet izoenzimi vardır: kemik tipi, karaciğer tipi, intestinal tip ve plasental tip (15). ALP enzimi özellikle osteoblastlarda,

hepatositlerde, böbreklerde, bağırsakta, eritrositlerde, dalakta ve plasentada bulunur. En fazla osteoblastlarda bulunur ve osteoblastik aktivite sırasında kandaki aktivitesi çok fazladır. Bu nedenle büyüme çağındaki çocuklardaki ALP aktivitesi, erişkin döneme göre daha fazladır.

Tüm kolestaz formlarında, özellikle safra yolu tıkanıklarında ve sarılıkta ALP aktivitesinde yükselme görülmektedir. Ekstrahepatik tıkanıklıklarda, intrahepatiklere göre yükselme daha barizdir. Bunun dışında Paget hastalığı, raşitizm gibi iskelet sistemi hastalıklarında, kemik kırıklarında, hiperparatiroidizmde, raşitizm ve osteomalazi ile birlikte kırıklarda, malign tümörlerde de yükselir. Azalması klinik olarak anlamlı değildir (14).

GGT

Gama – glutamil transferaz (gama - glutamil transpeptidaz) karaciğer, böbrek, akciğer pankreas gibi bazı dokularda önemli miktarda bulunmaktadır.

GGT ölçümü en çok hepatobiliyer hastalıkların tanısında ve takip edilmesinde kullanılır. Özellikle kolestazis’de ALP’den önce yükseldiği için safra yolları ile ilgili patolojilerin tanısını koymada daha spesifik olduğu kabul edilmektedir. Karaciğer hastalığı olmasa bile çok aşırı alkol kullanan olguların % 70 – 80’inde serum GGT aktivitesinde orta derecede artış görülür. GGT, gizli alkolizm için de duyarlı bir tarama testi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca sigara ve kronik alkol kullanımında ve uzun süre fenobarbital ve fenitoin tedavisi alanlarda GGT aktivitesi yükselebilmektedir (16, 17).

CK

CK, başta iskelet kası, beyin, kalp kası olmak üzere birçok dokuda bulunan ve enerji metabolizmasıyla ilişkili dimerik bir enzimdir. Kreatin’i ATP ile fosforilasyona uğratarak geri dönüşümlü olarak fosfokreatin oluşturur.

CK’in 3 farklı izoenzimi vardır: CK-MM (iskelet kası tipi CK-3), CK-BB (beyin tipi- CK-1) ve CK-MB (miyokard tipi CK-2). CK-1 formu, beyin, prostat,

bağırsak, akciğer, mesane, plasentada, CK-2 formu daha çok miyokartta, CK-3 ise iskelet kasında bulunur (18).

CK ve CK-izoenzim aktivitelerinin tayini miyokard enfarktüsü ve Duchenne Musküler Distrofi gibi miyopatilerin tanısında ve takibinde kullanılır. Akut miyokard enfarktüsünde, hasarın ardından hasar görmüş miyokard hücrelerinden serbest bırakılır.

Enfarktüstten 4 saat sonra CK-aktivitesi yükselmeye başlar. 12-24 saat sonra maksimuma ulaşır ve 3-4 gün sonra normal aralığa geri döner (19).

Albumin

Albumin plazma proteinlerinin yaklaşık % 50-60'ını oluşturan ve yalnızca aminoasitlerden oluşmuş saf bir proteindir. Başlıca görevi plazmada onkotik basıncını sağlamak olan albumin, aynı zamanda birçok ligandın taşınmasında ve saklanmasında görev alıp ayrıca endojenik amino asit kaynağıdır. Albumin, en çok, bilirubin, yağ asitleri gibi birçok moleküle bağlanarak bunları çözünür hale getirir ve serumda kalsiyum, magnezyum gibi birçok mineralin plazmada taşınmasını sağlar. Ayrıca, albumin toksik ağır metal iyonları ile birlikte çok sayıda farmasötiklere de bağlanabilir ve bu durum ise kanda düşük albumin konsantrasyonlarının farmakokinetik üzerinde önemli bir etkiye sahip olmasının nedenidir (20).

Hiperalbuminemi, dehidratasyon haricinde çok az tanısıl öneme sahiptir. Hipoalbuminemi ise birçok önemli hastalığın klinik seyri sırasında meydana gelir ve birkaç faktörden kaynaklanır: protein alımının azalması veya ağır karaciğer yetmezliği nedenli bir sentez bozukluğu, amino asitlerin yetersiz emilimine neden olan bir ince bağırsak hastalığının olması (Ülseratif Kolit), enflamasyondan dolayı yıkımının yükselmesi veya doku hasarı (ağır yanıklar), nefrotik sendrom sonucunda proteinüriye bağlı olarak albumin atılması. Hipoalbuminemi durumunda plazmada ozmotik basıncın düşük olmasından dolayı kapillerden dokulara doğru bir sıvı geçişi olmaktadır (ödem). Albumin aynı zamanda, kronik hastalarda beslenme durumunun takibinde ve sadece karaciğerden sentezlendiği için önemli bir karaciğer fonksiyon testi olarak da kullanılır (21).

Total Protein

Plazma proteinleri ağırlıklı olarak karaciğer, kemik iliği, plazma hücreleri, dalak ve lenf bezlerinde sentezlenir. Hastalığın gidişatında total protein konsantrasyonu ve ayrı ayrı fraksiyonlar tarafından temsil edilen yüzde normal değerlerden belirgin şekilde sapma gösterebilir.

Hipoproteineminin en sık görülen nedenleri: kan kaybı, ince bağırsak ile ilgili hastalıklar (Çölyak hastalığı...), nefrotik sendrom, ağır yanıklar, Kwashiorkor (akut protein eksikliği) gibi hastalıklar ve bozukluklarıdır. Hiperproteinemi ise ağır dehidrasyon vakalarında ve Waldenström makroglobulinemisi, multipl miyelom gibi hastalıklarda gözlenebilir.

Plazma proteinlerinin göreceli yüzdesindeki değişiklikler bir plazma protein fraksiyonunun yüzdesindeki bir değişiklikten dolayı olabilir. Bu tür vakalarda sıklıkla total protein miktarı değişmez. Albumin/ globulin oranı genellikle albumin ve globulin fraksiyonlarının dağılımının bir indeksi olarak kullanılır. Bu oranda belirgin değişiklikler karaciğer sirozu, glomerülonefrit, nefrotik sendrom, akut hepatit, lupus eritematozusun yanı sıra bazı akut ve kronik enflamasyonlarda da gözlenebilir. Total protein ölçümleri karaciğer, böbrek veya kemik iliğini kapsayan çeşitli hastalıkların ve diğer beslenme ile ilgili bozuklukların tanı ve tedavisinde kullanılır (22).

Total ve direkt bilirubin

Hemoglobin molekülü, yıkılırken hem ve globulin molekülleri açığa çıkar. Oluşan hem katabolize olurken, bir molekül demir, bir molekül CO ve bir molekül bilirubin meydana gelir. Bir gram hemoglobinden ortalama 35 mg bilirubin açığa çıkar. Yetişkinlerde günlük bilirubin üretimi yaklaşık 250-300 mg'dır.

Total bilirubinin yaklaşık % 85'i retikuloendotelial hücrelerde yıkılan olgun eritrositlerdeki hemoglobinden, % 15'i ise kemik iliğinde yıkılan olgunlaşmamış eritrositlerden ve hem grubu bulunan diğer bileşikler olan miyogloblin, sitokromlar ve peroksidazlardan meydana gelir.

Vücutta bilirubin genel olarak, direkt ve indirekt bilirubin olmak üzere iki formda bulunur. İndirekt bilirubin suda çözünmezken, direkt bilirubin suda çözünen formudur. İndirekt bilirubin, kan beyin bariyerini geçerek merkezi sinir sistemine girebilir. Direkt bilirubin ise idrara geçebilir.

Bilirubin üretiminin arttığı durumlar (eritrosit yıkımının artması), karaciğerde bilirubin klirensinin azalması (Gilbert sendromu, bazı ilaçların neden olduğu bilirubinemi ve fizyolojik sarılık vb.) ve bilirubin konjugasyonun herediter bozukluklarında (Crigler Najjar) indirekt hiperbilirubinemi görülebilir (23).

Karışık tip veya direkt hiperbilirubinemiye yol açan sebepler arasında Dubin Johnson sendromu, oral kontraseptif kullanımı, gebelik, Rotor sendromu, safra yolu tıkanıklıkları ve hepatoselüler hasar sayılabilir (23).

Bütün bilirubin analizlerinde ana prensip bilirubinin diazo reaksiyonuna dayanmaktadır (24). Diazo reaktifi ile verdiği renkli bileşiklerin renk şiddetinin tayinidir (Van-den Berg reaksiyonu). Total bilirubin tayini için önce albumine bağlı olan bilirubin (indirekt bilirubin) uzaklaştırılır. Direkt bilirubin tayininde, indirekt bilirubini albuminden ayıracak herhangi madde ilave edilmeden doğrudan tayin edilir. Total ve direkt farkından da indirekt bilirubin hesaplanır.

Sodyum

Sodyum hücre dışı sıvının en önemli katyonudur ve ekstraselüller osmolalitenin temel belirleyicisidir. Bu nedenle sodyum intravasküler hacmin korunması için gereklidir.

Sodyumun % 3'den azı hücre içindedir. Ekstraselüller sıvıda ortalama 142 mEq/L olan konsantrasyonu hücre içinde 14 mEq/L dir (25). Hücre içi sodyum konsantrasyonu, intraselüller sodyum ile ekstraselüller potasyumu yer değiştiren Na⁺-K⁺-ATPaz kanalı ile korunmaktadır. Yüksek ekstraselüller sodyum konsantrasyonu ve düşük intraselüller sodyum konsantrasyonu ile oluşturulan kimyasal gradient, glukoz, aminoasitler gibi birçok maddenin hücre içine hareketi için enerji sağlamaktadır (26).

Diuretiklerin aşırı şekilde alınması, sürekli kusma, yetersiz tuz alımı, Addison hastalığı, uygunsuz Anti Diüretik Hormon (ADH) sendromu ve metabolik asidoz düşük sodyum seviyelerine neden olabilir. Yükselmiş sodyum seviyeleri ise uzun süreli hipertonic sıvı tedavisi, Diabetes mellitus, Diabetes insipidus, Cushing sendromu, ciddi dehidratasyon durumunda veya yeterli miktarda su içmeden yüksek seviyede tuzun alınması durumunda bulunabilir (27).

Potasyum

Potasyum vücuttaki en önemli hücre içi katyondur. Potasyumun % 95'i hücre içi sıvıda, en fazla olarak da kas hücrelerinde bulunur. Hücre içi potasyum konsantrasyonu ortalama olarak 150 mEq/L kadardır; ancak dokular arasında değişkenlik gösterir. Eritrositlerdeki potasyum konsantrasyonu plazmadaki konsantrasyondan yaklaşık 23 kez yüksektir. Bu nedenle hemolize olmuş numunelerde serumdaki potasyum miktarı hatalı olarak yüksek bulunabilir.

Hücre içi ve dışı potasyum konsantrasyon farkı hücre zarındaki Na-K ATPaz kanalının aktivitesiyle korunur ve bu kanalın çalışması nöronal iletide ve kas kasılmasında önemlidir. Hücre içindeki potasyum konsantrasyonu, hücre metabolizması ve düzenlenmesi, hücre bölünmesi, optimal enzim fonksiyonu, DNA sentezi, volüm düzenlenmesi ve asit-baz dengesi gibi normal hücre fonksiyonlarının devamı için gereklidir (28).

Hücre dışı potasyumun düşük seviyeleri kaslarda güçsüzlük, paraliz, asabiyet, taşikardi ve sonucunda miyokardial enfarktüsüne neden olabilir.

Hiperpotasemi ise, uygun olmayan intravenöz tedavi, dehidratasyon, şok, diyabetik ketoasidoz ve şiddetli yanıklar neticesinde gelişebilir. Hücre dışı potasyumun anormal bir şekilde yüksek seviyeleri zihin bulanıklığı, genel halsizlik, uyuşukluk, ekstremitelerde flasid paralizisi, bradikardi ve sonucunda kardiyak şok ve miyokardial enfarktüs görülebilir (27).

Klor

Klor, en yaygın hücre dışı anyondur. Besinlerle alınan klorun çoğu absorbe edilir ve fazlalığı diğer iyonlarla idrara salgılanır. Cl^- ve Na^+ iyonları birlikte, plazmanın osmotik aktif bileşenlerinin çoğunu oluşturur, su ve asit-baz dengelerinin

sağlanmasında önemli rol oynarlar. Asid-baz denge bozukluklarının olmadığı durumlarda plazma Cl^- konsantrasyonu, Na^+ konsantrasyonuna paralel değişim gösterir. Asid baz dengesinin sağlanmasında eritrositlerin içinde karbon dioksitin (CO_2)'in bikarbonat (HCO_3^-) şeklinde taşınmasında klorür kaymasının önemli rolü vardır. Aynı zamanda protein sindirimi için önemli olan ve midede bulunan hidroklorik asitin (HCl) yapımına katılır.

Düşük klor düzeyleri sürekli kusma sonucuyla gelişen hidroklorik asit (HCl)'in kaybı, organik anyonların birikmesine bağlı oluşan bazı metabolik asidoz durumları, Addison hastalığında, aşırı terleme durumunda ve tuz kaybı ile sonuçlanan böbrek hastalığında gözlemlenir. Yüksek klor seviyeleri ise sürekli diyare ve sodyum bikarbonat ($NaHCO_3$)'in kaybı ile ilişkilendirilen metabolik asidoz ve akut renal yetmezlik, renal tübüler asidoz, dehidratasyon, uzun süreli tuz tedavisi, hiperparatiroidizmde görülür (27).

Kalsiyum:

Kalsiyum, özellikle hidroksiapatit olarak yaklaşık yüzde 99'u kemiklerde olmak üzere insan vücudunda en çok bulunan inorganik elementtir. Kalan kalsiyumun, çok büyük bir kısmı serumda olmakla birlikte hücre içinde bulunan kalsiyum, yaşamın devamını sağlayan birçok işlem açısından hayati fonksiyona sahiptir (29). Kalsiyumun iskelet sisteminde kemik oluşumu fonksiyonunun dışında kan koagülasyonu, kas - sinir iletimi, iskelet ve kalp kaslarının uyarılması, enzim aktivasyonu ve hücre zarı bütünlüğünün korunması gibi görevleri bulunur.

Serum kalsiyum seviyeleri, vücutta paratiroid hormon (PTH), kalsitonin ve vitamin D tarafından kontrol edilir. Bu hormonlardan herhangi birindeki bir dengesizlik vücut ve serum kalsiyum seviyelerinde değişikliklere yol açar. Serum PTH veya vitamin D'deki artışlar genellikle hiperkalsemi ile ilişkilidir. Serum kalsiyum seviyelerindeki artışlar multipl miyelom ve diğer neoplastik hastalıklarda da gözlenebilir. Hipoparatiroidizm, D vitamini eksikliği, malabsorbsiyon, nefrotik sendrom ve akut pankreatitte ise hipokalsemi görülür (30).

Fosfor

Vücuttaki fosfatın % 88'i kemikte apatit $\text{Ca}^{+2} [\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_3$ olarak kalsiyum fosfat formunda bulunur. Kalanı ise ara karbonhidrat metabolizması ve fosfolipidler, nükleik asitler ve ATP gibi fizyolojik olarak önemli maddelerin yapısıyla ilgilidir. Fosfor kanda inorganik fosfat formunda bulunur (31).

Kanda fosfatın kalsiyuma oranı yaklaşık % 60'dır. Fosfor seviyesinde yükselme kalsiyum seviyesinde düşüşe neden olur. Parathormon ile vitamin D arasındaki etkileşimler, serumdaki fosfor düzeyini belirler. Hipoparatiroidizm, vitamin D intoksikasyonu ve glomerüler fosfat filtrasyonunun azaldığı böbrek yetmezliği hiperfosfatemiye yol açarken; raşitizm, hiperparatiroidizm ve Fanconi sendromunda ise hipofosfatemi görülmektedir (30).

Magnezyum

Magnezyum, hücre içinin önemli bir katyonudur. Mg^{+2} birçok enzim sisteminde kofaktör olarak yer almaktadır. Özellikle, ATP'ye bağlı tüm enzimatik reaksiyonların hepsinde ATP-magnezyum kompleksinde bir kofaktör olarak Mg^{+2} 'a ihtiyaç vardır (32).

Magnezyum iyonlarının yaklaşık % 69'u kemikte saklanır. Kalanı ise metabolizmanın bir parçası olup, bunların yaklaşık % 70'i serbest formda bulunur ve % 30'u ise proteinlere (özellikle albumin), fosfat, sitrat gibi kompleks oluşturalara bağlı durumdadır.

Hipermagnezemiye en sık, magnezyum tuzları, antiasit veya purgatifler gibi Mg içeren ilaçlar alan ve böbrek hastalığı olan kişilerde rastlanır. Hipomagnezeminin ise en çok bilinen nedenleri, yetersiz alım (dengesiz beslenme, ve magnezyum miktarı düşük olan suların içilmesi), artan ihtiyaç (büyüme, hamilelik, emzirme, yoğun zihinsel faaliyetler, alkol tüketimi) ve intestinal emilim bozukluğu (malabsorbsiyon, kronik ishal) ve artan atılımdır (kronik diabetes mellitus, poliüri, alkolizm, laksatif kullanımı) (33).

Demir

Besinlerle alınan demir başlıca duodenumun üst kısmında Fe^{+2} formunda emilir. Heme bağlanması için vitamin C aracılığıyla Fe^{+3} formuna indirgenmelidir. Her gün yaklaşık 1 mg demir emilir. Mukoza hücrelerine ulaştıktan sonra, Fe^{+2} iyonları taşıma maddelerine bağlı hale gelir. Demir, plazmaya geçmeden önce seruloplazmin ile Fe^{+3} 'ya yükseltgenir ve bu formda transferine bağlanır. Kanda demir iyonu, transferin-iyonu kompleksleri aracılığıyla taşınır. Serumda demir hemen hemen tamamen transferine bağlıdır. Toplam demir içeriği erkeklerde yaklaşık 3.8 gr, kadınlarda ise 2.3 gr kadardır (34).

Hemoglobinin prostetik grubu protoporfirin IX'un (heme) demir kompleksi olup, burada merkezde bulunan demir atomu oksihemoglobinin bir stabilizatörü olarak görev alır. Ayrıca, peroksidazlar, katalazlar, sitokromlar, Krebs döngüsündeki birçok enzim, monoamin oksidaz gibi çok sayıda enzim, demire ihtiyaç duymaktadır.

Demir ölçümleri, demir eksikliği anemisi, hemokromatozis, hemolitik anemi, hemoglobinopati, kemik iliği yetmezliği gibi hastalıkların tanısı ve takibi için yapılır (35).

UIBC:

Vücutta toplam demir içeriği yaklaşık 3-3,5 gr arasındadır. Bu miktarın yaklaşık 2,5 gr'ı kemik iliğinde eritrositlerin veya prekürsörlerinin içinde bulunur. Plazma sadece yaklaşık 2,5 mg demir içerir. Demir, plazma proteini apotransferine bağlı Fe^{+3} olarak taşınır. Apotransferin- Fe^{+3} kompleksi transferin olarak adlandırılır. Normalde transferinin demir bağlama yerlerinin sadece üçte birini Fe^{+3} doldurur. Bağlanabilecek ek demir miktarı ise doymamış demir bağlama kapasitesidir (UIBC). Serum demiri ve UIBC'nin toplamı toplam demir bağlama kapasitesini (TIBC) temsil eder. TIBC, transferinin bağlayabileceği maksimum demir konsantrasyonu gösterir (36).

Serumda TIBC, demir metabolizması bozukluklarında farklılık göstermektedir. Demir eksikliği anemisinde TIBC yükselir ve transferin saturasyonu % 15 veya daha

düşük bir değere iner. Düşük TIBC değeri ise kronik anemi hastalıklarının, malign tümörlerin ve enfeksiyonların özelliğidir.

Total kolesterol

Kolesterol bir steroid olup, C3 pozisyonunda sekonder bir hidroksil gruba ve 17. karbon atomuna bağlı hidrokarbon yan zincire sahiptir. Özellikle karaciğer ve duodenum olmak üzere birçok dokuda asetil CoA'dan sentezlenenebildiği gibi besinlerle de alınabilir. Kolesterolün yaklaşık yüzde 70'i sentezlenirken ve kalan kısmı besinlerden temin edilir (37).

Kolesterol, safra asitleri, D vitamini ve steroid hormonların sentezinde kullanılır. Ayrıca hücre zarının yapısında da yer alır.

Kolesterol testleri, aterosklerotik riskin taramasında ve yüksek kolesterol seviyeleri ile ilişkili bozuklukların ve lipoprotein metabolik bozuklukların tanı ve tedavisinde kullanılır.

HDL-kolesterol

HDL-kolesterol'ün, % 50'si protein, % 30'u fosfolipid ve % 20'si kolesteroldür. HDL-kolesterol'ün oluşumu sırasında kullanılan fosfolipid ve serbest kolesterol, şilomikron ve VLDL-kolesterolün lipoprotein lipaz enzimi ile lipolizi sırasında açığa çıkan yüzey tabakasından sağlanır (37). HDL'nin serbest kolesterolü dokulardan almasında konsantrasyon gradienti etkilidir (38).

HDL kolesterolün lipid metabolizmasındaki ana rolü kolesterolün, ters kolesterol nakli (önerilen bir kardiyoprotektif mekanizma) olarak bilinen bir işlem vasıtasıyla periferik dokulardan alınıp karaciğere taşınmasıdır. Düşük HDL kolesterol düzeyleri büyük oranda yüksek bir koroner kalp hastalığı riskiyle ilişkilidir (37). Bu yüzden, serum HDL kolesterolünün belirlenmesi yüksek riskli hastaların tanımlanmasında kullanışlı bir araçtır.

Trigliserid

Trigliseridler, 3 uzun zincirli yağ asidi olan trihidrik alkolün esterleridir. Trigliseridlerin lipaz ile hidrolizi sonucu ortaya çıkan yağ asitleri enerji kaynağı olarak ya da enerji depolamada kullanılır. Trigliseridlerin yapısında bulunan yağ asidi zincirleri uzunluk ve doygunluk açısından değişkenlik gösterebilirler (39).

Trigliseridlerin büyük bir kısmı karaciğer ve yağ dokusunda sentezlenirken ve dışarıdan besinlerle de temin edilebilir. Diyetle alınan trigliseridler absorbe edildikten sonra, şilomikronlara dönüştürülüp intestinal lenf yollarına ve oradan da torasik kanal yoluyla sistemik dolaşıma geçerler (40).

Normalde plazmanın şilomikron trigliseridlerinden 12 saat içinde temizlenmesi gerekir, bu nedenle açlık plazmasında gerçekleştirilen ölçümler endojen trigliserid düzeyini gösterir (38).

Trigliseridlerin tayin edilmesi diabetes mellitus, nefroz, karaciğer tıkanıklığı, lipid metabolizması bozuklukları ve diğer birçok endokrin hastalıkların tanısı ve tedavisinde kullanılır.

Amilaz

Amilaz enzimi; pankreas ve tükürük bezlerinde sentezlenen, nişastayı disakkarit olan maltoza hidroliz eden enzimdir. α -amilaz insanda pankreas ve tükürük bezlerinde salgılanır ve bir kısmı kana geçer ve idrarla atılır.

Normal kişilerde bulunan serum amilazının başlıca kaynağı, tükürük bezidir (% 50-60). Artmış serum amilaz aktivitesinin başlıca kaynağı ise pankreastır. Serum amilaz aktivitesi, normal üst değerinin 10 katından fazla artmışsa bu akut pankreatit için diagnostiktir (41). Akut pankreatitte serum amilaz aktivitesi, 2-12 saatte artar. 12-72 saatte normalin 5-10 katına ulaşarak maksimum olur. 3-4 günde normal değerlere iner. Akut pankreatit için sensitivitesi yaklaşık % 75-92, spesifisitesi ise yaklaşık % 20-60'dır. Akut pankreatit atağından 10 gün sonra bile hala serumda yüksek düzeyde amilaz aktivitesi saptanıyorsa pankreas absesi veya pankreatik psödokist oluşumu gibi komplikasyonlar akla gelir (42).

Amilaz tayininin pankreas dokusuna özgünlüğü zayıftır. Pankreas dışında tükrük bezi, meme, akciğer, karaciğer, ince barsak ve over gibi organlarda da amilaz bulunmaktadır. Akut pankreatit dışında, pankreas kanserinde, tükrük bezi hastalıkları (enfeksiyon, alkolizm, radyasyon, kanser), kronik böbrek ve karaciğer hastalıkları, birçok sindirim sistemi hastalığında (akut kolesistit, koledok taşı, intestinal obstruksiyon, akut apandisit...), diyabetik ketoasidoz, akciğer hastalıklarında (pnömoni, pulmoner emboli, kanser), jinekolojik hastalıklar (over tümörleri, ektopik gebelik) ve makroamilazemi gibi durumlarda serum amilaz enzim aktivitesi yükselebilir (43).

Lipaz

Lipaz enzimi, trigliseridleri digliseritlere ve yağ asitlerine parçalayan ve pankreas, karaciğer ve mideden de salgılanan bir enzimdir. Pankreatik lipaz ekzokrin asiner hücreler tarafından salgılanır, salgılandığı anda aktiflenir. Glomerüler filtrasyondan sonra tamamen emilir ve idrardada görülmez (44).

Akut pankreatitli olgularda serum lipaz aktivitesi % 87 oranında artmaktadır. Amilaza göre akut pankreatit için daha spesifiktir. Akut pankreatitte akut evrede amilazın serumda hızla düşmesine karşılık lipaz 10-12 gün yüksek kalır. Bu nedenle klinik tanısı geç konan hastalarda daha yararlı bir parametredir. Lipaz enzim aktivitesi, akut pankreatitten dışında akut kolesistit, peptik ülser perforasyonu ve mezenter emboli gibi hastalıklarda da yükselebilir (44).

2.2. Hormon Parametreleri

TSH

Ön hipofiz bezinden sentezlenen TSH, tiroit bezinin başlıca düzenleyicisidir. TSH sentezini ve salgılanmasını, hipotalamustan sentezlenen tirotropin serbestleyen hormon (TRH) kontrol eder. TSH ise tiroit hormonları olan triiyodotironinin (T₃) ve tiroksin (T₄) salınımını düzenler. Hipotalamus tarafından izlenen, T₃ ve T₄ tiroit

hormonlarının dolaşımdaki konsantrasyonlarına karşı duyarlı negatif bir geribildirim mekanizması mevcuttur. Kolektif olarak, bu sisteme hipotalamo-hipofizeal-tiroit aksı adı verilir. Bu eksenin işlevinde meydana gelen bir değişiklik, dolaşımdaki T₃ ve T₄ seviyelerini etkileyebilir (45, 46).

TSH, membrandaki reseptörüne bağlanarak ve adenilat siklazı etkinleştirerek, tiroit bezindeki birçok sayıda metabolik prosesi etkileyerek T₃ ve T₄ sentezinin ve salımının artmasını ve tiroit bezinin fiziksel ve işlevsel bütünlüğünün sürdürülmesini sağlar (46).

TSH ölçümü başlıca, tiroit durumunu değerlendirmek için yapılır. Hipotalamik hipofiz işlevi sağlam olan hastalarda TSH ölçümü şunlar için yapılır: 1) hipotiroidizm (yüksek TSH seviyeleri) veya hipertiroidizmi (baskılanmış veya tespit edilemez TSH seviyeleri) dışlamak; 2) temel hipotiroidizmde T₄ replasman tedavisini veya hipertiroidizmde antitiroit tedavisini izlemek; 3) “soğuk nodüllerde” ve toksik olmayan guatrda uyarıcı TSH etkisinin T₄ supresyonunu izlemek; ve 4) TRH uyarma testine verilen yanıtı değerlendirmede 5) subklinik veya gizli hipotiroidizm veya hipertiroidizmi tespit etmede (47).

Serbest T₃ ve T₄:

T₃, biyolojik etkinliğe sahip başlıca tiroit hormonudur. Dolaşımdaki T₃'ün yaklaşık % 80'i tiroksinin periferik deiyodinasyonundan oluşur ve %20'si doğrudan tiroit bezinden salgılanır. Dolaşıma taşınan T₄ ve T₃ hormonları tiroksin bağlayıcı globüline (TBG), tiroksin bağlayıcı prealbumine (TPBA) ve albumine bağlanır. Dolaşımdaki Total T₃'ün yaklaşık % 0,2 ile 0,4'ü bağlanmamış veya serbest halde iken, total T₄'te ise bu oran % 0,03'tür. Bu hormonların serbest formları işlevsel tiroit fonksiyonlarıyla ilişkilidir (48).

Serbest T₄ ve T₃, vücut sıcaklığını sürdürerek ve kalorijenezi uyararak normal büyüme ve gelişimi düzenler. Ayrıca, serbest T₄ ve serbest T₃, karbonhidrat metabolizmasının tüm yönlerini, aynı zamanda lipit ve vitamin metabolizmasının bazı yönlerini etkiler. Fetal ve neonatal gelişim aynı zamanda tiroit hormonlarına gereksinim duyar (48).

Tiroit bağlayıcı proteinlerin seviyesi normalken, serbest T₃ seviyeleri total T₃ ile ilişkilidir. Özellikle değişen TBG veya düşük albumin konsantrasyonları söz konusu iken tiroit hormonu bağlanma proteinlerindeki değişiklikler nedeniyle total T₃ seviyelerinde değişiklikler oluştuğunda, serbest T₃ seviyelerinin ölçülmesi faydalıdır. Serbest T₃, sadece hipertiroidinin yaklaşık % 5'inde yüksektir (T₃ toksikoz).

Tiroid dışı bazı hastalıklar da, anormal serbest T₃ ve T₄ seviyelerine neden olabilir ve bu hastalarda tiroit durumunun belirlenmesi dikkatle yorumlanmalıdır. Örneğin antikonvülzan ilaç (özellikle fenitoin) tedavisi, hepatik metabolizmanın hızlanmasına neden olarak serbest T₃ seviyelerinin azalmasına yol açar (49). Salisilat ve fenilbutazon gibi anti enflamatuvar ilaçlar da hormon bağlanma bölgeleri için yarıdır (50).

Net olarak artan serbest T₃ ve T₄ seviyeleri hipertiroidizm teşhisinin klinik bulgularını desteklerken, uygun klinik bulgularla birlikte açıkça düşük olan serbest T₃ ve T₄ seviyeleri de hipotiroidizm teşhisini koyabilir. Diğer tiroit testleri ve klinik bulgularla birlikte serbest T₃ ve T₄ seviyelerinin ölçümü, sınır hipertiroit ve hipotiroit teşhislerini belirleyebilir.

FSH ve LH

FSH, alfa ve beta olmak üzere farklı iki glikoprotein alt ünitesinden oluşur. Alfa alt ünitesi FSH, HCG (İnsan Koryonik Gonadotropin Hormonu), LH, ve TSH glikoproteinlerinde benzer yapıdadır. İmmünolojik ve fizyolojik özgülüğü sağlayan, bu glikoproteinlerin beta alt ünitesinin farklılıklarıdır (51).

FSH ve LH, hipofiz bezinin ön lobundaki gonadotropik hücreler tarafından medial bazal hipotalamustan gonadotropin salgılatıcı hormona (GnRH) cevaben pulsatil şekilde salınır ama muhtemelen bu durum dolaşımdaki FSH yarı ömrü daha uzun olduğundan FSH için daha az belirgindir (51).

Kadınlarda FSH, folikül büyümesini uyarır. Folikül gelişirken (FSH'a yanıt olarak) estradiol üretimi artar ve bunun sonucunda pozitif feedback ile GnRH üretiminde bir artış görülür. GnRH artışı LH'de bir preovulatuvar (döngü ortası) artışa

ve ovülasyona neden olur (52). Ovülasyon sonrasında FSH ve LH, rüptür olmuş folikülü bir korpus luteuma dönüştürürler ve luteal hücrelere progesteron salgılatırlar (53). Normal bir menstrual döngüde estradiolün negatif geri bildirim foliküler fazda LH sekresyonunu baskılar. Bu artış sonrasında LH, progesteron ve estradiolün negatif geri bildirim nedeniyle luteal fazda baskılanır (52, 53).

Erkeklerde FSH, testisin seminiferöz tübüllerinde bulunan Sertoli hücrelerindeki reseptörler aracılığıyla spermatogenezi uyarır. LH ise genellikle testisin Leydig hücrelerinde testosteron üretimini uyarır (54).

Menopozlu kadınlarda FSH ve LH seviyesi, over estrogenleri ve progesteronların üretimindeki azalması sonucu hipofiz üzerindeki negatif geri bildirim ortadan kalkması sonucu yükselir. Bunun sonucunda ovülasyon ve menstrual döngüler azalır ve zamanla ortadan kalkar (55).

LH ve FSH düzeyleri klinisyenler tarafından sıklıkla prematür over yetmezliği, menopoz, ovülasyon bozuklukları ve pitüiter yetmezlik gibi menstrual, fertilitéyle ilgili ve pubertal gelişimsel bozuklukların araştırılması sırasında istenir. LH/FSH oranı polikistik over hastalığı tanısına yardımcı olarak kullanılmıştır. Düşük LH ve FSH konsantrasyonları pitüiter yetmezlik düşündürürken azalmış gonadal steroid değerleriyle birlikte artmış LH ve FSH değerleri gonad yetmezliğine (menopoz, oofektomi, prematür over sendromu, Turner Sendromu) işaret edebilir (56). Oral steroid tabanlı kontraseptif kullanan kadınlarda genellikle düşük gonadotropin düzeyleri görülür.

Erkeklerde düşük gonadal steroid konsantrasyonlarıyla birlikte artmış LH ve FSH testis yetmezliği veya anorşiye işaret edebilir. Klinefelter sendromunda LH Sertoli hücresi yetmezliği nedeniyle artabilir (57).

E2

Estradiol, (17 β - estradiol, 1,3,5 (10) - Estratrien - 3,17 β - diol) 18 karbonlu doğal bir estrojendir. Plazmada bulunan estradiolün büyük kısmı proteine bağlıdır; sadece % 1-3'ünün serbest haldedir.

Hamile olmayan kadınlarda estradiol, overler ve korpus luteum tarafından salgılanır. Adrenal bezlerden ve testislerden de (erkeklerde) çok düşük miktarlarda estradiol salgılanmaktadır (58). Estradiol seviyelerinin en düşük olduğu zamanlar adet dönemi ve erken foliküler fazdır ve geç foliküler fazda artıp LH (insan Lüteinize Edici Hormonu) artışından hemen önceki tepe değerine ulaşır ve ovülasyonu başlatır (52). LH düzeyi tepe noktasına ulaştıkça estradiol düzeyleri azalır ve luteal fazda tekrar artar. Endometriyal büyüme fertilize bir yumurtanın implantasyonuna hazırlık olarak estradiol ve progesteron (korpus luteum tarafından salınır) tarafından uyarılır. Konsepsiyon gerçekleşmezse korpus luteumun estradiol ve progesteron sekresyonu azalır ve adet başlar (59).

Estradiol düzeyleri ovulasyon durumunu izlemek için kullanılır. Estradiol düzeyleri folikül maturasyonunu gösterdiğinden cinsel gelişme, amenore etiyojisi, infertilite nedenleri ve menopozun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (56). Erkeklerde ise yüksek estradiol seviyesi, jinekomasti gibi feminize edici sendromlar düşündürür (57).

Prolaktin:

Prolaktin (PRL), hipofizin ön hücrelerinden salınan tek zincirli bir polipeptitten oluşan bir hormondur. Prolaktin sekresyonu hipotalamus tarafından temel olarak prolaktin inhibe edici faktör (dopamin) ve prolaktin salan faktör (serotonin) salınımıyla kontrol edilir. Ayrıca Tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) da PRL sekresyonunu uyarmaktadır (60).

PRL'nin primer fonksiyonu kadınlarda laktasyonu uyarmak ve sürdürmektir. Normal PRL sekresyonu zamana göre değişir ve serum PRL düzeyleri gece gündüze göre 2-3 kat yüksektir (60). PRL'nin yarı ömrü yaklaşık 20-50 dakikadır. Menstrual döngü sırasında serum PRL düzeyleri değişkendir ve sıklıkla döngü ortasında hafif yükselme gösterir (60). Normal bireylerde prolaktin düzeyleri şunlar dahil fizyolojik uyaranlara cevaben yükselme eğilimindedir: uyku, egzersiz, göğüs uçlarının uyarılması, cinsel ilişki, hipoglisemi, hamilelik ve cerrahi stress (61).

Prolaktin ön hipofiz tarafından salınır ve kadınlarda normal meme gelişimi ve laktasyon için gereklidir (62). Yükselmiş prolaktin düzeyleri hamileliğin sekizinci haftasında saptanabilir ve gestasyon süresince artmaya devam eder. Emzirilmezse PRL düzeyleri doğumdan üç hafta sonra normale döner (62). Anormal derecede yüksek PRL düzeyleri sıklıkla kadın infertilitesi, erkeklerde impotans ve infertilite, primer hipotiroidi ve hipofiz tümörleriyle ilişkilidir (62).

Prolaktin eksiklikleri normal bireylerde nadirdir. Prolaktinin yükseldiği patolojik durumlar ise, PRL salgılayan hipofiz adenomları (prolaktinomalar), hipotalamusun fonksiyonel ve organik hastalıkları, hipotiroidi, böbrek yetmezliği ve ektopik tümörlerdir (63). Primer hipotiroid vakalarında artmış TRH sekresyonu (PRL salınımını uyarır) azalmış serum T₄ düzeyleri ve artmış serum tiroid stimüle edici hormon konsantrasyonlarıyla birlikte artmış PRL düzeyleri görülebilir (63). Hiperprolaktinemi ovaryen steroidogenez folikül olgunlaşması ve lüteinize edici hormon ve folikül stimüle edici hormon sekresyonu ile de ilgili bulunmuştur (64).

Çeşitli ilaçların PRL düzeylerini arttırdığı veya azalttığı gösterilmiştir, psikotropik ilaçlar (fenotiazinler), antihipertansif ilaçlar (reserpin) ve östrojen tedavisi, PRL sekresyonunu arttırıcı etki yaparken; L-dopa ve bromokriptin, PRL sekresyonunu baskılayıcı etki yaparlar (64).

Vitamin B12

B12 Vitamini, kobalamin olarak adlandırılan gruptaki maddelerden her birine verilen isimdir. Bunlar merkezi bir kobalt atomunu çevreleyen tetrapireol halkasından oluşur ve kobalt atomuna bağlı yan gruplar açısından farklılık gösterir. Serumdaki hakim formu metilkobalamin, hücrelerdeki hakim formu ise 5' deoksiadenosilkobalamindir. Siyanokobalamin en sabit olanıdır ve serum kobalamin konsantrasyonlarını ölçmek için bir referans bileşiği olarak kullanılır (65).

Kobalaminler et, yumurta, süt ve diğer süt ürünleri gibi hayvan ürünlerinden elde edilir. Sindirildiğinde, mide suyundaki intrinsik faktör adı verilen bir protein tarafından bağlanır ve daha sonra ileumda absorbe edilir. İntrinsik faktör absorpsiyon için gereklidir. Dolaşıma dahil olduktan sonra, kobalaminler karaciğere alınır ve

burada depolanır. Gerektiğinde, B12 bağlayıcı proteinlerle (transkobalaminler) taşındıkları yer olan plazmaya salgılanırlar (65).

B12 vitamini, normal hücre büyümesi ve DNA sentezi için hayati önem taşıyan iki çok önemli metabolik işleve dahil olan bir koenzimdir. Bu işlevler: 1) metiyonin sentezi ve 2) metilmalonil CoA'nın süksinil CoA'ya dönüştürülmesidir. Bu vitaminin eksikliği megaloblastik anemiye ve sonuç olarak ağır nörolojik problemlere yol açabilir (66). Megaloblastik anemi, kemik iliği hücreleri de dahil olmak üzere vücudun hızlı çoğalan tüm hücrelerinin sayısındaki artış ve azalma ile karakterize edilir ve temel olarak DNA sentezi kapasitesinin azalmasının sonucudur. B12 vitamini ve folik asit, metiyonin sentezinin reaksiyon yolu ile birbirine bağlandığından, herhangi birindeki eksiklik bu metabolik yolu bozar ve aynı semptomlara ve tıbbi problemlere neden olur.

B12 vitamini eksikliğinin birden fazla nedeni olabilir (66). En yaygın nedeni, besinlerden B12 absorpsiyonunun yetersiz olmasından kaynaklanan intrinsik faktör sekresyonundaki bozukluktur. Bu rahatsızlık pernisiyöz anemi olarak adlandırılır ve en çok 50 yaşın üzerindeki kişilerde yaygındır (66). B12 vitamini eksikliğinin diğer nedenleri gastrektomi, cerrahi rezeksiyonlara bağlı absorpsiyon bozukluğu ve ince bağırsağı etkileyen çeşitli bakteriyel ve enflamatuar hastalıklardır (65). Yetersiz beslenmeye bağlı B12 vitamini eksikliği nadir görülür ve ancak vejeteryanlık sonucunda meydana gelir. Artan B12 seviyesinin tek başına klinik problemlere neden olduğu bilinmemektedir.

Folat

Folat, normal hücre büyümesi ve DNA sentezi için çok önemli olan temel bir vitamindir. Koyu renk yapraklı bitkiler, turunçgiller, maya, fasulye, yumurta ve süt gibi çok çeşitli besinlerde bulunur.

İnce bağırsak tarafından emilir ve karaciğerde depolanır. Folat eksikliği megaloblastik anemiye ve sonuç olarak ağır nörolojik problemlere yol açabilir (66).

Folat eksikliğine yetersiz beslenme, folat absorpsiyon bozukluğu veya aşırı folat kullanımı yol açabilir. Aşırı kullanım hamilelik sırasında çok yaygın oluşur.

Alkolizm, hepatit veya karaciğere zarar veren diğer hastalıklar da aşırı folat kullanımına neden olur (66). Serum ve kırmızı kan hücrelerinde bulunan folat seviyeleri folat durumunu değerlendirmek için kullanılır. Serum folat seviyesi yakın zamandaki folat alımının göstergesidir. Kırmızı kan hücresindeki (RBC) folat, uzun vadeli folat deposunun en iyi göstergesidir. Düşük RBC folat değeri uzun süreli folat eksikliğine işaret ediyor olabilir.

PTH

Parathormon (PTH), paratiroid bezlerinin esas hücreleri tarafından sentezlenir ve sekretuar granüllerde depolanır. Hızlı proteolize uğrar. Dolaşımdaki intakt ve biyolojik açıdan aktif formunun yarı ömrü 5 dakikadan azdır (67).

PTH, kalsiyum homeostazının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Sağlıklı bireylerde PTH sekresyonu, plazmada iyonize kalsiyum konsantrasyonundaki küçük değişikliklere saniyeler içinde yanıt verir. Düşük iyonize kalsiyum konsantrasyonları PTH sekresyonunu tetiklerken, artmış iyonize kalsiyum düzeyleri ise PTH sekresyonunu negatif bir geribildirim mekanizmasıyla baskılar.

PTH, kalsiyum düzeylerini üç temel organ üzerindeki ortak etkiyle düzenler: kemik, bağırsak mukozası ve böbrekler. PTH'nin bağırsaktaki kalsiyuma olan etkisi dolaylıdır ve bağırsakta aktif D vitamini metaboliti olan 1,25-dihidroksivitamin D'nin renal üretimine yol açar. Böbreklerde PTH kalsiyum reabsorpsiyonunu ve renal tübüllerden fosfat reabsorpsiyonunun inhibisyonunu tetikler. Son olarak PTH osteoklastik kemik resorpsiyonunu ve kemikten kalsiyum ve fosfat salımını teşvik eder (68).

Hiperkalsemide, primer hiperparatiroidizm veya ektopik PTH sekresyonu (pseudo hiperparatiroidizm) nedeniyle, hastaların çoğu yüksek PTH seviyelerine sahiptir. Buna karşılık hiperkalsemide, malignans veya diğer nedenlere bağlı olarak, dolaşımdaki PTH konsantrasyonu genellikle düşüktür (sağlıklı bireylerde referans aralığının alt sınırının altında veya buna yakın) (69).

İkincil hiperparatiroidizm, hipokalsemi veya periferal PTH direncinin neden olduğu, paratiroid bezlerin kompansatuar hiperfonksiyonudur. Genellikle böbrek yetmezliğinden kaynaklanır ve PTH seviyelerinin yükselmesine neden olur (68).

Hipoparatiroidizimin en sık bilinen nedenleri ise konjenital hipoparatiroidizmi, paratiroidektomi veya tiroidektomi ameliyatı sonucu paratiroid bezlerinin çıkarılması ve konjenital hipoparatiroidizmidir (68).

PSA

PSA, normalde prostat bezinin keseciklerinin ve kanallarını kaplayan epitelyal hücrelerin sitoplazmasında bulunan tek zincirli bir glikoproteindir. PSA, normal, benign hipertrofik ve malign prostat dokusuna sahip erkeklerin serumunda bulunur. Prostat dokusu bulunmayan erkeklerde (radikal prostatektomili) ve kadınlarda bulunmadığı için prostat kanserinin takibinde önemli bir tumor marker olarak kabul edilir (70).

Prostat kanseri, erkeklerde en çok görülen kanser tipidir (71). Prostat kanseri hastaların yönetiminde kullanıldığında, radikal prostatektominin ardından rezidüel tümör ve yineleyen kanser tespitinde seri PSA ölçümü faydalıdır (72). Prostatik asit fosfataz (PAP) ve karsinoembriyonik antijen (CEA) gibi diğer biyokimyasal markerlar hastalığın izlenmesinde yeterli özgüllükten yoksundur ve erken evre prostat kanserinin tespitine uygun değildir.

Yüksek serum PSA konsantrasyonu, prostat kanseri varlığını, ancak biyopsi gerçekleştirilene kadar gösterebilir. Prostat ya da diğer bitişik dokulardaki benign prostatik hipertropi veya enflamatuar durumlarda serum PSA konsantrasyonları da yüksek olabilir.

25 hidroksi Vitamin D

D vitamini, yağda çözünebilen ve diyetle alınan bir vitamin olmakla birlikte, aynı zamanda vücutta sentezlenip, hedef dokuda etki göstermesi için dolaşım sistemine salınan hormon olarak da görev yapan bir grup steroldür.

D vitamini siklopentanoperhidrofenantren halkasından sentezlenir ve steroidlere benzer yapıdadır (73). D vitamininin bitkilerde bulunan ergokalsiferol (vitamin D₂- 25-(OH) D₂) ve hayvanlarda bulunan kolekalsiferol (vitamin D₃- 25-(OH) D₃) olmak üzere iki formu vardır. Ergokalsiferol, kolekalsiferolden farklı olarak fazladan bir metil grubu ve çift bağ içerir.

Vücudun ihtiyacı olan D vitaminin % 10'luk kısmı besinlerden karşılanırken, % 90'ı ise vücutta sentezlenir (72). Karaciğer sentez edilen kolesterol, oksitlenmiş formu olan 7-dehidroksikolesterol (7-DHC), derinin malpighi tabakasında güneş ışınlarındaki 290-315 nm dalga boyundaki mor ötesi ışınlarının etkisi ile kolekalsiferole (provitamin D₃) dönüştürülür. Yetersiz güneş ışığı alan kişilerde bu dönüşüm gerçekleşmeyeceği için D vitamini, besinlerle takviye edilmelidir.

Bitkisel besinlerden alınan D₂ vitamini ve hayvansal besinlerden alınan D₃ vitamini ince barsaklardan safra asitlerinin yardımıyla absorbe edilir (74). Deride yapılan D₃ vitamini ise D vitamini Bağlayıcı Protein (DBP)'e bağlanarak karaciğere taşınır. Gerek ince bağırsaklardan emilen, gerekse deride sentezlenen D vitamini karaciğere geldikten sonra metabolizmaları aynıdır.

Karaciğere gelen vitamin D₂ ve vitamin D₃, 25-hidroksilaz enzimi tarafından 25-hidroksiergokalsiferole (25-(OH) D₂) veya 25 hidroksikolekalsiferole (25-(OH) D₃) dönüştürülür. Reaksiyon sonucu oluşan 25-hidroksikolekalsiferol plazmada en baskın D vitamini olup serum vitamin D düzeylerini gösteren bir marker olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte serum 25(OH) vitamin D düzeyleri genellikle 25-(OH) D₂ ve 25-(OH) D₃ düzeylerinin ikisini de yansıtmaktadır. Karaciğerde üretilen 25-(OH) D₃, dolaşım sisteminde D vitamini bağlayıcı globilini aracılığıyla böbrek proksimal tübüllerine taşınır ve burada mitokondride bulunan 1- α -hidroksilaz enzimi yardımıyla 1-25-(OH)₂ D₃'e (kalsitriol) dönüştürülür. 1-25-(OH)₂ D₃, vitamin D'nin ve vücutta fizyolojik görevleri üstlenen aktif formudur. 1-25-(OH)₂ D₃ sentezi serum kalsiyum ve fosfor düzeyiyle sıkı şekilde düzenlenir. 1-hidroksilaz aktivitesi, düşük plazma fosfatı ile doğrudan ve paratiroid hormon (PTH) salınımını tetikleyen düşük plazma kalsiyumu ile dolaylı olarak yükselir. Yine diyetle yetersiz miktarda kalsiyum alımına bağlı olarak gelişen de hipokalsemi de 1- α -hidroksilaz

enzimi aktivitesini artırır. Reaksiyonun ürünü olan aşırı 1-25-(OH)₂ D₃ de 1- α hidroksilaz aktivitesini negative feedback etkisi ile azaltmaktadır (75).

1-25-(OH)₂ D₃, etki göstereceği hücrenin içine girerek sitozolde vitamin D reseptörüne (VDR) bağlanır. Daha sonra 1-25-(OH)₂ D₃ reseptör kompleksi, seçici olarak çekirdeğe giderek hücresel DNA ile etkileşir ve etkisini bu şekilde gösterir. VDR'leri barsak, böbrek ve kemik dışında cilt, beyin, hipofiz, paratiroid bezi, pankreas beta hücreleri, meme, iskelet kası, dolaşımdaki monositler ve aktif T ve B lenfositlerde de bulunmaktadır. Bu dokularda aynı zamanda 1- α-hidroksilaz aktivitesi de görüldüğü gösterilmiştir (76).

1-α-Hidroksilasyon basamağı kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesi için ana kontrol noktasıdır. Vitamin D'nin kalsiyum metabolizmasındaki görevlerinin yanı sıra kan basıncı regülasyonu, insülin sekresyonunun kontrolü, immünmodülatör etkileri, gibi görevleri de bulunmaktadır (77).

3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışma Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Nisan 2017- Mayıs 2017 tarihleri arasında 18-50 yaşları arasında 11 erkek 6 bayan olmak üzere 17 gönüllü ile yapılmıştır. Akut bir enfeksiyonu olanlar, daha önceden tanı konulmuş malignitesi ya da Diabetes Mellitus, Romatoid Artrit benzeri kronik bir hastalığı olanlar, Vücut Kütle İndeksi 30'dan büyük olanlar ve gebe olan ya da emziren kadınlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmada bakılacak parametrelerin gün içindeki değişimleri incelendiği için kadınların menstruasyon döngüsü dikkate alınmamıştır.

Gönüllülerden saat 09.00, 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00'de 2'şer adet BD marka vakumlu ve jelli 8.5 ml'lik tüpe ve 1'er adet de BD marka K² EDTA'lı (BD Vacutainer Systems, Becton- Dickinson, Plymouth, UK) 4 ml'lik tüpe kan alındı. Alınan kanlardan K² EDTA'lı tüpler hemen, jelli tüpler kan örneğinin pıhtılaşması için yarım saat bekletildikten sonra, 10 dk 4000 rpm'de santrifüj edildive serum ve plazma örnekleri eppendorf tüplere ayrıldı. Örnekler, tüpler, çalışma anına kadar derin dondurucuda -20°C'de saklandı. Hemolizli ve lipemik numuneler çalışmaya dahil edilmedi.

Referans aralıkları için sabah saatlerinde ve açlık durumunda kan verilmesi önerildiği için saat 09.00'da alınan kan örnekleri başlangıç- referans numune olarak kabul edildi ve saat 12.00, 15.00, 18.00, 24.00'de alınan numuneler başlangıç numuneyle karşılaştırılarak diüurnal varyasyon açısından değerlendirildi.

Gönüllüler saat 09.00'da standart kahvaltılarını yapmış, saat 12.00 ve 18.00'da öğle ve akşam yemeklerini yemişlerdir. Kahvaltı yaklaşık 750 kcal idi. Öğle ve akşam yemekleri ortalama 826 kcal idi ve enerjinin yaklaşık % 44.'ü karbonhidratlardan, % 39'u yağlardan % 17.0'i proteinlerden, gelmekteydi. Gönüllülerden saat 09.00, 12.00 ve 18.00'de alınan kanlar, yemekten önce alındı.

Alınan serumlardan 25 adet rutin parametresi, 11 adet hormon parametresi çalışılırken, elde edilen plazmalardan da 25 hidroksi Vitamin D düzeyi çalışılmıştır.



3.1. Rutin Biyokimya, Hormon ve 25 hidroksi Vitamin D Testleri Ölçüm Prensipleri

Çalışmamızda yer alan 23 rutin biyokimya testi Abbott cihazında, 12 hormon parametresi ADVIA Centaur CP (Siemens) cihazında ve 25-hidroksi Vitamin D testi ise Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 cihazında çalışıldı. Bu testlerin ölçüm prensipleri şu şekildedir:

3.1.1. Rutin Biyokimya Testleri Ölçüm Prensipleri

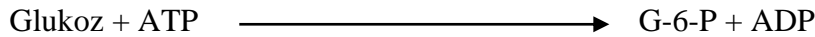
Glukoz Ölçüm Prensipleri

Enzimatik heksokinaz referans yöntemi esasına göre çalışıldı (78).

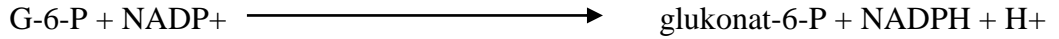
Hekzokinaz yöntemi iki basamakta gerçekleşmektedir. İlk basamakta Hekzokinaz glukozun glukoz-6-fosfata ATP ile fosforilasyonunu katalize eder.

İkinci basamakta ise glukoz-6- fosfat, Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz enzimi aracılığıyla glukonat-6-fosfata dönüşürken ortamda NADP, NADPH'a indirgenir.

Hekzokinaz



Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz



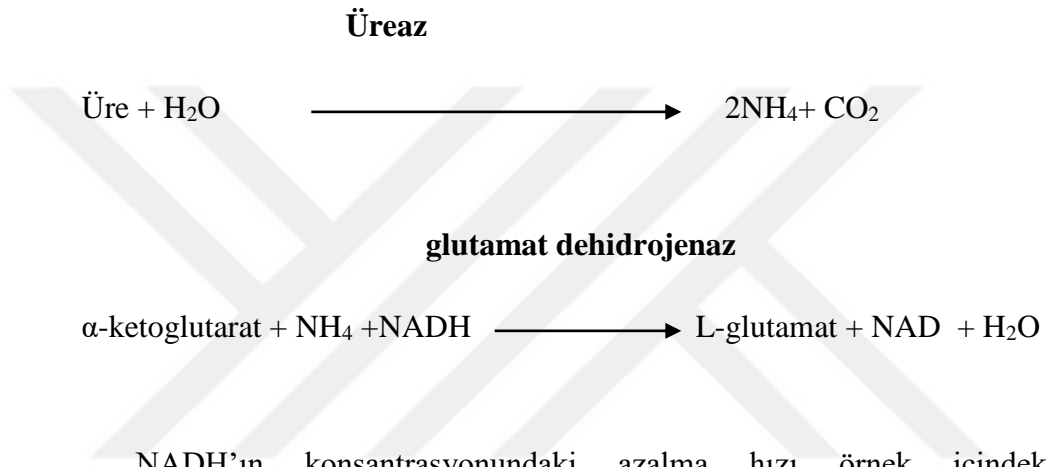
Reaksiyon sırasında oluşan NADPH'a bağlı olarak absorbansta meydana gelen artış, glukoz konsantrasyonu ile doğrudan orantılıdır. Absorbans değişimi spektrofotometrik yöntemle 340'nm'de, mg/dL olarak ölçülür.

(Kabul edilen normal değerler: 70-105 mg/dL)

BUN Ölçüm Prensipleri

Enzimatik üreaz yöntemi esasına göre çalışıldı (79).

Reaksiyon iki basamakta gerçekleşmektedir. İlk basamakta üre, üreaz tarafından hidrolize edilir ve amonyum ile karbonat oluşur. İkinci reaksiyonda ise amonyum (NH_4), ortamda glutamat dehidrojenaz ve koenzim NADH bulunduğunda 2-oksoglutarat ile reaksiyona girip L-glutamat oluşturur. Bu reaksiyonda hidrolize edilen her mol üre, iki mol NADH NAD^+ 'ya yükseltgenir.



NADH'nin konsantrasyonundaki azalma hızı örnek içindeki üre konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve azalan absorbanstaki değişim spektrofotometrik yöntemle 340 nm'de mg/dL olarak ölçülür.

(Kabul edilen normal değerler: Erkek: 8.9-20.6 mg/dL)

Kadın: 7-18.7 mg/dL

Kreatinin Ölçüm Prensipleri:

Kinetik kolorimetrik Jaffé yöntemi kullanılarak çalışılmıştır (80).

Alkalin ortamda kreatinin, pikrat ile sarı-kırmızı renkte bileşik oluşturur. Oluşan rengin yoğunluğu örnek içindeki kreatinin konsantrasyonu ile orantılıdır. Oluşan renkli komplekse bağlı olarak absorbansta meydana gelen artış, spektrofotometrik yöntemle 500 nm dalga boyunda, mg/dL olarak ölçülür.

(Kabul edilen normal değerler: Erkek: 0.7-1.3 mg/dL)

Kadın: 0.6-1.1 mg/dL

Kreatinin + pikrik asit \longrightarrow sarı-turuncu kompleks

AST Ölçüm Prensi:

IFCC, pridoksal fosfatsız AST aktivasyonu esasına göre çalışıldı (81,82).

Reaksiyon iki basamakta gerçekleşmektedir. İlk basamakta numune içindeki AST enzimi L-aspartat ile 2-oksooglutarat arasında bir amino grubunu transfer ederek oksaloasetat ve L-glutamatın oluşturur.

İkinci basamakta oksaloasetat, malat dehidrojenaz varlığında NADH ile reaksiyona girerek L-malat ve NAD^+ 'ın oluşmasını sağlar. NADH'in NAD^+ 'a yükseltgenme hızı, AST enziminin aktivitesiyle doğru orantılıdır.

NADH'in absorbanstaki azalma oranı spektrofotometrik yöntemle 340 nm'de U/L olarak ölçülür.

(Kabul edilen normal değerler: 5-34 U/L)

AST

α -ketoglutarat + L-aspartat \longrightarrow L-glutamat + oksaloasetat

malat dehidrojenaz

oksalasetat + NADH + H \longrightarrow malat + NAD

ALT Ölçüm Prensi:

IFCC, pridoksal fosfatsız ALT aktivasyonu esasına göre çalışıldı (81, 82).

ALT L-alanin ile 2- oksoglutarat arasındaki amino grubu transferi reaksiyonunu katalize eder. Oluşan piruvat L-laktat ve NAD^+ 'nın oluştuğu laktat dehidrojenazın (LDH) katalize ettiği bir reaksiyonda NADH tarafından indirgenir.

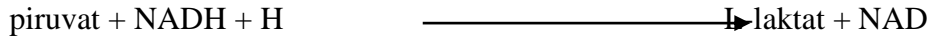
NADH yükseltgenmesinin hızı katalitik ALT aktivitesiyle doğru orantılıdır. Azalan NADH absorbansı spektrofotometrik yöntemle 340nm’de U/L olarak okunur.

(Kabul edilen normal değerler: 0-55 U/L)

ALT



piruvat dehidrojenaz



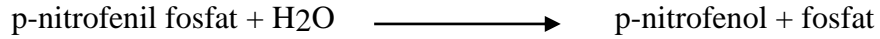
ALP Ölçüm Prensibi:

Kolorimetrik bir yöntem olan IFCC tarafından standartize edilmiş Para-nitrofenil fosfat metoduyla çalışıldı (83).

ALP aktivitesi pH 9.8’de fosfat akseptörü olarak magnezyum iyonlarının ve dietanolaminin varlığında p-Nitrofenil fosfatın (pNPP) p-Nitrofenole (pNP) dönüşme oranını ölçmek suretiyle belirlenmektedir. pNP oluşma hızına bağlı olarak 404 nm’de meydana gelen absorbans artışı spektrofotometrik yöntemle U/L olarak ölçülür. Absorbans artışı, numunedeki ALP aktivitesi ile doğru orantılıdır.

(Kabul edilen normal değerler: 40-150 U/L)

ALP



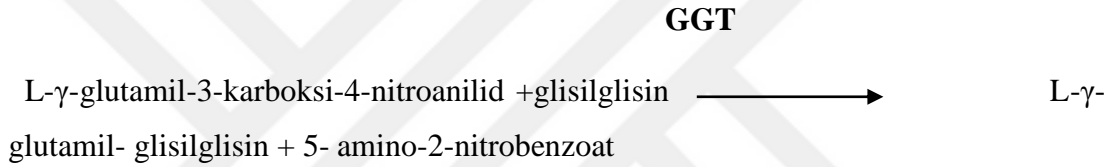
GGT Ölçüm Prensibi:

Kolorimetrik yöntemle ölçülmüştür (84).

GGT, L- γ -glutamil-3-karboksi-4-nitroanilidin γ -glutamil grubunu glisilglisine transfer eder. Böylelikle L- γ -glutamil-glisilglisin ve 5- amino-2-nitrobenzoat açığa çıkar. Numune içindeki GGT aktivitesi oluşan 5-amino-2- nitrobenzoat miktarı ile orantılıdır. Spektrofotometrik yöntemle 416 nm'deki absorbanstaki artış saptanarak GGT aktivitesi U/L olarak ölçülür.

(Kabul edilen normal değerler: Erkek: 12- 64 U/L)

Kadın: 9-36 U/L



CK Ölçüm Prensibi:

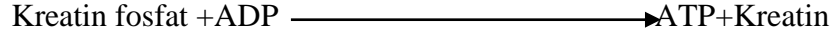
CK ölçümü 3 basamakta gerçekleşmektedir.

İlk basamakta Kreatin kinaz (CK), kreatin fosfattan adenzin difosfata (ADP) fosfat transferini katalizleyerek adenzin trifosfat (ATP) ve kreatin oluşumunu sağlar. Daha sonra elde edilen ATP, heksokinaz enzimi kullanılarak, D- glukozun altıncı karbonundan fosfatlanmasını sağlar ve bu sayede Glukoz-6 fosfat ile ADP oluşur. Üçüncü basamakta ise oluşan glukoz-6 fosfat, glukoz-6 fosfat dehidrojenaz enzimi aracılığıyla NADP^+ 'ın indirgenmesinde kullanılır ve glukonat-6-P ile $\text{NADPH} + \text{H}^+$ açığa çıkarır (85). NADPH oluşum hızı, CK enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır. Absorbanstaki artış 340 nm'de ölçülerek CK aktivitesi U/L olarak tayin edilmiştir.

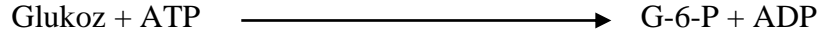
(Kabul edilen normal değerler: Erkek: 30-200 U/L)

Kadın: 29-168 U/L

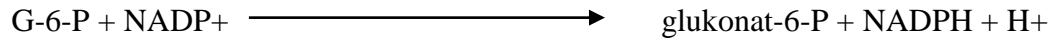
Kreatin kinaz



Hekzokinaz



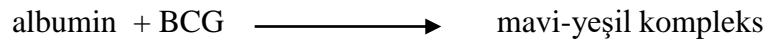
Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz



Albumin Ölçüm Prensibi:

End-point yöntemli kolorimetrik bir metot olan BCG (brom kresol yeşili) metoduna göre çalışıldı (86). Asidik ortamda (pH=4.1), katyonik özellik gösteren albumin, anyonik bir boya olan bromkresol yeşiline bağlandığında mavi-yeşil renkli bir bileşik oluşur. Bu bileşiğin renk yoğunluğu numune içindeki albumin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Absorbanstaki artış spektrofotometrik yöntemle 628 nm'de, g/dL olarak ölçülmüştür.

(Kabul edilen normal değerler: 3.5-5 g/dL)

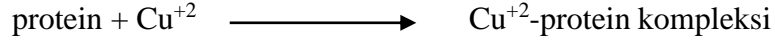


Total Protein Ölçüm Prensibi

Total protein, end-point yöntemli kolorimetrik bir metot olan biüret metodu kullanılarak çalışıldı (87). İki değerlikli bakır iyonu, alkali ortamda peptid bağları ile reaksiyona girerek mor renkli biüre molekülünü oluşturur. Oluşan renk yoğunluğu, numune içindeki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve bu renk yoğunluğuna bağlı olarak meydana gelen absorbanstaki artış spektrofotometrik yöntemle 546 nm'de, g/dL olarak ölçülür.

Reaktifin içinde bulunan sodyum potasyum tartarat, bakır hidroksidin çökmesini önlerken ve potasyum iodid ise bakırın kendiliğinden indirgenmesini engeller.

(Kabul edilen normal değerler: 6.4-8.3 g/dL)



Total Bilirubin Ölçüm Prensi:

Kolorimetrik bir yöntem olan Jendrassik-Grof metodu/diazo metodu esasına göre çalışıldı (88).

İndirekt bilirubin reaktif içeriğindeki deterjanla serbestleştirildikten sonra; elde edilen bilirubin, asidik ortamda diazo reaktifi ile reaksiyona girerek kırmızı renkli azobilirubin boyasını oluşturur. Oluşan renk 548 nm'de spektrofotometrik yöntemle, Renk yoğunluğu, numunedeki total bilirubin konsantrasyonuna orantılıdır.

(Kabul edilen normal değerler: 0.2-1.2 mg/dL)

asidik pH



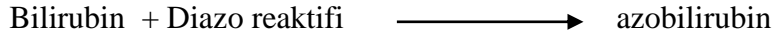
Direkt Bilirubin Ölçüm Prensi:

Kolorimetrik bir yöntem olan Diazo metoduna göre çalışıldı (89).

Konjuge/direkt bilirubin asidik ortamda diazo reaktifi ile doğrudan reaksiyona girerek kırmızı renkli azobilirubin boyasını oluşturur. Oluşan renk 548 nm'de spektrofotometrik yöntemle, Renk yoğunluğu, numunedeki total bilirubin konsantrasyonuna orantılıdır.

(Kabul edilen normal değerler: 0-0.5 mg/dL)

asidik pH



ISE Testleri (Na, K ve Cl) Ölçüm Prensipleri:

İndirekt İyon-Seçici Elektrod (ISE) yöntemine göre çalışıldı. İSE yönteminde, solüsyon içindeki iyonların ölçülmesi amacıyla bir elektrod potansiyeli (EMF) elde etmek için membranlardan faydalanılır. Elektrod, hem test solüsyonu hem de dahili bir dolgu solüsyonu ile temas halinde olan bir seçici membrana sahiptir. İSE referans elektrot 1 mol/L potasyum klorür içerir. Membranın EMF değeri: Nernst denkleminde göre oluşur:

$$(1) \quad E = E_0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln \left(\frac{f \cdot C_t}{f \cdot C_i} \right) \text{ Burada:}$$

E = elektrod EMF E₀ = standart EMF R = sabit

T = sıcaklık

n = iyon yükü

F = Faraday sabiti

ln = doğal logaritma (taban e) f = aktivite katsayısı

C_t = test solüsyonunda iyon konsantrasyonu

C_i = dahili dolgu solüsyonunda iyon konsantrasyonu

Tek bir yük taşıyan Na⁺, K⁺ ve Cl⁻, R, T, n ve F tek bir değerde birleştirilir ve bu değer eğim (S) ile gösterilir. Numunenin 1/31 oranında seyreltme faktörü ve membran konsantrasyonu sabittir. Bu sabitler E₀ oluşturur ve elektroda spesifiktir. Böylece, denklem:

$$(2) \quad E = E'_0 + S \cdot \ln(C_t)$$

Belirli bir iyon için tam ölçüm sisteminde, test iyonu konsantrasyonunu vermesi amacıyla EMF'nin ölçülmesi ve işlenmesi için İSE, bir referans elektrodu ve elektronik devrelerden oluşur. Sodyum ve potasyum elektrodları nötr taşıyıcılara, klorür elektrodu ise iyon değişimine dayanmaktadır (90, 91).

(Kabul edilen normal değerler: Sodyum : 136-145 mmol/L)

Potasyum : 3.5-5.1 mmol/L

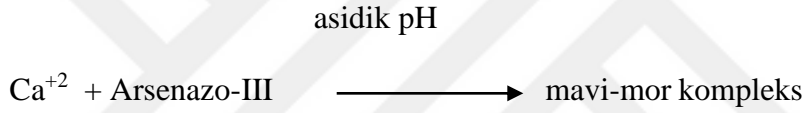
Klor : 98-107 mmol/L

Kalsiyum Ölçüm Prensibi

Kolorimetrik bir yöntem olan Arsenazo III yöntemiyle çalışıldı (92).

Kalsiyum, asidik ortamda Arsenazo-III renklendiricisi ile reaksiyona girerek mavi-mor renkli bir bileşik oluştururlar. Oluşan renk 660 nm'de spektrofotometrik yöntemle, Renk yoğunluğu, numunedeki kalsiyum konsantrasyonuna orantılıdır.

(Kabul edilen normal değerler: 8.4-10.2 mg/dL)

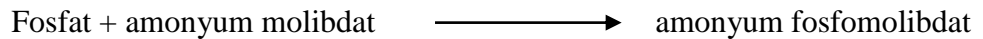


Fosfor Ölçüm Prensibi

Kolorimetrik bir yöntem olan fosfomolibdat yöntemiyle çalışıldı (92).

İnorganik fosfat, sülfürik asit bulunan ortamda amonyum molibdat ile reaksiyona girerek renkli bir bileşik olan amonyum fosfomolibdat oluşturur. Oluşan fosfomolibdata bağlı olarak absorbansta meydana gelen artış inorganik fosfat konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve absorban, spektrofotometrik yöntemle 340 nm'de, mg/dL olarak ölçülür.

(Kabul edilen normal değerler: 2.3-4.7 mg/dL)



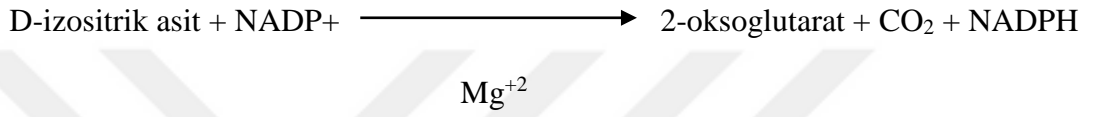
Magnezyum Ölçüm Prensibi

Enzimatik bir yöntem olan İzositrat dehidrojenaz yöntemiyle çalışıldı (92).

Magnezyum, izositrat dehidrojenaz enziminin kofaktördür. İzositrat dehidrojenazın yer aldığı enzimatik reaksiyonda oluşan NADPH'a bağlı olarak 340 nm'deki absorbans artışı oranı magnezium konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

(Kabul edilen normal değerler: 1.6-2.6 mg/dL)

İzositrat dehidrojenaz



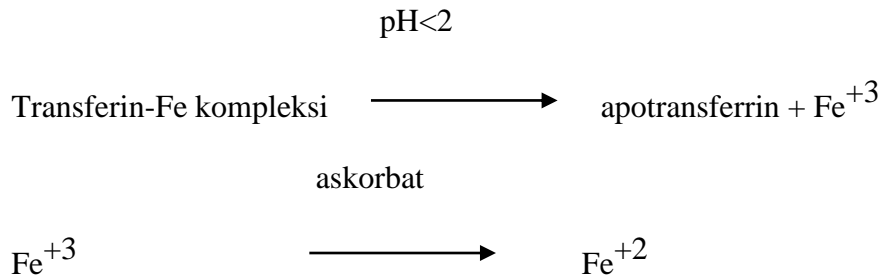
Demir Test Ölçüm Prensibi

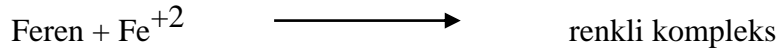
Enzimatik kolorimetrik bir yöntem olan protein uzaklaştırma adımı içermeyen Feren yöntemiyle çalışıldı (93).

Reaksiyon 3 aşamada gerçekleşmektedir. İlk olarak ferrik demir, bir asidik ortam kullanılarak transferrinden ayrılması sağlanır. Daha sonra hidroksilamin hidroklorik asit serbest bırakılan Fe^{+3} iyonlarını Fe^{+2} iyonlarına indirger ve ardından Fe^{+2} , Feren ile reaksiyona girerek renkli bir kompleks olan demir-Feren'i meydana getirir. Oluşan rengin absorbansı 604 nm'de spektrofotometrik yöntemle, mg/dL olarak ölçülür. Renk yoğunluğu demir konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

(Kabul edilen normal değerler: Erkek: 65-175 mg/dL)

Kadın: 50-170 mg/dL





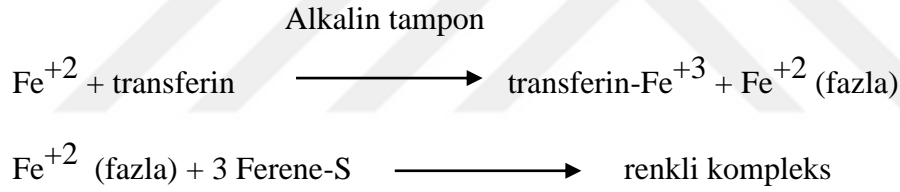
UIBC Ölçüm Prensibi

Enzimatik kolorimetrik bir yöntem olan Feren yöntemiyle çalışıldı (93).

Reaksiyon 3 aşamada gerçekleşmektedir. İlk olarak numuneyi, transferrindeki mevcut bağlanma bölgelerini doymak için bilinen konsantrasyonda demir içeren bir alkalın tampon/indirgeyici çözeltiye eklenir. Transferrin doyurma işleminden sonra serbest durumda kalan demir, 2 değerli demir haline indirgenir ve ardından, renk yoğunluğu 580 ila 600 nm'de ölçülen kararlı bir kompleks oluşturmak üzere Ferene-S ile birleşir. Bu nedenle UIBC, bağlanmayan demir miktarını toplam eklenen miktardan çıkartarak belirlenir.

(Kabul edilen normal değerler: Erkek: 120-370 mg/dL)

Kadın: 120-370 mg/dL



Total Kolesterol Ölçüm Prensibi

Enzimatik kolorimetrik bir yöntem olan kolesterol oksidaz metoduyla ölçüldü (94,95).

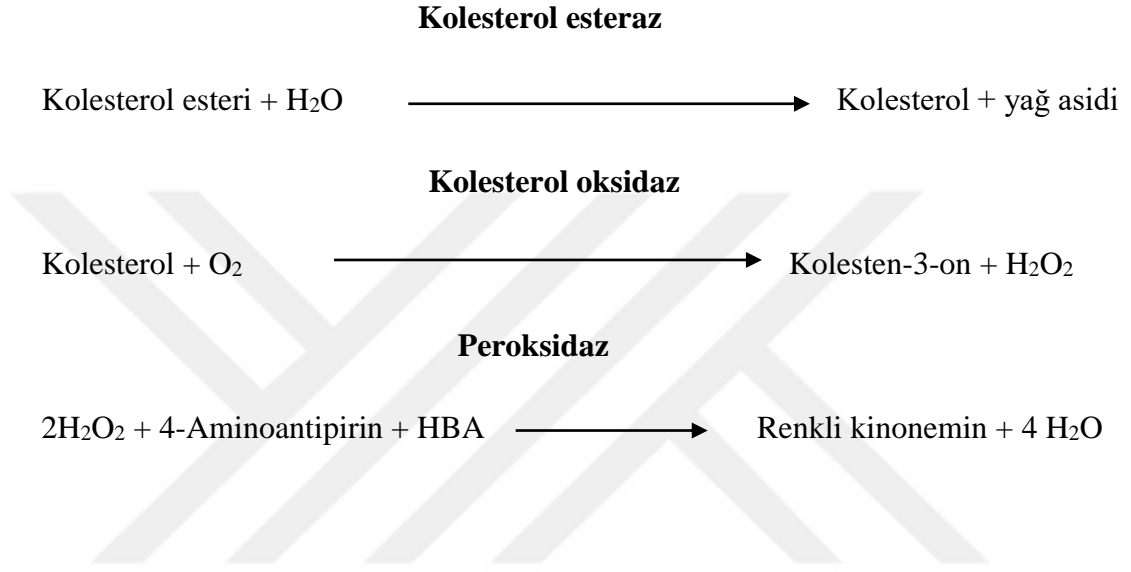
Ölçüm yöntemi 3 aşamada gerçekleşmektedir. İlk olarak kolesterol esteraz enzimi, kolesterol esterlerini hidrolize ederek yağ asitlerine ve serbest kolesterole dönüştürür.

İkinci aşamada serbest kolesterol, oksijen bulunan ortamda, kolesterol oksidaz enzimiyle ve hidrojen peroksid ve Δ^4 -kolestenon'e yükseltgenir.

Üçüncü aşamada da oluşan hidrojen peroksit, peroksidaz enzimi aracılığıyla 4-amino antipirin ve Hidroksibenzoik asit (HBA) ile reaksiyona girerek mavi-mor renkli bir bileşik olan kinonimin boyasını oluşturur. Bu boyanın renk yoğunluğuna

bağlı olarak absorbansta meydana gelen artış kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Absorbans spektrofotometrik yöntemle 500 nm dalga boyunda, mg/dL olarak ölçülür.

(Kabul edilen normal değerler: 140-200 mg/dL)



HDL- kol Ölçüm Prensibi

Enzimatik kolorimetrik bir yöntem olan kolesterol oksidaz metoduyla ölçüldü (96, 97).

Ölçüm yöntemi 4 aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşamada magnezyum iyonlarının ve dekstran sülfatın kombine etkisiyle HDL-kolesterolün yapısındaki kolesterol çözünebilir hale getirilirken LDL- kolesterol, VLDL-kolesterol ve şilomikronlardaki kolesterolde bu olaylar gerçekleşemez ve bu sayede HDL-kolesterol yapısındaki kolesterolü diğerlerinden ayırt edilir.

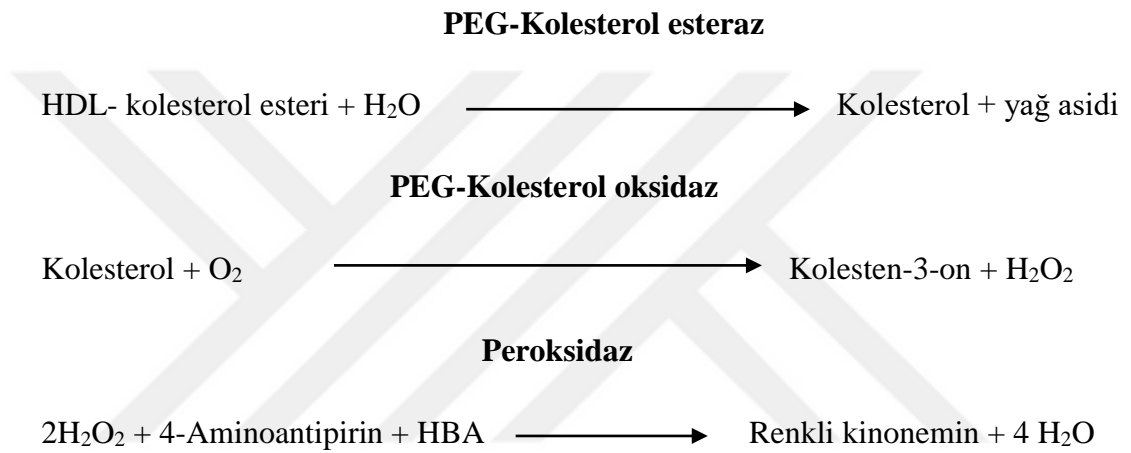
İkinci aşamada HDL kolesteroldeki kolesterol konsantrasyonu, amino gruplarına PEG bağlanmış kolesterol esteraz aracılığıyla yağ asitlerine ve serbest kolesterole parçalanır.

Üçüncü aşamada HDL- kolesterol, oksijen bulunan ortamda, PEG bağlanmış kolesterol oksidaz enzimiyle ve hidrojen peroksid ve Δ^4 - kolestenon'e yükseltgenir.

Son aşamada da peroksidaz enzimi aracılığıyla 4-amino antipirin ve HBA ile reaksiyona girerek mavi-mor renkli bir bileşik olan kinonimin boyasını oluşturur. Bu boyanın renk yoğunluğuna bağlı olarak absorbansta meydana gelen artış HDL-kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Absorbans spektrofotometrik yöntemle 500 nm dalga boyunda, mg/dL olarak ölçülür.

(Kabul edilen normal değerler: Erkek: >30 mg/dL)

Kadın: >35 mg/dL



Trigliserid Ölçüm Prensipleri

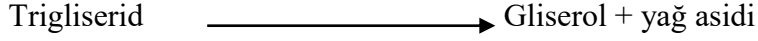
Enzimatik kolorimetrik bir yöntem olan Gliserol fosfat oksidaz (GPO) ve 4-aminofenazonun (PAP) kullanıldığı GPO-PAP yöntemiyle çalışıldı (98).

Reaksiyon 4 aşamada gerçekleşmektedir. İlk olarak trigliseridler, Lipoprotein lipaz enzimi aracılığıyla gliserol ve yağ asitlerine parçalanırlar.

İkinci aşamada gliserol, ATP'nin kullanıldığı ve Gliserol kinaz (GK) tarafından katalizlenen bir reaksiyon ile Gliserol-3-fosfat'a dönüştürülür. Daha sonra Gliserol-3-fosfat, gliserol-3-fosfat oksidaz enzimiyle dihidroksiaseton fosfata (DAP) ve H_2O_2 'e okside edilir. Oluşan hidrojen peroksit, peroksidazın katalitik etkisiyle 4-klorofenol ve 4-aminoantipirin ile reaksiyona girip kırmızı renkli bir boya maddesi oluşturur.

(Kabul edilen normal değerler: 40-150 mg/dL)

Lipaz



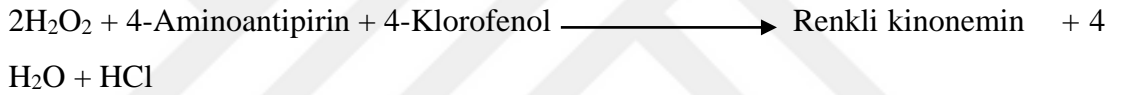
Gliserol kinaz



Gliserol fosfat oksidaz



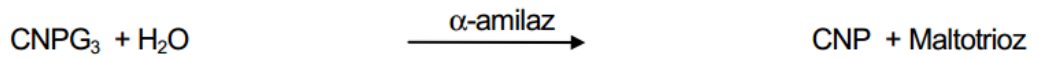
Peroksidaz



Amilaz Ölçüm Prensibi

Bu metod, kromojenik (grup) substrat olan maltotriose (üç parçalı şeker) ile bağlanmış 2- kloro-p-nitrofenol (CNP) kullanımına dayanmaktadır (99). Bu substrat ile amilaz reaksiyonu 405 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülebilen 2-kloro-p-nitrofenol oluşumu olarak sonuçlanmaktadır. 405 nm'deki absorbans artışı amilaz enzim aktivitesiyle doğru orantılıdır.

(Kabul edilen normal değerler: 25-125 U/L)



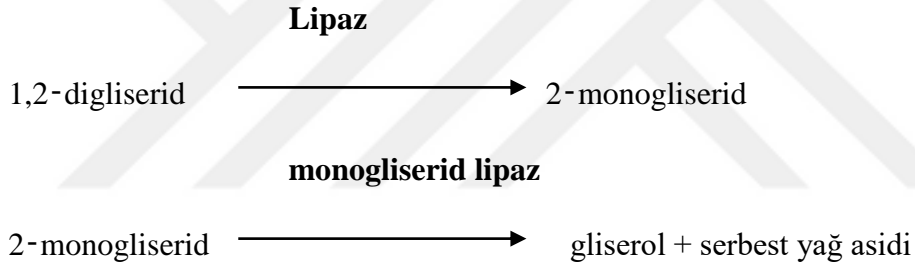
Lipaz Ölçüm Prensibi

Lipaz, enzimatik kolorimetrik yöntemle ölçülmektedir.

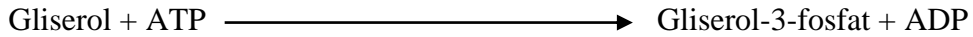
Reaksiyon 5 aşamada gerçekleşir. İlk olarak numunede bulunan lipaz enzimi, substrat olarak kullanılan 1,2-digliseridi, 2-monogliseride dönüştürür.

Daha sonra oluşan 2-monogliserid, monogliserid lipaz tarafından gliserol ve serbest yağ asidine hidrolize edilir. 3. ve 4. aşamada gliserol, gliserol kinaz enzimiyle gliserol-3-fosfata dönüştürüldükten sonra elde edilen gliserol-3-fosfat, gliserol-3-fosfat oksidaz enzimi tarafından hidrojen peroksit oluşturmak için kullanılır. Son olarak da peroksidaz enzimi, hidrojen peroksiti 4- aminoantipirine ve *N*-etil-*N*-(2-hidroksi-3-sülfopropil)- *m*- toluidini (TOOS), kinodimin boyasına dönüştürür. Boyanın, 548 nm'de bir absorbans artışı olarak ölçülen oluşum hızı örnekteki lipaz enzimi aktivitesiyle doğru orantılıdır.

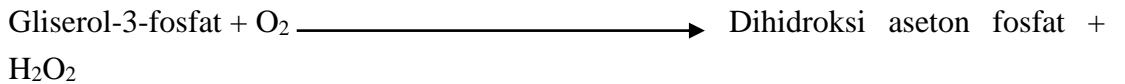
(Kabul edilen normal değerler: 8-78 U/L)



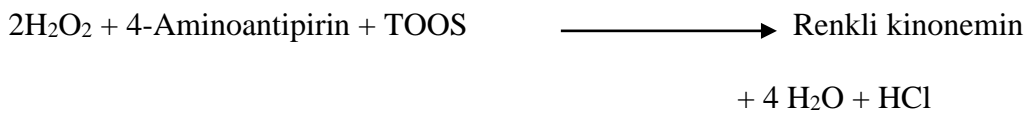
Gliserol kinaz



Gliserol fosfat oksidaz



Peroksidaz



3.1.2. Hormon Testleri Ölçüm Prensipleri

Hormon testleri ADVIA Centaur CP (Siemens) cihazında antijen-antikor kompleksi oluşması esasına dayanan kemilüminesan yöntemiyle çalışıldı. Bu antijen-antikor kompleksi kompetitif ve sandviç olmak üzere iki farklı şekilde olabilir.

Kompetitif yöntemde serumda ölçmek istediğimiz analit, akridinyum işaretlenmiş sınırlı sayıdaki antikor için katı fazdaki paramanyetik partiküllere bağlı olan ve ölçmek istediğimiz parametrenin analogu olan maddeyle yarışarak antijen-antikor kompleksi oluşur. Belli bir süre inkübe edildikten sonra kalan diğer bileşenler yıkama ile uzaklaştırılır. Daha sonra kemilüminesan reaksiyonu başlatmak için Asit reaktif ve Baz reaktif karışıma eklenir. Optik sistemde oluşan ışık luminometre tarafından ölçülür. Serum içindeki analit miktarı, sistem tarafından saptanan rölatif ışık birimi (RLU) miktarı ile ters orantılıdır. Folat, vitamin B12, sT₃, sT₄ ve estradiol bu prensiple ölçüldü.

Sandviç yöntemde ise ölçülecek analite özgü iki antikor bulunmaktadır. Birinci antikor akridinyum esteri ile işaretlenmiş poliklonal antikorken, ikinci antikor ise paramanyetik partiküllere kovalent olarak bağlı monoklonal ya da poliklonal antikordur. Bu iki antikor, ölçmek istediğimiz analitin farklı bölgelerine bağlanarak "antikor-antijen-antikor" dan oluşan bir kompleks oluşur ve kalan diğer bileşenler yıkama ile uzaklaştırılır. Daha sonra kemilüminesan reaksiyonu başlatmak için Asit reaktif ve Baz reaktif karışıma eklenir. Optik sistemde oluşan ışık luminometre tarafından ölçülür. Serum içindeki analit miktarı, sistem tarafından saptanan RLU miktarı ile doğru orantılıdır. TSH, FSH, LH, PTH, PSA ve prolaktin bu prensiple çalışıldı.

Kabul edilen normal değerler:

TSH: 0.35-5.5 mIU/mL

sT₃: 2.3-4.2 pg/mL

sT₄: 0.88-1.72 ng/dL

FSH: Erkek: 1.4-18.1 mIU/mL

Kadın: 2.5-10.2 mIU/mL Foliküler faz

3.4-33.4 mIU/mL Midsiklus pik

1.5-9.1 mIU/mL Lüteal faz

LH: Erkek: 1.5-9.3 mIU/mL

Kadın: 1.9-12.5 mIU/mL Foliküler faz

8.7-76.3 mIU/mL Midsiklus pik

0.5-16.9 mIU/mL Lüteal faz

E2: Erkek: 9.2-39.8 mIU/mL

Kadın: 18.9-246.7 pg/mL Foliküler faz

35.5-570.8 pg/mL Midsiklus pik

22.4-256.0 pg/mL Lüteal faz

Prolaktin: Erkek: 2.1-17.7 ng/mL

Kadın: 9.7-208.5 ng/mL

B12: 214-914 pg/mL

Folat: >5.38 ng/mL

PTH: 19.8-74.9 pg/mL

PSA: 0-4 ng/mL

3.1.3. 25 hidroksi Vitamin D Ölçüm Prensibi

25 hidroksi Vitamin D testi, Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000, (Germany) cihazında yüksek performans likit kromatografi (HPLC) yöntemi ile çalışıldı. Ters faz kromatografi yöntemi ile interfere edici ajanlardan uzaklaştırıldı, elue edilen numune içindeki 25-(OH) D₃, UV detektör ile eş zamanlı olarak ölçüldü.

Numune Hazırlama

400 µL örnek, kalibratör veya kontrol konuldu

+

400 µL internal standart (iyi presipitasyon için internal standart soğuk olmalıdır)

30 sn vortexle karıştırıldı.

+

500 µL presipitasyon reaktifi eklendi.

2 dakika vortexle karıştırıldı.

15 dakika 2-8⁰ C'de buzdolabında inkübe edildi. Daha sonra 10 000 g'de 15 dakika santrifüj edildi.

Üst tarafta 2 adet faz oluştu. Alt Fazdan karıştırmadan en üstteki fazdan süpernatant alınıp, kapaklı vialler ve insertlere koyulur. 50 µl HPLC sistemine enjeksiyon yapıldı.

Ölçüm süresi 14 dakikadır. Elde edilen sinyaller UV dedektör (264 nm dalga boyu) tarafından kaydedildi. Kromatogramlar değerlendirilerek sonuçlar µg/L olarak verildi.

CİHAZ PARAMETRELERİ

Akış Hızı: 1.0 – 1.3 ml/dak

Çalışma süresi : 14.0 dakika

Kolon sıcaklığı : 30°C

UV DEDEKTÖR: 264 nm

(Referans değerler: 20 - 70 µg/ L normal

10 - 20 µg/ L hafif vit D eksikliği

5 - 10 µg/ L orta vit D eksikliği

< 5 µg/ L ağır vit D eksikliği)

3.2. İstatistiksel Analiz:

Elde edilen veriler bilgisayar ortamına aktarılarak SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15. paket program ile istatistiksel değerlendirme yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler, normal dağılım gösteren testler için ortalama±standart sapma, normal dağılım göstermeyen testler için median (ortanca) ve (25 persentil-75 persentil) olarak gösterildi. Gruplar arası verilerin değerlendirilmesinde normal dağılım gösteren testler için paired sample T testi, normal dağılım göstermeyen testler için Wilcoxon testi kullanıldı. Çalışmada saat 09.00'da alınan numuneler bazal olarak kabul edilip, diğer 4 farklı zamanda alınan numuneler bazal düzeyle karşılaştırıldığı için Bonferroni düzeltilmesi yapılarak $p < 0.0125$ değeri ($0.05/4=0.0125$) **istatistiksel olarak anlamlılık** sınırı kabul edildi.

Ayrıca saat 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00'de alınan örnekler bazal seviye olarak kabul edilen saat 9.00'da alınan örneklerle karşılaştırılarak $[(CX - C1)/ C1) \times 100]$ formülü ile % bias (% sapma) değerleri hesaplandı. Hesaplanan bu % sapma

değeri, Westgard'ın sitesindenin alınan ‘‘desirable bias- izin verilebilir sapma’’ değerleri ile karşılaştırılarak **linik olarak anlamlılık** açısından değerlendirildi (100).

C1: 09.00 da alınan numunenin ortalama veya ortanca değeri, CX: karşılaştırılan numunenin ortalama veya ortanca değeri



4. BULGULAR

Çalışmaya 11 erkek, 6 kadın olmak üzere 17 gönüllü dahil edildi. Gönüllülerin yaşı 34.18 ± 6.56 , beden-kütle indeksi 25.03 ± 3.03 idi.

Otoanalizörde çalışılan parametrelerin tekrarlanabilirlik düzeyini ölçmek için serum havuzu hazırlanıp bütün testler 10 kez çalışıldı ve “standart sapma/ortalama)*100” formülüyle varyasyon katsayıları hesaplandı. Testlerin gün içi varyasyon katsayıları (% CV) Tablo 1’deki gibidir.

Tablo 1: Laboratuvar testlerinin ölçüm içi varyasyon katsayısı değerleri

Test	% CV	Test	% CV
Glukoz	0.86	Demir	0.48
BUN	1.61	UIBC	7.96
Kreatinin	0.42	T. kolesterol	0.40
AST	1.87	HDL- kol	1.58
ALT	1.51	Trigliserid	0.77
ALP	0.86	Lipaz	1.89
GGT	0.87	TSH	2.49
CK	0.89	sT₃	3
Albumin	1.38	sT₄	3.42
T.protein	0.87	FSH	4.47
T.bilirubin	0.89	LH	3.04
D.bilirubin	2.63	E2	4.09
Amilaz	0.65	PRL	2.77
Sodyum	0.5	B12	3.17
Potasyum	1.18	Folat	2.9
Klor	0.34	PTH	4.47
Kalsiyum	0.54	PSA	2.98
Fosfor	1.79	25-OH Vitamin D	3.92
Magnezyum	1.41		

Deneklerin saat 09.00, 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00’de alınan serum numunelerinden çalışılan 37 testin ortanca değerleri, 25. ve 75. persentil değerleri, hesaplanan sapma değeri ve p değerleri tablo 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ve 9 da gösterilmiştir.

Tablo 2: Glukoz, BUN, kreatinin, AST, ALT ve ALP'nin saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri, p değerleri (n=17)

Analit	09.00 (bazal)	12.00	15.00	18.00	24.00	İzin verile- bilir sapma (%)
Glukoz (mg/dL)	88.76±6.5	88.29±8.94	93.59±12.08	84.18±8.77	95.94±10.56	
%		-0.53	5.43	-5.17	8.08	2.34
P		0.841	0.100	0.083	0.02	
BUN (mg/dL)	13±3.47	14.31±3.68	14.64±3.22	14.6±3.49	16.25±3.15	
%		10.09	12.58	12.31	25.02	5.57
P		0.001	0.001	0.005	0.001	
Kreatinin (mg/dL)	0.81±0.14	0.79±0.14	0.79±0.14	0.78±0.14	0.83±0.13	
%		-2.47	-2.47	-3.7	2.47	3.96
P		0.056	0.429	0.24	0.094	
AST (U/L)	17 (9.5-17)	16 (10.-16.5)	16 (10-16)	17 (10-15.5)	16 (10-17)	
%		-5.8	-5.8	0	-5.8	6.54
P		0.193	0.936	0.835	0.574	
ALT (U/L)	12 (9.5-17)	12 (10.-16.5)	11 (10-16)	12 (10-15.5)	12 (10-17)	
%		0	-8.3	0	0	11.48
P		0.835	0.681	0.858	0.319	
ALP (U/L)	58 (49-64.5)	55 (51-62)	56 (51.5-68.5)	55 (50-66)	56 (51-67.5)	
%		3.7	5.6	3.77	5.66	6.72
P		0.753	0.254	0.641	0.378	

Tablo 3: GGT, CK, albumin, total protein, total ve direkt bilirubin saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri (n=17)

Analit	09.00 (bazal)	12.00	15.00	18.00	24.00	İzin verilebilir sapma (%)
GGT (U/L)	17 (10-20.5)	17 (10-20)	17 (11-20.5)	16 (11-20.5)	17 (10-20.5)	11.06
%		0	0	-5.8	0	
P		0.470	0.944	0.831	0.670	
CK (U/L)	102 (84-163)	102 (89-150)	105 (85-156)	101 (85-153)	108 (94-143)	11.5
%		0	2.9	-0.98	5.88	
P		0.442	0.157	0.394	0.116	
Albumin (g/dL)	4.39±0.28	4.34±0.23	4.34±0.32	4.44±0.35	4.4±0.3	1.43
%		-1.14	-1.14	0.94	0.13	
P		0.320	0.536	0.673	0.940	
T.Protein (g/dL)	6.86±0.39	6.8±0.27	6.79±0.49	6.87±0.52	6.81±0.36	1.36
%		0.94	-1.03	0.09	-0.86	
P		0.530	0.656	0.973	0.680	
T.BİL (mg/dL)	0.57 (0.35-0.8)	0.45 (0.28-0.58)	0.39 (0.27-0.59)	0.38 (0.23-0.44)	0.34 (0.25-0.46)	8.95
%		-21.05	-31.5	-33.3	-40.3	
P		0.001	0.001	0.001	0.001	
D.BİL (mg/dL)	0.19 (0.12-0.24)	0.14 (0.10-0.17)	0.10 (0.10-0.15)	0.11 (0.10-0.16)	0.11 (0.10-0.17)	14.92
%		-26.31	-47.3	-42.1	-42.1	
P		0.002	0.001	0.001	0.003	

Tablo 4: Sodyum, potasyum, klor, kalsiyum, fosfor ve magnezyumun saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri (n=17)

Analit	09.00 (bazal)	12.00	15.00	18.00	24.00	İzin verilebilir sapma (%)
Na (mmol/L)	137 (136-138.5)	136 (135-138)	137 (136-138.5)	138 (137.5-139)	138 (137-139)	
%		-0.72	0	0.72	0.72	0.23
P		0.324	0.841	0.234	0.265	
K (mmol/L)	4.34±0.27	4.22±0.26	4.18±0.28	4.22±0.36	4.12±0.16	
%		-2.85	-3.66	-2.85	-5.01	1.81
P		0.119	0.092	0.221	0.005	
Cl (mmol/L)	104.94±1.3	104.82±2.3	104.94±2.41	104.76±1.3	104.76±2.3	
%		-0.11	0	-0.17	-0.17	0.5
P		0.799	0.720	0.687	0.750	
Ca (mg/dL)	9.3±0.42	9.38±0.35	9.32±0.52	9.37±0.42	9.4±0.36	
%		0.82	0.19	0.76	1.08	0.82
P		0.407	0.907	0.622	0.366	
P (mg/dL)	3.59±0.38	3.64±0.29	3.78±0.32	3.86±0.46	3.94±0.43	
%		1.31	5.07	7.36	9.49	3.38
P		0.647	0.174	0.093	0.014	
Mg (mg/dL)	0.75 (0.74-0.79)	0.77 (0.74-0.80)	0.79 (0.74-0.80)	0.79 (0.76-0.82)	0.79 (0.75-0.81)	
%		2.6	5.3	5.3	5.3	1.8
P		0.736	0.669	0.288	0.361	

Tablo 5: Demir, UIBC, total kolesterol, HDL- kol ve trigliseridin saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri (n=17)

Analit	09.00 (bazal)	12.00	15.00	18.00	24.00	İzin verile- bilir sapma (%)
Demir (µg/dL)	100 (65-113)	100 (65.5-110)	74 (54.5-91)	60 (49-72)	68 (49.5-79)	
%		0	-26	-40	-32	8.8
P		0.185	0.005	0.001	0.009	
UIBC (µg/dL)	249 (210-285.5)	244 (204-295)	283 (213-296)	273 (232.5-310.5)	278 (236-315)	
%		-2.01	13.6	9.6	11.6	
P		0.758	0.179	0.055	0.062	
T.Kolesterol (mg/dL)	172.5 (147.5-191.5)	169 (143-182.5)	173 (149.7-182.5)	172.5 (157.5-179)	171.5 (152-183)	
%		-2.03	0.29	0	-0.58	4.1
P		0.065	0.583	0.582	0.374	
HDL- kol (mg/dL)	45.5 (37.1-51.6)	43.35 (36.5-52.3)	43.65 (34.1-51.5)	42.1 (39.6-51.1)	42.7 (37.7-52.3)	
%		-4.73	-4.07	-2.42	-0.11	5.61
P		0.326	0.328	0.638	0.754	
Trigliserid (mg/dL)	80 (64-142.7)	96.5 (72.5-219.7)	109.5 (84.7-192.2)	90 (73.5-185.7)	100.5 (75-159.7)	
%		20.6	36.8	12.5	25.63	9.57
P		0.006	0.004	0.182	0.008	

Tablo 6: Amilaz ve lipazın saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri (n=17)

Analit	09.00 (bazal)	12.00	15.00	18.00	24.00	İzin verile- bilir sapma (%)
Amilaz (U/L)	62.71±14.15	63.76±16.14	65.06±16.35	65.71±16.12	67.71±16.05	
%		1.69	3.75	4.78	7.97	7.4
P		0.510	0.134	0.195	0.07	
Lipaz (U/L)	11.5 (4.2-23.7)	16 (4.29.5)	22.5 (5.5-33)	18 (4.5-31.2)	23 (9.5-33.5)	
%		39.1	95.6	56.5	100	11.31
P		0.068	0.003	0.115	0.002	

Tablo 7: TSH, sT₃, sT₄, vitamin B12, folat, PSA (sadece erkeklerde)'nın saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri (n=17; PSA için n=11)

Analit	09.00 (bazal)	12.00	15.00	18.00	24.00	İzin verile- bilir sapma (%)
TSH (uIU/mL)	1.9 (1.33-2.81)	1.27 (0.97-2.33)	1.31 (0.91-1.98)	1.38 (0.88-2.30)	2.83 (1.87-4.26)	
%		-32.8	-31.2	-27.3	48.9	7.8
P		0.002	0.001	0.021	0.001	
sT₃ (pg/mL)	3.29±0.54	3.07±0.24	3.05±0.27	3.04±0.23	3.22±0.19	
%		-6.69	-7.29	-7.6	-2.13	4.8
P		0.081	0.058	0.055	0.623	
sT₄ (ng/dL)	1.1±0.12	1.07±0.09	1.08±0.11	1.09±0.11	1.09±0.1	
%		-2.73	-1.82	-0.91	-0.91	3.3
P		0.111	0.181	0.413	0.577	
B12 (pg/mL)	431 (320.5-503.7)	408 (318.2-521.5)	400 (303-527)	405 (301.7-530.2)	377 (288-514.5)	
%		-3.3	-5.2	-3.9	-10.5	17.7
P		0.222	0.016	0.363	0.011	
Folat (ng/mL)	9.56 (6.87-13.9)	9.38 (6.66-10.88)	8.36 (6.67-11.82)	8.75 (6.78-12.68)	6.98 (5.63-10.1)	
%		-1.8	-12.5	-8.4	-26.9	19.12
P		0.313	0.063	0.438	0.013	
PSA (ng/mL)	0.64±0.49	0.66±0.49	0.65±0.46	0.66±0.47	0.65±0.43	
%		3.13	1.56	3.13	1.56	18.7
P		0.542	0.734	0.563	0.922	

Tablo 8: FSH (kadın ve erkeklerde), LH (kadın ve erkeklerde), estradiolun (kadın ve erkeklerde)'ün saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri (kadınlarda n=6; erkeklerde n=11)

Analit	09.00 (bazal)	12.00	15.00	18.00	24.00	İzin verilebilir sapma (%)
FSH-k (mIU/mL)	6.04 (4.8-8.8)	5.38 (4.1-8.34)	5.48 (3.67-8.1)	6.33 (3.43-8.44)	5.65 (4.06-8.57)	12.12
%		-10.9	-9.34	4.71	-6.5	
P		0.249	0.158	0.173	0.178	
FSH-e (mIU/mL)	5.68 (3.54-8.33)	5.91 (4.25-8.59)	5.41 (3.71-8.78)	5.23 (4.24-8.94)	5.39 (4.26-8.78)	12.12
%		4.04	-4.75	-7.9	-5.1	
P		0.722	0.790	0.328	0.859	
LH-k (mIU/mL)	4.41 (3.95-10.06)	4.12 (3.29-11)	3.3 (2.06-10.26)	4.09 (1.7-12.21)	4.11 (2.8-10.2)	8.94
%		-6.68	-25.1	-7.36	-6.91	
P		0.463	0.215	0.917	0.600	
LH-e (mIU/mL)	5.25 (3-6.84)	4.95 (4.08-6.01)	4.35 (3.45-5.08)	4.58 (3.39-7.69)	4.7 (2.94-5.93)	8.94
%		-5.71	-17.1	-12.8	-10.5	
P		0.929	0.477	0.657	0.859	
E2-k (pg/mL)	76.96 (51.4-123.7)	76.54 (41.1-163.1)	66.1 (40.1-118.2)	71.5 (38.8-116.5)	75.5 (41.1-118.4)	8.3
%		-0.5	-14.12	-7.03	-1.8	
P		0.145	0.273	0.249	0.273	
E2-e (pg/mL)	29.16 (27.8-44.07)	25.1 (22.9-27.8)	25.43 (23.3-28.9)	25.28 (23.33-35.1)	25.7 (19.9-29.2)	8.3
%		-13.8	-12.79	-13.31	-11.87	
P		0.011	0.014	0.041	0.026	

Tablo 9: Prolaktin (kadın ve erkeklerde), parathormon ve 25-OH vitamin D₃'ün saatlere göre ortalama±standart sapma veya ortanca (25.-75. persentil) değerleri, % sapma değerleri ve p değerleri (n=17, prolaktin için kadınlarda n=6; erkeklerde n=11)

Analit	09.00 (bazal)	12.00	15.00	18.00	24.00	Kabul edilebilir hata (%)
PRL-k (ng/mL)	18.2±8.21	10.68±3.31	10.48±3.68	13.53±3.1	13.43±5.75	
%		-41.32	-42.42	-25.66	-26.21	10.5
P		0.008	0.006	0.048	0.041	
PRL-e (ng/mL)	12.4±5.93	7.86±4.54	7.59±4.3	8.24±4.12	9.39±4.29	
%		-36.61	-38.79	-33.55	-24.27	10.5
P		0.008	0.003	0.016	0.034	
PTH (pg/mL)	45.1 (31.3-63.2)	31.4 (21.1-53.4)	35.2 (26.8-46.1)	42.1 (32.7-52.4)	40 (30.1-52.1)	
%		-30.37	-21.9	-6.6	-11.3	8.8
P		0.007	0.011	0.068	0.035	
25-OH Vitamin D₃ (pg/mL)	20.21 (12.8-23.6)	20.26 (11.9-24.2)	20.19 (12.4-23.5)	20.01 (12.5-23.9)	20.16 (12.6-23.6)	
%		0.28	-0.06	-1	-0.24	10
P		0.981	0.246	0.723	0.407	

Diürnal varyasyon açısından incelediğimizde, kreatinin, ALT, AST, GGT, ALP, CK, klor, albumin, total protein, total kolesterol, HDL- kol, sT₄, FSH (kadınlarda ve erkeklerde), vitamin B12, 25-OH Vitamin D₃ parametrelerinde saat 9.00'da alınan numuneler ile diğer numuneler arasında istatistiksel ve klinik açıdan anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0.01$ ve % sapma < izin verilebilir sapma). Diğer parametrelerde ise değişik saatlerde anlamlı farklılık saptanmıştır.

Glukoz, saat 15.00 ve 24.00 de, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı yüksek, saat 18.00'de anlamlı düşük bulundu (sırasıyla % sapma 5.43, 8.08 ve -5.17; izin verilebilir sapma= % 2.34).

BUN, gün içindeki tüm numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı yüksek bulundu ve istatistiksel olarak da anlamlı fark vardı (sırasıyla % sapma 10.09, 12.58, 12.31, 25.02 ve; izin verilebilir sapma= % 5.57; $p = 0.001, 0.004, 0.005, 0.001$).

Total bilirubin, gün içindeki tüm numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu ve istatistiksel olarak da anlamlı fark vardı (sırasıyla % sapma -21.05, -31.5, -33.3 ve -40.3; izin verilebilir sapma= % 8.95; $p < 0.01$).

Direkt bilirubin, gün içindeki tüm numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu ve istatistiksel olarak da anlamlı fark vardı (sırasıyla % sapma 26.31, -47.3, -42.1 ve -42.1; izin verilebilir sapma= % 0.23; $p < 0.01$).

Sodyum, saat 12.00'deki numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük ve saat 18.00 ve 24.00'dekilerde ise anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla % sapma -0.72, 0.72 ve 0.72; izin verilebilir sapma= % 1.81).

Potasyum, gün içindeki tüm numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu (sırasıyla % sapma -2.85, -3.66, -2.71 ve -5.01; izin verilebilir sapma= % 1.81).

Kalsiyum, saat 12.00 ve 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla % sapma 0.82 ve 1.08; izin verilebilir sapma= % 0.82).

Fosfor, saat 15.00, 18.00 ve 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla % sapma 5.07, 7.36 ve 9.49; izin verilebilir sapma= % 3.38).

Magnezyum, gün içindeki tüm numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla % sapma 2.6, 5.3, 5.3, 5.3; izin verilebilir sapma= % 1.8).

Demir, saat 15.00, 18.00 ve 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu ve istatistiksel olarak da anlamlı fark vardı (sırasıyla % sapma -26, -40 ve -32; izin verilebilir sapma= % 8.8; $p < 0.01$).

Trigliserid, saat 12.00, 15.00 ve 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı yüksek bulundu ve istatistiksel olarak da anlamlı fark vardı (sırasıyla % sapma 45.6, 30.6 ve 50; izin verilebilir sapma= % 9.57; $p < 0.01$).

Amilaz, sadece 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik ve istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (% sapma 7.97; desirable sapma= % 7.4; $p = 0.07$).

Lipaz, gün içindeki tüm numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla % sapma 39.1, 95.6, 56.5, 100; desirable sapma= % 1.8). Ayrıca saat 15.00 ve 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden istatistiksel açıdan da anlamlı fark vardı (sırasıyla $p = 0.003$ ve $p = 0.002$).

TSH, saat 12.00, 15.00 ve 18.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük, saat 24.00'de alınan numune ise anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla % sapma -32.8, -31.2, -27.3 ve 48.9; izin verilebilir sapma= % 7.8). Ayrıca saat 12.00, 15.00 ve 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (sırasıyla $p = 0.002$, $p = 0.001$ ve $p = 0.001$).

Serbest T_3 , saat 12.00, 15.00 ve 18.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak ve istatistiksel açıdan anlamlı düşük bulundu (sırasıyla % sapma -6.69, -7.29 ve -7.6; izin verilebilir sapma= % 4.8).

Folat, sadece saat 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu (% sapma -26.19, izin verilebilir sapma= % 19.12).

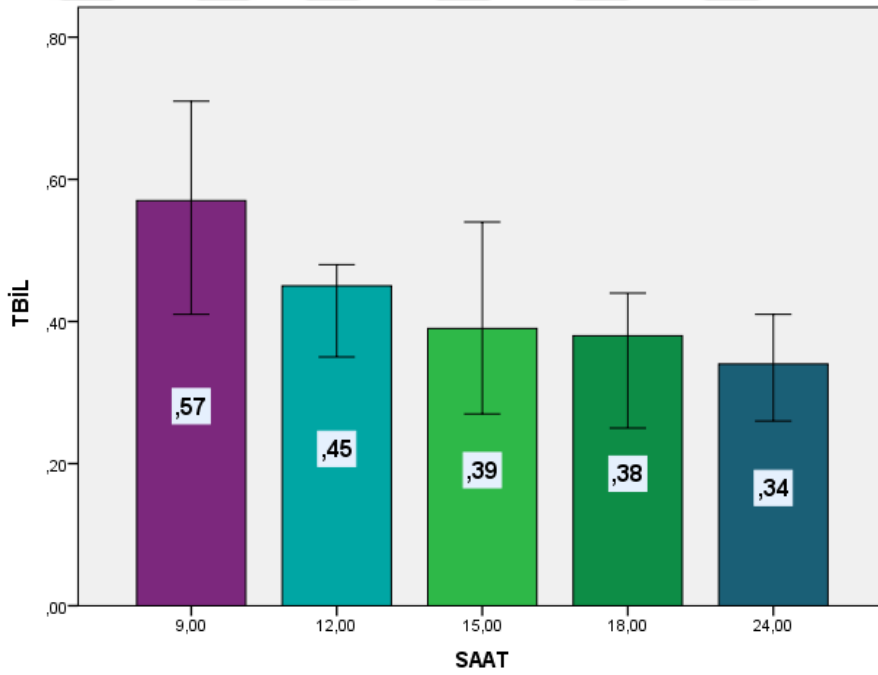
E2, kadınlarda saat 15.00 alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu (% sapma -14.12; izin verilebilir sapma= % 8.3). Estradiol, erkeklerde ise saat 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu (sırasıyla % sapma -13.8, -12.79, -13.31 ve -11.87; izin verilebilir sapma= % 8.3).

LH, kadınlarda saat 15.00 alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu (% sapma -25.1; izin verilebilir sapma= % 8.94). Estradiol, erkeklerde ise saat, 15.00, 18.00 ve 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu (sırasıyla % sapma -17.1, -12.8 ve -10.5; izin verilebilir sapma= % 8.3).

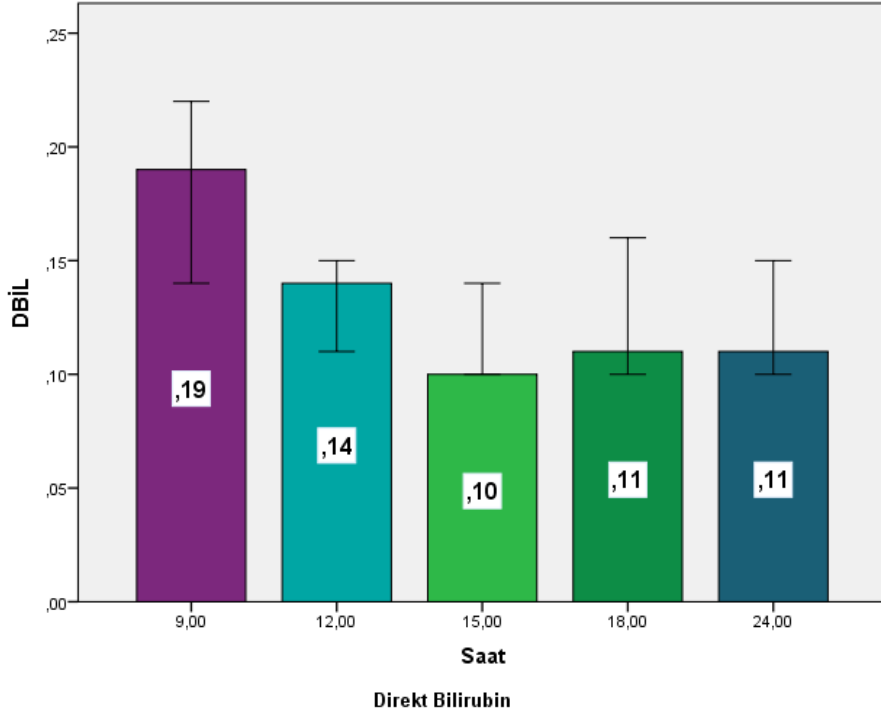
Prolaktin, kadınlarda saat 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00'de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu (sırasıyla % sapma -41.32, -42.42, -25.66 ve -26.21; izin verilebilir sapma= % 10.5). Ayrıca saat 12.00 ve 15.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden istatistiksel açıdan da anlamlı fark vardı (sırasıyla $p=0.008$ ve $p=0.006$). Erkeklerdeki prolaktin seviyesi de saat 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00'de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu (sırasıyla % sapma -36.31, -38.79, -33.55 ve -24.27; izin verilebilir sapma= % 10.5). Ayrıca saat 12.00 ve 15.00'de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden istatistiksel açıdan da anlamlı fark vardı (sırasıyla $p= 0.008$ ve $p=0.003$).

Parathormon, saat 12.00, 15.00 ve 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu (sırasıyla % sapma -30.17, -21.9 ve -11.3; izin verilebilir sapma= % 8.8). Ayrıca saat 12.00 alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden istatistiksel açıdan da anlamlı fark vardı (sırasıyla $p= 0.007$).

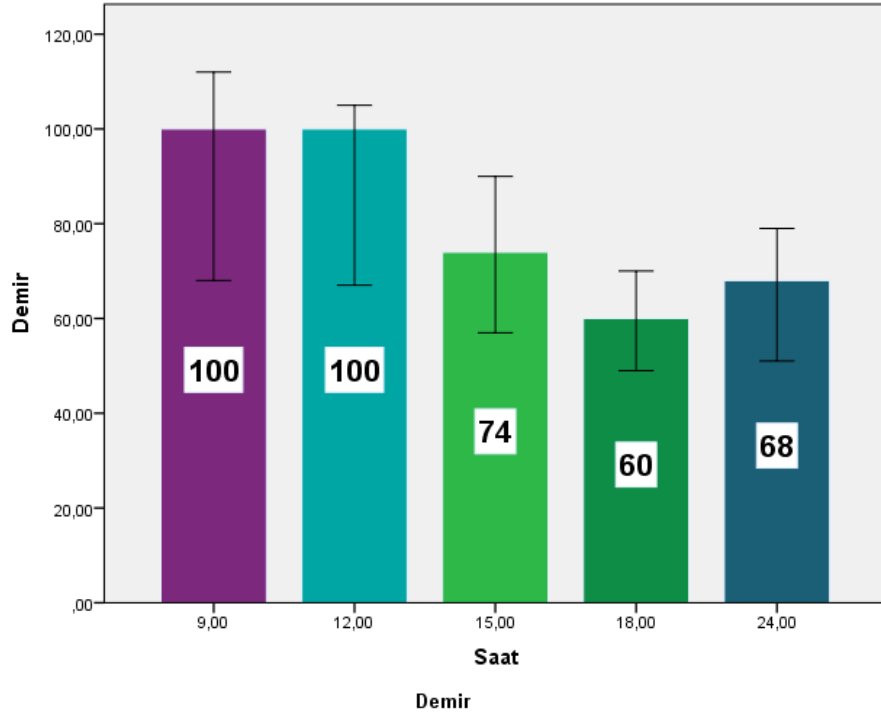
Gün içinde en fazla değişiklik gösteren parametreler total bilirubin, direkt bilirubin, trigliserid, demir, TSH, prolaktin ve lipaz olarak bulundu. Bu parametrelerin saatlere göre değişimi Şekil 1-8’de gösterilmiştir.



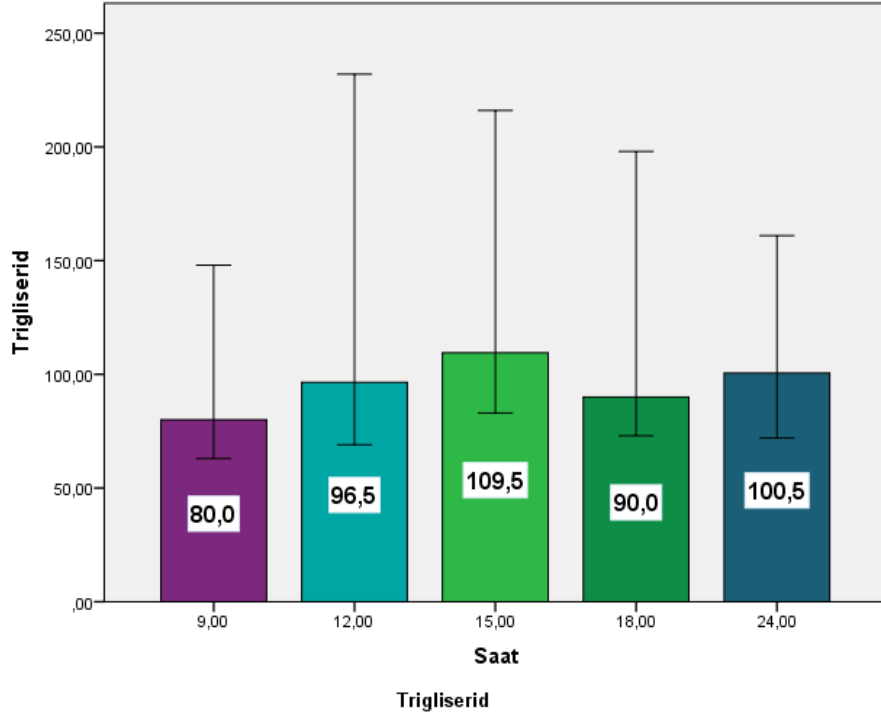
Şekil 1: Total bilirubin düzeyinin saatlere göre değişimi.



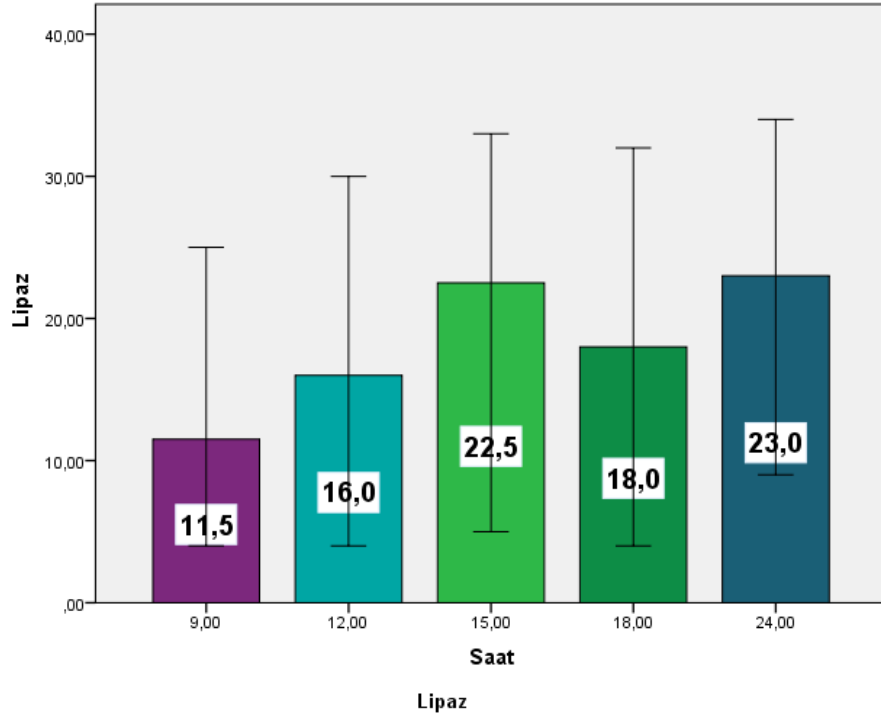
Şekil 2: Direkt bilirubin düzeyinin saatlere göre değişimi.



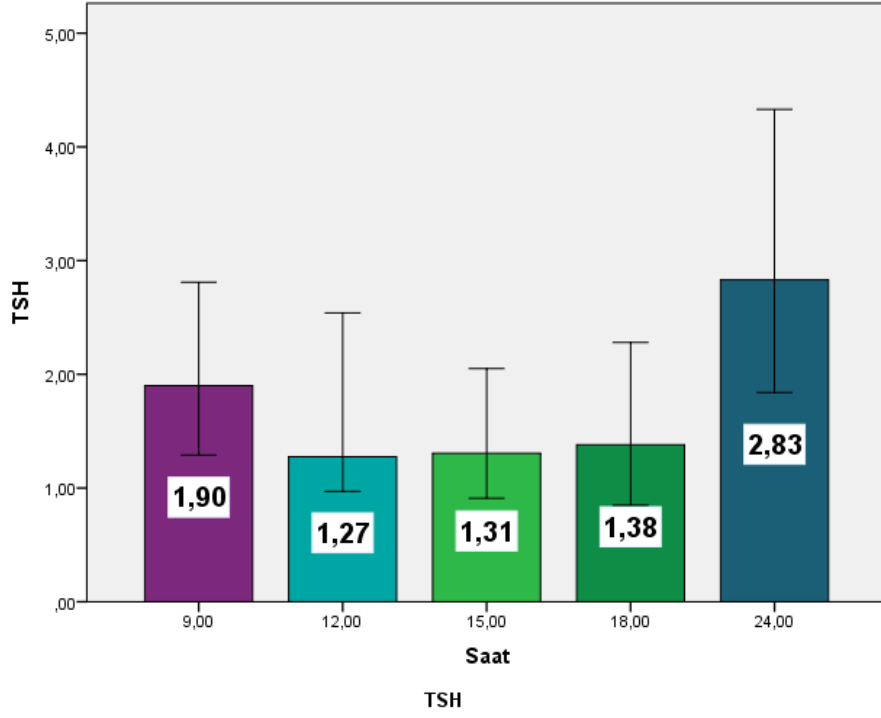
Şekil 3: Demir düzeyinin saatlere göre değişimi.



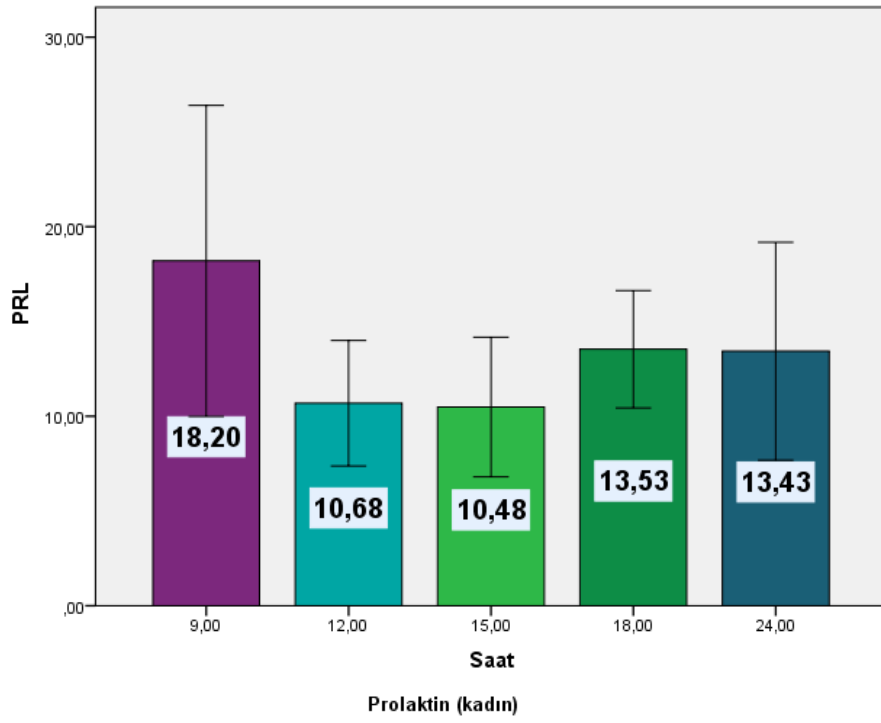
Şekil 4: Triglisericid düzeyinin saatlere göre değişimi.



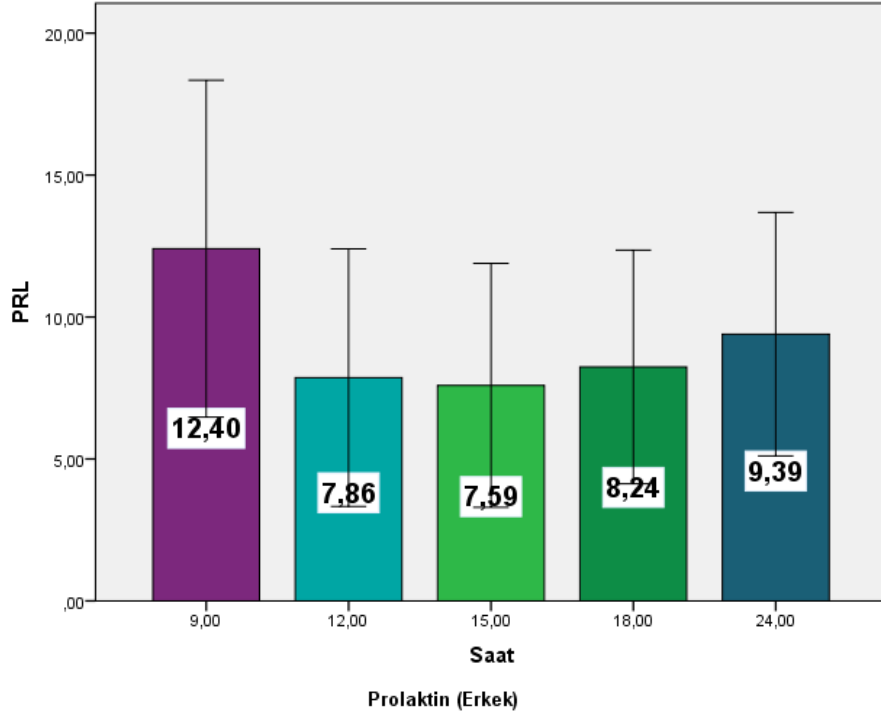
Şekil 5: Lipaz enzim aktivitesinin saatlere göre değişimi.



Şekil 6: TSH düzeyinin saatlere göre değişimi.



Şekil 7: Prolaktin düzeyinin saatlere göre değişimi (kadınlarda).



Şekil 8: Prolaktin düzeyinin saatlere göre değişimi (erkeklerde).

5. TARTIŞMA

Diürnal varyasyon (sirkadiyan ritm), dünyanın kendi eksenini etrafında yaklaşık 24 saat süren bir dönüşünün, canlılar üzerinde oluşturduğu fizyolojik, biyokimyasal, ve davranışsal ritimlerin bir gün içerisinde tekrar edilmesidir. Yaklaşık yirmidört saatte tamamlanan bu zamanlama sistemi, sadece dünyanın rotasyonu ve gece-gündüz döngüsünden değil; aynı zamanda gel-git olayları, jeomanyetik etkiler, besin durumu, sosyal etkileşimler tarafından da etkilenmektedir. İnsanlarda bu sirkadiyen davranış ritimlerinin düzenlenmesinde ana zamanlayıcı merkez suprakiazmatik çekirdekler (suprakiazmatik nükleus=SCN)'dir (101). SCN, anterior hipotalamusta, 4. ventrikül ortalarında, optik kiazma üzerinde her iki hemisferde orta hat yanında sağlı sollu birer adet bulunmaktadır. İnsanlarda SCN'a ek olarak, periferel dokular içerisinde (karaciğer, pankreas, iskelet kası, barsak ve adipoz doku gibi) yer alan periferel zamanlayıcılarında var olduğu ortaya çıkarılmıştır (102). Periferel saatlerden bazıları kendi periyotlarını kendileri belirleyebilseler de genelde SCN'den gelen sinyale göre çalışırlar. SCN, uyku-uyanıklık döngüsü, kalp hızı çalışma performansı, vücut ısısı, kan basıncı düzenlenmesi, beslenme, glukoz, lipid, protein ve mineral metabolizması gibi birçok önemli metabolik süreçleri düzenler (103). Sirkadiyen ritmin düzenlenmesi sırasında, vücutta birçok biyokimyasal parametrenin gün içinde sentezinde ve salınımında önemli değişimler olmaktadır.

Geçmişte hastanelerde, rutin laboratuvar testleri için kan örnekleri genellikle sabahları alınır ve partiler halinde analiz edilir ve sonuçlar öğleden sonra bildirilirdi. Bu nedenle çoğu laboratuvar referans değerleri, bir gecelik açlık sonucu sabah saatlerinde alınan numune örneklerine dayanarak belirlenmiştir. Günümüzde otomatize sistemlerin gelişmesi, gün boyunca sürekli laboratuvar testlerinin analiz ve raporlama yapılmasına olanak tanımaktadır. Bu gelişme, hastanelerde klinisyenlerin daha sık ve daha fazla hasta bakmasına ve günün çeşitli saatlerinde kan örneklerinin alınmasına neden olmuştur. Bu durum, önemli diürnal varyasyona sahip analitler için test sonuçlarının yorumlanmasında sorunlara neden olabilir. Bu nedenle biz bu çalışmamızda laboratuvarımızda en çok istenen 37 parametrenin gün içindeki değişimini inceledik.

Serum glukoz düzeyleri, başta insülin olmak üzere glukagon, adrenalin, noradrenalin, growth hormon tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Glukozun gün içinde değişimine neden olan en önemli faktör beslenmedir. Pocock ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada glukozun gün içinde yaklaşık % 7 oranında değiştiğini, ve bu değişimin beslenme sırasında karbonhidrat alımıyla ilişkili olabileceği düşünülmüş (104). Bizim çalışmamızda da gün içinde glukoz maksimum % 8.08'e varan, klinik olarak anlamlı olabilecek miktarda değişiklik göstermiştir. Çalışmamızda glukoz, saat 15.00'de ve 24.00'de, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı yüksek, saat 18.00'de anlamlı düşük bulundu (sırasıyla 5.43, 8.08 ve -5.17; izin verilebilir sapma= % 2.34). Bu durumun açlık-tokluk döngüsündeki karbonhidrat metabolizması ile ilişkili olduğunu düşündük. Sennels ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da glukozun diüurnal varyasyon gösterdiği (gün içinde % 10.4'lük değişiklik) tespit edilmiş ve gün içinde glukozun saat 23.30 da pik değere ulaştığı bulunmuş (105). Bizim çalışmamızda benzer şekilde glukoz saat 24.00 deki seviyesi en yüksek değerdedi. Bu durumun hiperglisemik etkisi olan GH'un gece saatlerinde en yüksek seviyeye ulaşmasına (106) ve hipoglisemik etkisi olan insülinin gece saatlerinde azalmasına (105) bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Üre, insanlarda proteinlerin son yıkım ürünüdür. Klinikte yükselmesi en fazla böbreklerle ilgili hastalıkları düşündürürken, protein alımının artmasına bağlı olarak da üre miktarı artabilmektedir. Pocock ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada çalışılan parametreleri saat 9.00-19.00 arasında incelemişler, üre ve kreatinin düzeylerinin gün içinde artmaya eğilimli olduklarını tespit etmişlerdir (104). Sennels ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada üre gece ve sabah saatlerinde düşük seviyede olduğu, gün içinde yükseldiği tespit edilmiş ve saat 22.20'de pik yaptığı bulunmuş (107). Bizim çalışmamızda da gün içinde üre düzeyinin saat 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00 de alınan numunelerde 09.00 daki numuneden daha yüksek olduğu tespit ettik. Bu durumun gün içindeki protein yapım-yıkım döngüsüne bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Kreatinin, kaslardaki enerji döngüsünün önemli bir elemanı olan fosfokreatinin yıkım ürünüdür ve böbreklerden atıldığı için böbrek fonksiyonlarını gösteren önemli bir parametredir. Kreatinin diüurnal varyasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Sennels ve arkadaşlarının yaptığı

çalışmada kreatininin gün içinde anlamlı miktarda değişiklik göstermediğini bulunmuştur (107). Pocock ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise kreatinin düzeyleri saat 18.00'da alınan numunelerde, saat 12.00'de alınan numunelere göre yaklaşık % 5 değiştiği arttığı saptanmış (104). Bizim çalışmamızda da gün içinde serum kreatinin düzeyinde klinik olarak anlamlı olacak bir değişiklik görülmemiştir

Karaciğer fonksiyon testlerinden olan ALT, AST, ALP ve GGT'nin diüurnal varyasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda, Sennels ve arkadaşları, ALT ve GGT'de gün içinde anlamlı bir değişiklik olduğunu, AST'de ise diüurnal varyasyonun görüldüğünü, gece saatlerinde azalma olduğunu saptamışlardır (107). Pocock ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise AST ve GGT'nin gün içinde % 0.2, ALP'nin % 0.6 değiştiği tespit edilmiş ve bu farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı bulunmuş (104). Morrison ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise AST, ALT ve ALP'de gün içinde anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır (108). Yine Kanabrocki ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da ALT'nin diüurnal varyasyon göstermediği bildirilmiştir (109). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde ALT, AST, ALP ve GGT'yi değerlendirdiğimizde gün içinde klinik ve istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulamadık.

Kreatin kinaz özellikle iskelet ve kalp kasında bulunan bir enzimdir ve serum CK aktivitesi bu dokularla ilgili herhangi bir patolojik durumda yükselebileceği gibi, egzersiz gibi fizyolojik durumlarda da yükselebilmektedir. Sennels ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serum CK seviyesi gün içinde yaklaşık % 12 değişmekte ve öğle saatlerinde en yüksek seviyeye ulaştığı saptanmıştır (107). Rivera-Coll ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada öğleden sonra CK aktivitesinin pik yaptığı ve gün içinde % 10 değiştiği bulunmuştur (110). Bizim çalışmamızda ise CK aktivitesi maksimum % 5.88 farklılık gösterdi ve bu değişim klinik ve istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Total ve direkt bilirubin, hemoglobinin yıkım ürünüdür ve bilirubin düzeyinde yükselme klinikte en çok karaciğer ve safra yolları ile ilgili bir patolojiyi düşündürmektedir. Sennels ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bilirubin diüurnal varyasyon gösterdiği, gün içinde yaklaşık saat 10.30 gibi pik yaptığını, daha sonra ise gece 24.00'e kadar düştüğü ve gün içinde % 32.13 oranında değiştiği tespit

edilmiştir (107). Morrison ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada saat 08.30, 12.30 ve 16.30 de numune alınıp diüurnal varyasyon incelenmiş ve saat 08.30 dakine göre 16.30 da alınan numunede bilirubin düzeyinin % 17.3 azaldığı bulunmuştur (108). Pocock ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bilirubin düzeyinin saat 12.00'den sonra saat 18.00'e kadar gün içinde azaldığını ve bilirubin düzeyindeki bu farklılığın % 30'dan fazla olduğu bulunmuştur (104). Bizim çalışmamızda da gün içinde total ve direkt bilirubin düzeyinin saat 09.00 da alınan numunede, saat 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00 de alınan numunelerden daha yüksek olarak bulundu ve gün içinde klinik olarak total bilirubin düzeyi % 40.3 ve direkt bilirubin düzeyi % 47.3 değişmekteydi. Bu duruma, bir gecelik açlık sonucu sabah saatlerinde bilirubin konsantrasyonlarının artması ve gün boyunca besin alımları nedeniyle bilirubin seviyesinin düşmesi neden olmuş olabilir. Barrett'in yaptığı çalışmada iki günlük açlık sonucunda bilirubin düzeyinin üç katına çıktığı bulunmuştur (111). Ayrıca saat 09.00'da bilirubin düzeyinin yüksek olmasının ve gün içinde azalmasının nedeni, bilirubin güneş ışığı ile tahrip edilmesi de olabilir. Broughton ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yaz aylarında ortalama bilirubin konsantrasyonlarının 1 ile 1.4 pmol/l daha düşük olduğu gösterilmiştir (112).

Sodyum diüurnal varyasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Sennels ve arkadaşlarının (107) ile Kanabrocki ve arkadaşlarının (109) yaptığı 24 saat boyunca 3'er saat ara ile numune alınan çalışmalarda sodyumun diüurnal varyasyon gösterdiği bulunmuş ama sodyum seviyesinin pik yaptığı saatlerde farklılık gözlenmiş, Sennels ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada pik saati 13.08; Kanabrocki ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 19.10 ve 23.10 olarak bulunmuştur. Statland ve arkadaşlarının (113) saat 08.00, 11.00 ve 14.00'de alınan numuneleri karşılaştırdığı çalışmada, saat 11.00 de saat 08.00 dakine göre anlamlı seviyede yüksek tespit edilmiş (yaklaşık % 1). Melchart ve arkadaşlarının ile Touitou ve arkadaşlarının yaptığı 24 saat boyunca 4'er saat ara ile numune alınan çalışmada, Winkel ve arkadaşlarının saat 08.00, 11.00 ve 14.00'de alınan numuneleri karşılaştırdığı çalışmada ise sodyumun diüurnal varyasyon göstermediği bulunmuştur (114-116). Bizim çalışmamızda ise saat 09.00'daki numunelere göre, saat 12.00'de alınan numunelerde anlamlı düşük; saat 18.00 ve 24.00'de alınan

numunelerde ise anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla % sapma -0.72, 0.72 ve 0.72; izin verilebilir sapma= % 0.23).

Aynı şekilde potasyumun diüurnal varyasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda da farklı sonuçlar elde edilmiş. Kanabrocki ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile Winkel ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda potasyum diüurnal varyasyon göstermediği bulunmuştur (109, 116). Sennels ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada potasyumun saat 10.00'da pik yaptığı, saat 12.00-24.00 arasında alınan numunelerde ise potasyumun istatistiksel olarak anlamlı olacak derecede azaldığı ve bu farklılığın maksimum % 4.7 olduğu bulunmuştur (107). Pocock ve arkadaşları ile Morrison ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda potasyumun gündüz alınan numunelerde, diğer numunelere göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuş; bu nedenle potasyumun diüurnal varyasyon gösterdiği bildirilmiştir (104,108). Bizim çalışmamızda da gün içinde potasyum düzeyinin saat 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00 de alınan numunelerde 09.00 daki numuneden daha düşük olduğunu (sırasıyla - 2.85, -3.66, -2.71 ve -5.01; izin verilebilir sapma= % 1.81) ve potasyumun gün içinde yaklaşık % 5 değişebileceğini saptadık.

Klorun diüurnal varyasyonu ile ilgili literatür sayısı sodyum ve potasyuma göre daha sınırlıdır. Morrison ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada saat 8.30, 12.00 ve 16.30 da numune alınmış; en yüksek klor düzeyi saat 08.30 da alınan numunede bulunmuş ve diğer numunelerde en fazla % 0.87 farklılık gösterdiği saptanmıştır (108). Böning ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise klorun diüurnal varyasyon göstermediği bulunmuştur (117). Bizim çalışmamızda da gün içinde serum klor düzeyinde klinik olarak anlamlı bir değişiklik görülmemiştir.

Sağlıklı bireylerde, yemek sonrası şilomikronların transportu sayesinde diyetle alınan trigliserid, kan dolaşımına geçer ve serum trigliserid konsantrasyonunda artış meydana gelmektedir. Bu artış sadece trigliseridde görülmemektedir; aynı zamanda trigliseridden zengin lipoproteinlerin konsantrasyonlarında da artış gözlenir. En belirgin artış VLDL kolesterolde görülmekle birlikte, HDL ve LDL kolesterol konsantrasyonlarında da az miktarda değişiklik görülmektedir (118). Lipid profili parametreleri olan trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterolün diüurnal varyasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda

genelde trigliserid düzeyinde bariz gün içi değişiklik görülmekle birlikte HDL-kolesterol ve total kolesterolle ilgili farklı sonuçlar bulunmuştur. Sennels ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HDL-kolesterol de anlamlı bir değişiklik bulunmamışken; trigliserid ve total kolesterolde gün içinde anlamlı değişiklik saptanmış ve bu değişiklik trigliserid için daha bariz olarak bulunmuş (trigliserid % 37.0 ve total kolesterol % 4.8) (105). Miettinen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HDL-kolesterolün bir diüurnal varyasyon gösterdiği saptanmıştır (sabahın erken saatlerinde en düşük değerler, ardından kahvaltıdan sonra bir artış, ardından öğleden sonraki en yüksek seviyelerde) (119). Pocock ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada total kolesterolde herhangi bir diüurnal varyasyon saptanmamışken, trigliserid düzeyi ise gün içinde yaklaşık % 40 değiştği bulunmuştur (104). Bizim çalışmamızda, total kolesterol ve HDL-kolesterol de anlamlı farklılık bulunmazken, trigliserid seviyesinde ise saat 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı yüksek bulundu ve gün içinde trigliseridin yaklaşık % 37 değiştği saptandı. Trigliserid düzeyindeki bu artışın yemekten diyetle alınan trigliseride bağlı olduğunu düşünüyöruz.

İnsandaki plazma kalsiyum ve fosfor konsantrasyonu, paratiroid hormonu, kalsitonin ve D vitamini tarafından etkili bir feedback mekanizmasıyla düzenlenmektedir. Kalsiyum ve fosforun diüurnal varyasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda genel olarak fosforun diüurnal varyasyon gösterdiği ve akşam saatlerinde yükseldiği bulunmuşken, kalsiyumla ilgili ise farklı sonuçlar ve farklı pik saatleri elde edilmiştir. Jubiz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada total kalsiyum düzeyi sirkadiyen ritm gösterdiğini: saat 02.00-04.00'te en düşük, saat 20.00'de en yüksek düzeye ulaştığı bulunmuştur (120). Evens ve arkadaşları saat 20.00, 02.00, 04.00 ve 08.00 de alınan numunelerdeki kalsiyum düzeyini incelediklerinde saat 20.00 ve 08.00 de alınan kalsiyum düzeyini diğer numunelerden yaklaşık % 3.5 daha yüksek bulunmuştur (121). Markowitch ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise saat 09.30-11.30 arası kalsiyum düzeyinin en yüksek seviyede, 01.30-06.30 arasında ise en düşük seviyede olduğu saptanmıştır (122). Pocock ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile Fraser ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise kalsiyumun diüurnal varyasyon göstermediği saptanmıştır (104, 123). Morrison ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise serum kalsiyum düzeyi gün içinde % 1.2 değişim

göstermekteydi ve bu fark anlamlı değildi (108). Bizim çalışmamızda ise kalsiyum düzeyi, sabah 09.00 da alınan numuneye göre saat 12.00 ve 24.00 de alınan numunelerde klinik olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla % 0.82 ve % 1.08; izin verilebilir sapma= % 0.82).

Böning ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serum fosfor düzeyi, sabah saatlerinde, öğleden sonra ve akşam saatlerine göre daha düşük olduğu bulunmuştur (117). Pocock ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fosfor düzeyleri sabah 09.00'da en düşük düzeyde olduğu, akşam 18.00'e kadar gün içinde yükseldiği ve fosfor düzeyinin gün içinde % 10.3 kadar değiştiği saptanmıştır (104). Bizim çalışmamızda ise serum fosfor düzeyi, sabah 09.00 da alınan numunelere göre saat 15.00, 18.00 ve 24.00 de alınan numunelerde klinik olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla % 5.07,7.36.ve 9.49; izin verilebilir sapma= % 3.38).

Literatürde magnezyum bakımından farklı sonuçlar elde edilmiştir. Sennels ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada magnezyumun diüurnal varyasyon göstermediği bulunmuş (pik zamanı 03:30, gün içinde değişim % 2.63). Morrison ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 16.30 da alınan numunelerde 08.30 da alınan numunelere göre serum magnezyum düzeylerinin % 2.4 daha yüksek olduğu bulunmuş ama aradaki farkın anlamlı olmadığı bildirilmiştir (108). Böning ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da magnezyumun diüurnal varyasyon göstermediği bulunmuş (117). Bizim çalışmamızda saat 12.00, 15.00 18.00 ve 24.00'de alınan magnezyum düzeyi, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla % 2.6, 5.3, 5.3, 5.3; izin verilebilir sapma= % 1.8).

Plazmada yaklaşık olarak 3 mg demir bulunmakla birlikte, gün içinde yaklaşık 35 mg demir döngüsü meydana gelmektedir. Bu nedenle demirin hem plazma havuzu içine veya dışına çıkma oranlarındaki küçük değişiklikler bile demir konsantrasyonunu birkaç saat içinde önemli miktarda değiştirmektedir (124). Yapılan birçok çalışmada gece saatlerinde demir düzeyinin, gündüz saatlerine göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Funk'un yaptığı çalışmada saat 13.00'de çalışılan serum demir seviyesi gece 01.00'de çalışılan demir düzeyinden yaklaşık % 10 daha yüksek olduğu saptanmıştır (125). Yine Hamilton ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ve Waldenstorm'un yaptığı çalışmada da demirin gündüz saatlerinde

gece saatlerine göre daha yüksek olduğu ve demirin diüurnal varyasyon gösterdiği bulunmuştur (126,127). Bizim çalışmamızda da, saat 15.00, 18.00 ve 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu ve serum demir düzeyinde gün içinde % 40'a varan bir değişim gözlemlendi.

Total protein ve albuminin diüurnal varyasyonunu incelediğimizde literatürlerde yine farklı sonuçlar elde edilmiştir. Rejnmark ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada albumin düzeyi saat 16.00'da en yüksek seviyede, gece 04.00'de en düşük seviyede olduğu ve gün içinde yüzde 12 değiştiği ve bu değişimin anlamlı olduğu bildirilmiştir (128). Morrison ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise saat 16.30 de alınan numunelerde saat 08.30'da alınan numunelerden total protein düzeyi % 2, albumin düzeyi ise % 2.5 daha yüksek bulunmuş ve bu fark istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bildirilmiştir (108). Pocock ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada total proteinin gün içinde sadece % 0.5 albuminin ise % 0.4 oranında değiştiğini ve bu farklılığın anlamlı olmadığı saptamıştır (104). Bizim çalışmamızda da gün içinde serum albumin ve total protein düzeyinde klinik olarak anlamlı olacak bir değişiklik görülmemiştir.

Amilaz ve lipazın diüurnal varyasyonu ile ilgili oldukça sınırlı sayıda literatür vardı. Sennels ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serum amilaz düzeyi saat 19.00'da pik yapmaktaydı ve gün içinde % 6 değişiklik göstermekteydi ama bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmadığı için p-amilazın diüurnal varyasyon göstermediği kabul edilmiştir (107). Keller ve arkadaşının yaptığı çalışmada ise pankreastan amilaz salınımının gündüz saatlerine kıyasla akşam saatlerinde arttığı bulunmuştur (129). Bizim çalışmamızda ise amilaz ve lipaz düzeyi saat 09.00'da alınan numunelerde en düşük seviyede olup, saat 09.00'daki numuneye göre serum amilaz aktivitesi saat 24.00'de alınan numunelerde (% 7.97 daha yüksek; izin verilebilir sapma= % 7.4); serum lipaz aktivitesi ise saat 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00 'da alınan numunelerde klinik olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla % 39.1, % 95.6, % 56.5, % 100 daha yüksek; izin verilebilir sapma= % 11.31).

TSH, ön hipofiz bezinden sentezlenen bir hormondur ve başlıca görevi hücre içi ve dışı birçok metabolik olayda yer alan tiroit hormonları olan T₃ ve T₄ salınımını düzenlemektedir. Klinisyenler tarafından en fazla istenen ve kısaca tiroit

paneli denilen TSH, sT_3 ve sT_4 'ün gün içindeki değişimi ile ilgili yapılan çalışmalarda TSH'nin bariz bir diüurnal varyasyon gösterdiği görülmüşken, sT_3 ve sT_4 ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Amerikan Klinik Kimya Birliği (American Association for Clinical Chemistry) yayınladığı bir kılavuzda TSH değerlerinin tiroid hormonlarında anlamlı bir değişiklik olmadan ölçümler arasında % 20 kadar değişebileceği, sT_4 ve sT_3 'ün ise % 10 ve % 8'lik bir bireysel biyolojik varyasyona sahip olduğu, ancak TSH'nin aksine diüurnal bir varyasyon göstermediği bildirilmiştir (130). Yapılan birçok çalışmada, TSH'nin sirkadiyen ritminin olduğu, yaklaşık saat 02.00 - 04.00 arasında pik yaptığı, saat 16.00 - 20.00 arasında en düşük düzeyde olduğu saptanmıştır (131, 132). Russell ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TSH, sT_3 ve sT_4 'ün diüurnal varyasyon gösterdiğini saptanmışken gün içinde TSH'nin % 72, sT_4 'ün % 9 ve sT_3 'ün % 11.2 değişebileceği ve TSH'nin saat 02.40'da, sT_3 'ün ise 04.00'de pik yaptığı bulunmuştur (133). Persani ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gün içinde TSH % 44, sT_3 'ün % 16, sT_4 'ün ise % 4 değiştiği bulunmuş, TSH'nin değişimi istatistiksel olarak anlamlı iken sT_3 ve sT_4 'ün değişimi anlamlı olmadığı saptanmıştır (134). Warade ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada saat 06.00, 12.00 ve 18.00'de numune alınmış ve saat 18.00 de alınan numunede TSH düzeyinin, saat 06.00'dakine göre yaklaşık %17 daha düşük olduğu saptanmıştır (135). Roelfsema ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TSH'nin diüurnal varyasyon gösterdiği ve saat 15.00 de en düşük seviyede olduğu bulunmuştur (136). Azukizawa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TSH'nin diüurnal varyasyon gösterdiği saptanırken, sT_3 ve sT_4 'de anlamlı değişiklik saptanamamıştır (137). Balsam ve arkadaşlarının sT_3 ve sT_4 'ün diüurnal varyasyonunu incelediği çalışmada ise sT_3 'ün saat 09.00 da en yüksek, saat 15.00-17.00 de en düşük seviyede olduğu ve gün içinde % 13.2 değiştiği; sT_4 'ün ise saat 09.00 da en yüksek, saat 17.00-19.00 de en düşük seviyede olduğu ve gün içinde % 16.7 değiştiği saptanmış, ama bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmadığı için sT_3 ve sT_4 'ün diüurnal varyasyon göstermediği bildirilmiştir (138). Bizim çalışmamızda TSH düzeyi, saat 12.00, 15.00 ve 18.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük, saat 24.00'de alınan numune ise anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla % sapma -32.8, -31.2, -27.3 ve 48.9; izin verilebilir sapma= % 7.8). TSH'nin saat 24.00'deki numunelerde pik yapması ve saat 09.00'daki

numunelerde saat 12.00, 15.00 ve 18.00'dekinden yüksek olması önceki çalışmalar ile uyumluydu. Serbest T₃, saat 12.00, 15.00 ve 18.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulduk (sırasıyla -6.69, -7.29 ve -7.6; izin verilebilir sapma= % 4.8). Serbest T₄ düzeyindeki değişim ise klinik olarak anlamlı değildi.

Yaş, cinsiyet ve menstrual siklusa göre, serum düzeyleri önemli ölçüde değişen FSH, LH ve estradiolün özellikle puberte dönemde diüurnal varyasyon gösterdiği (uyku döneminde arttığı) bilinmesine rağmen (139, 140) erişkin insanlarda diüurnal varyasyonu ile ilgili sınırlı sayıda literatür vardır ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Walton ve arkadaşlarının sağlıklı erkeklerde yaptığı bir çalışmada LH'nin ve testosteron düzeyinin diüurnal varyasyon gösterdiği gece saatlerinde ve sabahın erken saatlerinde pik yaptığı, FSH'nin ise diüurnal varyasyon göstermediği bulunmuştur (141). Yine Wikland ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada geç puberte döneminde erkeklerde 24.00-08.00 arası LH ve testosteron seviyesinin yüksek olduğu, daha sonra öğle saatlerine kadar azaldığı saptanmıştır (142). Brambilla ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada erkeklerde saat 08.00-16.00 arası birer saat arayla numune alarak sabah ile öğleden sonra alınan kanlarda FSH, LH ve E2 düzeyi incelenmiş ve 30 yaş civarı erkeklerde FSH düzeyi değişmezken, öğleden sonra alınan kanlarda sabaha göre, E2 düzeyi yaklaşık % 10 azalmış, LH düzeyi ise yaklaşık % 15 arttığı görülmüş (143). Bao ve arkadaşlarının bayanlarda yaptığı bir çalışmada estradiol düzeyinin diüurnal varyasyon gösterdiği, saat 06.00-09.00 arasında en yüksek seviyede olduğu bulunmuştur (144). Klingman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da kadınlarda FSH ve LH'nin diüurnal varyasyon göstermediği bildirilmiştir (145). Bizim çalışmamızda serum FSH düzeyi açısından bayanlarda ve erkeklerde klinik bir farklılık saptanmamıştır. LH düzeyi erkeklerde saat 09.00'da alınan numunede en yüksekti ve saat 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00 de alınan numunelerde saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulunurken (sırasıyla % sapma -13.8, -12.79, -13.31 ve -11.87; izin verilebilir sapma= % 8.94); serum estradiol düzeyi de saat 09.00'da alınan numunede en yüksekti ve 15.00, 18.00 ve 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu (sırasıyla % sapma -17.1, -12.8 ve -10.5; izin verilebilir sapma= % 8.3). Bu sonuç uyku saatlerinde ve sabah saatlerinde erkeklerde LH, testosteron ve

estradiolün yüksek olduğunu bulan çalışmalarla uyumludur. Estradiol, kadınlarda saat 15.00 alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu (% sapma -14.12; izin verilebilir sapma= % 8.3). LH düzeyi ise sabah saat 09.00'da alınan numunelerde en yüksek ve saat 15.00 alınan numunelerde saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu (% sapma -25.1; izin verilebilir sapma= % 8.94).

Yapılan birçok çalışmada prolaktinin diüurnal varyasyon gösterdiği bulunmuş, özellikle erkeklerde ve gebe olmayan, emzirmeyen bayanlarda en yüksek prolaktin düzeyinin REM uykusu döneminde olduğu saptanmıştır (146). Uykudan bağımsız olarak prolaktinin gün içindeki değişimi ile ilgili sınırlı sayıda yayına ulaştık. Nokin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hamile olmayan bayanlarda ve erkeklerde sabah 05.00'de prolaktin düzeyinin en yüksek seviyede olduğu, öğle saatlerine kadar düştüğü ve gece 01.00'e doğru yeniden yükseldiği bulunmuştur (147). Waldstreicher ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada uyanıklık döneminde prolaktinin saat 08.00'de yüksek olduğu, öğle saatlerine kadar azaldığı, daha sonra da gece saatlerinde (uyku öncesi döneme doğru) pulsatil bir şekilde yükseldiği saptanmıştır (148). Bizim çalışmamızda ise kadınlarda saat 09.00'daki prolaktin düzeyi saat 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00 dekinden klinik olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla % sapma -41.32, -42.42, -25.66 ve -26.21; izin verilebilir sapma= % 10.5); erkeklerde ise saat 09.00'daki prolaktin düzeyi saat 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00 dekinden klinik olarak anlamlı yüksek bulundu ve bu sonuç daha önceki çalışmalarla uyumluydu (sırasıyla % sapma -36.31, -38.79, -33.55 ve -24.27; izin verilebilir sapma= % 10.5).

Folat ve vitamin B12'nin diüurnal varyasyonu ile ilgili çok az sayıda literatüre rastladık. Pathy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada B12'nin gün içinde ve yemeğe bağlı olarak değişmediğini, folatın ise sabah yemekten sonra yükseldiğini ve bu değişimin yaklaşık 5 saat sürdüğü, ama bu değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (149). Sennels ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise folatın gün içinde gittikçe azaldığı, gece saatlerinde en düşük seviyede seyrettiği; B12'nin ise değişmediği saptanmıştır (150). Bizim çalışmamızda da B12'nin gün içindeki değişimi klinik olarak anlamlı değilken, serum folat seviyesi

saat 24.00'de, saat 09.00'dakine göre klinik olarak anlamlı düşük bulundu (%26.9; izin verilebilir sapma= % 19.12).

PSA'nın diüurnal varyasyonu ile ilgili farklı sonuçlar elde edilmiştir. Dejter ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada prostat hastalığı olanlarda ve olmayanlarda PSA'nın diüurnal varyasyon göstermediği bildirilmiştir (151). Tekin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada benign ürolojik problemler nedeniyle serviste yatan hastalarda gün içinde PSA'nın değişimi incelenmiş ama istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (152). Hunter ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise sağlıklı erkeklerde PSA düzeyinin diüurnal varyasyon gösterdiği, saat 17.00 de en yüksek olduğu ve gece saatlerinde düştüğü saptanmıştır (153). Bizim çalışmamızda da gün içinde serum PSA düzeyinde klinik olarak anlamlı olacak bir değişiklik görülmemiştir.

Kalsiyum metabolizmasının en önemli belirleyicilerden biri olan parathormonun diüurnal varyasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda, parathormonun pik yaptığı ve düşük olduğu zamanlarla ilgili farklı sonuçlar elde edilmiştir. Fulehian ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PTH diüurnal varyasyon göstermekte, gün içinde iki pik yapmakta saat 03.14 ve 17.26 da en yüksek seviyede, 10.41 ve 21.03 de en düşük seviyede olduğu bulunmuştur (154). Yine Rejnmark ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PTH, saat 04.00'de ve 20.00'de pik yapmakta, 10.00'da en düşük seviyeye inmektedir (128). Jubiz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise parathormon sadece sabahın erken saatlerinde bir kez pik yaptığı ve saat 10.00 civarı en düşük seviyeye indiği bildirilmiştir (120). Nielsen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada saat PTH, saat 00.30 gibi pik yapmakta, saat 09.30-10.30'da en düşük seviyeye inmektedir (155). Bizim çalışmamızda parathormon, saat 12.00, 15.00 ve 24.00 de alınan numunelerde, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşük bulundu (sırasıyla sapma -30.17, -21.9 ve -11.3; izin verilebilir sapma= % 8.8). PTH'ın saat 09.00, 18.00 ve 24.00'de; saat 12.00 ve 15.00'deki numunelerden yüksek olması önceki çalışmalarla uyumluydu.

Mevimsel değişkenlik gösterdiği bilinen D vitaminin gün içindeki değişikliğiyle ilgili sınırlı sayıda literatür vardır ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Masod ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 25-hidroksi vitamin D₃ düzeyinin diüurnal

varyasyon gösterdiği, saat 12.00'de en yüksek saat 06.00'da en düşük düzeyde olduğu saptanmıştır (156). Rejnmark ve arkadaşları da gece 24.00-08.00 arası (uyku döneminde) vitamin 1,25 vitamin D₃'nin istatistiksel olarak farklı olacak şekilde düştüğünü, saat 16.00'da pik yaptığı bulunmuş, ama gün içindeki değişimin % 10'dan az olduğu bildirilmiştir (128). Prince ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise saat 08.00 ile 22.00'de alınan numunelerde 1,25 vitamin D₃ düzeyleri incelenmiş, anlamlı bir fark bulunamamıştır (157). Yine Adams ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da 1,25 vitamin D₃'ün diüurnal varyasyon göstermediği bulunmuş (158). Bizim çalışmamızda ise 25-hidroksivitamin D₃ düzeyi saat 12.00'de en yüksek düzeydeydi ama gün içinde klinik olarak anlamlı bir değişiklik saptanamadı.



6. SONUÇ

Çalışmamızda kreatinin, ALT, AST, GGT, ALP, CK, klor, albumin, total protein, total kolesterol, HDL- kolesterol, sT₄, FSH, vitamin B12, PSA ve 25-OH Vitamin D₃ parametrelerinde gün içinde klinik olarak anlamlı kabul edilebilecek bir değişiklik bulunmamışken; glukoz, BUN, total bilirubin, direkt bilirubin, sodyum, potasyum, trigliserid, demir, IUBC, kalsiyum, fosfor, magnezyum, amilaz, lipaz, TSH, sT₃, LH, E2, prolaktin, folat ve parathormon düzeylerinde ise klinik olarak anlamlı sayılabilecek derecede gün içinde değişiklik gösterdiği bulunmuştur. Bunlar içinde özellikle gün içinde BUN, folat, LH, E2, parathormon seviyesi yaklaşık % 20-30, total bilirubin, direkt bilirubin, trigliserid, demir, TSH ve prolaktin seviyesi yaklaşık % 40-50 ve lipaz enzim aktivitesi yaklaşık % 100 değişmektedir. Bu nedenle hastaların tanı ve tedavi takibinde özellikle bu parametrelerin gün içindeki değişiminin göz önüne alınması gerektiğini düşünüyoruz.

7. ÖZET

Laboratuvar Testleri Üzerine Diüurnal Varyasyonun Etkisi

Amaç: Birçok laboratuvar testinin diüurnal varyasyon gösterdiği bilinmesine rağmen literatürde bu konudaki çalışmalar yetersizdir. Bu çalışmada, günümüzde sık kullanılan bazı biyokimya, hormon parametreleri ve 25 hidroksi Vitamin D'nin gün içindeki değerleri arasında farklılık olup olmadığının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Materyal-Metot: 18-50 yaşları arasında 17 gönüllüden (11 erkek, 6 bayan) saat 09.00, 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00'de serum ve plazma örnekleri alındı. Saat 09.00'da alınan örnekler bazal olarak kabul edildi. Bu örneklerden 25 rutin parametresi, 11 hormon parametresi ve 25 hidroksikolekalsiferol düzeyleri çalışıldı. Saat 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00'de alınan numuneler bazal düzeyle karşılaştırıldı.

Bulgular: ALT, AST, GGT, ALP, CK, klor, albumin, total protein, total kolesterol, HDL- kolesterol, sT₄, FSH, vitamin B12, PSA ve 25-OH Vitamin D₃ parametrelerinde gün içinde klinik olarak anlamlı kabul edilebilecek bir değişiklik bulunamışken; glukoz, BUN, total bilirubin, direkt bilirubin, sodyum, potasyum, trigliserid, demir, IUBC, kalsiyum, fosfor, magnezyum, amilaz, lipaz, TSH, sT₃, LH, E₂, prolaktin, folat ve parathormon düzeylerinde ise klinik olarak anlamlı sayılabilecek derecede gün içinde değişiklik gösterdiği bulunmuştur.

Sonuç: Çalışmamızda özellikle total bilirubin, direkt bilirubin, trigliserid, demir, TSH ve prolaktin seviyesi gün içinde yaklaşık % 40-50 ve lipaz enzim aktivitesi ise yaklaşık % 100 oranında değişim gösterdiği saptandı. Bu nedenle hastaların tanı ve tedavi takibinde özellikle bu parametrelerin gün içindeki değişiminin göz önüne alınması gerektiğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Diüurnal varyasyon, hidroksikolekalsiferol, lipaz, prolaktin, TSH (tiroid stimüle edici hormone)

8. SUMMARY

The Effect of Diurnal Variation on Laboratory Tests

Objective: Despite the fact that many laboratory tests show diurnal variation, studies in this area are inadequate in the literature. In this study, it is aimed to determine whether there are differences in some biochemistry parameters and hormone parameters between different time intervals during the day.

Materials and Methods: Serum and plasma samples were taken at 09:00, 12:00, 15:00, 18:00 and 24:00 hours from 17 volunteers (11 males and 6 females) aged 18-50 years. The samples taken at 09:00 were accepted as baseline. 25 routine parameters, 11 hormone parameters and 25 hydroxycholecalciferol levels were measured in these samples. The samples taken at 12:00, 15:00, 18:00 and 24:00 were compared with the baseline level.

Results: There was no clinically important change during the day in the parameters of ALT, AST, GGT, ALP, CK, chloride, albumin, total protein, total cholesterol, HDL-cholesterol, fT₄, FSH, vitamin B12, PSA and 25-OH vitamin D₃. Glucose, BUN, total bilirubin, direct bilirubin, sodium, potassium, triglyceride, iron, IUBC, calcium, phosphorus, magnesium, amylase, lipase, TSH, fT₃, LH, E2, prolactin, folate and parathormone levels were changed significantly during the day.

Conclusion: Our study showed that total bilirubin, direct bilirubin, triglyceride, iron, TSH and prolactin levels were changed up to 40-50% and lipase enzyme activity up to 100% within the day. Therefore, we think that the changes of these parameters during the day should be taken into consideration in the diagnosis and treatment of the patients.

Keywords: Diurnal variation, hydroxycholecalciferol, lipase, prolactin, TSH (Thyroid Stimulating Hormone)

9. KAYNAKLAR:

1. Forsman, R.W. Why Is the Laboratory an Afterthought for Managed Care Organizations? *Clinical Chemistry* 1996; 4, 813-816.
2. Romero A, Cobos A, López-León A, Ortega G, Munoz M. Preanalytical mistakes in samples from primary care patients. *Clin Chem Lab Med* 2009; 47 (12):1549-52.
3. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the darkside of the moon in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44 (4):358-65.
4. Young SD, Birmes WE. Preanalytical variables and biological variation. In: Burtis AC, Ashwood RE, Burns AD, eds. *Tietz textbook of Clinical Chemistry and molecular diagnostics*. Fourth ed. Missouri: Elsevier Saunders, 2006; 449-523.
5. Güner G, Tuncel P, Örmən M. Preanalitik evrede kalite yönetimi. In: *Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi*. Tağa Y, Aslan D, Güner G, Kutay ZF (Ed). Ankara: Türk Biyokimya Derneği Yayınları, 2000; 139-149.
6. Satish C. Kalhan, Arnab Ghosh. Dietary iron, circadian clock, and hepatic gluconeogenesis. *Diabetes* 2015; 64:1091–3.
7. Sturgess I, Thomas SH, Pennell DJ, Mitchell D, Croft DN. Diurnal variation in TSH and free thyroid hormones in patients on thyroxine replacement. *Açta Endocrinol (Copenh)*. 1989; 121 (5): 674-6.

8. Eriksson L, Eden S, Holst J, Lindstedt G, Von Schoultz B. Diurnal variations in thyrotropin, prolactin and cortisol during human pregnancy. *Gynecol Obstet Invest.* 1989; 27 (2): 78-83.
9. Knudson PE, Weinstock RS. Carbohydrates. In: Henry JB, ed. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods.* 20th ed. Philadelphia: WB Saunders 2001; 211-23.
10. Sacks DB. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry.* 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1999; 750-85.
11. Rock RC, Walker WG, Jennings CD. Nitrogen metabolites and renal function. In: Tietz NW, ed. *Fundamentals of Clinical Chemistry.* 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1987; 669–704.
12. Lamb E, Newman DJ, Price CP. Kidney function tests. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics.* 4th edition. Missouri: Elsevier Saunders, 2006; 797-835.
13. Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry,* 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1994; 790–1.
14. Friedman RB, Young DS. *Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests.* Washington, DC: AACC Press; 1989; 3-38–3-41.

15. Chan DW, Booth RA, Diomondis EP. Tumor markers. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4th edition. Missouri: Elsevier Saunders. 2006; 745-795.
16. Dufour, D.R., Lott, J.A., Nolte, F.S., Gretch, D.R., Koff, R.S. and Seeff, L.B. Diagnosis and Monitoring of Hepatic Injury: I. Performance Characteristics of Laboratory Tests. *Clinical Chemistry*. 2000; 46, 2027-2049.
17. Ryu S, Chang Y, Kim DI, Kim WS, Suh BS. gamma-Glutamyltransferase as a predictor of chronic kidney disease in nonhypertensive and nondiabetic Korean men. *Clin Chem*. 2007; 53,71–77.
18. Armstrong, R. B. Initial events in exercise-induced muscular injury. *Med. Sci. Sports Exerc*. 1990; 22: 429-35.
19. Hedges, JR, Gibler, WB, Young, GP et al, Multicenter study of creatine kinase-MB use: Effect on chest pain clinical decision making. *Acad Emerg Med*. 1996; 3:7–15.
20. Grant GH, Silverman LM, Christenson RH. Amino acids and proteins. In: Tietz NW, ed. *Fundamentals of Clinical Chemistry*, 3rd edition Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1987; 328-30.
21. Rothschild MA, Oratz M, Schreiber SS. Serum Albumin. *Hepatology*. 1988; 8:385–401.

22. Brobeck JR, ed. *Physiological Basis of Medical Practice*, 9th ed. Baltimore, MD: Wilkins and Wilkins, 1973; 4-7.
23. Berk PD, Wolkoff AW. Bilirubin metabolism and the hyperbilirubinemias. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 15th edition. New York, NY: McGraw-Hill, 2001; 1715- 1720.
24. Lo SF, Doumas BT, Ashwood ER. Performance of bilirubin determinations in US laboratories-revisited. *Clin Chem* 2004; 50:190-194.
25. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, Pathophysiology of Body Fluids and Fluid Therapy, Greenbaum LA, Nelson Textbook of Pediatrics, 17th edition, Philadelphia, The Curtis Center Independence Square West. 2004; 196-199.
26. Rowland TW, Zori RT, Lafleur WR, Reiter EO. Malnutrition and hypernatremic dehydration in breast-fed infants. *JAMA* 1982; 247: 1016-1017.
27. Tietz NW, Pruden EL, Siggaard-Anderson O. Electrolytes. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders. 1994;1354-74.
28. Stanton BA, Giebisch GH. Renal potassium transport. In: Windhager EE, ed. *Handbook of Physiology*. New York: Oxford University Press, 1992; 813-74.

29. Aurbach GD, Marx JD, Spigel AM. Parathyroid hormone, calcitonin and the calciferols. In: Wilson JD, Foster DW, eds. Williams Textbook of Endocrinology. 8th edition. Philadelphia, PA: Wb Saunders, 1992;1397-476.
30. Fraser D, Jones G, Kooh SW, Radde IC. Calcium and phosphate metabolism. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1987;705-728.
31. Murray R.K., Granner D.K., Mayes, P.A., Rodwell V.W. (2004). Harper'ın Biyokimyası. Çevirenler: Menteş, G., Ersöz, B., Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
32. Marino PL. Calcium and magnesium in critical illness: A practical approach. In: Sivak ED, Higgins TL, Seiver A, eds. The high risk patient: Management of the critically ill. Baltimore: Williams and Wilkins, 1995;1183-95.
33. Reinhart RA. Magnesium deficiency: Recognition and treatment in emergency medicine setting. Am J Emerg Med 1992;10:78-83.
34. Beşışık SK. Demir eksikliği anemisi. Türkiye Klinikleri Hematoloji Dergisi 2004; 2(2): 96-102.
35. Adamson JW. çev. Nevruz O, Güvenç B, Demir eksikliği ve diğer hipoproliferatif anemiler. In Brunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. Harrison iç hastalıkları prensipleri, çev. ed. Sağlık Y. Cilt 1 15. B. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2004.s.660-666.

36. Bauer JD. Hemoglobin, porphyrin, and iron metabolism. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, theory, analysis, and correlation. St. Louis: Mosby Company 1984; 611-55.
37. Mahley R.W. Aterogenezin hücresel ve moleküler biyolojisi. Kolesterol taşınması ve lipoprotein metabolizması. Merck Sharp Dohme İlaçları, İstanbul, 1993. (Çev. Ed: Gökdemir O., Palaoğlu K. E).
38. Champe P.C., Harvey R.A. Lippincott's illustrated reviews: Biochemistry. Second edition. 1994; 163-228., 250-265. J.B. Lippincott Company. Philadelphia.
39. Hsia SH. Disorders of lipid metabolism. In: Norman L. Manual of Endocrinology and Metabolism. 3th edition. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2006; 520-46.
40. Thompson G.R. Hiperlipidemi el kitabı. Uycan Yayınları, İstanbul, 1991;1-99. (Çeviri Ed: Tamuğur E).
41. Steinberg WM, Goldstein SS, Davies ND et al. Diagnostic assays in acute pancreatitis [Review]. Ann Intern Med 1985; 102:576-580.
42. Clavien PA, Burgan S, Moossa AR. Serum enzymes and other laboratory tests in acute pancreatitis.Br J Surg 1988; 76:1234-43.
43. G.Tom Shires, Frank C. Spencer, John M. Daly, Joseph E Fisher, Aubrey C. Galloway Principles of Surgery Schwartz's 7th edition 1999.
44. Lempinen M, Puolakkainen P, Kemppainen E. Clinical value of severity markers in acute pancreatitis. Scandinavian Journal of Surgery 2005; 94:

118–123.

45. Bouknight AL. Throid physiology and thyroid function testing. *Otolaryng Cli N Am.*2003; 36: 9-15.
46. Kaynaroğlu ZV. Tiroit fizyolojisi ve fonksiyon testleri. Sayek İ (ed). *Temel Cerrahi. 2.baskı.* Ankara: Güneş Kitabevi. 1996; 1523-24.
47. İşgör A. Tiroit fizyolojisi. İşgör A (ed). *Tiroit Hastalıkları ve Cerrahisi. 1. baskı.* İstanbul: Avrupa Tıp Kitapçılık. 2000; 69-122.
48. White GH. Recent advances in routine thyroid function testing. *CRC – Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences.* 1987; 24: 315-362.
49. Liewendahl, K, Majuri, H, Helenius, T. Thyroid function tests in patients on long-term treatment with various anticonvulsant drugs. *Clinical Endocrinology.* 1978; 8: 187-91.
50. Wenzel, KW. Pharmacological interference with in vitro tests of thyroid function. *Metabolis.* 1981; 30(7): 717-32.
51. Pierce JG and Parsons TF. Glycoprotein hormones: structure and function. *Annual Review of Biochemistry,* 1981; 50: 465-95.
52. Adashi EY. The ovarian life cycle. In *Reproductive Endocrinology.* Edited by Yen SSC and Jaffe RB. Philadelphia, PA: WB Saunders Co., 1992; 22: 1-28.
53. South SA, Yankov VI and Evans WS. Normal reproductive neuroendocrinology in the female. In *Endocrinolgy and Metabolism Clinics of North America.* Edited by Veldhuis JD, Philadelphia PA: WB Saunders Co., 1993; 22: 1-28.

54. Reyes-Fuentes A and Veldhuis JD. Neuroendocrine physiology of the normal male gonadal axis. In *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. Edited by Veldhuis, JD. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co. 1993; 22: 93-124.
55. Richardson SJ. The biological basis of menopause. *Baillières Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1993; 7: 1-16.
56. Hall JE. Polycystic ovarian disease as a neuroendocrine disorder of the female reproductive axis. In *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America, Neuroendocrinology II*. Edited by Veldhuis JD. Philadelphia, PA: WB Saunders Co. 1993; 75-92.
57. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Edited by Burtis CA and Ashwood ER. Philadelphia, PA: WB Saunders Co. 1994; 1846-1850.
58. C A and Ashwood, Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Edition. Edited by Burtis, E R Philadelphia, PA: W B Saunders Co. 1994; 1857-63.
59. Yen, S S C, The Human Menstrual Cycle- Neuroendocrine regulation. In *Reproductive Endocrinology*. Edited by Yen, S S C and Jaffe, R B Philadelphia, PA: W B Saunders Co., 1991; 273-308.
60. Whitley, RJ. Endocrinology. In *Tietz textbook of clinical chemistry*., Edited by Burtis, CA, Ashwood, ER. WB Saunders, Philadelphia, PA, 1994; 1660-94.
61. Jeffcoate, SL. Assays for prolactin: guidelines for the provision of a clinical biochemistry service. *Ann Clin Biochem*, 1986; 23:638-51.
62. Frantz, AG. The breasts. In *Textbook of endocrinology*. Edited by Williams

- RH. WB Saunders, Philadelphia, PA, 1981; 400-11.
63. Howanitz, JH. Evaluation of endocrine function. In Clinical diagnosis and management by laboratory methods. Edited by Henry, JB. WB Saunders, Philadelphia, PA, 1991; 308-48.
64. Reichlin, S. Neuroendocrinology. In Textbook of endocrinology, Edited by Williams RH. WB Saunders, Philadelphia, PA, 1981; 589-645.
65. Nelson DA and Davey FR. Erythrocytic disorders. In Clinical diagnosis and management by laboratory methods. Edited by Henry JB, Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1991; 627-635
66. Chanarin I. Megaloblastic anaemia. Cobalamin and folate. J. Clin. Pathol. 1987; 40: 978-84.
67. Mundy GR, Guise TA. Hormonal control of calcium homeostasis. Clin Chem 1999; 45: 1347-52.
68. Strewler GJ. Mineral metabolism and metabolic bone disease. Basic and Clinical Endocrinology Fifth Edition; Greenspan FS & Strewler GJ Eds, 1997; 263-316.
69. Marx SJ. Hyperparathyroid and hypoparathyroid disorders. N Engl J Med 2000; 343:1863-75.
70. Lilja H, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines (LMPG): Practice Guidelines and Recommendations for Use of Tumor Markers in the Clinic, Prostate Cancer (Section B), Draft 2006. National Academy of Clinical Biochemistry.
71. Cancer Facts and Figures-1994. American Cancer Society, Inc, 1994; 1-28.

72. Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *New Engl J Med* 1987; 317: 909-916.
73. Wagner CL, Taylor SN, Hollis BW. Does vitamin D make the world go “round”? *Breastfeed. Med.* 2008; Dec;3(4):239–50.
74. Uysal AR. D vitamini. In: İliçin G, Ünal S, Biberoglu K, Akalin S, Süleymanlar G, İç Hastalıkları Cilt 2 Ankara, Güneş Kitapevi, 2005; 2457-8.
75. Champe P. C. ,Harvey R. A. ,Ferrier D. R., Ulukaya E., In: Harwey R.A. (ed), *Lipincott’s Illustrated Reviews*,5 th ,Nobel,New Jersey. 2007; 384-7.
76. Kayaalp O. Endokrin sistem farmakolojisi. In: Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 11. baskı. Ankara, Feryal matbaacılık 2005; 1019-1227 .
77. Leventis P and Patel S. in. Clinical aspects of vitamin D in the management of rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* 2008; 47: 1617–21.
78. Kunst A, Draeger B, Ziegenhorn J. *Methods of Enzymatic Analysis.* 3nd ed. Weinheim, Verlag Chemie 1984; 163-172.
79. Tiffany T, Jansen J, Burtis C, Overton J, Scott C. Enzymatic kinetic rate and end-point analyses of substrate, by use of a GeMSAEC Fast Analyzer. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 1972; 18: 829-40.
80. Jaffé M. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaction des Kreatinins. *Z Physiol Chem* 1886; 10: 391-400.
81. Bergmeyer HU, Hørder M, Rej R. IFCC methods for the measurement of

- catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Journal of Clinical Chemistry & Clinical Biochemistry*, 1986; 24: 497-510.
82. Klauke R, Schmidt E, Lorent K. Recommendations for carrying out standard ECCLS procedures (1988) for the catalytic concentrations of creatine kinase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and gamma-glutamyltransferase at 37 degrees C. Standardization Committee of the German Society for Clinical Chemistry, Enzyme Working Group of the German Society for Clinical Chemistry. *European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry*, 1993; 31:901-909.
83. Tietz NW, Rinker AD, Shaw LM. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes Part 5. IFCC method for alkaline phosphatase (orthophosphoric-monoester phosphohydrolase, alkaline optimum, EC 3.1.3.1). *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 731-748.
84. Szasz G. New substrates for measuring gamma-glutamyl transpeptidase activity. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1974; 12: 228.
85. Hørdler M, Elser RC, Gerhardt M et al. Approved Recommendation on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 7. IFCC Method for Creatine Kinase. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1991; 29:435-456.
86. Dumas BT, Watson WA, Biggs HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin Chim Acta* 1971; 31:87-96.

87. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946; 16:40.
88. Wahlefeld A, Herz G, Bernt E. Modification of the method for a simple, reliable determination of total bilirubin in serum. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 1972; 11-12.
89. Malloy H, Evelyn K. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *The Journal of Biological Chemistry*. 1937; 119: 481-490.
90. Shono T, Okahara M, Ikeda I, Kimura K, Tamura H. Elsevier Sequoia Sa. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 1982; 132: 99-105.
91. Hartman K, Luterotti S, Osswald H, Oehme M, Meier P, et al. *Mikrochimica Acta (Wien)*. 1978; 2: 235-246.
92. Henry R. *Clinical Chemistry: Principles and Technics*, 2nd ed. New York, NY: Harper&Row 1974; 723.
93. Persijn JP, Van der Slik W, Riethorst A. Determination of serum iron and latent iron-binding capacity (LIBC). *Clin Chim Acta* 1971; 35:9.
94. Richmond W. Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clin Chem* 1973; 19(12):1350-6.
95. Allain CC, Poon LS, Chan CS, et al. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 1974; 20(4):470-5.
96. Sugiuchi H, Uji Y, Okabe H, Irie T, et al. Direct Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol in Serum with Polyethylene Glycol-

Modified Enzymes and Sulfated α -Cyclodextrin. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 1995; 41: 717- 723.

97. Matsuzaki Y, Kawaguchi E, Morita Y, et al. Evaluation of Two Kinds of Reagents for Direct Determination of HDL-Cholesterol. *International Journal of Analytical Bio-Science* 1996; 19: 419-427.
98. Wahlefeld AW. Triglycerides determination after enzymatic hydrolysis. In: Bergmeyer HU. (ed). *Methods of Enzymatic Analysis*, Academic Press. New York, USA, 2nd English ed., 1974; pp. 1831–1835.
99. Lorentz K. Approved Recommendation on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 9. IFCC Method for α -Amylase (1,4- α -D-Glucan 4-Glucanohydrolase, EC 3.2.1.1). *Clin Chem Lab Med* 1998; 36:185-203.
100. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. "Current databases on biologic variation: pros, cons and progress." *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59:491-500. *This database was most recently updated in 2017.*
101. Eckel-Mahan K, Sassone- Corsi P. Metabolism and circadian clock converge. *Physiol Rev.* 2013; 93(1):107-35.
102. Bass J, Takahashi JS. Circadian integration of metabolism and energetics. *Science.* 2010; 330(6009): 1349-54.
103. Hastings MH, Maywood ES, Reddy AB. Two decades of circadian time. *J Neuroendocrinol.*2008; 20(6):812-9.
104. Pocock SJ, Ashby D, Shaper AG, Walker M, Broughton PM. Diurnal variations in serum biochemical and haematological measurements. *J Clin Pathol* 1989; 42:172 – 9.

105. Sennels HP, Jorgensen HL, Hansen AL, Goetze JP, Fahrenkrug J: Diurnal variation of hematology parameters in healthy young males: the Bispebjerg study of diurnal variations. *Scand J Clin Lab Invest* 2011;71: 532–541.
106. Muller Eugenio E., Vittorio Locatelli, and Daniela Cocchi. Neuroendocrine Control of Growth Hormone Secretion. *Physiol. Rev.* 79: 1999; 511–607.
107. Sennels, H.P., Jorgensen, H.L., Goetze, J.P., Fahrenkrug, J. . Rhythmic 24-hour variations of frequently used clinical biochemical parameters in healthy young males—the Bispebjerg study of diurnal variations. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2012; 72, 287–295.
108. Morrison B, Shenkin A, McLelland A, Robertson DA, Barrowman M, Graham S, Wuga G, Cunningham KJ. Intra-individual variation in commonly analyzed serum constituents. *Clin Chem* 1979; 25: 1799–805.
109. Kanabrocki EL, Sothorn RB, Scheving LE, Vesely DL, Tsai TH, She lstad J, Cournoyer C, Greco J, Mermall H, Ferlin H. Reference values for circadian rhythms of 98 variables in clinically healthy men in the fifth decade of life. *Chronobiol Int* 1990;7: 445–61.
110. Rivera-Coll A, Fuentes-Arderiu X, Diez-Noguera A.. Circadian rhythms of serum concentrations of 12 enzymes of clinical interest. *Chronobiol Int.* 1993; 10:190–200.
111. Barrett PVD. Hyperbilirubinemia of fasting. *JAMA* 1971; 217:1349
112. Broughton PMG, Holder R, Ashby D. Long-term trends in biochemical data obtained from two population surveys. *Ann Clin Biochem* 1986; 23:474-86.
113. Statland BE, Winkel P, Bokelund H. Factors contributing to intra-individual variation of serum constituents. 1. Withinday variation of serum

- constituents in healthy subjects. *Clin Chem* 1973; 19:1374 – 9.
114. Melchart D, Martin P, Hallek M, Holzmann M, Jurcic X, Wagner H. Circadian variation of the phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes and of various other parameters in 13 healthy male adults. *Chronobiol Int* 1992; 9:35 – 45.
115. Touitou Y, Touitou C, Bogdan A, Reinberg A, Motohashi Y, Auzéby A, Beck H. Circadian and seasonal variations of electrolytes in aging humans. *Clin Chim Acta* 1989; 180:245 – 54.
116. Winkel P, Statland BE, Bokelund H. The effects of time of venipuncture on variation of serum constituents. Consideration of within-day and day-to-day changes in a group of healthy young men. *Am J Clin Pathol* 1975; 64:433 – 47.
117. Böning, D., Schweigart, U. & Kunze, M. *Europ. J. Appl. Physiol.* 1974; 32, 239-250.
118. Karpe F, Steiner G, Uffelman K, Olivecrona T, Hamsten A. Postprandial lipoproteins and progression of coronary atherosclerosis. 1994; 106:83-92.
119. Miettinen TA. Diurnal variation of LDL and HDL cholesterol. *Ann Clin Res* 1980;12:295-8.
120. Jubiz W, Canterbury JM, Reiss E, Tyler FH.. *J Clin Invest* 1972;51:2040–46.
121. Even L., Bader T., Hochberg Z.: Nocturnal calcium, phosphorus and parathyroid hormone in the diagnosis of concealed and subclinical hypoparathyroidism. *Eur J Endocrinol.* 2007; 156: 113–116.

122. Markowitz M.E., Rosen J.F., Mizruchi M.: Circadian variations in serum zinc (Zn) concentrations: correlation with blood ionized calcium, serum total calcium and phosphate in humans. *Am J Clin Nutr.* 1985; 41: 689–696.
123. Fraser WD, Logue FC, Christie JP, Gallacher SJ, Cameron D, O' Reilly DS, et al. Alteration of the circadian rhythm of intact parathyroid hormone and serum phosphate in women with established postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int* 1998; 8:121 – 6.
124. Bothwell T.H. & Finch C.A. (1962) *Iron Metabolism*, p. 182. Little, Brown and Co., Boston. 1968
125. Funk DD. Plasma iron turnover in normal subjects. *Journal of Nuclear Medicine*, 1975; 107-11.
126. Hamilton, L.D., Gubler C.J., Cartwright G.E., Wintrobe M.M. Diurnal variation in the plasma iron level of man. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1950; 75, 65-68.
127. Waldenstorm J. Incidence of 'iron deficiency' (sideropenia) in some rural and urban populations. *Acfa Medica Scandinavica Supplement*. 1946; 170, 252-279.
128. Rejnmark L., Lauridsen A.L., Vestergaard P., Heickendorff L., Andreasen F. Diurnal rhythm of plasma 1,25-dihydroxyvitamin D and vitamin D-binding protein in postmenopausal women : Relationship to plasma parathyroid hormone and calcium and phosphate metabolism.

In: European Journal of Endocrinology, No. 146, 2002; p. 635-642.

129. Keller J, Layan P. Circadian pancreatic enzyme pattern and relationship between secretory and motor activity in fasting humans. *J Appl Physiol*. 2002; 93: 592–600.
130. National Academy of Clinical Biochemistry. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. Washington, DC: AACCC Press, 2003.
131. Weeke J and Gundersen HJ. Circadian and 30 minute variations in serum TSH and thyroid hormones in normal subjects. *Acta Endocrinol* 1978; 89:659-72.
132. Brabant G, Prank K, Hoang-Vu C and von zur Muhlen A. Hypothalamic regulation of pulsatile thyrotropin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;72:145-50.
133. Russell W, Harrison RF, Smith N, Darzy K, Shalet S, Weetman AP, and Ross RJ. Free triiodothyronine has a distinct circadian rhythm that is delayed but parallels thyrotropin levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93(6):2300-6.
134. Persani L, Terzolo M, Asteria C, Orlandi F, Angeli A, Beck- Peccoz P. Circadian variations of thyrotropin bioactivity in normal subjects and patients with primary hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995; 80: 2722–28.
135. Warade J, Pandey A. Diurnal Variation of TSH: Factor Affecting Interpretation of Test. *J Pharm Biomed Sci* 2014;04(09):776-780.
136. F. Roelfsema, A. M. Pereira, J. D. Veldhuis et al., Thyrotropin secretion profiles are not different in men and women, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2009; 94(10):3964–3967.

137. Azukizawa M, Mori S, Ohta H, Matsumura S, Yoshimoto H, Uozumi T, Miyai K, Kumahara Y. Effect of a single dose of glucocorticoid on the diurnal variations of TSH, thyroxine, 3,5,3-triiodothyronine, 3,35-triiodothyronine and cortisol in normal men. *Endocrinol Jpn* 1979; 26:719 – 723.
138. Balsam A, Dobbs CR, Leppo LE. Circadian variations in concentrations of plasma thyroxine and triiodothyronine in man. *J Appl Physiol* 1975; 39:297–299.
139. Boyar R, Finkelstein J, Roffwarg H, Kapen S, Weitzman E, Hellman L. Synchronization of augmented luteinizing hormone secretion with sleep during puberty. *N Engl J Med* 1972; 287:582–586.
140. Boyar RM, Rosenfeld RS, Kapen S, Finkelstein JW, Roffwarg HP, Weitzman ED, Hellman L. Human puberty. Simultaneous augmented secretion of luteinizing hormone and testosterone during sleep. *J Clin Invest* 1974;54:609–618.
141. Walton, M.J., Anderson, R.A., Kicman, A.T., Elton, R.A., Ossowska, K., Baird, D.T. A diurnal variation in testicular hormone production is maintained following gonadotrophin suppression in normal men. *Clin Endocrinol.* 2007; 66:123–129.
142. Albertsson-Wikland K, Rosberg S, Lannering B, Dunkel L, Selstam G, Norjavaara E: Twenty-four-hour profiles of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, testosterone, and estradiol levels: a semilongitudinal study throughout puberty in healthy boys. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:541-549.
143. Brambilla DJ, Matsumoto AM, Araujo AB, McKinlay JB. The effect of diurnal variation on clinical measurement of serum testosterone and other sex hormone levels in men. *J Clin Endocrinol Metab.*

2009; 94: 907–13.

144. Bao, A.M., Ji, Y.F., Van Someren, E.J., Hofman, M.A., Liu, R.Y., & Zhou, J.N. Diurnal rhythms of free estradiol and cortisol during the normal menstrual cycle in women with major depression. *Horm Behav.* 2004; 45, 93-102.
145. Klingman KM, Marsh EE, Klerman EB, Anderson EJ, Hall JE. Absence of circadian rhythms of gonadotropin secretion in women. *J clin endocrin metab.* 2011; 96:1456–1456.
146. J.F. Sassin, A.G. Frantz, S. Kapen, E.D. Weitzman, The nocturnal rise of human prolactin is dependent on sleep, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1973; 37 (3) 436–440.
147. Nokin J., Vekemans M., L’Hermite M., Robyn C. Circadian periodicity of serum prolactin concentration in man. *Br. Med. J.* 1972;3: 561.
148. Waldstreicher, J., Duffy, J.F., Brown, E.N. et al, Gender differences in the temporal organization of prolactin (PRL) secretion (Evidence for a sleep-independent circadian rhythm of circulating PRL levels—a clinical research center study) . *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:1483–1487.
149. Pathy MS, Newcombe RG. Temporal variation of serum levels of vitamin B12, folate, iron and total iron-binding capacity. *Gerontology* 1980; 26:34-42.
150. Sennels HP, Jorgensen HL, Hansen AS, Goetze JP, Fahrenkrug J. Diurnal variation of hematology parameters in healthy young males: the Bispebjerg study of diurnal variations. *Scand J Clin Lab Invest.* 2011;71(7):532–541.
151. Dejter SW Jr., Martin JS, McPherson RA, Lynch JH. Daily

variability in human serum prostate-specific antigen and prostatic acid phosphatase: a comparative evaluation. *Urology* 1988; 32: 288-92.

152. Tekin A, Atsu N, Ozen H. Daily variability of serum prostate-specific antigen in men over 50 years of age. *Int Urol Nephrol* 2001; 33: 641–4.
153. Mermall H, Sothorn RB, Kanabrocki EL, Quadri SF, Bremner FW, Nemchausky BA, Scheving LE. Temporal (circadian) and functional relationship between prostate-specific antigen and testosterone in healthy men. *Urology* 1995;46:45–53.
154. El-Hajj Fuleihan, G., Klerman, E., Brown, E., Choe, Y., Brown, E. and Czeisler, C. A. The parathyroid hormone circadian rhythm is truly endogenous—a general clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82: 281–286.
155. Nielsen HK, Laurberg P, Brixen K, Mosekilde L. Relations between diurnal variations in serum osteocalcin, cortisol, parathyroid hormone, and ionized calcium in normal individuals. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1991; 124:391–398.
156. Masood, T.; Kushwaha, R.S.; Singh, R.; Sailwal, S.; Pandey, H.; Varma, A.; Singh, R.K.; Cornelissen, G. Circadian rhythm of serum 25 (OH) vitamin D, calcium and phosphorus levels in the treatment and management of type-2 diabetic patients. *Drug Discov. Ther.* 2015; 9, 70–74.
157. Adams ND, Gray RW & Lemann JJ. The effects of oral CaCO₃ loading and dietary calcium deprivation on plasma 1,25-dihydroxyvitamin D concentrations in healthy adults. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 1979; 48 1008–16.
158. Prince RL, Wark JD, Omond S, Opie JM, Eagle MR & Eisman JA.

A test of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ secretory capacity in normal subjects for application in metabolic bone diseases. *Clinical Endocrinology*. 1983; 18: 127–133.

