



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

SAĞLIKLI BİREYLERDE CK-MB, TROPONİN I VE MİYOGLOBİN
DÜZEYLERİNİN BİYOLOJİK VARYASYONLARININ SAPTANMASI

Dr. Sevda ÜNALLI ÖZMEN

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2015



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

SAĞLIKLI BİREYLERDE CK-MB, TROPONİN I VE MİYOGLOBİN
DÜZEYLERİNİN BİYOLOJİK VARYASYONLARININ SAPTANMASI

Dr. Sevda ÜNALLI ÖZMEN

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Yeşim ÖZARDA

BURSA – 2015

İÇİNDEKİLER

Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iv
Kısaltmalar.....	vi
Giriş.....	1
Gereç ve Yöntem.....	54
Bulgular.....	63
Tartışma ve Sonuç.....	74
Kaynaklar.....	90
Teşekkür.....	103
Özgeçmiş.....	105

ÖZET

Klinik laboratuvarlarda elde edilen test sonuçları preanalitik, analitik ve biyolojik olmak üzere üç önemli varyasyondan etkilenmektedir. Biyolojik varyasyonun (BV) birey içi (CV_I) ve bireylerarası (CV_G) olmak üzere iki temel bileşeni bulunmaktadır ve test sonuçlarının doğru değerlendirilmesinde önemli bir faktördür. Herhangi bir testin CV_I değeri ile CV_G değeri arasındaki oran o testin bireysellik indeksi (BI) olarak kabul edilir. Düşük BI testin bireyselliğinin fazla olduğunu, yüksek BI değeri ise testin bireyselliğinin düşük olduğunu gösterir. Eğer testin bireyselliği yüksekse bireyselliği azaltmak için populasyona ait test sonuçlarının yaş, cins ve varsa diğer özelliklerine göre alt gruplara ayrılması gerekir. BV verileri kullanılarak ardışık ölçüm sonuçları arasındaki anlamlı farklılıkları ifade eden Referans Değişim Değeri (RDD) belirlenebilir.

Akut koroner sendrom (AKS) ülkemizde de önde gelen ölüm nedenlerindedir. Biyokimyasal belirteçler, AKS hastalarının tanı ve yönetiminde önemli rol oynarlar. Erken tanıda kullanılması önerilen belirteçler troponinler (Tn), miyogloblin (MYG) ve kreatin kinaz miyokart bandı (CK-MB)'dir.

Bu çalışmada sabah 12-14 saat açlık sonrası Tn I, MYG ve CK-MB BV bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla 22-52 yaş aralığındaki 20 (10 kadın ve 10 erkek) sağlıklı gönüllüden 0., 7., 14., 21. günlerde toplam dört adet kan örneği alınmıştır. Analitik varyasyon (CV_A) değerleri ile analitik kalite özellikleri (analitik hata ve analitik belirsizlik) belirlenmiştir. Her iki cinsiyet ve tüm grup için CV_I , CV_G , BI, RDD değerleri hesaplanmıştır.

CK-MB ve MYG ölçümlerinin yüksek bireysellik gösterdiği cinsiyetlere göre alt gruplara ayrılması gerektiği sonucuna vardık. TnI için ise bireylerdeki kan düzeylerinin tam olarak belirlenemediği, BV verilerinin kullanılır olup olmadığının tartışılır olduğu ve akut hadiselerde hastaların RDD yerine klinikleriyle değerlendirilmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Birey içi ve bireylerarası biyolojik varyasyon, bireysellik indeksi, referans değişim değeri, analitik kalite, kardiyak belirteçler.

SUMMARY

Determination of Biological Variation of CK-MB, Troponin I, Myoglobin Levels in Healthy Individuals

Test results obtained in clinical laboratories are affected by three major variations which are preanalytical, analytical and biological variations. Biological variation (BV) has two main components including within-individual variation (CV_I) and between-individual variation (CV_G) and is a crucial factor in the correct evaluation of the test results. The ratio of any test's CV_I value to its CV_G value is regarded as the individuality index (II) of that test. Low II indicates that the individuality of the test is high whereas high II indicates the opposite. If the individuality of the test is high, the test results of the population need to be separated into subgroups according to age, sex and other characteristics (if there are any) in order to decrease the individuality of the test. Reference Change Value (RCV) which connotes the significant differences between consecutive measurements can be determined with the help of the data derived from BV.

Acute coronary syndrome (ACS) is also prominent cause of death in our country. Biochemical markers play an important role in the diagnosis and management of the patients with ACS. For early diagnosis, recommended indicators are troponins (Tn), myoglobin (MYG) and creatine myocardial band (CK-MB).

In this study, specimens from 20 healthy volunteers (10 female and 10 male) aged between 22-52 years were collected four times in 0., 7., 14., 21. days in order to determine the BV components of TnI, MYG and CK-MB after a 12-14 hours of fasting in the morning and analytical variation (CV_A) values and analytical quality specifications (analytical error and analytical uncertainty) were determined. The CV_I , CV_G , II and RCV values were calculated for all the group members and both genders.

We concluded that CK-MB and MYG measurements should be separated into subgroups in terms of the genders showing high individuality. We believe that blood levels of troponin in an individual isn't fully determined, it is questionable whether the data of biological variation are useful or not; and in acute events, patients should be considered with clinics instead of RDD.

Keywords: intra-individual and between individual biological variation, index of individuality, reference change value, analytical quality, cardiac markers.

KISALTMALAR

β : Tip 2 hata

ACCF: Amerikan Kardiyoloji Derneği Vakfı

AHA: Amerikan Kalp Birliği

AKS: Akut koroner sendrom

AME: Akut miyokart enfarktüsü

ANOVA: Varyans analizi

B: Analitik hata, Bias

BI: Bireysellik İndeksi

B_{MAX}: Maksimum Bias

BV: Biyolojik varyasyon

CK: Kreatin kinaz

CK-MB: Kreatin kinaz miyokart bandı

cTn: Kardiyak troponin

CV: Varyasyon katsayısı

CV_A: Analitik varyasyon

CV_B: Biyolojik değişkenlik

CV_G: Bireyler arası biyolojik varyasyon

CV_I: Birey içi biyolojik varyasyon

CV_T: Toplam değişkenlik

D/R: Dixon/Reed

D: Homeostatik ayar noktasına yakınlık

EKG: Elektrokardiyografi

ESC: Avrupa Kardiyoloji Derneği

GA: Güven aralığı

GN: Gerçek negatif

GP: Gerçek pozitif

I: Analitik belirsizlik, Impresizyon

I_{MAX}: Maksimum Impresizyon

KAH: Koroner atar damar hastalığı

MCK II: Makro kreatin kinaz II
ME: Miyokart enfarktüsü
MYG: Miyogloblin
NCEP: Ulusal Kolesterol Eğitim Paneli
NSTEMI: ST yükselmesi olmayan miyokart enfarktüsü
PPD: Pozitif Prediktif Değer
RA: Referans Aralığı
RDD: Referans değişim değeri
RI: Rölatif İndeks
SD: Standart Deviasyon
STEMI: ST yükselmeli miyokart enfarktüsü
TE_{MAX}: Maksimum toplam hata
Tn: Troponin
ÜRS: Üst referans sınırı
WHF: Dünya Kalp Federasyonu
X²: Kikare
YN: Yalancı negatif
YP: Yalancı pozitif
Z_p: Arzulanan olasılık
α: Tip 1 hata

GİRİŞ

Klinik laboratuvarlar; sağlık durumunun değerlendirilmesine, bozukluk ya da hastalık tanısına, hastalığa ve hastalığın derecesine, ilaç dozuna ve bazen de operasyona karar vermek amacıyla doğrudan klinisyenlere ve hastaya, dolaylı olarak da sağlık hizmeti sağlayıcılarına, sağlık hizmeti harcamalarını karşılayanlara ve resmi kurumlara hizmet verirler. Bu nedenlerden dolayı, karar vermeye yarayan test sonuç değerleri kritik önem taşır.

Klinik araştırmalar semptomların toplanması ve belirtilerin incelenmesi ile başlar. Amaç, hastalıkla bağlantılı özellikleri seçebilmek için, sağlıklı bireylerde tipik olarak bulunmayan klinik özelliklerin tanımlanmasıdır. Benzer olarak klinik laboratuvarlar tarafından yapılan ölçümler ile sağlıklı kişilerde yaygın olarak bulunan değerlerin dışındaki değerler ile tipik olarak hastalığın içindeki değerlerin karşılaştırılması hedeflenmektedir. 'Hastanın sağlıklı olmadığına dair kanıt var mı?', 'Hastanın belirli bir hastalığı olduğuna dair kanıt var mı?' soruları önemlidir (1-5). Bunun için klinik laboratuvarlarda iki eşik sınıflaması kullanılmaktadır. İki referans toplumda görülen **referans aralığı** (RA), ikincisi özel bir hastalığı ya da bu hastalığa bağlı oluşan istenmeyen durumları gösteren bu aralığın altında ve üstünde değerler olarak kabul edilen **tıbbi karar sınırları**'dır. Amaç hastalığı sağlıklı durumdan ayırabilmek olduğundan referans toplum sağlıklı kişilerden oluşmalıdır. Eğer bir test, malign bir hastalığı, benign bir hastalıktan ayırmak için kullanılacaksa, referans toplum benign hastalıklı kişilerden oluşmalıdır (6).

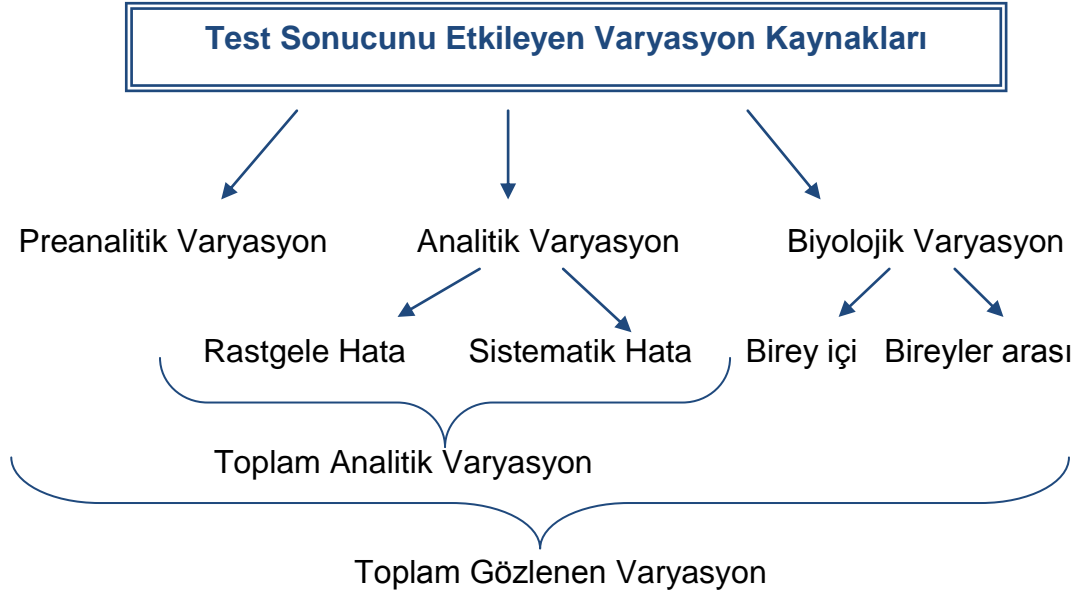
Referans aralıklar ve karar sınırları arasında etkilendikleri koşul ve faktörler, elde edilme yolları, hesaplamada yararlanılan istatistik ve gösterilme şekilleri arasında farklılıklar vardır (Tablo-1) (7).

Tablo-1: Referans aralıkları ve karar sınırları karşılaştırılması.

	Referans Aralıklar	Karar Sınırları
Etkilendiği Koşul ve Faktörler	<ul style="list-style-type: none">• İyi tanımlanmış populasyon• Yaş• Cinsiyet vb.	<ul style="list-style-type: none">• Klinik Soru• Hasta kategorisi
Elde edilme yolları	<ul style="list-style-type: none">• Referans populasyonun bir parçası olmak ya da olmamak	<ul style="list-style-type: none">• Belirli durumdaki hasta
İstatistik	<ul style="list-style-type: none">• Dağılım eğrisinin merkezdeki %95 aralığı	<ul style="list-style-type: none">• ROC eğrileri, öngörü değerleri (kanıta dayalı laboratuvar tıbbi istatistiği)
Rapor edilme şekli	<ul style="list-style-type: none">• İki rakam (alt ve üst sınırlar)	<ul style="list-style-type: none">• Bir ya da daha fazla rakam, klinik durumun olasılığına veya farklı klinik sorulara göre

Referans aralığı populasyondan elde edilen örneklemi oluşturan referans bireylerde yapılan ölçüm sonuçlarından elde edildiklerinden, **birey-içi (CV_i)** ve **bireyler-arası (CV_e)** biyolojik varyasyonlardan etkilenirler. Bu durum **bireysel referans aralıklarının veya değerlerinin** kullanılması gereğini ortaya çıkarmıştır. Bireysel referans değerler bireyin önceden tanımlanmış belirli durumlarında ölçülmüş değerleridir (8).

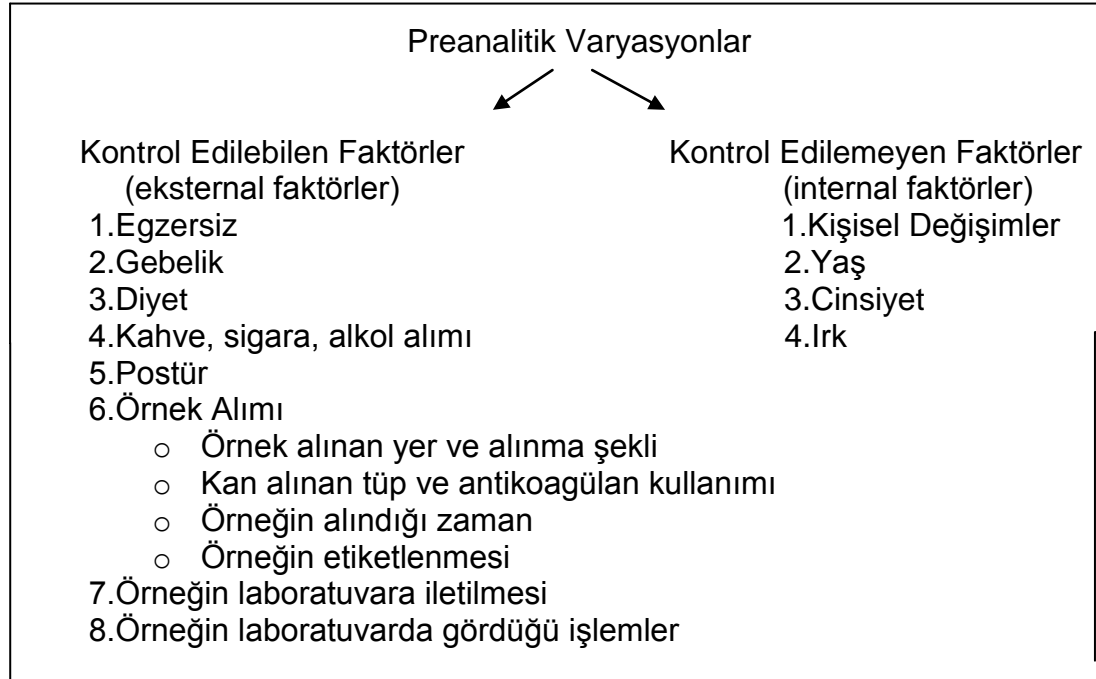
Ancak her analit için CV_i aynı değildir. Bazı analitler aynı bireyde tekrar tekrar ölçüldüğünde populasyondan elde edilen referans sınırların tamamını kapsayacak bir dağılım göstermeyebilir. Bunun sebebi analitlerin bireyselliklerinin farklı olmasıdır. **Analit bireyselliği** olarak tanımlanan bu kavram nedeniyle her analitin RA klinik yorumlamada yararlı olamamaktadır. Analit bireyselliği doğal olarak CV_i'den etkilenir. Homeostatik ayar noktası çevresinde olan bu varyasyon aynı zamanda preanalitik, analitik ve postanalitik varyasyonlardan da etkilenmektedir (8,9). Test sonucunu etkileyen varyasyonlar Şekil-1'deki gibi özetlenebilir.



Şekil-1: Test sonucunu etkileyen varyasyon kaynakları

1. Preanalitik Varyasyon

Preanalitik evrede test sonuçlarını etkileyen faktörlere preanalitik varyasyon denir (10). Preanalitik varyasyon gözlemlenen değer in analitik fazından önce oluşur ve iki gruba ayrılabilir (Şekil-2).



Şekil-2: Preanalitik varyasyon kaynakları (11).

Preanalitik varyasyonların izlenmesi ve kontrolü oldukça zordur, çünkü işlemlerin çoğu geleneksel laboratuvar alanı dışında olmaktadır. Preanalitik varyasyonların izlenmesine önem verilmeli tüm süreç basamaklarını kapsayacak şekilde hastalar, hemşireler, tıp öğrencileri ve doktorlar bu konuda eğitilmelidir (12). Her birinin yüksek kalite ve devamı için bu basamakların kontrolünün önemine inanması gerekmektedir. Preanalitik varyasyon kaynakları, sürecin iyi yönetilmesi ve çalışma prosedürlerini en iyi şekilde uygulama ile azaltılabilir. Laboratuvarlarda kullanılan RA preanalitik varyasyonun çok az olduğu varsayılarak şekillendirilirler. Bu nedenle çok fazla preanalitik varyasyonun olması durumunda mevcut referans aralıklarının klinik kullanım için uygun olmayacağı da akılda tutulmalıdır (13).

2. Analitik Varyasyon (CV_A)

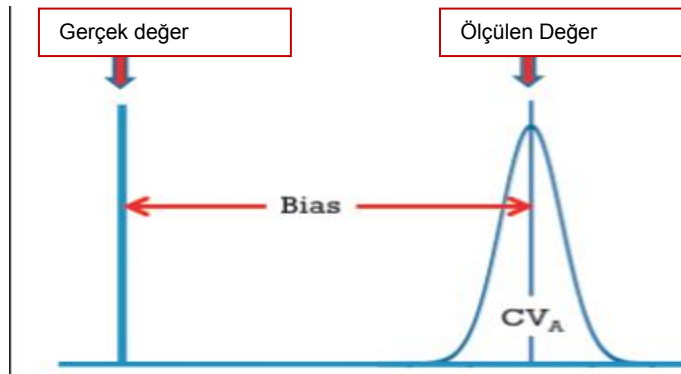
Analitik yöntemlerle doğru ölçüm yapılabilmesi için tüm analitik özellikler kontrol edilmelidir. Dikkatli bir şekilde yürütülen seçim, değerlendirme, uygulama, bakım ve kontrol süreçlerinden sonra en uygun analitik yöntem seçilir. Çok sayıda prosedür ile tekrarlayan problemlerin oluşmaması düzgün ve kesintisiz laboratuvar hizmetleri için ön koşuldur. Farklı laboratuvarlar aynı analitik yöntemlerde farklı hizmet, bakım ve destek gördüklerinden farklı durumlar yaşamaktadırlar ve dolayısıyla farklı deneyime sahip olurlar (14).

Kullanılan suyun kalitesi, analitik tartıların kalibrasyonu, cam malzeme ve pipetlerin kalibrasyonu, elektrik gücünün dayanıklılığı, ısıtma banyoları, buzdolapları, soğutucular ve santrifüjlerin sıcaklıkları gibi belirli değişkenler her laboratuvarda kontrol durumuna göre farklılık gösterirler ve analizlerin sonuçlarını etkilerler. Bunlara ek olarak, bazı analitik yöntemler doğaları gereği özellik arz ederler ve bu yöntemlerin karakteristiklerine göre prosedürler gerekir (14). Burada önemli olan analitik karakterler; analitik belirsizlik (Impresizyon; I) ve analitik hata (Bias; B)'dir (15).

Impresizyon, rastgele hatayı gösterir ve uygun şartlarda yapılan birbirinden bağımsız ölçümler arasında uyum olmaması olarak da tanımlanır. Uygulamada I, tekrarlanan analizlerle ve dağılımın standart deviasyon (SD,

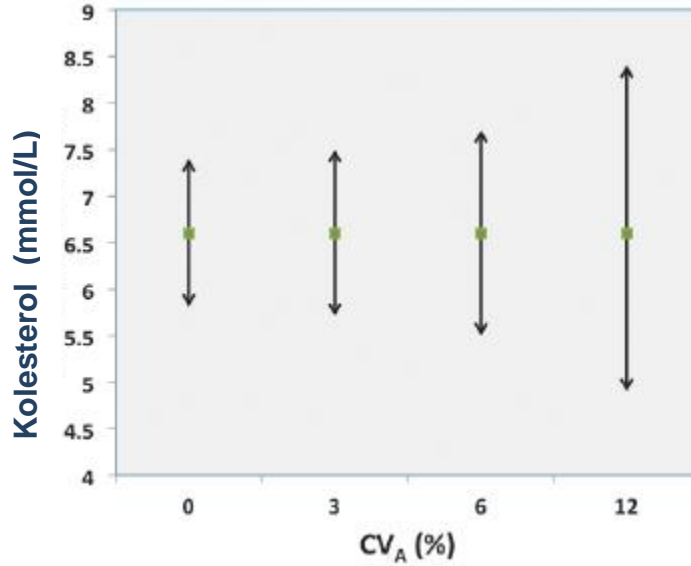
standart deviation) veya varyasyon katsayısı (CV, coefficient of variance) olarak hesaplanmasıyla belirlenmektedir. I, tüm analitik değişkenlerin doğasında olup yöntem bağımlıdır ve yöntemin dikkatli seçilmesiyle küçültülebilir ancak asla sıfırlanamaz. Bu hataların normal dağılım içinde ortalama bir değere denk gelmesi beklenmektedir. Rutin kullanıma girmeden önce teste ait I özelliğinin tespit edilmesi ve laboratuvarlara özgü değerlerin belirlenmesi önerilmektedir (16).

Bias, sistematik hatayı gösterir ve gerçek değerle ölçümlerden beklenen değerler arasındaki farkı tanımlar (Şekil-3) (17). Uygulamada B, gözlemlenen değerler ile bazı ölçümlerin gerçek değeri arasındaki farktır. Bu doğruluk ölçütü çoğunlukla klinik örneklerin hem aday yöntem, hem de daha önce kullanılmış ve doğruluğu kanıtlanmış yöntem ile analiz edildiği yöntem karşılaştırma deneylerinden hesaplanır. Sistematik hata, değerlendirilen analitik yöntem için pozitif veya negatif değerde olabilir. Halbuki rastgele hata tek tarafta - ya pozitif, ya da negatif - değerde olabilir. Sistematik hatalar iki tiptedir: Sabit ve oransal. Sabit sistematik hata analit düzeyinin değişmesinden etkilenmez. Hep aynı miktardadır. Buna zıt olarak oransal hata analit düzeyi değiştikçe değişir ve analit düzeyinin %'si olarak değişim gösterir (18). Sabit B değerlerinin gerçek değerden düşük veya yüksek bulunması, zaman içinde bir bireyden elde edilen seri ölçüm sonuçlarını etkilemese de, B'deki değişimler kullanılan reaktifler, kalibrasyon materyalleri ve yöntemin yeniden kalibrasyonunun yol açtığı seri ölçüm sonuçlarına ait CV_A 'nın önemli bir kaynağı olmaktadır (19).



Şekil-3: Bias (sistematik hata) ve impresizyon (rastgele analitik hata, CV_A) ilişkisi (17).

Analit için I ve B hedefleri tanı, tarama ve izlem gibi kullanım gerekliliğine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Bu nedenle analitik özelliklerin tespit edilmesi ve en aza indirilmesi klinik kullanımdaki herhangi bir test için oldukça önemlidir (20,21). Düşük CV_A sonuçların ile daha doğru sonuçlar elde edilebilmektedir (Şekil-4) (17). CV_A azaldıkça I da azalacaktır.



Şekil-4: Analitik varyasyonun test sonucuna etkisi (17).

3. Biyolojik Varyasyon

Yaşam statik bir durumda bulunmaz, biyolojik sıvı komponentleri devamlı değişmektedir. İnsan vücut sıvı komponentlerindeki biyolojik varyasyon (BV)'nin laboratuvar tıbbında ölçülmesi üç şekilde tanımlanabilir; hayat boyu varyasyon, günlük, aylık ve mevsimsel olabilecek döngüsel varyasyon ve rastgele varyasyon (22).

3.1. Yaşam Boyu Biyolojik Varyasyon

Labaratuvar tıbbında ölçümü yapılan birçok analit yaşam boyunca değişiklik göstermektedir. Bireylerdeki bazı değerler yenidoğan dönemi, puberte, menapoz ve yaşlanma gibi önemli biyolojik değişiklikler olduğunda zaman içinde hızlıca değişmektedir.

Yaşlanma ile birlikte albumin, alkalen fosfataz, fosfat, kalsiyum, total protein ve ürik asit düzeyleri azalırken aspartat aminotransferaz, bilirubin, glukoz, kolesterol, kreatinin, üre azotu düzeyleri artmaktadır (23).

Yenidoğanların glikojen rezervi düşük olduğundan kan glukoz düzeyleri düşüktür. Kan lipid düzeyleri de azdır, ancak 2 hafta sonra yetişkinlerdekini yaklaşık %80'ine yaklaşır. Birçok enzim serum aktivitesi çocukluk döneminde düşerek pubertede veya daha erken dönemde erişkin düzeyine ulaşır. Sadece, alanin aminotransferaz aktivitesi bebeklikte yüksektir, ancak çocukluk sırasında düşer ve puberteden önce büyümeyle beraber yeniden yükselir (24).

Menapozun başlamasından sonra kadınlarda plazma bileşenlerinin çoğunun düzeylerinde anlamlı artışlar olmaktadır. Alanin transaminaz, albumin, alkalen fosfataz, apolipoprotein, aspartat transaminaz, fosfat, fosfolipit, glukoz, kolesterol, sodyum, total protein, ürik asit bunlardan bazılarıdır (25). Tüm bu değişikliklerin düzeyi kişiden kişiye değişmektedir.

Laboratuvarında sık verilen test sonuçlarıyla beraber referans değerleri yaşa ve inceleme yapılan kişiye uygun olmalıdır. Diğer bir ifadeyle, referans değerlerinin yaşlara göre alt gruplara ayrılması gerekmektedir. Laboratuvarlar RA'larını yayınlamış ulusal ya da uluslararası yayınlardan ediniyorlarsa, birçok güçlük oluşmaktadır (26). Literatürde yaşla birlikte değişen değerler üzerine çok sayıda veri vardır ve laboratuvarlarda RA'nın genç (27) ve yaşlı (28) olarak uygun şekilde yaş sınıflamasına yol gösterecek olan birçok veri bulunmaktadır. Buradaki asıl problem tüm bu verilerin asıl gerektirdiği biyolojik yaş yerine kronolojik yaşa göre oluşturulmasıdır (19).

3.2. Öngörülebilir Döngüsel Ritim

3.2.1. Günlük Döngüsel Ritim

Vücut sıvılarındaki maddelerin çoğu, gün boyunca döngüsel veya sirkadyen değişiklikler gösterir. Gün içinde saatler içinde oluşan bu değişimler için çok sık kullanılan günlük ritim yerine sirkadyen ritim tabiri daha uygundur. Bu değişikliklere katkıda bulunan etkenler duruş, aktivite, besin alımı, stres, gün ışığı/karanlık ve uyku/uyanıklılıktır.

Bu döngüsel değişiklikler yüksek derecede olabileceği için, örneğin alınacağı zamana çok dikkat edilmelidir (19). Örneğin, serumdaki demirin düzeyi saat 8.00'den 14.00'e kadar %50 oranında; kortizol ise saat 8.00 ile 16.00 arasında benzer miktarda değişebilir. Serum potasyum düzeyinin saat 8.00'de 5.4 mmol/L'den saat 14.00'te 4.3 mmol/L'ye düştüğü bildirilmektedir. Saat 8.00 ile 14.00 arasında alınan örneklerin yaygın ölçülen serum bileşenlerine ait 6 saatlik tipik toplam değişimleri aşağıdaki Tablo-2'de gösterilmektedir (29).

Tablo-2: Yaygın ölçümü yapılan serum bileşenlerine ait toplam ve analitik varyasyon.

	Ortalama	Toplam Varyasyon (%)	Analitik Varyasyon (%)
Sodyum (mmol/L)	141	1.9	1.8
Potasyum (mmol/L)	4.4	7.1	2.8
Kalsiyum (mg/dL)	10.8	3.2	2.7
Klorür (mmol/L)	102	3.8	3.4
Fosfat (mg/dL)	3.8	10.7	2.4
Üre azotu (mg/dL)	14	22.5	2.5
Kreatinin (mg/dL)	1.0	14.5	6.3
Ürik asit (mg/dL)	5.6	11.5	2.6
Demir (mg/dL)	116	36.6	3.4
Kolesterol (mg/dL)	193	14.8	5.7
Albumin (g/dL)	4.5	5.5	3.9
Total Protein (g/dL)	7.3	4.8	1.7
Total Lipid (g/dL)	5.3	25.0	3.6
Alkalin Fosfataz (U/L)	63	20	3
Laktat Dehidrogenaz (U/L)	195	16	12
Aspartat Aminotransferaz (U/L)	9	25	6
Alanin Aminotransferaz (U/L)	6	56	17

Hormonlar aniden salınırlar. Bu nedenle döngüsel değişimleriyle beraber değerlendirildiğinde bu durumları onların serum düzeylerini yorumlamalarında güçlük yaratır. Örneğin, kortizol benzeri steroidler kortikotropin salınımı yanında duruştan, ışık/karanlıktan ve stresten de etkilenir. Öğleden sonra ile gece yarısı arasında minimum olan kortikotropin salgısı, uyanma sırasında üç-beş kat artarak maksimum düzeye erişir. Kortizol düzeyleri, sabah saat 6.00 ile 8.00 arasında en yüksek değerlerdedir ve gece saat 24.00'te gözlenen değerlerin iki katına kadar olabilir (24).

Genellikle, renin aktivitesi sabah uykusunda, erken saatlerde maksimum değerlerde, öğleden sonra geç saatlerde ise minimum değerlerde olmaktadır. Plazmadaki aldosteron konsantrasyonu da benzer bir durum göstermektedir. Glomerül filtrasyon hızı renin sekresyonu ile ters orantılıdır. Erkeklerde gece plazma testosteronu %20-40 oranında artar. Serum tiroid uyarıcı hormon sabah saat 2.00 ile 4.00 arasında en üst düzeyde, akşam 18.00 ile 22.00 arasında ise en alt düzeydedir. Bu saatler arasında değişim miktarı yaklaşık %50'dir (24).

Büyüme hormonu salımı, uykunun başlangıcından kısa bir süre sonra en yüksek düzeye ulaşır. Bunun aksine bazal plazma insülini sabahları günün geri kalan kısmından oldukça yüksektir. İnsülinin glukoz yanıtı da sabah en yüksek, gece en alt düzeyde olur (24).

3.2.2 Aylık Döngüsel Ritim

Aylık ritimler kadınlarda yaşam boyu üreme çağında görülmektedir. Diğer hormonlar gibi kadın cinsiyet hormonlarının çoğunun plazma düzeyleri menstürasyon döngüsünden etkilenir (30). Plazma kortikosteron düzeyi luteal fazda foliküler fazda olduğundan %50 daha yüksektir. Üriner 17-hidroksikortikosteroidlerin atılımı döngünün ortasında pik yapar. Plazma androstenedion ve plazma aldosteron düzeyleri döngünün foliküler fazından luteal fazına doğru artış gösterir. Ovulasyon öncesindeki günde, aldosteron düzeyi foliküler fazın başlangıcındaki düzeyinin iki katına çıkabilir. Renin aktivitesinde de hemen hemen aynı düzeyde artış gözlenir. Bu değişimler menstürasyon öncesinde sıvı tutulumu olan kadınlarda genellikle daha

belirgin derecededir. Üriner katekolamin atılımı döngünün ortasında artış gösterir ve luteal faz boyunca yüksek kalır. Tüm bunlara ek olarak bu alışıldık 28 günlük döngünün her kadında aynı olmayacağı kabul edilmelidir. Burada da doğal biyolojik varyasyona bağlı olarak bazı kadınlarda bazı döngüler kısa, bazıları ise uzun sürmektedir (31).

3.2.3. Mevsimsel Ritimler

Mevsimlerin vücut sıvılarının birleşimi üzerine etkileri azdır ve büyük olasılıkla mevsimle birlikte beslenmenin değişmesine ve fiziksel aktivitedeki değişikliklerle ilişkilidir. Mevsimsel değişime ilişkin değerlendirmeler yapmak zordur, çünkü bunlar mevsimin tanımlanmasına ve mevsimlere göre sıcaklıkta gözlenen değişimin büyüklüğüne bağlıdır. Vücut sıvılarının bileşiminde ortaya çıkan günlük değişimler yaz aylarında kışa oranla daha fazladır. Serumda vitamin D metabolit düzeyi yazın artarken (32) iken serum kolesterolü geç sonbaharda artar, ilkbaharda ise düşer (33), kanda glikozile hemoglobin yazın yükselmektedir (34).

Bu dönemlere ait öngörülebilir değerlerin bilinmesi laboratuvar verilerinin yorumlanması açısından da önem taşımakta ve döngüsel ritimlerin benzerlik göstermesi referans değerleri için de anlamlı hale gelmektedir. Biyolojik ritimleri belirli olan analitler için klinik istek zamanına bağlı olarak örnek alınmalıdır. Örneğin, ovulasyonun oluşup oluşmadığının göstergesi için basit bir yöntem olarak menstruasyonun 21. günü serum progesteron (pik) örneği alınmalıdır. Sonuç olarak beklenen ritmin olmaması kliniğe faydalı bilgi verebilir. Eğer 21.gün civarında serum progesteronunda pik yoksa ovulasyon olmamıştır. Ancak döngü boyunca tüm olası örnek toplama zamanları için referans değerlerin üretilmesi mümkün değildir. Bu nedenle bir bireyden farklı zamanlarda alınan örneklerle günlük, aylık ya da mevsimsel ritimler belirlenebilmekte ve seri ölçüm sonuçları arasındaki bu fark, döngüsel biyolojik varyasyonun değerlendirilmesine katkı sağlamaktadır (35).

3.3. Rastgele Değişkenlik

Birçok analitin değeri, aynı bireyde zaman içinde değişim gösterebilir. Tablo-3'te 1996-1999 yılları arasında bir bireydeki test sonuçlarının değişimi görülmektedir (22).

Tablo-3: Bir bireydeki sık kullanılan laboratuvar parametrelerine ait sonuçlar

Analit	Ünite	1.sonuç	2.sonuç	3.sonuç	4.sonuç	5.sonuç
Sodyum	mmol/L	139	139	137	140	138
Potasyum	mmol/L	4.3	4.1	4.1	4.4	4.4
Üre	mmol/L	4.0	4.4	4.1	3.9	3.6
Kreatinin	µmol/L	88	97	89	82	88
Alanin transaminaz	U/L	40	28	32	33	31
Bilirubin	µmol/L	19	21	17	18	17
Alkale fosfataz	U/L	49	46	52	46	45
Kalsiyum	mmol/L	2.39	2.33	2.25	2.36	2.29
Albumin	g/L	45	48	47	46	47
Kolesterol	mmol/L	4.6	4.82	4.84	4.64	4.41
Trigliserid	mmol/L	0.48	0.52	0.39	0.35	0.43
TSH	mU/L	2.03	2.19	1.89	1.93	2.06
PSA	µg/L	1.5	2.5	2.1	1.8	1.9

Bu tablodaki sonuçlar değerlendirildiğinde:

- Bazı testlerin ortalama düzeyleri üst referans sınırına yakın görünmektedir (örneğin albumin).
- Bilirubin gibi bazı testler üst referans sınırında ya da üstünde yer almaktadır.
- Ölçüm sonuçları değer aralıklarının sadece bir kısmını kapsamaktadır.
- Çok azı referans sınırlarını aşmaktadır.

Bu bulgular bu kişiye özgü mü, yoksa genel bir fenomen mi sorgulamalıdır. Homeostatik ayar noktası etrafında dalgalanmalar göstererek analitleri etkileyebilen ve çoğu zaman dikkate alınmayan CV_I ile bireysel homeostatik ayar noktaları arasındaki farklılıkları yansıtan CV_G olarak bilinen rastgele değişimleri içeren gizli değişkenlikler bulunmaktadır (19). CV_I aynı bireyden, CV_G ise farklı bireylerden elde edilen değerler arasındaki ortalama varyasyon katsayısını ifade etmektedir. CV_I bireye dayalı referans değerler, CV_G topluma dayalı ve kesitsel referans değerler için önem taşımaktadır (20).

3.4. Biyolojik Varyasyon Bileşenlerinin (CV_I , CV_G) Sayısal Ölçümü

Güvenilir BV modeli anlayışı, laboratuvar testlerinin en iyi şekilde kullanımının sağlanmasında ve uygun klinik stratejilerin geliştirilmesinde büyük önem taşımaktadır (36). 1956'da Williams analitin bireysel farklılık özelliğini araştırdığı çalışmalarında, sağlıklı bir bireye ait ölçümlerin normal kabul edilen referans sınırlar içinde her zaman bulunamayacağını ve küçük birey gruplarında tekrar çalışılan örneklerde bazı biyokimyasal verilerde beklenmedik varyasyonlar kaydetmiştir (36,37). 1960 yılında Schneider, ayrı varyans bileşenleri olarak CV_A , CV_I , CV_G 'i açıkça göstermiştir (38). Daha sonraki yıllarda BV çalışmaları devam etmiş, sadece sağlıklı kişilerde değil hastalık durumunda da BV çalışmaları yapılmıştır. Ricos ve ark. (39) 15 bilimsel dergide yer almış 45 yayından elde edilen ve 34 hastalığa ait yaklaşık 66 parametreyi içeren bir veri tabanı hazırlamışlardır. Tablo-4'te Sottas ve ark. tarafından hemoglobin verileri üzerinden varyans analizi (ANOVA, analysis of variance) ile tekrarlayan ölçümlerle elde edilmiş bazı hastalıklara ait biyolojik varyasyon verileri görülmektedir (40).

Tablo-4: Bazı hastalıklarda hemoglobin için biyolojik varyasyon bileşenleri.

Sağlık durumu	CV_I (%)	CV_G (%)	CV_I/CV_G	Birey sayısı
Kronik renal yetmezlik	2.3	25.9	0.09	3632
Diabetes mellitus	1.8	18.3	0.09	752
Demir eksikliği anemisi	3.2	14.0	0.23	2766
Romatoid artrit	4.3	19.5	0.22	3191
Sol kalp yetmezliği	6.9	12.8	0.54	1712
Astım	2.0	19.6	0.10	2194
Multiple myelom	9.1	22.1	0.41	939

Birey-içi varyasyon, her bir birey için tek ve belirli bir değer olarak tanımlanmış olup, önemi laboratuvar tıbbı tarafından kabul edilmiştir (15). Varyasyonun bu türü pek çok analit için ölçülebilir ve uygulanabilir olması sayesinde l'nın aksine tekraren hesaplama gerektirmemektedir (9). CV_I 'nin derecesi bireyin kendi içinde de değişkendir. Sodyum, klor ve kalsiyum gibi güçlü homeostatik düzenlenme altındaki analitlerde daha düşük CV_I gözlenirken, zayıf homeostatik düzenlenme altındaki üre, kreatin kinaz ve trigliserit gibi analitler daha yüksek CV_I değerlerine sahiptir (19). Üriner analitler ise daha yüksek CV_I değerleri gösterme eğilimindedir. CV_I , hücre tipinin yarılanma ömrüyle de ilişkili olmaktadır (22).

Biyolojik varyasyon ile ilgili verilerin üretilmesi, zaman ayrılması ve belirli analitik ve istatistiksel deneyim gerektiren bir durumdur. Her laboratuvarın kendi BV verilerini elde etmesine gerek yoktur. Preanalitik faktörler kontrol altına alındığında ve CV_A en aza indirgenebildiğinde, CV_I ve CV_G verilerini saptayabilme olanağı oluşacaktır (19).

Biyolojik varyasyon çalışmalarında en önemli unsur, bir bireyde zamana ait değişimlerin sayısal olarak ölçüldüğü CV_I 'dir. Böyle bir hesaplama bir grup referans bireyden belli bir süre boyunca elde edilen örneklerin tercihen saptanmış aralıklarla tekrarlandığı deneysel bir tasarım gerektirmektedir. Örneklerin çeşitli hacimlere ayrılması ve her bir örneğin tekraren incelenmesi önerilmektedir. Bu tür bir çalışma tamamlandığı ve ayrı ayrı varyasyon tahminleri elde edildiği zaman, tüm grubun da gözlemi yapılan analite özgü kesitsel değişiklikleri (CV_G) saptanabilmektedir (41).

3.4.1. Bireylerin Seçilmesi

İdeal olarak, görünüşte sağlıklı olmayan bireyler, uygun beslenme ya da yaşam şekline sahip olmayanlar, sakinleştirici tedavi alanlar, ilaç alanlar, fazla alkol kullananlar ve diğer keyif verici madde kullananlar dışlanır. Ancak, bireyler yaşam şekilleri hakkında tam olarak açık olmadıklarından bu dışlama kriterlerinden tam anlamıyla emin olmak zordur (19).

Çalışılan kişi ve örnek sayısı önemli değildir. Fraser ve Harris, uygulanan istatistiksel yöntemlere bağlı olarak varyasyon bileşenlerinin kısa dönemde küçük bir gruptan toplanan nispeten az sayıda numune ile elde

edilebileceğini öne sürmüşlerdir (42,43). Çalışmada kullanılan analitik metod, cihaz ve reaktifler BV ölçümlerinde farklılık yaratmamaktadır. Kişiden kaynaklanan faktörler örneğin cinsiyet, yaş, ırk, oturduğu coğrafi yer sonuçlarda farklılık oluşturmaktadır (44).

Örnekleme aralığı bir günden daha az olamaz, fakat bu sınırlamanın dışında aralıkların uzunluğu önemli değildir (günlük, haftalık, aylık vb.) (45).

On bin veri oluşturularak yapılan bir simülasyon çalışmasında tekrar sayıları, numune sayısı ve/ veya birey sayısındaki değişikliklerin BV ölçümlerinin güvenilirliklerine etkisi incelenmiştir (Tablo-5) (46). Birey sayısı, tekrar ve örnek sayısı arttıkça testin gücünün arttığı, arzu edilen güce ulaşıldıktan sonra her birindeki sayıların artırılmasının güce olumlu yansıması olmadığı görülmektedir. Örneğin, CV_A/CV_I oranı 1 olmak üzere 10 bireyden 2 örnek alınarak elde edilen güç tekrar sayısı 4'e çıkarıldığında artmaktadır. Benzer şekilde aynı sayıda bireyle aynı gücü elde etmek için tekrar sayısı artırılmadan birey sayısı artırılabilir. Bununla beraber 10 birey için örnek sayısını 8'den 10'a çıkarmak ya da 4 örnekle tekrar sayısını 3'den 4'e çıkarmak testin gücünü etkilemeyecektir.

Tablo-5: Farklı CV_A/CV_I oranları için çeşitli örnek, birey ve tekrar sayılarından oluşan farklı çalışma modellerinde CV_I 'nin belirlenme gücü.

Analitik varyasyon / Birey içi biyolojik varyasyon (CV_A/CV_I) oranı													
Birevler	Örnekler	1			1.5			2			3		
		Tekrarlar	Tekrarlar	Tekrarlar	Tekrarlar	Tekrarlar	Tekrarlar	Tekrarlar	Tekrarlar	Tekrarlar	Tekrarlar	Tekrarlar	
		2	3	4	2	3	4	2	3	4	2	3	4
10	2	0.65	0.87	0.95	0.32	0.55	0.70	0.19	0.33	0.46	0.11	0.15	0.20
	4	0.94	1.00	1.00	0.59	0.87	0.97	0.33	0.60	0.79	0.15	0.26	0.38
	6	0.99	1.00	1.00	0.76	0.97	1.00	0.44	0.76	0.92	0.18	0.34	0.51
	8	1.00	1.00	1.00	0.86	0.99	1.00	0.54	0.87	0.97	0.22	0.41	0.62
	10	1.00	1.00	1.00	0.92	1.00	1.00	0.63	0.93	0.99	0.25	0.49	0.71
15	2	0.80	0.96	0.99	0.43	0.69	0.84	0.24	0.41	0.58	0.12	0.19	0.26
	4	0.99	1.00	1.00	0.74	0.96	0.99	0.42	0.74	0.90	0.18	0.32	0.49
	6	1.00	1.00	1.00	0.89	1.00	1.00	0.57	0.89	0.98	0.23	0.45	0.65
	8	1.00	1.00	1.00	0.96	1.00	1.00	0.69	0.96	1.00	0.29	0.55	0.76
	10	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	1.00	0.78	0.98	1.00	0.32	0.63	0.84
20	2	0.88	0.98	1.00	0.51	0.79	0.91	0.28	0.51	0.67	0.14	0.22	0.31
	4	1.00	1.00	1.00	0.83	0.99	1.00	0.52	0.83	0.95	0.22	0.39	0.58
	6	1.00	1.00	1.00	0.95	1.00	1.00	0.68	0.96	1.00	0.28	0.53	0.75
	8	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	1.00	0.79	0.99	1.00	0.34	0.65	0.85
	10	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.88	1.00	1.00	0.39	0.74	0.92

3.4.2. Örneklerin Toplanması

Her bir bireyden örnekler toplandığında preanalitik faktörlerin en aza indirilmesine dikkat edilmelidir. Eğer çalışılan bireyler sağlıklı kişilerse, örnek toplanıncaya kadar normal yaşam şekillerine devam etmelidirler. Kan alım şartları tam anlamıyla tanımlanmalı ve tüm bireylere uygulanmalıdır. Örneğin serum örnekleri için oturur pozisyonda ve tek tüple, aynı flebotomistçe, günün aynı saatinde, kişi birkaç dakika dinlendikten sonra aynı turnike zamanında alınmalıdır. Bu aynı koşullar sağlıklı olmayan bireylere (örn. hastalar, transplant alıcıları) de uygulanabilir ve kendi içerisindeki yaşam durumlarının stabil şartlarda olmasını ek olarak gerektirmektedir (47,48).

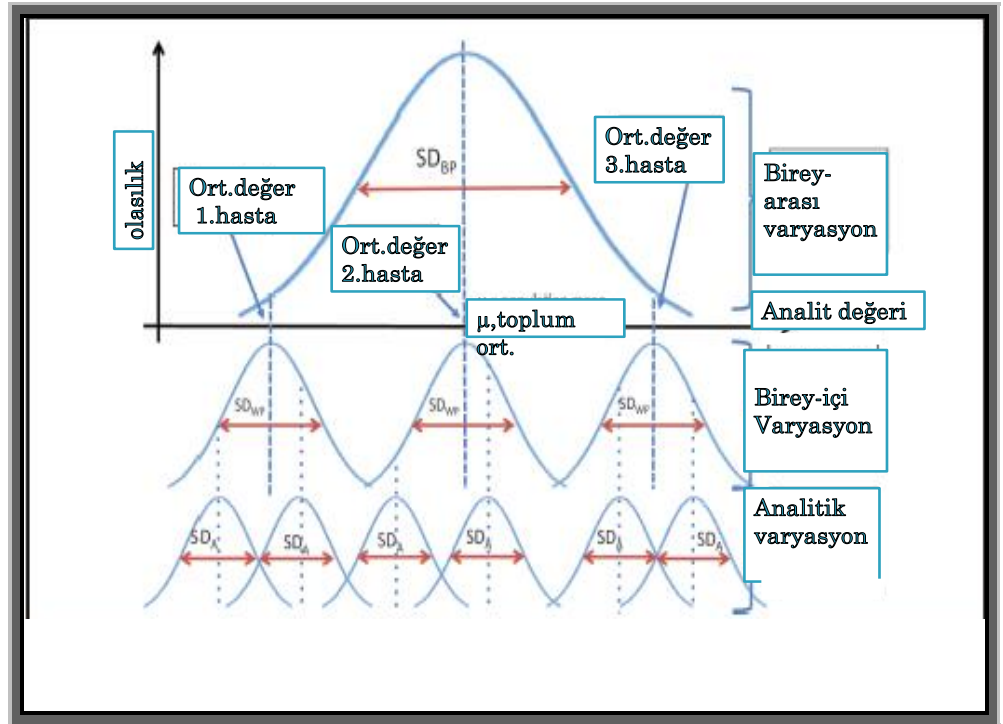
Laboratuvarlar arası CV_A 'yı azaltmak için örnekler toplandıktan sonra dondurulup, tüm örnekler stabil kalacakları koşullarda depolanmalıdır. Örneklerin birçoğu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dondurularak saklanabilir. Stabilitate sağlanamayacak örneklere ait numunelerin toplandıktan hemen sonra analiz edilmesi önerilmektedir. Kontrol materyalleri ile üretilebilen laboratuvarlar arası varyasyon bileşeni CV_I değerlendirmesine dahil edilebilmektedir (20).

Aslında bu konuda iki protokol uygulanmaktadır. İlki ve çalışmalarda en sık kullanılanı Cotlove ve ark. tarafından uygulanandır (49). Örnekler ayarlanan zaman aralıklarında alınır ve işlenmiş ve dondurulmuş olarak saklanır. Tek bir zaman periyodunda tüm analizi yapılır. Eş zamanlı tekrarlı analiz gerçekleştirilir. Kalite kontrol örnekleri ile birlikte çalışılır. Avantajı CV_I 'yı en aza düşürmek, dezavantajı ise sınırlı sayıda hasta ve örnekle çalışılabilir olması ve analit saklama şartlarında stabil olması gerekliliğidir. İkinci protokol Costongs ve ark.'nın uyguladığıdır (50). Cotlove ve ark. olduğu gibi toplama ve saklama işlemi yapılır. Tek bir zaman periyodunda örneklerin analizi yapılır. CV_A 'yı değerlendirmek için kalite kontrol veya hasta örnekleri ile çift çalışma gerçekleştirilir. Numunelere toplama gününde bir veya iki kez analiz yapılmalıdır. Dezavantajı toplam varyans ile CV_I 'nin karıştırılabileceğidir. Avantajı ise stabil olmayan örnekler için kullanılışlı olmasıdır.

3.4.3. İstatistiksel Analiz

Topluma dayalı referans değerlerin oluşturulmasında olduğu gibi verilerin uç değerleri belirlenmektedir. Uç değerlerin CV_I'da bulunup bulunmadığının belirlenmesi için en büyük varyansın, varyans toplamına oranının değerlendirildiği ve kritik cetvel değeri ile karşılaştırıldığı Cochran ve Dixon/ Reed (D/R) testi önerilmektedir (19,20).

Eğer preanalitik varyasyon az ise iç içe geçmiş varyans analizleri (Nested ANOVA) kullanılarak CV_I, CV_G ve CV_A'nın ortalama tahminleri oluşturulabilmektedir (19,51). ANOVA, grup ortalamaları ve (CV_I ve CV_G gibi) bunlara bağlı olan işlemleri analiz etmek için kullanılan bir istatistiksel modeller koleksiyonudur. ANOVA kullanılmaktayken belirlenmiş bir değişkenin gözlemlenen varyansı farklı değişim kaynaklarına dayandırılabilen varyans bileşenine ayrılır. En basit şekliyle "ANOVA" ile birkaç grubun ortalamalarının birbirine eşit olup olmadığını değerlendirmek için bir çıkartımsal istatistik uygulanır ve bu değerlendirme iki grup için yapılan t-test uygulamasını çoklu gruplar için genelleştirir (Şekil-5) (52).



Şekil-5: Biyolojik varyasyon çalışmalarında ANOVA modeli (46).

Varyans analizi kullanıldığında modelin koşulları sabit değişkenlerle normal (Gaussian) ve bağımsız dağılım göstermektedir (22).

Daha önce de belirtildiği gibi bu gereksinimler doğrultusunda derlenmiş çeşitli BV verileri literatürde yer almaktadır (53,54). Farklı farklı ülkelerde farklı sayıda örnekle hem kadınlarda, hem de erkeklerde uygulanmıştır (19). BV bileşenleri ve laboratuvarlar için oldukça yararlı içerikleri ile ilgili en son ve en kapsamlı derleme Carmen Ricos ve arkadaşları tarafından sağlanmıştır (55). Bu veri tabanında başta laboratuvarlarda sıklıkla ölçümü yapılan analitlere ait CV_I ve CV_G değerleri ile beraber nadiren ölçülen analitlere ait ek verilere de yer verilmiştir. Geniş içeriğiyle bu bilgi kaynağının tüm laboratuvarlar tarafından kullanılması önerilmektedir. Yeni sonuçların değerlendirilmesinde karşılaştırma sağlayabilecek BV verileri ile hedef analitik kalite verileri de Westgard QC web sitesinde yer almaktadır (56).

3.5. Biyolojik Varyasyon Verileri Kullanılarak Yapılan Hesaplamalar ve Bu Hesaplamaların Günlük Laboratuvar Pratiğinde Uygulanması

3.5.1. Analitik Performans İçin Kalite Belirteçlerinin Kurulması

Laboratuvar çalışmalarının tüm yönlerini kapsayacak şekilde tasarlanmış bir kalite sistemi çerçevesinde, toplam kalite hizmetinin korunmasını amaçlayan analitik kalite kontroller büyük önem taşımaktadır. Genel hizmet üretim süreci için ulaşılabilecek maliyet etkin analitik kalite düzeyinin, laboratuvar sonuçlarının klinik kullanımı ile uyum göstermesi beklenmektedir. Bu açıdan arzu edilen ya da ihtiyaç duyulan analitik kalite düzeyi eldesi üç ana unsurun döngüsel etkileşimine dayalı olmaktadır. Bu üç ana unsur; analitik kalite özelliklerinin belirlenmesi, oluşturulması ve kontrolüdür (57).

Laboratuvar bilgisi talep eden klinik durum şartlarında talebin karşılanması amacıyla çalışılması gereken yeni bir test prosedürü gibi başlangıç süreçlerinde bu döngünün şekillendirilmesi mümkün olabilmektedir. Arzu edilen seviyeye yakın analitik kalite düzeyi en uygun ölçüm yönteminin seçilmesiyle elde edilebilmektedir. Talep edilen bilgi, yeterli düzeyde kalite özellikleri taşıyan analitik performansla üretilmişse, analitik işlemin

kararlılığını izlemek için döngünün sürekliliği sağlanmakta ve yeterli bir kontrol sistemi ile korunmaktadır (58).

Tanı ve izlemin genel ihtiyaçlarını karşılaması açısından CV_I ve CV_G temelinde kalite özelliklerinin oluşturulması dünya çapında katılımı Stockholm konferansı'nda kabul edilmiştir (16).

Tüm varyasyonlar rastgeledir ve bu nedenle normal dağılım gösterdiği kabul edilmektedir. Gözlenen normal (Gaussian) veri dağılımında bu varyasyonları açıklamak için SD'nin kullanılması uygun olmaktadır. İstatistiksel olarak SD ya da CV ($CV=(SD/ortalama) \times 100$) olarak hesaplanır. BV de istatistiksel olarak I gibi SD ya da CV olarak rakamsal ifade edilebilir. Daha sonra toplam rastgele varyasyon hesaplanabilir. Bunun sadece SD ya da CV eklenerek basitçe yapılamayacağını eklemek gerekir. Matematiksel işlemler için SD^2 olarak ifade edilen varyansı ya da bileşenlerinin ortalamaları aynı ise CV^2 i kullanmalıdır (22).

Toplam değişkenlik (SD_T) ve analitik değişkenlik (SD_A) ve biyolojik değişkenlik (SD_B) olarak tanımlandığında aşağıdaki formüller hesaplanabilmektedir:

$$\boxed{SD_T^2 = SD_A^2 + SD_B^2} \quad \text{veya} \quad \boxed{SD_T = (SD_A^2 + SD_B^2)^{1/2}}$$

Bileşenler özdeş kabul edildiğinde formül:

$$\boxed{CV_T^2 = CV_A^2 + CV_B^2} \quad \text{veya} \quad \boxed{CV_T = (CV_A^2 + CV_B^2)^{1/2}} \quad \text{halini almaktadır.}$$

Bir laboratuvardaki toplam varyasyon katsayısı (CV_T) preanalitik ve postanalitik kaynaklar ihmal edildiğinde aynı analitin tüm hata kaynaklarının ölçüm ortalaması farzedilerek ölçülebilir (59). Uygulamada, tek bir sayısal test sonucunun içinde kaldığı aralık için CV_T dağılımı hesaplamak için, genellikle uygun olan z skoru olarak bilinen kapsama faktörü ile çarpılır. Z skoru değerlerin % 95'ini kapsayan standart sapma sayısı ve dağılıma eşittir (54). $P < 0.05$ ise:

$$\boxed{CV_T = 1.96 [CV_A^2 + CV_B^2]^{1/2}}$$

Burada I değeri CV_A , CV_I değeri CV_B olarak kabul edilerek toplam varyans hesaplanabilir. Örnek olarak, Fraser Ulusal Kolesterol Eğitim Paneli (NCEP) tarafından serum kolesterolü için önerilen maksimum I değerini '3' olarak ve serum kolesterol düzeyi 5 mmol/L olarak almış (59,60). Yazılı (21) ve elektronik ortamda (56) kayıtlı bulunan BV verilerinden yola çıkarak kolesterolün BV'sini %6 olarak %95'lik dağılım aralığını aşağıdaki gibi hesaplamıştır:

$$\left. \begin{array}{l} CV_T = 1.96 [CV_A^2 + CV_B^2]^{1/2} \\ CV_T = [3.0^2 + 6.0^2]^{1/2} \\ CV_T = 13.1 \end{array} \right\} \begin{array}{l} 5\text{mmol/L için \%95 dağılımı,} \\ 5\text{'in \%13.1'i} = 5 \times 0.131 = 0.665 \\ 5 - 0.665 = 4.335, 5 + 0.665 = 5.665 \\ 4.335 - 5.665 \text{ mmol/L} \end{array}$$

Birey-içi varyasyon coğrafya, zaman ve topluma göre sabit olduğundan (22), I oldukça önemli bir değişken olarak değerlendirilmelidir (61,62). %95'lik dağılım için 5 mmol/L olan serum kolesterol sonucuna I'nın etkisi Tablo-6'da görülmektedir (59).

Tablo-6: %95'lik dağılımda impresizyonun 5 mmol/L serum kolesterol sonucuna etkisi.

Impresizyon	%95'lik Dağılım (mmol/L)
2	4.38-5.62
4	4.29-5.71
6	4.17-5.83
8	4.02-5.98
10	3.86-6.14

Artan belirsizlik dağılımın genişlemesine neden olup, bu artış doğrusal değildir ve I değeri arttıkça etki daha büyük olmaktadır. Yatak başı testler uygulanırken bu durum daha önemli hale gelmektedir, çünkü genellikle laboratuvarca hesaplananın altında I vardır ve klinik rehberlerde bildirilenlerden daha az iyidir (63). Bununla beraber I'nın dağılıma etkisi, tam

olarak arzu edilen performans karakteristikleri için, genel uygulanabilir analitik kalite özelliklerini ayarlamak için CV_I değerinin yarısına eşit ya da daha az olmalıdır (64) ve B , $0.25 [(CV_I)^2 + (CV_G)^2]^{1/2}$ den az olmalıdır (22).

Özetle;

$$\text{Maksimum Impresizyon } (I_{MAX}) = 0.5 \times CV_I$$

$$\text{Maksimum Bias } (B_{MAX}) = 0.25 [(CV_I)^2 + (CV_G)^2]^{1/2}$$

$$\text{Toplam hata } (TE_{MAX}) = B_{MAX} + (1,65 \times I_{MAX})$$

BV açısından analitik kalite hedefleri 1) İstenen sınırlar, 2) Optimum sınırlar, 3) Minimum sınırlar olarak üç başlık altında toplanmaktadır (Tablo-7) (65).

Tablo-7: BV için analitik kalite hedefleri (B_A : Hedef Bias).

	Arzu Edilen	Optimum	Minimum
BV katsayılarına göre	$CV_A < 0.5 \times CV_I$	$CV_A < 0.25 \times CV_I$	$CV_A < 0.75 \times CV_I$
	$B_A < 0.25 \times (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$	$B_A < 0.125 \times (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$	$B_A < 0.375 \times (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$

Analitik kalite özellikleri açısından bakıldığında NCEP tarafından analitik kalite özelliği olarak kolesterol için CV_A 'nın $\leq 3\%$ seçilmesi, CV_I 'nin $1/2$ 'sinden az olduğundan uygun gibi görünmektedir. Bu kaliteye ulaşırsa, I gerçek test sonucu ile 10% farklılık gösterecektir (59).

3.5.2. Bireysel Serilerin Oluşturulması için Gerekli Analiz

Sayısının Belirlenmesi

Birçok rehberde kolesterol için test sonuçlarının BV'den etkilendiği, bu nedenle tedavi stratejisini belirlemeden önce aynı bireyden iki örneğin

alınması gerektiği belirtilmiştir (66). Bu önerinin kabul edilip olup olmadığı Fraser tarafından aşağıdaki gibi değerlendirilmiştir (59).

Tekrar sayısının karekökü alınırsa varyasyon (SD ya da CV) azaltılabilir. Genel formül:

$$CV_T = [CV_A^2/n_1 + CV_G^2/n_2]^{1/2}$$

n_1 , her bir örnekteki tekrar sayısı

n_2 , tek bireyden alınan örnek sayısı

Tek örnekte tekrarlanan analiz sayısının I ve %95'lik dağılıma etkisi Tablo-8'de görülmektedir (59).

Tablo-8: Tekrarlanan analiz sayısının %95'lik dağılıma etkisi.

Tekrar sayısı (n_1)	Etkili İmpresiyon ($CV_A/n_1^{1/2}$)	$(CV_A^2/n_1 + CV_B^2)^{1/2}$	%95'lik Dağılım (mmol/L)
1	3.0	6.7	4.34-5.66
2	2.1	6.4	4.37-5.63
3	1.7	6.2	4.39-5.61
4	1.5	6.1	4.40-5.60

Hesaplama CV_A %3 ve CV_I %6 alınmıştır. Analizin tekrarlanması dağılımın düşük olmasını sağlar, ancak yarar çok büyük değildir. Bunun nedeni I'nın CV'dan daha küçük olmasıdır. Tekrar edilen analizlerde belirsizliği küçültmek analitik hatayı çoğunlukla etkilemez.

Kolesterolün gerçek değeri 5 mmol/L kabul edilirken %95'lik dağılımda çok sayıda örnek için tek analiz yapılmasının etkileri Tablo-9'da görülmektedir (59).

Tablo-9: Tekrarlanan örnek sayısının dağılıma etkisi.

Örnek sayısı (n2)	$(CV_A^2 + CV_B^2/n_2)^{1/2}$	%95'lik Dağılım (mmol/L)
1	6.7	4.34-5.66
2	5.2	4.49-5.51
3	4.6	4.55-5.55
4	4.2	4.58-5.42

Hesaplama da CV_A %3 ve CV_I %6 alınmıştır. Birden fazla örneğin alınması gerçekten dağılımın düşük olmasını sağlamaktadır. Burada yarar büyüktür, çünkü CV_I , CV_A 'dan büyüktür.

İyi klinik karar verme için kaç örnek alınarak dağılımın azaltılabileceği aşağıdaki formülle açıklanmaktadır.

$$n = (Z * [CV_A^2 + CV_B^2]^{1/2} / D)^2$$

(n=örnek sayısı, D=Homeostatik ayar noktasına % yakınlık)

Kolesterol için %95 olasılıkla gerçek değer in %10'unu elde etmek isteniyorsa CV_A %3, CV_I %6 iken,

$$n = Z * [CV_A^2 + CV_B^2]^{1/2} / D)^2 = (1.96 [3.0^2 + 6.0^2]^{1/2} / 10)^2 = 2$$

Buradan da anlaşılacağı üzere rehberlerin önerdiği şekilde çift örnekle çalışmak uygun görülmüştür (59).

3.5.3. Özel Bir Bileşen Analizi İçin En Uygun Örneğin Seçilmesi

Özel bir bileşen için hangi örnek tipinin (plazma, serum, spot idrar, 24 saatlik idrar vb.) kullanılabileceği BV hesaplamalarına bağlıdır. Düşük CV_I 'li örnekler en iyi örneklerdir. Çünkü vücut sıvısına bağlı olarak geçen varyasyon kaynakları en azdır. Örneğin serum kreatininin CV_I 'sı %5,3'tür ve 24 saatlik idrar CV_I 'sı %16'dır. Böylelikle serum kreatininini renal bozuklukları takipte tercih edilmektedir. Analitlerin büyük çoğunluğu için serum ya da plazma örnekleri idrar örneklerine göre daha iyidir çünkü idrar homeostazı ile karşılaştırıldığında kan bileşenlerinin fizyolojik düzenlenmesi daha güçlüdür (67).

3.5.4. Toplum Temelli Referans Aralığının Kullanılmasının Yararlılığının Bireysellik İndeksi ile Değerlendirilmesi

Harris, toplum temelli RA'nın sağlıklı bireylerde gözlemlenen değerlerin dağılımı ile ilişkili olduğunu öne sürmüştür (68). $CV_I > CV_G$ olduğunda tek bir bireydeki değerlerin dağılımı referans toplum değerlerinden edinilen RA dağılımının çoğunu içerecektir. Bu durumda, toplum temelli RA birçok birey için çok önemli olacaktır. Ancak, bu durumla laboratuvarlarda ölçülen analitler için sık karşılaşılmaz.

Tam tersi, $CV_I < CV_G$ olduğu zaman herhangi bir bireydeki değerlerin dağılımı toplum temelli RA'nın küçük bir bölümünde olacaktır. Eğer sağlıkta homeostatik ayar noktası referans sınırlarından çok uzaksa böyle bir birey için değişikliklerin ölçümü yüksek olasılıkla geniş olmalıdır. Otomatize çalışılan birçok analit için $CV_I < CV_G$ 'dir (19).

Bireyselliğin kantitatif ölçümü Harris tarafından bireysellik indeksi (BI) olarak tanımlanmıştır (69) ve aşağıdaki şekilde formülize edilmiştir:

$$BI = (CV_I^2 + CV_A^2)^{1/2} / CV_G$$

Bu formül sıklıkla $CV_I > CV_A$ olduğunda CV_A ihmal edilerek CV_I / CV_G 'ye dönüşmektedir (19).

Formülde $CV_I < CV_G$ olduğu zaman, hastalığın tespit edilebilmesi için, kişi temelli RA toplum temelli RA'sından daha duyarlıdır. Kişi temelli RA kullanımı için birey-içi varyasyonun ne kadar düşük olması gerektiği BI ile hesaplanabilir. İndeksin kullanılması $CV_I / CV_G > 1.4$ olduğunda farkın büyüklüğünü değerlendirmeye izin vermektedir, demek oluyor ki ölçülen analit çok küçük bireysellik göstermektedir ve toplum temelli referans değerleri uygundur. Aynı şekilde, $CV_I / CV_G < 0.6$ olduğunda ölçülen analit bireysellik göstermektedir ve toplum temelli referans değerlerinin kullanımı uygun olmamaktadır (20,70). Eğer BI 1.4 ile 0.6 arasına düşerse toplum temelli RA kullanılabilir ancak değişikliklerin >1.4 olduğundaki kadar tespit edilmeyeceği bilinmelidir (71). Tablo-10'da rutin laboratuvarlarda sık kullanılan bazı analitlere ait BI değerleri yer almaktadır. Birçok analit yüksek bireysellik göstermektedir (8).

Tablo-10: Sık kullanılan bazı analitlerin BV bileşenleri ve BI değerleri.

Örnek	Analit	CV _I %	CV _G %	BI
S	Alanin Transaminaz	24.3	41.6	0.58
S	Albümin	3.1	4.2	0.74
S	Alkale fosfataz	6.4	24.8	0.26
S	Aspartat transaminaz	11.9	17.9	0.66
S	Total Bilirubin	25.6	30.5	0.84
S	Kalsiyum	1.9	2.8	0.68
S	Klorür	1.2	1.5	0.80
S	Kolesterol	6.0	14.9	0.40
S	Kreatinin	4.3	12.9	0.33
S	Demir	26.5	23.2	1.14
S	Fosfat	8.5	9.4	0.90
S	Potasyum	4.8	12.9	0.33
S	Total Protein	2.7	4.0	0.68
S	Sodyum	0.7	1.0	0.70
S	Trigliserid	20.9	37.2	0.56
S	Ürat	8.6	17.2	0.50
S	Üre	12.3	18.3	0.67
S, serum				

Bireysellik indeksine göre klinik kimyada kullanılan bazı analitler gruplandırılacak olursa (Tablo-11) birçok analitin BI'sının 0.6-0.9 arasında olduğu görülmektedir. Alkale fosfataz, alanin transaminaz, trigliserid ve ürik asit için bireysel RA kullanılması gerekirken, diğer analitler için topluma dayalı RA dikkatli bir şekilde kullanılabilir (8).

Tablo-11: Analitlerin bireysellik indeks değerlerine göre sınıflandırılması.

<0.4	0.4-0.6	0.6-0.9	1.0-1.4	>1.4
Alkalin fosfataz	Alanin transaminaz	Albumin	Demir	
	Trigliserid	Aspartat transaminaz		
	Ürik Asit	Total Bilirubin		
		Kalsiyum		
		Klorür		
		Fosfat		
		Potasyum		
		Total Protein		
		Sodyum		
		Üre		

Bireysellik indeksi, aynı zamanda daha yüksek bireyselliği olan alt gruplar için RA verilerini gruba göre tabakalandırmanın uygunluğunu da sağlar. Bir analiz için grup içinde BI düşükse (<0.6) alt grup için yüksekse (>1.4) cinsiyet, ırk gibi gruplara ayırmak toplum temelli RA'nın yararını artıracaktır (19,72). Tabakandırmanın bilimsel temeli BI'yı geniş yapmak olmalıdır. İndeks kullanılırken $CV_I < CV_G$ ise, indeksi artırmanın tek yolu CV_G 'yi düşürmektir (19). Tablo-12'de 8 kadın ve 7 erkekte cinsiyetlere göre dağılmış olarak günlük idrar kreatinin atılımının CV_I ve CV_G ve BI değerleri gösterilmektedir (67). Tüm grup için BI 0,46'dır ve böylelikle referans değerleri düşük yararlılıktadır. Ancak kadın ve erkekleri ayrı ayrı ele aldığımızda BI kadınlarda 1.42 ve erkeklerde 1.83 olup referans değerinin cinsiyetlere göre tabakalandırılmasının çok uygun olduğu görülmektedir.

Tablo-12: İdrar kreatininin CV_I , CV_G ve BI değerleri.

Grup	CV_I %	CV_G %	BI
Kadın, n=8	15.7	11.0	1.42
Erkek, n=7	11.0	6.0	1.83
Tüm Grup, n=15	13.0	28.2	0.46

3.5.5. Ardışık Sonuçlardaki Değişimin Anlamlılığını Belirlemek; Referans Değişim Değeri

Seri ölçümler sonucunda bir bireyde meydana gelen değişiklikler klinik iyileşme ya da kötüleşmeye bağlı olabilir, fakat aynı zamanda preanalitik, postanalitik ve birey-içi varyasyondan da kaynaklanabilir. Harris ve Yasaka, 1983'te, referans değişim değeri (RDD) kavramını tanıtmışlardır (73). 'Kritik fark' terimi de RDD terimi yerine kullanılır (20) ve bir bireydeki iki ardışık test sonucu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı şeklinde tanımlanır. Böylece RDD, her iki ölçüm sonucu da toplum temelli RA içinde kalsa bile ardışık iki ölçüm arasındaki farkın anlamlılığının ölçümüdür (73). RDD, toplam test sürecinin her adımında laboratuvar bilgilerinin kalitesi ve ilgili bilgilerin anlaşılması için esastır (74).

Referans değişim değeri hesaplaması için biyolojik, preanalitik ve analitik varyans gerekmektedir. Bireyden alınan örnekler uygun toplanır, transfer edilir, depolanır ve standart çalışma prosedürleri ile analiz en iyi şekilde yapılırsa preanalitik faktörler küçültülmüş olur ve formülde ihmal edilir. Böylelikle RDD hesaplaması basit hale gelir. Çünkü her laboratuvar iç kalite kontrolden kendi yöntemlerinin CV_A değerini detaylı olarak bilirler. RDD formülü aşağıdaki gibidir (56).

$$RDD = Z_p \times 2^{1/2} (CV_I^2 + CV_A^2)^{1/2}$$

Referans değişim değeri için standart eşitlik ,% olarak tanımlanır ve formüldeki Z_p , arzulanan olasılık için standart sapma sayısıdır. BV verileri geliştirilip uygulanırken en sık kullanılan değerler $p < 0,05$ için 1,96 ve $p < 0,01$ için 2,58'tir.

Ek olarak formül rastgele varyasyondaki yalnızca impresizyondaki değişimi analitik varyasyon olarak kabul eder. Aslında metodun B'sindeki değişim (ΔB) RDD formülüne eklenebilir. Eklendiği takdirde formül:

$$RDD = \Delta B + Z_n \times 2^{1/2} \times (CV_I^2 + CV_A^2)^{1/2}$$

Biaastaki birçok değişiklik çoğunlukla yeniden kalibrasyona bağlıdır ve bu rastgele B, iç kalite kontrol materyallerinden elde edilen CV_A 'nın bir

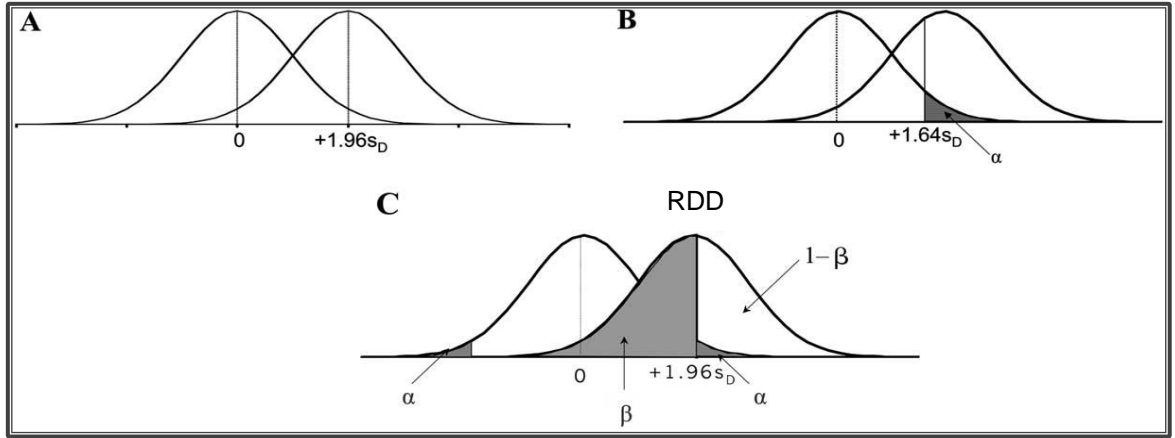
parçasıdır ve böylelikle ΔB ihmal edilebilir (22). Ayrıca $CV_A < 0.5 \times CV_I$ olduğunda eşitlik aşağıdaki gibi kısaltılabilir;

$$RDD = Z_p \times 2^{1/2} \times (CV_I)$$

Geniş Z_p değerlerinin kullanılması, istatistiksel fonksiyonun gücünü ve hesaplanan RDD'yi artırarak, anlamlı değişikliklerin saptanabilirliğini arttırmaktadır. Gerçek farklılıkların tespit edilebilme gücü, üç değişkenle (tip 1 hata, birey sayısı ve farkın büyüklüğü) ilişkili olarak arttırılabilmektedir (75). RDD, izlemi yapılan bireyde ardışık iki test sonucu arasındaki anlamlı değişikliği, tip 1 hatanın (α) belirlenmesi yoluyla göstermektedir. Bu hata tipi, sonuçlar arasında gerçekte anlamlı bir farklılık yokken, farkın anlamlı olduğunu savunan “yalancı pozitif sonuç olasılığını” temsil etmekte ve Z_p değeri ile belirlenmektedir (76). Çoğu araştırmacı yalancı pozitif sonuç olasılığını kontrol altında tutmak amacıyla RDD'ye başvurmakta, ancak sadece α 'nın değerlendirmeye alınmış olması, BV ve I nedeniyle bireyde meydana gelen gerçek patolojik değişimlerin ihmal edilmesiyle sonuçlanabilmektedir. RDD'nin daha kapsamlı değerlendirmelerine tip 2 hatanın da dahil edilmesi önerilmektedir (76,77). Klinik uygulamada belirlenen yüzde değişimlerin, hesaplanan RDD'den küçük çıkması durumunda anlamlı farklılıklar atlanmakta ve bu durum “yalancı negatif sonuç olasılığı” olarak tanımlanan tip 2 hatayı (β) temsil etmektedir (Şekil-6) (76)

Analit düzeylerinde meydana gelen gerçek farklılıkların tespit edilebilme olasılığı, o test için “güç ($1 - \beta$)” anlamına gelmekte ve bu kavram güç fonksiyonu ile açıklanabilmektedir (Şekil-6). Güç fonksiyonları, verilen kararların doğruluğunu ölçmek ve örneklem sayısını belirlemek için kullanılmaktadır. Araştırmanın sağlığı açısından test gücünün ($1 - \beta$) 0.80'den yüksek olması beklenmektedir. α kontrol edilebilirken, örneklem büyüklüğü, α değeri ve örneklemin dağılımına büyük ölçüde bağlı olan β değişkenlik gösterebilmektedir (76). Westgard ve Groth farklı kontrol kuralları ile iç kalite kontrolde hatanın belirlenmesi için güç fonksiyonları üzerinde önemle durmuşlardır (78,79).

Bir örneğin test edilmesi büyük oranda BV, CV_A ve preanalitik varyasyonla ilişkili rastgele varyasyona bağlı olmaktadır. Test edilen analit düzeyleri, kararlı durum dengesi süresince bireyin homeostatik ayar noktası etrafında simetrik olarak dağılmakta ve bu sabit koşulda yapılan ölçümler arasındaki farklılıkların anlamlı olmadığı ve Gaussian dağılım gösterdiği belirtilmektedir. Eğer iki test sonucu arasında belirlenen patolojik değişimlerin 1.96xSD'ya ve hesaplanan değişim değeri ile aynı ortalamaya sahip olduğu kabul edilirse bu durum için de Gaussian dağılım grafiği çizilebilmektedir. Bu nedenle ardışık test sonuçlarına ait hesaplanan RDD için, kararlı durum koşullarında ortaya çıkan farklılık dağılımları ile gelişen patolojik süreçler sırasında meydana gelen farklılık dağılımları arasında sonuçların değerlendirilmesi açısından bir ilişki kurulabilmektedir (Şekil-6) (76).



Şekil-6: Aynı standart sapmaya sahip kararlı durum ve patolojik süreçlerde gözlenen artışları yansıtan iki dağılımın karşılaştırılması (76).

Şekil-6 A, SD'ları aynı, ancak ortalamaları farklı olan kararlı durum ve patolojik süreçlere ait iki RDD sonuç dağılımını göstermektedir. Bu koşullarda dağılım eğrileri çakışmakta ve α'nın belirlenmesi, farklılıkları tespit etmede β'yı ve istatistiksel gücü etkilemektedir. Pratik kullanımda yalancı pozitif sonuçların sıklıkla %5 olasılık gibi düşük oranda belirlenmesi uygun olmaktadır. Bu ise sayısal olarak daha geniş ölçüm farklılıkları gösterme şansının sadece %5 olduğu anlamına gelmektedir. Eğer değişim artma ya da azalma şeklinde tek yönlüyse 0.05 olasılık için tüm α düzeyleri eğrinin bir ucuna yerleşmekte ve Z_p değeri 1.64 olarak belirlenmektedir

(Şekil-6 B). Değişim iki yönlü olduğunda ise α düzeyleri 0.025 olasılığa sahip parçalar halinde eğrinin her iki ucunda yer almakta ve Z_p değeri 1.96 olarak seçilmektedir (Şekil-6 C) (73). Şekil 12 C’de belirtilen; (α); gerçekte anlamlı olmayan farkların anlamlı kabul edilmesini [yalancı pozitif (YP)], (β); gerçekte anlamlı farkların anlamlı kabul edilmemesini [yalancı negatif (YN)], ($1 - \alpha$); gerçekte anlamlı olmayan farkların anlamlı kabul edilmemesini [gerçek negatif (GN)] (Testin anlamlılık düzeyi), ($1 - \beta$); gerçekte anlamlı farkların anlamlı kabul edilmesini [gerçek pozitif (GP)]. Anlamlı farkın belirlenebilme olasılığı “Testin Gücü” ifade etmektedir.

Test sonuçlarında gözlenen farkların anlamlı olup olmaması açısından var olan gerçek durum ile değerlendirme sonrasında verilen karar arasında kurulan ilişki ile de durum açıklanabilmektedir (Tablo-13) (76).

Tablo-13: Gerçek durum – karar ilişkisi.

Testin anlamlılık düzeyi		Testin anlamlı farkı belirleme olasılığı “Güç”	
		Gerçek Durum	
		Farklar Anlamlı Değil (H_0H)	Farklar Anlamlı (H_1H)
Karar	(H_0H) Kabul	Doğru Karar ($1 - \alpha$)	Tip 2 Hata (β)
	(H_1H) Kabul	Tip 1 Hata (α)	Doğru Karar ($1 - \beta$)

Laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan bir kısım analit ölçümünde sabit CV_A değerleri gözleendiği ve bazı patolojiler dışındaki klinik durumların çoğunda elde edilen CV_I verilerinin, sağlıklı birey verileriyle benzerlik gösterdiği bildirilmektedir (80). Patolojik süreçlere ait sonuçların değerlendirilmesinde daha önce sağlıklı bireyler için düşük sınırlarda belirlenmiş olan RDD’nin kullanılması, YP sonuç olasılığında artış gözlenmesine neden olabilmektedir. Bu sorun, böbrek hastalığı tanısıyla serum kreatinin düzeyleri izlenen bireylerde olduğu gibi, hastalık süreciyle ilişkili analitler için CV_I ve RDD’nin birlikte saptanmasıyla ele alınabilmektedir (39).

Referans değişim değeri, topluma dayalı RA veya klinisyenlerin ortak görüşlerine dayanan karar sınırlarından farklıdır. RDD' nin hangi klinik durumlarda kullanılabileceği sorusu, büyük ölçüde analitin bireyselliği ile cevaplanabilmektedir (77).

Referans değişim değeri formülün bu şekliyle tek örnek alınıp ilk kez çalışılıyorsa uygulanabileceği de akılda tutulmalıdır. Eğer bir örnek tekrarlayan sayıda çalışılacaksa ya da tek bireyden birçok örnek çalışılıyorsa ortalama alınmalı ve CV_A^2 ve CV_I^2 terimleri tekrar sayısı ya da alınan örnek sayısına (n)'e bölünmelidir (59).

Birey-içi varyasyonun sağlıkta ve kontrollü kronik hastalıkta coğrafya ve metota göre zaman içinde sabit olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (81). Bu nedenle evrensel olarak kullanılabilir. CV_A 'nın da laboratuvarın laboratuvara yöntemden yöneme değişiklik gösterdiği akılda bulunmalıdır. Bu durumda her laboratuvar klinisyene hastaların ölçüm sonuçları arasındaki farkın anlamlılığı hakkında bilgi sağlayabilir (56). Değişimi ve BV bildiğimizde farkın önemini incelendiğinde gerçekleşen değişim, hesaplanan RDD'nin altındaysa önemsiz kabul edilir, ancak üzerinde ise önemlidir ve aradaki fark arttıkça önemi de artmaktadır (Tablo-14) (82).

Tablo-14: Ardışık iki örnek arasındaki farkın öneminin RDD'ye göre belirlenmesi.

Örnekleme	Albumin (g/dL)	Alkalin fosfataz (U/L)	Alanin transaminaz (U/L)	Aspartat transaminaz (U/L)
İlaç öncesi	4.2	81	14	18
2 ay sonra	4.0	86	27	24
Fark	0.2	5	13	6
Gerçekleşen Değişim	%4.8	%6.2	%92.9	%33.3
RDD'nin Önem Derecesi	%8.6 Önemsiz	%18 Önemsiz	%67 Çok önemli	%33 Önemli

Referans Değişim Değeri Hesaplamanın Avantajları (83):

- Seri ölçümler sonucunda tedavi etkinliğini ölçmede kullanılırlar. Örneğin hiperkolesterolemi için LDL kolesterol için tedavi hedefini belirler.
- RDD tek başına klinisyenler için klinik değer vermez aynı zamanda laboratuvarların her analitin presizyonlarını bilmesini ve geliştirmesini destekler.
- Kemik turnoverındaki biyokimyasal belirteçlerde bildirildiği üzere birbirini takip eden iki ölçüm arasındaki farkın önemini en etkili şekilde tanımlar.

Referans Değişim Değeri Hesaplamanın Dezavantajları:

Basit RDD yaklaşımının bir takım dezavantajları olabileceği Cooper ve ark. tarafından tartışılmıştır (84). Bunlar aşağıdaki olasılıkları içerir:

- İstatistiksel bilgilerin çokluğu klinisyenleri yormaktadır. Z-skorunun kullanılması klinik yargıyı reddetmektedir.
- Referans değişim değeri testin istenme sıklığına bağımlı olabilir.
- Bazı BV'daki değişimler sağlık durumuna bağlı olabilir.
- Uygun uygulama, ileri laboratuvar bilgi yönetim sistemi gerektirmektedir.
- Eğitimli laboratuvar personeli ve klinisyen gerektirmektedir.
- Terminoloji kafa karıştırıcı olabilir.

Tablo-15'te rutin laboratuvarlarda sık kullanılan analitlere ait RDD değerleri görülmektedir (17). Tablodan yola çıkarak sodyum en düşük RDD değerine sahip olup, sodyum düzeylerindeki %3.2'lik değişim klinik açıdan önemlidir. Diğer yandan laktat en yüksek RDD'e sahiptir ve laktat düzeylerindeki değişimin klinik olarak anlamlılığı için ilk düzeye göre %75.4 fark olmalıdır.

Tablo-15: Laboratuvarıda sık kullanılan çeşitli analitlere ait RDD.

Analit	Düzyey	RDD (%)
Sodyum	140 mmol/L	3.2
Potasyum	4 mmol/L	13.5
Üre	5 mmol/L	34.6
Kreatinin	100 µmol/L	17.9
HbA _{1c}	% 4	5.8
Glukoz	40 IU/L	20.5
İnsülin	10 mU/L	58.7
Alanin transaminaz	40 IU/L	67.5
Albumin	35 g/L	10.1
Kalsiyum (total)	2.0 mmol/L	7.2
Kalsiyum (iyonize)	1.2 mmol/L	6.9
Kolesterol	4.0 mmol/L	16.0
Kortizol	400 nmol/L	58.3
Ferritin	200 ng/L	42.6
Laktat	2 mmol/L	75.4

3.5.6. Özel Bir Klinik Amaç İçin En İyi Testin Seçilmesi

Birçok test arasından en iyisinin seçimine BV ölçümleri ile karar verilebilir. Tanı için, tek bir test kullanılması ve sonuçların toplum temelli RA ya da eşik değeri ile karşılaştırılması aynı örnek için seri analizleri kullanmaktan daha iyidir. Örneğin birçok test teorikte böbrek bozukluğunu belirleyebilir. Tablo-16'da böbrek fonksiyon bozukluğunu değerlendirmek için kullanılan birkaç test için CV_I, CV_G, RDD, BI değerleri görünmektedir. Testlerden serum üresi en duyarlıdır. Çünkü yüksek BI'e sahiptir. Serum sistatin C ise sağlık durumundaki değişiklikleri belirlemede düşük RDD'e sahip olduğundan en duyarlıdır (67).

Tablo-16: Böbrek fonksiyon testleri için kullanılan parametrelerden bazıları için biyolojik varyasyon bileşenleri.

Analit	CV _I (%)	CV _G (%)	BI	RDD (%)
Serum kreatinin	5.3	14.2	0.37	14.69
Serum sistatin C	4.6	13.0	0.35	12.72
İdrar kreatinin, output	11.0	23.0	0.47	30.47
Serum üre	12.3	18.3	0.67	34.07
İdrar üre	17.4	25.4	0.68	48.19

3.5.7. Raporlanmış Sonuçlar İçin En Bilgi Verici Birimi Gösterme

İdrar bileşenlerinin bir çoğu için sonuçlar konsantrasyon, output ya da kreatininle oranlanarak verilebilir. 24 saatlik idrar en düşük CV_I'ya sahiptir ve output olarak kullanıldığında en iyisidir. Bu tüm idrar analitleri için geçerlidir. Aşağıdaki Tablo-17'de idrar kalsiyum ve kreatinine ait hesaplanmış biyolojik varyasyon verileri görülmektedir (67).

Tablo-17: İdrar kalsiyum ve kreatinine ait biyolojik varyasyon bileşenleri.

	İdrar Kalsiyumu		İdrar Kreatinini	
	CV _I (%)	CV _G (%)	CV _I (%)	CV _G (%)
Sabah ilk idrar	44	38	31	29
24 saatlik idrar	28	37	24	25
Rastgele	39	35	36	32
24 saatlik output	27	38	11	23

3.5.8. Laboratuvarda Yeni Prosedürler Kurulmasını Doğrulamak

ISO 15189 (85) ya da ISO 9001(86) doğrultusunda bir laboratuvarda yeni kullanımını doğrulamak kalite yönetim sistemi uygulanırken özel gereksinimdir. Yıllardır desteklendiği gibi bu bağlamda kalite özelliği her bir prosedürde önemlidir ve BV verilerinden oluşturulmalıdır (87-90)

4. Akut Koroner Sendrom

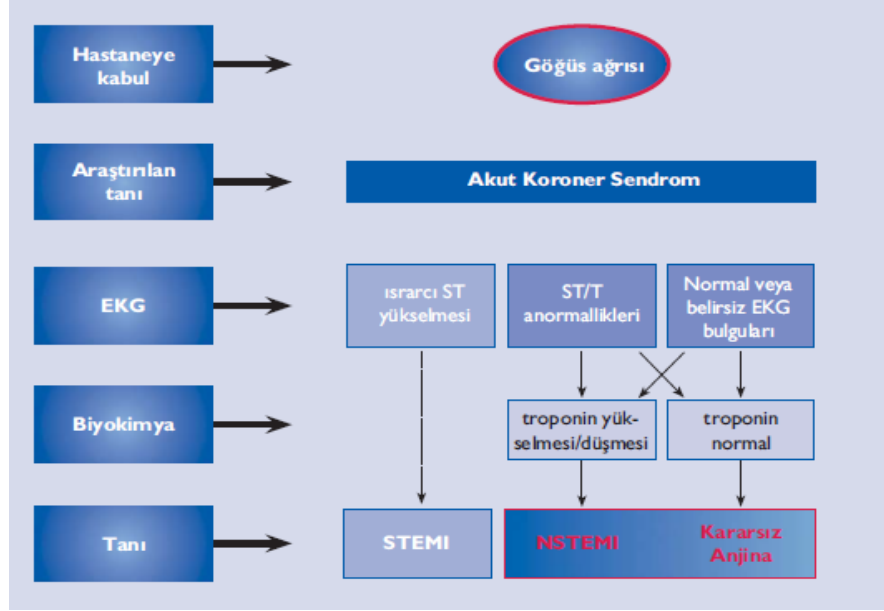
Kardiyovasküler hastalıklar sanayileşmiş ülkelerde halen önde gelen bir ölüm nedeni olup 2020 yılında da durumun değişmemesi beklenmektedir (91). Bu hastalıklar arasında koroner atardamar hastalığı (KAH) en yaygın görüleni olup yüksek ölüm ve morbidite oranlarıyla ilişkilidir. KAH'ın klinik belirtileri sessiz iskemi, kararlı anjina pektoris, kararsız anjina, miyokart enfarktüsü (ME), kalp yetersizliği ve ani ölümdür. Göğüs ağrısı olan hastalar Avrupa'da tıbbi nedenlerle acilen hastaneye yatırılanların önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Çok yaygın biçimde görülen kuşku göğüs ağrısının içinden Akut Koroner Sendrom (AKS) hastalarının ayrımı özellikle belirgin semptomları veya elektrokardiyografik belirtileri olmayanlarda tanısız açıdan zorluklar yaratır. Modern tedaviye rağmen ölüm, ME, AKS hastalarının yeniden hastaneye kabul oranları yine de yüksek düzeydedir (92).

Akut koroner sendrom farklı klinik belirtileriyle çok yaygın görülen ortak bir fizyopatolojik temeli paylaşır (Şekil-7). İşte bu fizyopatolojik mekanizmalar AKS'deki klinik durumlardan çoğunun temelini oluşturmaktadır. Bu durum aterosklerotik hastalığın yaşamı tehdit edici formunu oluşturabilmesi nedeniyle, klinisyenin bireysel hastaya göre düzenlenmiş farmakolojik tedavi ve koroner revaskularizasyon stratejilerine ilişkin zamanında karar vermesine olanak tanımak amacıyla risk sınıflandırma ölçütleri geliştirilmiştir. Zincirleme tanı ve tedavi süreçlerini başlatan öncü belirti göğüs ağrısı olmasına rağmen hastaların sınıflandırılması elektrokardiyografiye (EKG) dayanmaktadır. İki hasta kategorisine rastlanılabilmektedir (92).

1. Akut göğüs ağrısı ve ısrarcı (>20 dk) ST- segment yükselmesi olan hastalar: Bu duruma ST-yükselmeli AKS denmekte ve genellikle akut total koroner oklüzyonu yansıtmaktadır. Bu hastaların çoğunda eninde sonunda ST-yükselmeli ME (ST elevated myocard infarction, STEMI) gelişecektir

2. Akut göğüs ağrılı, ancak ısrarcı ST-segment yükselmesi olmayan hastalarda (Non-ST elevated myocard infarction, NSTEMI) daha çok ısrarcı veya geçici ST segment çökmesi veya negatif T dalgası, düz T dalgaları,

yanıltıcı normalleşmiş T dalgaları veya tamamen normal EKG bulgularıyla başvururlar.

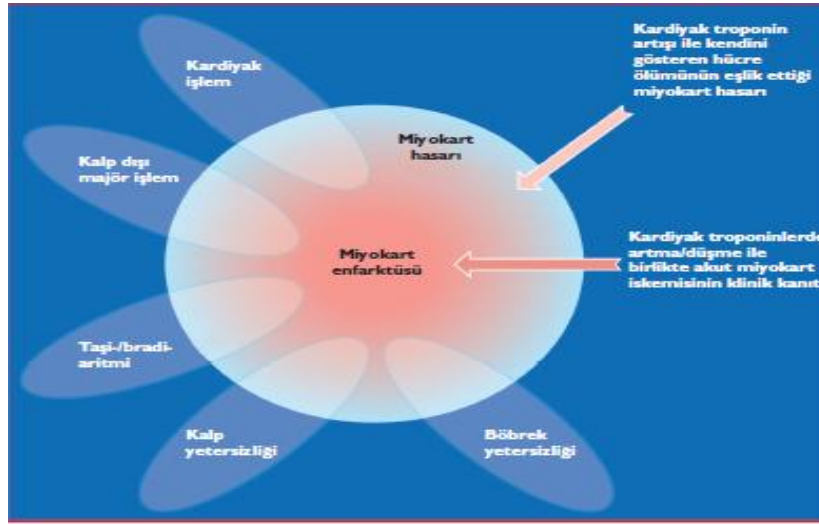


Şekil-7: AKS spektrumu (92).

Miyokart enfarktüsü, EKG bulguları, miyokart nekrozunun biyokimyasal belirteçlerinin yükselmesi ve görüntülemeyi kapsayan klinik özellikleri ile tanınabilir veya patolojik olarak tanımlanabilir. Dünya genelinde ölüm ve iş göremezliğin başlıca nedenidir. ME, KAH'ın ilk belirtisi olabilir veya bilinen hastalığı olan kişilerde tekrar ortaya çıkabilir. Dünyadaki başlıca sağlık problemlerinden birinin göstergesidir ve klinik araştırmalarda, gözlemsel çalışmalarda ve kalite güvence programlarında bir sonlanım ölçütüdür. Bu çalışma ve programlar kesin ve tutarlı bir ME tanımı gerektirmektedir (93).

Miyokart enfarktüsü, perfüzyon dengesizliği olup normal koroner arterlerde de oluşabilir. Nonaterosklerotik koroner darlık, koroner arterlerin konjenital anomalilerinde, valvüler aort stenozunda, hipertrofik kardiyomyopatide oluşabilir. Artmış oksijen ihtiyacına ikincil iskemi ise ateş, hipertiroidi ve ısrarcı taşiaritmide bulunur. Hipertansiyonda olduğu gibi azalmış koroner kan akımı ve anemi ya da hipoksemideki gibi azalmış miyokardiyal oksijen anstabil anjinayı tetikleyebilir (94).

Böbrek yetersizliği, kalp yetersizliği, taşi- ya da bradi-aritmiler, kardiyak veya kalp dışı girişimler, kardiyak troponin yükselmesi ile kendini gösteren hücre ölümü ile seyreden miyokart hasarı ile ilişkili olabilir. Ancak, bu durumlar aynı zamanda kardiyak troponinlerde artma ve/veya azalma ile birlikte akut miyokart iskemisinin klinik kanıtı olması durumunda ME ile de ilişkili olabilir (Şekil-8) (93).



Şekil-8: Miyokart hasarı ile ilişkili klinik durumlar (93).

Birinci Küresel ME Görev Grubu (The First Global MI Task Force), 2000 yılında, miyokart iskemisi sırasındaki herhangi bir nekrozun ME olarak adlandırılmasını gerektiren yeni bir ME tanımı sundu (95). Bu ilkeler, 2007 yılında, İkinci Küresel ME Görev Grubu tarafından hazırlanan ME'nin Evrensel Tanımı Uzlaşma Belgesinde ME'ye yol açabilecek farklı koşulları vurgulayacak şekilde zenginleştirildi (96). Bu belge, Avrupa Kardiyoloji Derneği (European Society of Cardiology, ESC), Amerikan Kardiyoloji Derneği Vakfı (American College of Cardiology Foundation, ACCF), Amerikan Kalp Birliği (American Heart Association, AHA) ve Dünya Kalp Federasyonu (World Heart Federation, WHF) tarafından desteklenmiş, tıp camiası tarafından kabul edilmiş ve dünya sağlık örgütü tarafından onaylanmıştır (97). Ancak, miyokart nekrozu belirteçleri için çok daha hassas testlerin gelişmesi, özellikle kritik düzeyde hasta olan, perkütan koroner girişim veya kalp cerrahisi sonrası miyokart nekrozu gelişen hastalarda, yeni

bir düzenleme gereğini de beraberinde getirmiştir. Üçüncü Küresel ME Görev Grubu, Birleşik ESC/ACCF/AHA/WHF çalışmalarını bu görüşleri ve yeni veriyi güncel belgede bütünleştirerek devam ettirmiş ve çok küçük miktarlardaki miyokart hasarı veya nekrozunun biyokimyasal belirteçler ve/veya görüntüleme ile tespit edilebileceğini vurgulanmıştır.

4.1 Epidemiyoloji ve Doğal Seyir

Hastane kayıtlarından elde edilen veriler NSTEMI'nin STEMI'dan daha sık görüldüğünü göstermektedir (98). Yıllık görülme sıklığı 1000 kişide yaklaşık 3 kişi olmasına rağmen ülkeden ülkeye değişmektedir. NSTEMI'sı olanlara göre STEMI hastalarında hastanede ölüm oranları daha yüksek (sırasıyla %3-5 ve 7) olmasına rağmen 6. aylardaki oranlar her iki hastalıkta da birbirlerine çok benzemektedir (sırasıyla %12 ve 13) (98-100). Uzun süreli izlem sonuçları STEMI ile karşılaştırıldığında NSTEMI hastalarında ölüm oranlarının daha yüksek olduğunu göstermiştir. Dördüncü yıllarda ölüm oranlarındaki farklılık 2 kata ulaşmıştır (101). Orta ve uzun dönemde bu gelişme farklı hasta profillerine bağlı olabilir. Gerçekten NSTEMI hastaları daha yaşlı, daha fazla komorbiditeli (özellikle diyabet ve böbrek yetmezliği) olma eğilimindedir.

4.2 Fizyopatoloji

Koroner aterosklerozun patogenezi multifaktöriyeldir. Kısaca, endotelial hasar ile dolaşımdaki lökositler arter intimasına göç ederek yapışır. Düz kas hücreleri de media tabakasından intima tabakasına göç ederler. Makrofajlar, lipoproteinleri yutarak lipid yüklü köpük hücrelerine dönüşerek arter duvarında toplanır. Lezyon büyüdükçe inflamatuvar mediyatörler prokoagülan faktörlerin salınmasına neden olurlar ve matriks küçültücü proteinazlar plağın fibröz başını zayıflatabilir. Fibröz baş rüptüre olunca kandaki koagülan faktörler trombojenik lipid çekirdeğe bağlanarak daha önce tıkaçıcı olmayan aterosklerotik plağın tromboza dönüşmesine neden olurlar. Böylelikle stenoz ya da distal trombüs embolizasyonu koroner arter perfüzyonu azalacaktır (102).

4.3. Tanı ve Biyobelirteçler

Akut Koroner Sendromun önde gelen semptomu tipik olarak göğüs ağrısıdır. NSTEMI'da pratik tanı yöntemi EKG'ye dayanarak (EKG'de ısrarcı ST yükselmesinin olmaması) diğer tanıların dışlanması şeklindedir. Biyolojik belirteçler (troponinler) ise NSTEMI ve kararsız anjinayı birbirlerinden daha iyi ayırt eder.

Biyokimyasal belirteçler, kardiyak troponinlerin yeniden tanımlanmasında arzulandığı gibi AKS hastalarında tanı ve yönetiminde önemli rol oynarlar. Erken tanı ile hastalar aciliyetlerine göre sınıflandırılabilir ve agresif tedavi alacak olanların belirlenmesini kolaylaştırabilir (103).

Proteinlerin ve enzimlerin boyutu ve subsellüler dağılımı miyokart hasarını takiben hangi hızda dolaşıma geçeceklerini belirlemektedir. Sitoplazmada yer alan küçük proteinler öncelikli olarak dolaşıma geçecektir. Çekirdek ve mitokondride yer alanlar ise daha geç dolaşıma geçerler. Yapısal proteinlerin salınması ise matrikste biriktikten sonra olmaktadır.

Kalp hasarında ideal bir biyobelirteç şu özellikleri taşımalıdır (103):

- Kalpte yüksek konsantrasyonda olmalı
- Kalp dışı dokularda olmamalı
- Yüksek özgüllük ve duyarlılıkta olmalı
- Kalp hasarında hızlıca kana geçmeli
- Çok uzun süre kanda kalmalı
- Kan seviyesi hasarın derecesi ile uyumlu olmalı

Yeni bir kardiyak biyobelirtecin arzulanan özellikleri şunlardır (104):

- Biyobelirteç doğru ölçüm yapabiliyor olmalı
- Doğru ve tekrar üretilebilir olmalı
- Preanalitik faktörler örneğin örnek stabilitesi ölçülmüş olmalı
- Genelde ve hasta grubunda RA oluşturulmalı
- Biyobelirteç yeni bilgiler katmalı
- AKS için yapılmış birçok çalışma verileri ile belirteç arasında güçlü ve kalıcı ilişki olmalı
- AKS ile gelen hastalarda tanı ve risk sınıflaması için bilgi katmalı
- Karar sınırları birden fazla çalışma ile doğrulanmalı

- Biyobelirteç klinisyene hasta yönetiminde yardımcı olmalı
- Var olan tanısal testlerle üstün performans elde edilmeli
- Tedavi ile düzenlenebilen risk ile ilişkili olaylar ve biyobelirteç rehberliğinde yapılan tedavi ile artan bakım sağlanmalı

Tüm bu nitelikler göz önüne alındığında günümüzde kullanılması önerilen miyokardiyal hasar belirteçlerinden en belli başlıları miyogloblin, kreatin kinaz miyokart bandı (CK-MB) ve troponinlerdir.

4.3.1. Miyogloblin

Miyogloblin (MYG), düşük molekül ağırlıklı (17.800 D) hem proteini olup kalpte ve iskelet kası sitozolünde yer alır ve bu dokuların toplam ağırlığının %2'sini oluşturmaktadır. 1897'de spektroskopik olarak keşfinden sonra MYG'nin patolojik rolünü keşfetmek için yapısal ve fonksiyonel çalışmalar yapılmıştır. Serum MYG'nin klinik kullanışı ile ilgili ilk çalışmalar 1975'te Kagen ve ark. tarafından özel bir kompleman fiksasyon tekniği kullanılarak yapılmıştır (105).

Miyogloblin, AME tanısı için uygun olan ilk belirteç olup iskemik hasarın olduğu alanlardan daha yüksek molekül ağırlıkları olan kreatinin kinaz (CK) ve CK-MB'nin aksine düşük molekül ağırlığı nedeniyle kısa sürede salınmaktadır. Göğüs ağrısı olduğunda ya da birkaç saat içinde CK, CK-MB ve troponinlerden daha duyarlıdır. Serum düzeyleri enfarktüsten sonra 2 saat içinde artmaktadır ve 6-9 saat içinde pik yapar, 24-36 saatte normale döner (106,107). Acil serviste yapılmış bir çalışmada göğüs ağrısından 2 saat sonra kan MYG seviyeleri ölçülmüş ve %100 duyarlılık gösterdiği bulunmuştur (108). MYG salınımı pulsatildir ve bu nedenle seri ölçüm gerektirebilir (109).

Genellikle bir saat içinde erkenden semptomlar tanındığında yüksek negatif prediktif değeri (%99) vardır (110). Serum MYG düzeyleri iskelet kası ve nöromusküler hastalıklar, intramusküler enjeksiyon, ağır egzersiz, ilaç ve toksinlere maruz kalma gibi AME ile alakasız durumlarda da artmaktadır (111). Böylelikle MYG, AME için duyarlı ancak hem kalp kasında, hem de iskelet kasında yer aldığından AME'ye özgül olmayan bir belirteçtir. Aynı zamanda MYG düzeyleri için 50 ile 120 µg/mL arası değişen RA bildirilmiştir.

Ancak bu varyasyonlarla MYG testinin duyarlılık ve özgüllükleri değişmektedir (108,111). MYG testinin özgüllüğü karbonik anhidraz 3 gibi iskelet kasında bulunup kalp kasında çok az bulunan belirteçler eklenerek artırılabilir (112).

Kalp hücre hasarından kısa bir süre sonra dolaşıma salınması ve kısa yarı ömrü nedeni ile çabucak azalması bu proteini trombolitik tedavinin etkinliğini değerlendirmek için uygun hale getirmektedir. Başarılı bir trombolizisi takiben MYG artışı toplam CK'dan daha hızlıdır. Sonradan oluşabilecek küçük MYG artışı, enfarktüsle ilişkili damarlarda yeniden tıkanma sonucu ST segmentinin yeniden yükselmesi sonucu olabilir (113).

Önceden de belirtildiği gibi MYG, CK ve CK-MB gibi geleneksel belirteçlerden daha iyi negatif prediktif değeri olan sloba sahiptir ve eğri altında kalan alan daha fazladır. Eskiden çok çeşitli zaman alıcı ve özel gereçler gerektiren immunolojik yöntemler (radioimmünoassay, lateks aglütinasyon ve çift yönlü immünoassay) ile ölçüm yapılmıştır (114-116). Tablo-18'de görüldüğü gibi bazılarının 3-4 saatte sonuçlanması acilde kullanımlarını kısıtlamaktadır. Ancak yeni geliştirilmiş ölçümlerle MYG testinin sonuçlanma süresi daha hızlı (20 dakikadan az) ve analitik performansları daha iyi bulunmuştur (114-122).

Tablo-18: Miyogloblin ölçüm yöntemleri.

Yöntem	Sonuçlanma Süresi	Referans
Radyoimmünoassay	2 sa	114
Kemiluminesan immünoassay	4 sa	115
Enzim immünoassay	3 sa	116
Lateks aglütinasyon	5 dak.	117
Nefelometrik	12 dak.	118
Turbidometrik immünoassay	2 dak.	119
Flurometrik enzim immünoassay	10 dak.	120
Flurometrik radyal partiyon enzim immünoassay	8 dak.	121
İndirekt kemilüminesan	15 dak.	122

Bugün için hızlı ve doğru testlere ulaşılabilir olması acil şartlarda AME yönetiminde erken tanı için klinik önemini artırmıştır. Ancak MYG'nin BV'si ile ilgili bilgiler çok az bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada CV_I ile cinsiyetler arasında fark bulunmamıştır. Aynı çalışmada toplum temelli RA'nın kullanılabileceği ancak RA içinde yer alan bazı bireyler için uygun olmayacağı vurgulanmıştır (123). Başka bir çalışmada ise MYG ölçümünün yüksek bireysellik gösterdiği ve bu nedenle toplum temelli RA'nın kullanılmasının şüpheli olduğu bildirilmiştir (124). Sağlıklı yaşlılar ve gençlerle yapılan başka bir çalışmada ise MYG ölçümünün yaşla varyasyon göstermediği bulunmuştur (125). Westgard'ın web sitesinde yer alan MYG için BV verileri aşağıdaki gibidir (56):

Matriks	CV _I (%)	CV _G (%)	I (%)	B (%)	TE(%)
Serum	13.9	29.6	7.0	8.2	19.6

4.3.2. Kreatinin Kinaz ve Miyokart Bandı (CK-MB)

Kreatinin kinaz, her biri 40 kD olan iki alt üniteden oluşan dimerik bir enzimdir. CK, iskelet ve kalp kasını da içeren birçok dokuda yer alır ve dört izoformu vardır, MM (kas tipi), MB (miyokart tipi), BB (beyin tipi). Farklı yapıdaki dördüncü izoformu ise 64 kD ağırlığında olup mitokondriyal yerleşim gösterir ve dolaşıma salındığında 250 kD'luk makro CK II (MCK-II) olarak adlandırılan oligomerler oluşturur (126).

CK-MB kalpte yüksek düzeylerde bulunur (yaklaşık toplam kalp CK'sının %20'si). İskelet kasında toplam kas CK'sının %98'i olmak üzere çoğunlukla CK-MM ve %2 CK-MB yer alır. Sağlıklı iskelet kasında CK-MB yaklaşık %5 oranında bulunur, ancak CK-MB aktivitesi bazı fizyolojik koşullar (ağır egzersiz, maraton koşucuları), hastalıklar (genetik hastalıklar /myopatiler) ve neoplazilerde artmaktadır. Bunların yanı sıra CK-MB toplam myokarttaki CK'nın %20'sini oluştursa da, CK-MM'nin kalp dokusunda CK izoenzimlerinden en sık rastlanılanı olduğu akılda tutulmalıdır (127,128).

Miyokardiyal hasarı takiben, CK-MB'nin yükselmesi göğüs ağrısının oluşmasından sonra 4-9 saat içerisinde başlar, 24 saatte pik yapar ve 48-72 saatte geri döner. ME tanısı için diğer belirteçlerden bir avantajı da hızlı artışı

ve erken düşüşü ile seri halde ölçümler ile re-enfarktüsü göstermesidir (127). Gibler ve ark. ME açısından düşük riskli hastalarda (EKG ile tanı konamayan) göğüs ağrısı başladığında ve sonrasında 3., 6. ve 9. saat seri ölçümler yapmışlar ve CK-MB'nin %100 duyarlılık ve %98 özgüllük gösterdiğini bulmuşlar (129). CK-MB ölçümü aynı zamanda trombolitik tedavi sonrası reperfüzyonun etkinliğini non-invaziv olarak tespit etmede yardımcı olur (130).

CK-MB ölçümünde aktivite ve kütle ölçümü olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmaktadır. Rutin laboratuvarlarda CK-MB aktivite ölçümünde halen yaygın kullanılan immünoinhibisyon-kinetik yöntemin miyokardiyal nekrozu olmayan, sağlıklı kişilerde de RA'nın üzerinde sonuç vermesi testin özgüllüğünü azaltırken, klinisyeni yanlış yönlendirebilmektedir (131). İmmünoinhibisyon-kinetik yöntemle CK-MB aktivite ölçümünde serum CK-BB düzeyleri ihmal edilerek (normalde serumda <5 U/L) sadece CK-M alt ünitesinin özel olarak inhibe edildiği yöntemler kullanılmaktadır. Böylelikle bu ölçüm, M alt ünitesinin inhibisyonu ile B aktivitesinin ölçümünün değerlendirilmesine dayandığı için özellikle beyin ve mide-barsak sistemi malignitelerinde artan B aktivitesinden dolayı CK-MB aktivitesinin yanlış yüksekliğine sebep olmaktadır. Makro CK vakalarında inhibisyonun olmaması ve CK-BB artışında ise ihmal edilen kısmının artışına bağlı olarak yalancı yüksek CK-MB aktivitesi sonuçlarıyla karşılaşılabilmektedir (132, 133).

Klinik laboratuvarlarda karşılaşılan yalancı yüksek CK-MB aktivite değerine neden olduğu iyi bilinen diğer bir faktör hemolizdir. Hemoglobinin düzeyi 20 mg/dL'nin üzerine çıktığında hemoliz görsel olarak algılanabilmektedir (134). Eritrositler CK içermemesine rağmen CK ve CK-MB aktivite ölçümü hemolizden önemli ölçüde artış yönünde etkilenmektedir. Hemolizin bu etkisinin iki nedeni vardır: Birincisi adenilat kinaz ve glukoz 6 fosfat dehidrogenaz enzimlerinin eritrositlerden seruma salınımının immünoinhibisyon sürecinde ara ürün olan ATP'nin artışına neden olmasıdır. ATP ve Glukoz 6 fosfat da CK ve CK-MB aktivite ölçüm reaksiyonlarında substrat olarak rol oynar ve yüksek seviyedeki substrat yanlış yüksek

sonuçlara neden olur (135). İkincisi ise; hemolizin görünür spektrumunun kısa dalga boyunda (300-500 nm) absorpsiyonunu artırmasıdır (134). Ancak son yıllarda kullanıma giren otoanalizörler iki dalga boyunda okuma yaptığı için bu etkiyi önleyebilmektedir.

Miyokardiyal ve iskelet kası hasarını takiben hem CK, hem de CK-MB artmaktadır. CK-MB'nin kalbe olan özgüllüğünü artırmanın bir yolu da dolaşan CK katalitik aktivitesinin %'si olarak ifade edilmesidir. Toplam CK enzim aktivitesi olarak litre başına enzim ünitesi olarak ölçülmektedir. Eski elektroforetik ölçümlerde CK-MB izoenzimi de litre başına enzim ünitesi olarak ölçülmektedir. Böylelikle CK-MB % olarak hesaplanabilmektedir. Birçok laboratuvar da CK-MB'nin toplamın %5'inin üzerinde olması AME için tanı koydurucudur (127) .

Diğer bir yol kütle düzeyinin ölçülmesidir. CK-MB kütle ölçülmesi orta düzeyde hemoliz, makro CK formları ve CK-BB izoenzim artışına neden olan yukarıda adı geçen faktörlerden etkilenmediğinden bu faktörlerden kaynaklanan yalancı pozitiflikler oluşmamaktadır (136,137). Kütle ölçümleri aktivite ölçümlerinden daha duyarlı olup serum anormalliklerini daha erken belirleyebilmektedir (138). Problem yeni CK-MB immunoassayleri ile CK-MB'nin kütle ünitesi (ng/mL) ile ölçülmesidir. Kütle ölçümü kullanılarak, CK-MB'yi total CK'nin %'si olarak hesaplamak birimler arasında uygunsuzluk yaratmaktadır (ng/mL-U/L). Bu teorik uygunsuzluk için birçok laboratuvar birimlerdeki uygunsuzluğu göz ardı edip yine de hesaplama yapabilmek için rölatif indeks (Relative Indeks, RI) belirlemişlerdir. RI gerçek bir oran değildir ve genellikle elektroforetik metotlardaki eski cut-off değerlerinden farklılık gösterir. CK-MB için RI aşağıdaki gibi hesaplanır (127):

$$\text{CK-MB RI} = \frac{\text{CK-MB (ng/mL)}}{\text{Toplam CK (U/L)}} \times 100$$

Rölatif indeks hem CK, hem de CK-MB arttığında kullanışlıdır. Oranın 3'ün altında olması iskelet kası kaynağını göstermektedir. Oranın 5'ten büyük olması kalp kaynaklı olduğunun belirleyicisidir. 3 ile 5 arasındaki değerler gri zonda yer alır. Seri ölçümlerde artış olmadıkça kesin tanı konamaz (139).

Plazma CK-MB aktivitesi, Q dalgasız ME'de Q dalgalı ME'den daha erken zirve yapar. CK-MB molekülü bir dimer olarak bulunur ve hızla en az iki forma dönüşür: CK-MB1 ve CK-MB2. Normalde plazmada iki izoform eşit miktarda bulunurlar (oran=1). Çeşitli araştırmacılar CK-MB1/CK-MB2 oranını AME erken tanısında etkinliğini analiz etmişlerdir. Puelo ve arkadaşları CK-MB2'nin 1 U/L'den büyük olması veya CK-MB2 / CK-MB1'in >1.5 olması halinde ilk 4 saatte %46.4'lük, ilk 6 saatte %91.5'lik duyarlılıkla AME teşhisi konulabileceğini göstermişlerdir (140).

Miyoglobinde olduğu gibi CK-MB ile ilgili BV çalışmalarına nadir rastlanmaktadır. Yapılan bir çalışmada CK-MB ölçümünün yüksek bireysellik gösterdiği ve toplum temelli RA'nın kullanılmasında şüphe yaratacağı gösterilmiştir (124). Winter ve ark. yapmış oldukları çalışmada CK-MB kütle için kritik farkı %45.7 olarak bulmuşlar (141) ve Costong ve ark. ise benzer şekilde %40.1 olarak bildirmişlerdir (142). CK-MB aktivite, % ve kütle ölçümleri için BV verileri Westgard'ın web sitesinde aşağıdaki gibidir (56).

Matriks	Analit	CV _I (%)	CV _G (%)	I (%)	B (%)	TE (%)
Serum	CK-MB %	6.90	48.20	3.50	10.80	16.50
Serum	CK-MB aktivite	19.70	24.30	9.90	7.80	24.10
Serum	CK-MB kütle	18.40	61.20	9.20	14.88	30.06

4.3.3. Troponinler

Troponin (Tn) kompleksi üç farklı yapısal protein içerir ve düz kas kasılmasında kalsiyum duyarlı moleküler kilit olarak rol alır. Tn'nin üç anahtar alt ünitesi TnC, TnI ve TnT'dir. TnC hücre içi kalsiyumu bağlar. Bu kalsiyum-bağlı sinyal kasın ince filamanına diğer iki Tn alt ünitesi ile aktarılır ve kasılmayı uyarır (143).

Troponin C, 18-kD, kalsiyum bağlayıcı alt ünite

Troponin I, 23-kD, inhibitör alt ünite

Troponin T, 35-kD, tropomyozin bağlayıcı alt ünite

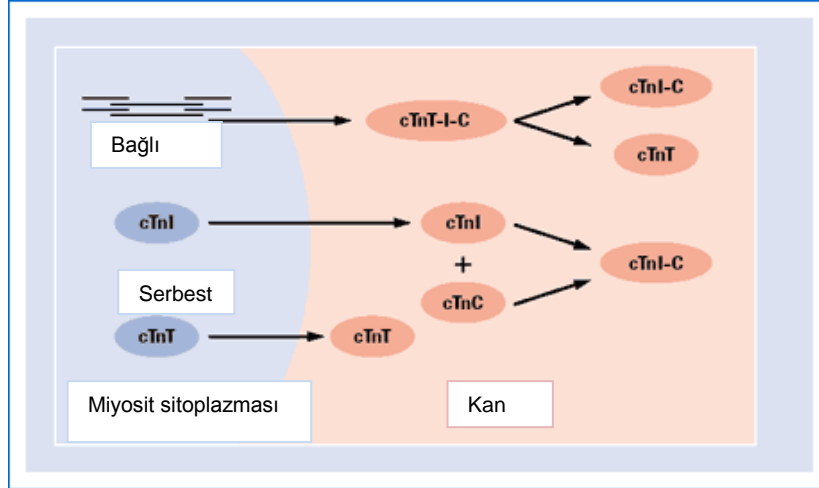
İskelet ve kalp kası TnC izoformunu kodlayan gen aynıdır. Dolayısıyla aralarında herhangi bir yapısal fark bulunmamaktadır. TnT ve TnI

iskelet kası ve kalp kasında farklı genler tarafından kodlandıkları için farklı aminoasit dizilimine sahiptirler (139). Kalbe özgü TnI ve TnT miyokartta açığa çıkmakta, bu izoformlar kardiyak TnI (cTnI) ve kardiyak TnT (cTnT) olarak anılırlar. Hem cTnI, hem de cTnT miyosit içinde küçük sitozolik kutup içerecek şekilde (%4-6) iki kompartmanda dağılmış halde bulunurlar. Kalan Tn'nin çoğu kontraktıl aparatıta yer almaktadır (127). Sitozolik havuzda bulunan cTn miktarı CK-MB izoenziminin miktarı ile aynıdır. Ancak, kontraktıl aparatısta da önemli miktarda cTn bulunması nedeniyle, miyokardıın gramı başına cTn miktarı CK-MB miktarınının 13-15 katıdır. Bu durum, erken dönemde cTn duyarlılığının CK-MB'den daha fazla olmasını ve 1 gram altındaki miyokart doku hasarında (iskemi, enfarkt, travma, toksik hasar veya inflamasyon nedeniyle), periferik kanda CK-MB düzeyleri normalken dahi cTn'nin neden yüksek bulunduğunu açıklamaktadır (144,145).

Miyokart hasarını izleyen dönemde serbest sitozolik havuzda bulunan Tn'ler plazmaya salıverilir. Bu birinci havuz cTnT'nin %6-8 ve cTnI'nin %3-4 kadarını bulundurur (146). CnT'nin sitoplazmik komponentin cTnI'ya göre fazla olması özellikle erken dönemde duyarlılık bakımından cTnT'ye üstünlük kazandırırken, renal yetmezlik, rabdomyoliz, polimyozit ve muskuler distrofi gibi nonkardiyak hadiselerde de yükselmesi cTnI'ya göre özgüllük bakımından kullanım gücünü azaltmaktadır. Sitozoldeki kısım miktar olarak az olduğu için erken dönemde plazmaya geçen miktar da azdır. Buna karşılık kontraktıl yapıya yapışık durumda bulunan ikinci havuz, çok daha fazla miktarda Tn bulundurur ve bu Tn'i çok daha yavaş olarak plazmaya bırakır. Bu ikinci havuz nedeniyle, kardiyak hasar oluşmasından sonra Tn düzeyleri uzun süre yüksek kalır (147). Troponinlerin dolaşıma nasıl geçtiği net değildir. Ancak bazı olasılıklar vardır (148):

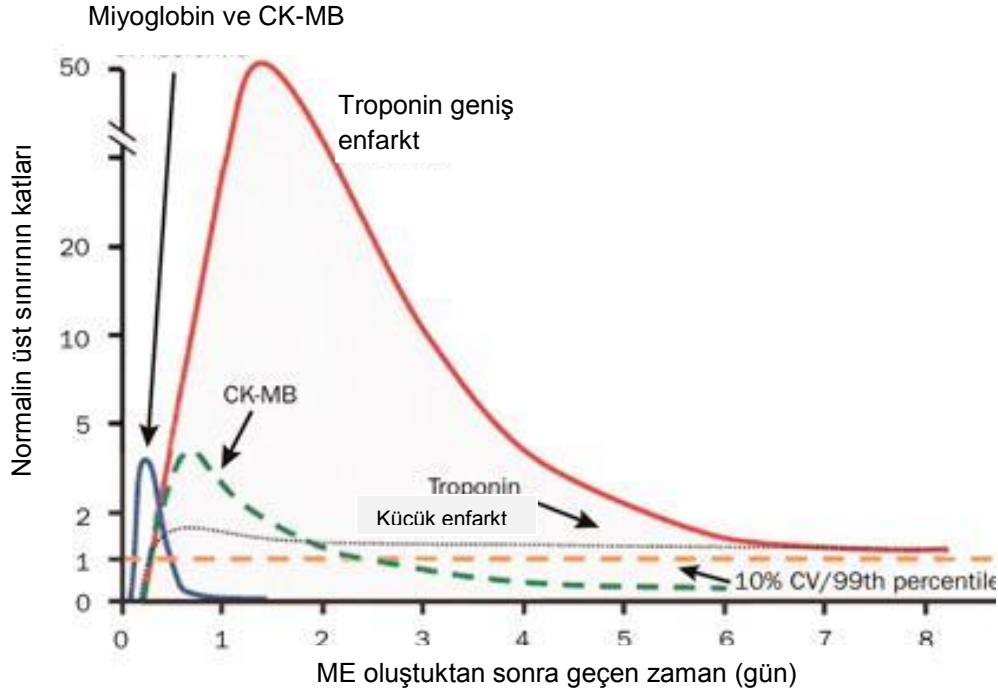
- Miyokart hücrelerinin normal döngüsü
- Apoptoz
- cTn yıkım ürünlerinin hücresel artışı
- Artmış hücre duvarı geçirgenliği
- Membran bleblerinin oluşumu ve serbest kalması
- Nekroz

Günümüzde, Tn'nin dolaşımda değişen oranlarda serbest, ikili (cTnI-C), üçlü kompleksler (cTnT-I-C) ya da proteolitik fragmanlar halinde buldukları kabul edilmektedir. cTnI'nın büyük bir bölümü cTnT-I-C veya cTnI-C kompleksi halinde açığa çıkmaktadır (Şekil-9) (149).



Şekil-9: Troponinlerin dolaşıma geçişleri (149).

Her ikisi de AME'den sonra serumda 4 ile 9 saat sonra artmakta; 12-24 saatte pik yapıp, kontraktıl bileşenlerde proteoliz nedeniyle 2 hafta kadar yüksek düzeyde kalabilir. NSTEMI'de küçük çaplı Tn yükselmeleri genellikle 48-72 saat içinde kaybolmaktadır. En uygun test stratejisi TnI ve TnT için bazal, 8. ve 16. saatte ölçüm almaktır (Şekil-10) (150,151).



Şekil-10: Troponinin geniş tanısal penceresi (150).

Troponin, CK-MB gibi erken belirteçlere göre birçok avantaj sunmakta ve ideal biyobelirtecini birçok özelliğini içermektedir (Tablo-19) (152). 2000 yılında ESC/ACC tarafından AME tanısında, ACC/AHA tarafından ise anstabil anjina pectoris tanısı ve takibinde standart belirteç olarak kabul edilmişlerdir (153). Anstabil anjina ve NSTME yönetiminde Tn'nin rolü iyice tanımlanmış, 2002 yılında ACC/AHA birleşik komitesince tedavi kılavuzu güncellenmiştir (154). 2007'de ACC/AHA kılavuzu da kardiyak hasarın potansiyel belirteci olarak Tn ve CK-MB'i göstermektedir (155). 2013 yılında güncellenen Üçüncü Evrensel ME Sınıflama Grubu'na göre de yüksek özgüllüğü ve duyarlılığı nedeniyle tercih edilen belirteç cTn (I veya T)'dir (Tablo 19) (93).

Tablo-19: Kardiyak belirteçlerin etkinliğinin karşılaştırılması.

Belirteç	Duyarlılık (%)	Özgüllük(%)
Toplam CK	73.5	84.6
CK-MB	88.2	93.2
TnI	100	96.3

Yine Üçüncü Evrensel ME Sınıflama grubunun kılavuzuna göre, ME için yükselmiş cTn konsantrasyonu normal referans toplumun 99. persantilini (üst referans sınırı, ÜRS) aşan değer olarak tanımlanmış ve aşağıda belirtilen kriterlere uygun olması vurgulanmıştır:

- Ayırt ettirici 99. persantil, ME tanısı için karar verdirici değer olarak belirlenir ve her laboratuvarda her özel kit için uygun kalite kontrolleri ile saptanmalıdır.
- Tam sayılarla ifade edilebilmesi için, değerler litre başına nanogram (ng/L) veya mililitre başına pikogram (pg/mL) olarak sunulmalıdır.
- En uygun doğruluk, her kitte 99. persentil ÜRS'nin CV'si olarak belirlenir ve $\leq 10\%$ olarak tanımlanmalıdır.

Tablo 20'de çeşitli firmalara ait ticari kitlerin cTn ölçümlerindeki 99.persentil ve %10 CV konsantrasyon değerleri görülmektedir (156). Bu değerler aynı firmadaki farklı kitlerde dahi ölçüm yöntemine göre değişmektedir

Tablo-20: Ticari cTn ölçümlerinin analitik karakteristikleri.

Firma	99.persentil $\mu\text{g/L}$	%10 CV konsantrasyonu $\mu\text{g/L}$
Abbott AxSYM ADV	0.04	0.16
Abbott Architect	0.028	0.032
Abbott i-STAT	0.08	0.1
Beckman Access Accu	0.04	0.06
bioMerieux Vidas Ultra	0.01	0.11
Innotrac Aio!	0.025	0.06
Inverness Biosite Triage	<0.05	
Inverness Biosite Triage (r)	0.056	
Mitsubishi PATHFAST	0.029	0.014
Ortho-Clinical Diagnostics Vitros ECI ES	0.034	0.034
Radiometer AQT90	0.023	0.039
Response Biomedical RAMP	<0.1	0.21
Roche Elecsys 2010	<0.01	0.03
Siemens Centaur Ultra	0.04	0.03
Siemens Dimension RxL	0.07	0.14
Siemens Immulite 2500 STAT	0.2	0.42
Siemens Stratus CS	0.07	0.06
Siemens VISTA	0.045	0.04
Tosoh AIA II	<0.06	0.09
Beckman Access hs-cTnI	0.0086	0.0086
Roche Elecsys hs-cTnT	0.013	0.012
Nanosphere hs-cTnI	0.0028	0.0005
Singulex hs-cTnI	0.0101	0.00088

Troponinin yüksek kalma süresi ile enfarktüsün yaygınlığı, tipi veya tedaviye olan yanıt arasında bir ilişki gösterilememiştir. Trombolitik tedavi ile reperfüzyon sonrası cTnT ve cTnI'nın zirve değerlerine tıpkı CK-MB gibi daha erken ulaştığı bilinmekte ise de yüksek kalış süresinin reperfüzyon ile bağlantısı yoktur (147).

CK-MB'den farklı olarak kardiyak hasar olmadığında plazmada kardiyak Tn'nin hiç bulunmaması gerekir. Bu nedenle plazmada saptanan tüm değerler, analitik nedenler dışında patolojik kabul edilmelidir. ACC/AHA risk belirleme ölçütlerine göre cTnT'nin 0.01-0.1 ng/mL arasında olması bile prognostik açıdan orta riski, 0.1 ng/mL'nin üzerinde olması ise yüksek riski belirlemektedir. cTnI için ise 0.1-1.5 ng/mL orta, 1.5 ng/mL'nin üstü ise, yüksek risk olarak kabul edilmektedir (156). Ancak, cTn'lerin KAH dışı miyokart hasarı yapan durumlarda da yükselebileceği ve YP sonuçlara yol açabileceği göz ardı edilmemelidir.

Akut koroner sendrom dışında, Tn yüksekliği ile seyreden klinik durumlar (157):

- Kalp yetersizliği (akut ve kronik)
- Aort diseksiyonu, aort kapak hastalıkları veya hipertrofik kardiyomiyopati
- Kardiyak kontüzyon, kardiyoversiyon, ablasyon, pacing, endomiyokardiyal biyopsi
- Miyokardit ve perikardit gibi inflamatuvar hastalıklar
- Taşiaritmi ve bradikardiler
- Pulmoner embolizm veya ciddi pulmoner hastalık
- Hipotiroidizm
- Takatsubo sendromu
- Akut nörolojik olaylar (inme ve kanama, vb.)
- Kronik veya akut renal yetersizlik
- İnfiltratif hastalıklar (hemokromatozis, amiloidozis, vb.)
- İlaç toksisitesi (adriamisin, 5-florourasil, yılan zehiri, vb.)
- Rabdomiyoliz
- Vücudun %30'undan fazlasını kapsayan yanık

Troponin I ve Troponin T iskelet ve kalp alt formları farklı olduğundan, immünoassayler çarpaz reaksiyon vermeden birbirlerinden ayrılması için tasarlanmıştır. TnT ile TnI ölçümleri arasında önemli bir farklılık yoktur. Çalışma sonuçlarındaki farklılıklar değişik çalışmaya katılma kriterleri, örneklem kalıplarındaki değişkenlikler, farklı tanısal sınır değerleri olan analizlerin kullanılmasıyla açıklanmaktadır (139).

Troponin ölçümlerinin ilk tanımlanması Cummins ve ark. tarafından cTnI'ya karşı poliklonal antikor kullanılarak yapılmıştır (158). cTnI ve cTnT'ye karşı monoklonal antikor kullanılması birkaç yıl sonra gösterilmiştir (159). Ölçümler daha sonra otomatize edilmiştir. Orjinal ticari cTnT ölçümü iskelet kası ile bazı çarpaz reaksiyonlar vermekteydi. Daha sonraki ölçümler daha çok kalbe özgüdü (160).

Troponin T ölçümleri tek bir ticari firma (Roche Diagnostics) tarafından sunulmaktadır. Çünkü patenti bu firma tarafından korunmaktadır. cTnT için geliştirilmiş olan üç farklı kantitatif ve iki farklı kalitatif yöntem mevcuttur (161). Kantitatif yöntemler aracılığı ile bugün kalp kası hasarının saptanabilme eşiği 0.50 µg/L'den 0.06 µg/L'ye kadar indirilmiştir. Ancak en çok kabul edilen eşik değeri 0.1 µg/L'dir. Yöntemlerin tümünde, üretici firmanın aynı olması nedeni ile aynı kalibratör ve benzer antikorlar kullanılmakta, yöntem standardizasyonunda bir sorun ile karşılaşılmamaktadır (162).

Troponin I tayini için geliştirilmiş olan 10'un üzerinde kantitatif ve dörtten fazla kalitatif yöntem mevcuttur. Troponin I analizini etkileyebilecek temel faktörler şu şekilde sıralanmaktadır (162):

1- Troponin I'nin büyük bir bölümü cTnT-I-C veya cTnI-C kompleksi halinde açığa çıkmaktadır. Seçilen antikorlar, cTnT-I-C ve cTnI-C komplekslerine ya da serbest cTnI'ya farklı oranlarda bağlanabileceğinden, bu durum yöntemin duyarlılığını etkilemektedir.

2- Hasarlı kalp kasında cTnI'nın fosforilasyonu bozulmakta ve buna bağlı olarak şekilsel bir değişiklik görülmektedir. Bu değişikliğin, cTnI'ya spesifik olan aminoterminal uçta antikor bağlanışını etkileyip etkilemediği ise bilinmemektedir.

3- Troponin I düzeyleri proteinin okside ya da redükte formda bulunuşuna bağılı olarak da değişkenlik gösterebilmektedir. cTnI hasarlı dokudan redükte formda açığa çıksa bile, hava ile teması sonucunda beş saat içinde okside olabilmektedir.

4- Troponin I'nın bir bölümü insitu yıkıma uğramakta ve bu durum antikor bağlanma bölgelerini etkileyerek plazmadaki protein düzeylerini değiştirebilmektedir.

Troponin I tayin yöntemleri ile ilgili olarak bir standardizasyon komitesi kurulmuş olup, bu komitenin amacı cTnI için uluslararası referans materyalleri belirlemek ve yöntemler arası farklılıkları ortadan kaldırmaktır. SRM 2921 standart referans maddesinin geliştirilmesi cTnI ölçümleri arasındaki farklılıkları azaltmıştır (163). Ancak ortak bir kalibratör kullanılması, plazmada çeşitli formlarda bulunabilen cTnI için farklı antikorların kullanımından kaynaklanan sorunlara çözüm getirmeyecektir. Kesin çözüm, cTnI analizinde serbest ve kompleks halindeki cTnI'yı eşit derecede tanıyabilecek bir antikor geliştirilmesidir (164).

Troponin T ve Troponin I ölçümlerinin birçok jenerasyonu geliştirilmiştir. AME ile gelen hastalarda ilk jenerasyon cTnT ölçümleri CK-MB kütle ölçümleri ile aynı tanısal duyarlılığa sahiptir ve CK-MB enzim aktivite ölçümlerine göre daha iyi tanısal etkinlik gösterir (165). Yakın zamanda kullanıma sunulmuş yüksek veya çok yüksek duyarlıklı analizlerin alt ölçüm sınırları 10-100 kat daha aşağı çekilmiştir. Bu nedenle son zamanlarda göğüs ağrısı olan kişilerde ME tanısı daha sık ve daha erken dönemde konabilmektedir. Prospektif çalışmalar bu yeni analizlerin özellikle ağrının ortaya çıkışından sonraki erken dönemdeki üstünlüğünü göstermiştir. Hasta kabulde tek bir testin ME tanısı için negatif öngördürü değeri %95'ten yüksektir ve bu oran seri ölçümlerle ancak sağlabilecek kadar yüksektir. Sadece çok erken dönemdeki hastalar gözden kaçabilmektedir. Hasta başvurusundan sonraki 3 saat içinde yapılan ikinci bir testle ME için testin duyarlılığı% 100'e ulaşmaktadır (166).

ST yükselmesi olmayan myokart enfarktüsü tanısını hızla koyup uygun tedaviyi belirlemek son derece önemlidir. Hasta başı testler biyolojik

belirteç sonuçlarının en kısa sürede alınmasına olanak tanır (167). Eğer merkez laboratuvar 60 dakika içinde test sonuçlarını veremiyorsa hasta başı Tn testi yapılmalıdır (168). Bu analizlerin sonuçlarını okumak için herhangi bir özel beceri veya uzun süreli eğitim gerekmemektedir. Bu testler sağlık ekibinin değişik üyeleri tarafından yeterli eğitim sonrası uygulanabilmektedir. Ancak çoğunlukla kalitatif olan bu testler gözle okunmakta olduğu için gözlemciye bağımlı testlerdir. Acil servislerde sayısal değerler veren optik okuyucular da vardır. Bu testlerin pozitif sonuçlarına genellikle güvenilmektedir, ancak kararsız KAH'dan kuşkulandığında negatif sonuçlu testlerin daha sonra tekrarlanması ve konunun uzmanı bir laboratuvarda doğrulanması gerekir. Yakın zamanda düşük riskli grubu tanımlama açısından hasta başı biyolojik belirteç testi, bir risk skoru ve EKG'yi kapsayan hızlı bir dışlama protokolünün (2 saat içinde) güvenilir olduğu gösterilmiştir (169).

Akut ve kronik miyokart hasarının ayrımı için başlangıç değere göre oluşan değişikliğin boyutu daha fazla önem kazanmaktadır. Başlangıca göre düzeylerde oluşan değişikliğin önemi halen tartışma konusudur. Özellikle sınırdaki düzeylerde değişiklik, doğal BV'den daha yüksek değerde olmalı ve her bir ölçüm için bu değer tanımlanmalıdır. Kısa dönem cTnI için BV verileri birçok araştırmacı tarafından farklı marka kitler kullanılarak bildirilmiştir. Bu çalışmalardan birinde cTnI için BI 0.08-0.46 arasında bulunmuştur (170-172). Bu veri ile tek bir sonucun topluma dayalı RA ile kıyaslanarak kullanılamayacağı, bu belirtecin kullanılması için seri ölçümlerin yapılması gerektiğini göstermiştir. Ancak bu veri AME'yi yeniden tanımlayan kılavuzlarda yer alan sağlıklı toplumun %99. persantil sınırına uygun değildir. cTnT BI değerini Vasile ve ark. 0.84 olarak bulmuşlardır (173). Yüksek BI değerleri cTnT için topluma dayalı RA'nın kullanılabileceğini göstermektedir. Hasarlı miyositlerden her ikisinin de aynı zamanda salınmasına rağmen bu iki proteinin BV'lerinin neden farklı olduğu açık değildir. Belki de sağlıklı kişilerde salınma mekanizmaları farklı olup, BV verileri uygun olmayabilir. Nordenskjold ve ark. stabil KAH'ı olan hastalarda kısa dönem CVI ölçerek bu uygunsuzluğu aydınlatmışlardır (174). cTnT ile cTnI arasında BV

değerlerinde (sırasıyla 0.12 ve 0.08) fark olmadığına karar vermişler ve sağlıklı bireylerde yapılan cTnI için sonuçların doğru olduğunu göstermişlerdir. Westgard'ın web sitesinde yer alan Tn'ler için BV bileşenlerine ait sonuçlar aşağıdaki gibidir (56).

Matriks	Analit	CV _I (%)	CV _G (%)	I (%)	B (%)	TE(%)
Plazma	TnI	37.1	179.2	18.55	45.75	76.36
Serum	TnI	14.05	63.75	7.03	16.32	27.91
Serum	TnT	30.5	90.0	15.3	23.7	48.9

Çalışmamızda AKS erken tanısında kullanılması önerilen TnI, MYG ve CK-MB'e ait orta dönem (hafta-hafta) BV verilerini oluşturmayı ve bu verilerden yola çıkarak RDD, BI ve analitik kalite özelliklerini hesaplamayı amaçladık. Bildiğimiz kadarıyla Türk toplumunda bu konuda yapılmış bir çalışma ve elde edilmiş veri henüz yoktur.

GEREÇ VE YÖNTEM

1. Çalışma Grubu

Sağlıklı bireylerde CK-MB, Troponin I ve Miyoglobin düzeylerinin biyolojik varyasyonlarının saptanması' adlı çalışmamız Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 26.02.2013 tarihli 2013-4/12 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Bu çalışma için 22-55 yaş aralığında, 01.03.2013-31.03.2013 tarihleri arasında laboratuvara kan vermeye gelen hastaların yakınlarından çalışma hakkında bilgilendirilenlerden, herhangi bir sistemik hastalığı, enfeksiyonu olmayan, ilaç kullanmayan ve çalışmaya katılmayı kabul etmiş 10 kadın ve 10 erkek sağlıklı gönüllü birey seçilmiştir. Çalışmaya katılan kadınlardan birine ait serum örneğinde gözle görülür hemoliz olması nedeniyle çalışma dışı bırakılmıştır ve çalışmaya katılan sağlıklı kadın birey sayısı 9 olmuştur.

2. Örnek Toplanması

Diürnal değişimi azaltmak ve standardizasyonu sağlamak için çalışma grubu bireylerinden, 12-14 saat açlık sonrası sabah 08.30-10.00 saatleri arasında 0., 7., 14. ve 21. günlerde vakumlu antikoagülsüz 1 adet kuru tüpe (Becton Dickinson: BD) kan örneği alınmıştır. Alınan kan örnekleri 20-30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2000 g'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve ayrılan serumlar -80°C'de saklanmıştır.

4. Araç ve Gereçler

1. Santrifüj, "Eppendorf Santrifuge 5702" (ABD)
2. Karıştırıcı (vorteks), "Electromag Speed M16" (Almanya)
3. Derin dondurucu (-80°C), "Sanyo" (Japonya)
4. Buzdolabı, "Arçelik" (Türkiye)
5. Otoanalizör "Architect i1000" (ABD)
6. Kuru Tüp "Becton Dickinson: BD" (ABD)

4. Reaktifler

Çalışmamızda i-Stat Troponin I, i-Stat Miyoglobin, i-Stat CK-MB Abbott marka reaktif kitleri (ABD) kullanılmıştır. Her bir test, ayrı ayrı olmak üzere aşağıdaki reaktifleri içermektedirler:

1. Mikropartikül: Anti-troponin I (fare, monoklonal), antimiyoglobin (fare, monoklonal) ve anti CK-MB (fare, monoklonal) kaplı mikropartiküller protein stabilizör (sığır) ile TRIS tamponunda yer almaktadır. Koruyucu olarak antimikrobiyal ajanlar yer almaktadır.

2. Konjugat: Anti-troponin I (fare, monoklonal), antimiyoglobin (fare, monoklonal) ve anti CK-MB (fare, monoklonal) akridinium işaretli konjugat protein stabilizör (sığır) ile MES tamponunda yer almaktadır. Koruyucu olarak ProSiklin 300 yer almaktadır.

3. Örnek Dilüenti: Protein stabilizör (sığır) ile TRIS tamponunda yer almaktadır. Koruyucu olarak sodyum azid yer almaktadır.

4. Pretrigger solüsyonu: %1.32 (w/v) hidrojen peroksit içermektedir.

5. Trigger Solüsyonu: 0.35 N sodyum hidroksit içermektedir.

6. Yıkama tamponu: Fosfat tamponlu salin solüsyonu içermektedir. Koruyucu olarak antimikrobiyal ajanlar yer almaktadır.

5. Yöntem

CK-MB düzeylerini belirlemek için, serum örneklerinde iki aşamalı ölçüm yapılır. Çalışma süresince cihaz tarafından her numunedan 30 µL örnek pipetlenmektedir. İlk aşamada örnek ve anti-CK-MB kaplı paramanyetik mikropartiküller birleştirilir. İnkübasyon ve yıkamadan sonra ikinci aşamada akridinyum işaretli konjugat eklenir. Takip eden diğer inkübasyon ve yıkamadan sonra reaksiyon karışımına trigger ve pre-trigger solüsyonu eklenir. Kemiluminesan reaksiyonun sonucu bağlantılı ışık birimleri olarak ölçülür.

Troponin-I düzeylerini belirlemek için, serum örneklerinde iki aşamalı immunoassay ölçüm yapılır. Çalışma süresince cihaz tarafından her numunedan 115 µL örnek pipetlenmektedir. İlk aşamada örnek, ölçüm dilüenti ve anti-troponin-antikor kaplı paramanyetik mikropartiküller birleştirilir.

Yıkama ve inkübasyondan sonra anti-troponin-I akridinyum kaplı konjugat ikinci aşamada eklenir. Takip eden diğer yıkama ve inkübasyondan sonra reaksiyon karışımına trigger ve pre-trigger solusyonu eklenir. Kemiluminesan reaksiyonun sonucu bağlantılı ışık birimleri olarak ölçülür.

Miyogloblin düzeylerini belirlemek için, serum örneklerinde iki aşamalı immunoassay ölçüm yapılır. Çalışma süresince cihaz tarafından her numuneden 30 µL örnek pipetlenmektedir. İlk aşamada örnek, anti-miyoglobin-antikor kaplı paramanyetik mikropartiküller birleştirilir. Yıkama ve inkübasyondan sonra anti-miyoglobin akridinyum kaplı konjugat ikinci aşamada eklenir. Takip eden diğer yıkama ve inkübasyondan sonra reaksiyon karışımına trigger ve pre-trigger solusyonu eklenir. Kemiluminesan reaksiyonun sonucu bağlantılı ışık birimleri olarak ölçülür.

6. Ölçümlerin Yapılması

Tüm ölçümler Architect i1000 cihazında Abbott marka kitler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kitleri yüklemeyen önce mikropartikül şişeleri gözle görülür şekilde partikül kalmayınca kadar yaklaşık 30 kez ters düz edildi. Temiz bir eldiven giyilerek kutudan çıkan bölmeler şişelerin tepesine yarım açıklık kalacak şekilde yerleştirildi ve ardından reaktifler cihaza yerleştirildi. Minimum örnek hacmi sistem tarafından hesaplandı. Kalibrasyon için kalibrasyon şişesi dik tutarak her bir kalibratör için 8 damla örnek alarak çalışıldı. A,B,C,D,E,F kalibratörlerini çift çalışılarak kalibrasyon yapıldı. Kalibrasyon aralığı TnI için 0.00-50.00 ng/mL, MYG için 0.0-1200 ng/mL, CK-MB için 0.0-300 ng/mL'ydı (Tablo-21).

Tablo-21: Her bir kalibratör için ölçüm değerleri (ng/mL).

	A	B	C	D	E	F
TnI	0.0	0.25	0.50	1.5	10	50
CK-MB	0.0	3.8	12	60	135	300
MYG	0.0	30	100	300	600	1200

Kontrol çalışılması için her kontrolden 150 µL alındı. Analitik varyasyonun değerlendirilmesi amacıyla CV_A hesaplamaları için her analite ait 2 farklı düzey kalite kontrol serumu çalışıldı.

Serumları önce -20 °C'de bir gün çözdürülüp, ardından +4 °C'de bir gün bekletildikten sonra oda ısısında tutuldu. Tamamı çözüldüğünde ve oda ısısına geldiğinde tüm örnekler vorteks yardımıyla karıştırılarak çalışmaya hazır hale getirildi. Ardışık 5 gün boyunca gönüllü serumları çift çalışıldı ve her çalışmanın içinde rastgele üçer kez kontrol serumu çalışılarak analitlerin düzeyleri belirlendi. Hiçbir analit için dilüsyon yapılmasına gerek kalmadı.

7. BV Hesaplamalarında Kullanılan Formüller

7.1. CV_I ve CV_G Değerleri

Tüm grup ve her iki cinsiyete ait CV_I ve CV_G değerleri Fraser ve Harris'e göre hesaplandı (42,43).

7.2. Aşırı Uç Değerlerin Atılması

Her birey için ortalama ve absöü sınırların temel alındığı dağılım grafikleri SPSS 'de çizildi. Bu şekilde hem varyans, hem de ortalama açısından aşırı uçlar olup olmadığı görsel olarak değerlendirildi.

A) Ortalama açısından aşırı dağılımlar Cochran C testi ile değerlendirildi.

$$C_j = \frac{S_j^2}{\sum_{i=1}^N S_i^2}$$

[C_j : J veri serisi istatistiği; S_j : J veri serisinin standart sapması; N : Veri serisi içinde kalan data serileri S_i : Data serisi i'nin standart sapması]

Cochran C testi ile aşırı uç bulunan örnekler çıkarıldıktan sonra, D/R kuralına göre tekrar değerlendirilerek aşırı uç bulunan örnekler çıkarıldı.

B) Bir bireyden tekrarlı ölçümlerle elde edilen sonuçlar varyansının, benzer bireylerden aynı şartlarda elde edilen sonuç varyanslarından anlamlı farklılık gösterip göstermediği Cochran C testi ile kritik değer tablosu kullanılarak değerlendirildi (Tablo-22). Tabloda sütunlar bir bireydeki tekrar sayısını satırlar ise çalışmadaki birey sayısını ifade etmektedir.

Tablo-22: Cochran testi için kritik değerler tablosu.

	0,05 anlamlılık düzeyi için kritik değerler													
Df	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	17	37	145	∞
2	.9985	.9750	.9392	.9057	.8772	.8534	.8332	.8159	.8010	.7880	.7341	.6602	.5813	.5000
3	.9669	.8709	.7977	.7457	.7071	.6771	.6530	.6333	.6167	.6025	.5466	.4748	.4031	.3333
4	.9065	.7679	.6841	.6287	.5895	.5598	.5365	.5175	.5017	.4884	.4366	.3720	.3093	.2500
5	.8412	.6838	.5981	.5441	.5065	.4783	.4564	.4387	.4241	.4118	.3645	.3066	.2513	.2000
6	.7808	.6161	.5321	.4803	.4447	.4184	.3980	.3817	.3682	.3568	.3135	.2612	.2119	.1667
7	.7271	.5612	.4800	.4307	.3974	.3726	.3535	.3384	.3259	.3154	.2756	.2278	.1833	.1429
8	.6798	.5157	.4377	.3910	.3595	.3362	.3185	.3043	.2926	.2862	.2462	.2022	.1616	.1250
9	.6385	.4775	.4027	.3584	.3286	.3067	.2901	.2768	.2659	.2568	.2226	.1820	.1446	.1111
10	.6020	.4450	.3733	.3311	.3029	.2823	.2666	.2541	.2439	.2353	.2032	.1655	.1308	.1000
12	.5410	.3924	.3264	.2880	.2624	.2439	.2299	.2187	.2098	.2020	.1737	.1403	.1100	.0833
15	.4709	.3346	.2758	.2419	.2195	.2034	.1911	.1815	.1736	.1671	.1429	.1144	.0889	.0667
20	.3894	.2705	.2205	.1921	.1735	.1602	.1501	.1422	.1357	.1303	.1108	.0879	.0675	.0500
24	.3434	.2354	.1907	.1656	.1493	.1374	.1286	.1216	.1160	.1113	.0942	.0743	.0567	.0417
30	.2929	.1980	.1593	.1377	.1237	.1137	.1061	.1002	.0958	.0921	.0771	.0604	.0457	.0333
40	.2370	.1576	.1259	.1082	.0968	.0887	.0827	.0780	.0745	.0713	.0595	.0462	.0347	.0250
60	.1737	.1131	.0895	.0765	.0682	.0623	.0583	.0552	.0520	.0497	.0411	.0316	.0234	.0167
120	.0998	.0632	.0495	.0419	.0371	.0337	.0312	.0292	.0279	.0266	.0218	.0165	.0120	.0083
∞	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000

Hesaplanan C değeri, C kritik tablo değeri ile karşılaştırıldı ($C_{hesap} < C_{kritik}$) .
Varyansların homojenliğini değerlendirmek üzere;

“ H_0 : Varyanslar homojendir, $C_{hesap} < C_{kritik}$ ($p=0.05$)

H_1 : Varyanslar homojen değildir, $C_{hesap} > C_{kritik}$ ($p < 0.05$)” hipotezleri kuruldu.

7.3. %95 GA Alt ve Üst Sınırları

Homojen dağılım gösteren veriler üzerinden hesaplamalar Nested ANOVA kullanılarak yapıldı.

Elde edilen değerlerin % 95 GA alt ve üst sınırları,

$$\frac{(n-1) s^2}{\chi^2_{sağ}} < \sigma^2 < \frac{(n-1) s^2}{\chi^2_{sol}}$$

Formülü kullanılarak hesaplandı.

Aşağıda yer alan Tablo-23'te satırlar çalışmaya dahil edilen birey sayılarını, sütunlar ise güven aralıklarını ifade etmektedir. %95 GA alt ve üst sınırlarını belirlemek üzere tablo yer alan birey sayısına uygun olan ve 0.975 ve 0.025'e denk düşen değerler alınarak formülde (χ^2 , sağ ve sol) yerine konularak hesaplamalar yapıldı. Formülde 's' değeri olarak her bir analite ait tüm grup ve cinsiyetlere göre ayrı ayrı hesaplanmış CV_1 değerleri alındı.

Tablo-23: Kikare (X^2) Dağılım tablosu.

Df	α									
	0.995	0.99	0.975	0.95	0.9	0.1	0.05	0.025	0.01	0.05
1	-	-	-	-	0.02	2.71	3.84	5.02	6.64	7.88
2	0.01	0.02	0.05	0.10	0.21	4.61	5.99	7.38	9.21	10.60
3	0.07	0.12	0.22	0.35	0.58	6.25	7.82	9.35	11.35	12.84
4	0.21	0.30	0.48	0.71	1.06	7.78	9.49	11.14	13.28	14.86
5	0.41	0.55	0.83	1.15	1.61	9.24	11.07	12.83	15.09	16.75
6	0.68	0.87	1.24	1.64	2.20	10.65	12.59	14.45	16.81	18.55
7	0.99	1.24	1.69	2.17	2.83	12.02	14.07	16.01	18.48	20.28
8	1.34	1.65	2.18	2.73	3.49	13.36	15.51	17.54	20.09	21.96
9	1.74	2.09	2.70	3.33	4.17	14.68	16.92	19.02	21.67	23.59
10	2.16	2.56	3.25	3.94	4.87	15.99	18.31	20.48	23.21	25.19
11	2.60	3.05	3.82	4.58	5.58	17.28	19.58	21.92	24.73	26.76
12	3.07	3.57	4.40	5.23	6.30	18.55	21.03	23.34	26.22	28.30
13	3.57	4.11	5.01	5.89	7.04	19.81	22.36	24.74	27.69	29.82
14	4.08	4.66	5.63	6.57	7.79	21.06	23.69	26.12	29.14	31.32
15	4.60	5.23	6.26	7.26	8.55	22.31	25.00	27.49	30.58	32.80
16	5.14	5.81	6.91	7.96	9.31	23.54	26.30	28.85	32.00	34.27
17	5.70	6.41	7.56	8.67	10.09	24.77	27.59	30.19	33.41	35.72
18	6.27	7.02	8.23	9.39	10.87	25.99	28.87	31.53	34.81	37.16
19	6.84	7.63	8.91	10.12	11.65	27.20	30.14	32.85	36.19	38.58
20	7.43	8.26	9.56	10.85	12.44	28.41	31.41	34.17	37.57	40.00
21	8.03	8.90	10.28	11.59	13.24	29.62	32.67	35.48	38.93	41.40
22	8.64	9.54	10.98	12.34	14.04	30.81	33.92	36.78	40.29	42.80
23	9.26	10.20	11.69	13.09	14.85	32.01	35.17	38.08	41.64	44.18
24	9.89	10.86	12.40	13.85	15.66	33.20	36.42	39.36	42.98	45.56
25	10.52	11.52	13.12	14.61	16.47	34.38	37.65	40.65	44.31	46.93
26	11.16	12.20	13.84	15.38	17.29	35.56	38.89	41.92	45.64	48.29
27	11.81	12.88	14.57	16.15	18.11	36.74	40.11	43.19	46.96	49.65
28	12.46	13.57	15.31	16.93	18.94	37.92	41.34	44.46	48.28	50.99
29	13.12	14.26	16.05	17.71	19.77	39.09	42.56	45.72	49.59	52.34
30	13.79	14.95	16.79	18.49	20.60	40.26	43.77	46.98	50.89	53.67
40	20.71	22.16	24.43	26.51	29.05	51.81	55.76	59.34	63.69	66.77
50	27.99	29.71	32.36	34.76	37.69	63.17	67.51	71.42	76.15	79.49
60	35.53	37.49	40.48	43.19	46.46	74.40	79.08	83.30	88.38	91.95
70	45.28	45.44	48.76	51.74	55.33	85.53	90.53	95.02	100.43	104.22
80	51.17	53.54	57.15	60.39	64.28	96.58	101.88	106.63	112.33	116.32
90	59.20	61.75	65.65	69.13	73.29	107.57	113.15	118.14	124.12	128.30
100	67.33	70.07	74.22	77.93	82.36	118.50	124.34	129.56	135.81	140.17

7.4. Analitik Varyasyon için CV_A Hesaplamaları

CV_A hesaplamaları için CLSI EP15-A2 kılavuzunda yer alan formüller kullandı (Tablo-24).

Tablo-24: CV_A hesaplanmasında kullanılan formüller şeması.

FORMÜLLER	FORMÜL AÇIKLAMASI	
$\sum_{i=1}^3 x_i = x_1 + x_2 + x_3$	Gün içi (Gİ) toplamı	A
$\bar{x}_d = \frac{\sum_{i=1}^3 x_i}{3}$	Gün içi ortalaması	B
$x_1 - \bar{x}_d$	1. ölçümün ortalamadan farkı	C
$(x_1 - \bar{x}_d)^2$	1. ölçümün ortalamadan farkının karesi..... [C ²]	D
$x_2 - \bar{x}_d$	2. ölçümün ortalamadan farkı	E
$(x_2 - \bar{x}_d)^2$	2. ölçümün ortalamadan farkının karesi.....[E ²]	F
$x_3 - \bar{x}_d$	3. ölçümün ortalamadan farkı	G
$(x_3 - \bar{x}_d)^2$	3. ölçümün ortalamadan farkının karesi.....[G ²]	H
$\sum_{i=1}^3 (x_i - \bar{x}_d)^2 = (x_1 - \bar{x}_d)^2 + (x_2 - \bar{x}_d)^2 + (x_3 - \bar{x}_d)^2$	Gün içi kareler toplamı [D+F+H]	I
$sd_{nm}^2 = \frac{\sum_{i=1}^3 (x_i - \bar{x}_d)^2}{2}$	Standart Deviasyon (SD).....[I/2]	İ
$\bar{x}_d - \bar{x}$	Gün içi ort.nun günler arası ort.dan farkı[B-M]	J
$(\bar{x}_d - \bar{x})^2$	Gün içi ort.nun günler arası ort.dan farkının karesi.....[J ²]	K
$\bar{x} = \frac{\bar{x}_1 + \bar{x}_2 + \bar{x}_3 + \bar{x}_4 + \bar{x}_5}{5}$	Günler arası (GA) ortalaması	L
$sd_{nm, average}^2 = \frac{sd_{nm1}^2 + sd_{nm2}^2 + sd_{nm3}^2 + sd_{nm4}^2 + sd_{nm5}^2}{5}$	Günler arası SD kareleri toplamının ortalaması	M
$s_r = \sqrt{sd_{nm, average}^2}$ $s_r =$	Laboratuvar içi / Gün içi tekrarlanabilirlik	N
$s_b^2 = \frac{\sum_{i=1}^5 (\bar{x}_i - \bar{x})^2}{4} = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x})^2 + (\bar{x}_2 - \bar{x})^2 + (\bar{x}_3 - \bar{x})^2 + (\bar{x}_4 - \bar{x})^2 + (\bar{x}_5 - \bar{x})^2}{4}$	Farkların kareleri toplamının ortalaması	O
$s_1 = \sqrt{\frac{n-1}{n} \cdot s_r^2 + s_b^2}$ $s_1 = \sqrt{\frac{2}{3} \cdot s_r^2 + s_b^2}$	Laboratuvar içi / Günler arası SD	P
Gün içi ve Günler arası % Varyasyon Katsayısı(CV) hesaplama		
\sqrt{I}	Gün içi SD karekökleri	R
(R/B) x100	Gün içi Varyasyon Katsayısı(% CV)	S
(S x S)	Gün içi % CV kareleri	T
$\sqrt{\text{Gün içi CV kareler toplamı} / 5}$	Gün içi ortalama % CV	U
(P / L) x 100	Günler arası % CV	V

7.5. Referans Değişim Değeri ve Bireysellik İndeksi Hesaplanması

Biyolojik varyasyon ve CV_A verileri kullanılarak T_{nl} , MYG ve CK-MB değerlerine ait RDD ve BI hesaplandı. $CV_A < \frac{1}{2} CV_I$ bulunması nedeniyle RDD hesaplanırken CV_A değeri ihmal edilmiştir. Hesaplamalarda aşağıdaki formüller kullanılmıştır.

$$RDD = Z_p \times 2^{1/2} \times (CV_I^2 + CV_A^2)^{1/2}$$

$$BI = CV_I / CV_G \text{ formülleri kullanıldı.}$$

7.6. Analitik Kalite Özelliklerinin Hesaplanması

Analitik kalite özelliklerinin hesaplanması için;

$$I_{max} = 0.5 \times CV_I$$

$$B_{max} = 0.25 \times (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

$$TE_{max} = B_{max} + (1.65 \times I_{max}) \text{ formülleri kullanıldı}$$

BULGULAR

Çalışmaya katılan erkeklerin yaşları 22-49 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 35.7 bulundu. Kadınların ise yaş aralıkları 22-52 arasında değişip ortalaması 38.6 bulundu. Tüm grubun ortalama yaşları 37.1'di. Bu erkek ve kadınlardan 0., 7., 14., 21. günlerde alınan örneklerden elde edilen iki ölçümün ortalamaları aşağıdaki Tablo 25-27'de gösterilmektedir.

Tablo-25: Çalışmaya katılan sağlıklı bireylerden elde edilen örneklerin iki Troponin I ölçümünün ortalama değerleri.

	Cinsiyet	Troponin Düzeyleri			
		0.gün	7.gün	14.gün	21.gün
1	E	0.0000	0.0005	0.0005	0.0020
2	E	0.0015	0.0000	0.0010	0.0015
3	E	0.0000	0.0025	0.0000	0.0000
4	E	0.0035	0.0020	0.0000	0.0000
5	E	0.0035	0.0065	0.0020	0.0010
6	E	0.0000	0.0020	0.0020	0.0030
7	E	0.0000	0.0070	0.0010	0.0005
8	E	0.0015	0.0025	0.0015	0.0015
9	E	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
10	E	0.0000	0.1365	0.0095	0.0025
11	K	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
12	K	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
13	K	0.0060	0.0045	0.0085	0.0130
14	K	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
15	K	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
16	K	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
17	K	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
18	K	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
19	K	0.0010	0.0000	0.0000	0.0000

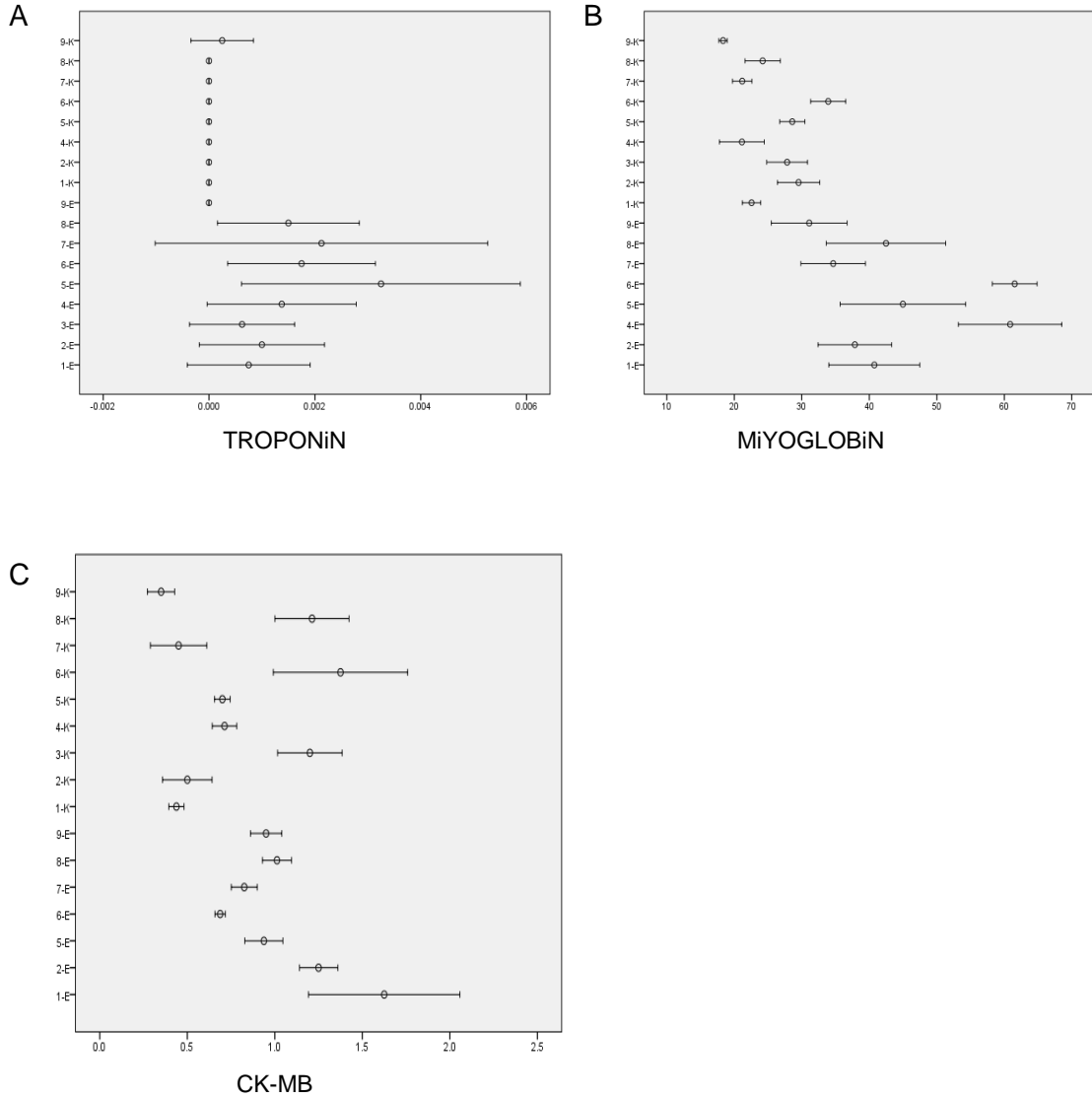
Tablo-26: Çalışmaya katılan sağlıklı bireylerden elde edilen örneklerin iki miyoglobin ölçümünün ortalama değerleri.

		Miyoglobin Düzeyleri			
	Cinsiyet	0.gün	7.gün	14.gün	21.gün
1	E	51.50	31.55	36.85	51.55
2	E	27.65	42.00	42.60	39.20
3	E	36.35	104.45	218.50	42.10
4	E	71.45	63.85	47.80	60.35
5	E	58.65	51.35	33.40	36.50
6	E	61.75	62.80	55.85	65.75
7	E	41.50	27.35	37.35	32.40
8	E	41.85	35.90	58.70	33.45
9	E	39.95	33.80	26.85	23.80
10	E	50.90	252.00	48.30	49.50
11	K	21.80	34.85	20.70	24.50
12	K	28.90	35.30	26.65	27.25
13	K	25.50	33.45	27.25	25.10
14	K	17.25	27.25	19.95	20.10
15	K	26.65	31.60	29.45	26.63
16	K	31.65	38.55	31.30	34.15
17	K	23.30	20.65	19.05	21.70
18	K	28.45	23.10	20.40	24.85
19	K	17.30	19.05	18.65	18.35

Tablo-27: Çalışmaya katılan sağlıklı bireylerden elde edilen örneklerin iki CK-MB ölçümünün ortalama değerleri.

		CK-MB düzeyleri			
	Cinsiyet	0.gün	7.gün	14.gün	21.gün
1	E	1.30	1.45	1.30	2.45
2	E	1.20	1.20	1.15	1.45
3	E	0.95	2.65	4.90	0.90
4	E	4.60	2.90	3.05	2.65
5	E	1.05	1.05	0.80	0.85
6	E	0.70	0.65	0.70	0.70
7	E	0.80	0.90	0.90	0.70
8	E	1.15	0.95	1.00	0.95
9	E	0.95	0.80	1.05	1.00
10	E	1.30	4.20	1.20	1.45
11	K	0.45	0.40	0.45	0.45
12	K	0.40	0.75	0.50	0.35
13	K	0.90	1.15	1.45	1.30
14	K	0.65	0.65	0.75	0.80
15	K	0.75	0.65	0.70	0.70
16	K	2.10	1.25	1.15	1.00
17	K	0.50	0.20	0.70	0.40
18	K	1.60	1.05	1.00	1.20
19	K	0.50	0.30	0.30	0.30

Cochran C testi sonrası her üç analit için 10. erkek birey aşırı uç değer olarak belirlendiğinden çalışma dışı bırakılmıştır. Cochran C testine ilaveten uygulanan D/R kuralına göre Tn için 13. kadın birey, MYG için 3. erkek birey ve CK-MB için 3. ve 4. erkek birey aşırı uç bulunmuş ve hesaplamalar kalan bireyler üzerinden yapılmıştır. Tn, MYG ve CK-MB için bireylerin dağılım grafikleri aşağıda görülmektedir (Şekil-11).



Şekil-11: TnI (A), MYG (B) ve CK-MB (C) düzeylerinin uç değerler içeren bireyler atıldıktan sonra kalan bireylerde dağılımları.

Cochran C testi ile % 95 anlamlılık düzeyinde her birey için hesaplanan C değerleri (C_{hesap}) hedef tablo değeri (C_{tablo}) ile karşılaştırıldı (Tablo-28). Tn, MYG ve CK-MB için uç değerler atıldıktan sonra kalan birey sayısı sırasıyla 17, 17, 16 olup tabloda n değeri tüm grup için olarak 15 kabul edildi. Böylelikle $C_{tablo}=0.2758$ ile karşılaştırıldı (Tablo-22). $C_{hesap} < C_{tablo}$ bulunması nedeniyle H_0 hipotezine göre varyansların homojen olduğu kabul edildi.

Troponin için 17 bireyden sadece 9 tanesinde 0.000 dışında sayısal değerler elde edildiği için kadın ve erkek olarak ayrı ayrı incelenemedi. MYG ve CK-MB için Cochran C testi ile % 95 anlamlılık düzeyinde her analit için kadın ve erkeklerde ayrı ayrı hesaplanan C_{hesap} değerleri hedef C_{tablo} değerleri ile karşılaştırıldı. MYG için erkek bireylerde (n=8) $C_{tablo} =0.4377$ ve kadın bireylerde (n=9) $C_{tablo} =0.4027$ olduğu görüldü. CK-MB için tablo değerleri incelendiğinde kadın bireylerde (n=7) $C_{tablo} =0.4800$, erkek bireylerde (n=9) $C_{tablo} =0.4027$ olarak görüldü (Tablo-22). Her birinde $C_{hesap} < C_{tablo}$ bulunması nedeniyle H_0 hipotezine göre varyansların homojen olduğu kabul edildi.

Homojen dağılım gösteren veriler üzerinden Nested ANOVA kullanılarak tüm grup ve cinsiyetler için ayrı ayrı hesaplanmış CV_I ve CV_G değerleri ile bulunmuştur. Tnl için cinsiyetler arası fark olmadığından ayrı ayrı hesaplama yapılamamış, tüm grup bir arada hesaplanmıştır.

%95 GA alt ve üst sınırlarını tüm grup ve cinsiyetler göre belirlerken χ^2 tablosundan 0.975 ve 0.025'inci değerler alınmıştır (Tablo-23). Tablodan Tnl (n-1=16) ve MYG (n-1=16) için tüm grup değerlerini 0.975 için 6.91, 0.025 için 28.85 olarak elde ettik. CK-MB için ise tüm grup (n-1=15) değerleri 0.975 için 6.26, 0.025 için 27.49 olarak bulundu.

Miyogloblin değerleri, kadın bireylerde (n-1= 7) 0.975 için 1.69, 0.025 için 16.01 iken, erkeklerde (n-1=8) 0.975 için 2.18, 0.025 için 17.54 olarak görülmektedir. Tablodan elde edilen CK-MB değerleri kadınlarda (n-1=8) 0.975 için 2.18, 0.025 için 17.54 ve erkeklerde(n-1=6) 0.975 için 1.24, 0.025 için 14.45'ti (Tablo-23).

Formülde değerler yerine konarak elde edilen %95 GA alt ve üst sınırları aşağıdaki tablolarda görülmektedir. TnI için cinsiyetler arası fark olmadığından tüm grup bir arada hesaplanmıştır (Tablo 28-30).

Tablo-28: Troponin I için tüm grupta hesaplanan CV_I ve CV_G değerleri ve %95 GA alt ve üst sınırları.

TROPONİN I		%95 GA Alt Sınır	%95 GA Üst Sınır
CV_I Tüm Grup	61.42	41.5	117.66
CV_G Tüm Grup	71.18	47.07	144.09

Tablo-29: Miyoglobinin tüm grup ve her iki cinsiyet için hesaplanan CV_I ve CV_G değerleri ve %95 GA alt ve üst sınırları.

MİYOĞLOBİN		%95 GA Alt Sınır	%95 GA Üst Sınır
CV_I Tüm Grup	4.79	3.57	7.29
CV_I Kadın	11.2	7.56	21.45
CV_I Erkek	19.12	12.64	38.91
CV_G Tüm Grup	39.9	26.4	81.3
CV_G Kadın	10.5	7.09	21.11
CV_G Erkek	19.12	11.53	35.51

Tablo-30: CK-MB'nin tüm grup ve her iki cinsiyet için hesaplanan CV_I ve CV_G değerleri ve %95 GA alt ve üst sınırları.

CK-MB		%95 GA Alt Sınır	%95 GA Üst Sınır
CV_I Tüm Grup	21.1	16.1	33.76
CV_I Kadın	25.6	17.28	49.04
CV_I Erkek	22.71	9.98	34.04
CV_G Tüm Grup	46.6	30.8	94.9
CV_G Kadın	22.71	15.33	43.50
CV_G Erkek	15.49	9.80	33.45

Sağlıklı bireylerden hazırlanan Düzey I ve Düzey II kontrol havuzlarının CV_A hesaplamaları için Tablo-24'te yer alan formül akışı izlenerek her iki düzey için gün içi ve günler arası CV_A değerleri hesaplandı (Tablo 31-34).

Tablo-31: Troponin Düzey I ve Düzey II kontrol serumlarının gün içi ve günler arası CV_A değerleri.

ÖLÇÜMLER	DÜZEY1					DÜZEY 2					
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	1.gün	2.gün	3.Gün	4.Gün	5.gün	
Tpn1 1	0.508	0.630	0.663	0.619	0.650	17.000	16.564	16.243	17.093	16.641	
Tpn1 2	0.627	0.646	0.613	0.610	0.598	17.095	16.32	16.372	17.411	16.774	
Tpn1 3	0.607	0.626	0.644	0.616	0.619	17.351	16.535	16.970	17.339	16.490	
FORMÜLLER FORMÜL AÇIKLAMASI											
A	Gün içi (Gi) ölçümlerin toplamı (TRP1. 2., 3. ölçüm)	1.742	1.902	1.92	1.845	1.867	51.345	49.419	49.585	51.843	49.905
B	Gi toplamının ortalaması	0.580	0.634	0.640	0.615	0.622	17.115	16.473	16.528	17.281	16.635
C	1.ölçümün Gi ortalamasından farkı	-0.726	-0.004	0.023	0.040	0.027	-0.216	-0.091	-0.285	-0.188	0.006
D	1.ölçümün Gi ortalamasından farkının karesi (C ²)	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004	0.008	0.081	0.035	0.000
E	2.ölçümün Gi ortalamasından farkı	0.046	0.012	-0.027	-0.005	-0.024	-0.020	-0.153	-0.156	0.130	0.139
F	2.ölçümün Gi ortalamasından farkının karesi (E ²)	0.00	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.023	0.024	0.016	0.019
G	3.ölçümün Gi ortalamasından farkı	0.026	-0.008	0.004	0.001	-0.003	0.236	0.062	0.442	0.058	-0.145
H	3.ölçümün Gi ortalamasından farkının karesi (G ²)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.055	0.003	0.195	0.003	0.021
I	Gi farklar kareleri toplamı (D+F+H)	0.008	0.000	0.001	0.000	0.001	0.102	0.035	0.300	0.055	0.040
İ	Gi Standart Deviasyon (SD) (I/2)	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.051	0.017	0.150	0.002	0.020
J	Gi ort.nın günler arası ort.dan farkı (B-L)	-0.037	0.015	0.021	-0.003	0.003	0.308	-0.033	-0.278	0.474	-0.171
K	Gi Ort.nın günler arası ort.dan farkının karesi (J ²)	0.001	0.000	0.000	1.160	0.000	0.095	0.111	0.077	0.225	0.029
L	Günler arası (GA)ortalama	0.618					16.800				
M	GA SD kareleri toplamının ortalaması	0.001					0.053				
N	Laboratuvar içi/ Gün içi tekrarlanabilirlik	0.033					0.231				
O	Farkların kareleri toplamının ortalaması	0.00054					0.134				
P	Laboratuvar içi/ Günler arası SD	0.035					0.412				
R	Gi SD karakökleri	0.063	0.010	0.025	0.004	0.026	0.226	0.133	0.387	0.166	0.142
S	Gi varyasyon katsayısı (%CV)	10.97	1.669	3.943	0.745	4.203	1.324	0.809	2.346	0.964	0.854
T	Gi %CV kareleri	120.4	2.786	15.55	0.555	17.66	1.753	0.654	5.507	0.931	0.729
U	Gi ortalama %CV	5.603					1.383				
V	Günlerarası %CV	5.775					2.455				

Tablo-32: Miyogloblin Düzey I ve Düzey II kontrol serumlarının gün içi ve günler arası CV_A değerleri.

		DÜZEY1					DÜZEY 2				
ÖLÇÜMLER		1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün
	MYG1	355.0	358.8	361.1	347.5	352.6	970.6	976.0	1022.2	1016.5	931.1
	MYG2	340.2	347.9	368.2	347.1	356.5	975.4	953.9	910.6	906.8	968.4
	MYG3	350.1	350.5	357.6	356.2	348.1	981.0	982.7	999.5	953.9	982.8
FORMÜLLE											
R	FORMÜL AÇIKLAMASI										
A	Gün içi (Gi) ölçümlerin toplamları (MYG1., 2., 3. ölçüm)	1045.3	1057.2	1086.9	1050.8	1057.2	2927.0	2912.6	2932.3	2877.2	2882.3
B	Gi toplamının ortalaması	348.4	352.4	362.3	350.2	352.4	975.70	970.88	977.43	959.06	960.76
C	1.ölçümün Gi ortalamasından farkı	6.566	6.400	-1.200	-2.766	0.200	-5.066	5.133	44.766	57.433	-30.000
D	1.ölçümün Gi ortalamasından farkının karesi (C ²)	43.12	40.96	1.44	7.65	0.040	25.67	26.35	2004.0	3298.5	880.11
E	2.ölçümün Gi ortalamasından farkı	-8.23	-4.50	5.90	-3.16	4.10	-0.26	-16.96	-66.83	-52.26	7.633
F	2.ölçümün Gi ortalamasından farkının karesi (E ²)	67.78	20.25	34.81	10.02	16.81	0.071	287.86	4466.6	2731.8	58.26
G	3.ölçümün Gi ortalamasından farkı	1.66	-1.90	-4.70	5.93	-4.30	5.33	11.83	22.06	-5.16	22.03
H	3.ölçümün Gi ortalamasından farkının karesi (G ²)	2.77	3.61	22.09	35.20	18.49	28.44	140.02	486.93	26.69	485.46
I	Gi farklar kareleri toplamı (D+F+H)	113.6	64.82	58.34	52.88	35.34	54.18	454.24	6957.6	6057.0	1423.8
i	Gi Standart Deviasyon (SD) (I/2)	56.84	32.41	29.17	26.44	17.67	27.09	227.12	3478.8	3028.5	711.92
J	Gi ort.nın günler arası ort.dan farkı (B-L)	-4.72	-0.76	9.14	-2.89	-0.76	6.90	2.10	8.67	-9.69	-7.99
K	Gi Ort.nın günler arası ort.dan farkının karesi (J ²)	22.34	0.57	83.53	8.37	0.57	47.70	4.43	75.22	93.96	63.89
L	Günler arası (GA)ortalama	353.16					968.76				
M	GA SD kareleri toplamının ortalaması	32.50					1494.70				
N	Laboratuvar içi/ Gün içi tekrarlanabilirlik	5.70					38.66				
O	Farkların kareleri toplamının ortalaması	1.42					71.30				
P	Laboratuvar içi/ Günler arası SD	7.10					32.67				
R	Gi SD karaköklere	7.53	5.69	5.40	5.14	4.20	5.20	15.07	58.98	55.03	26.68
S	Gi varyasyon katsayısı (%CV)	2.16	1.61	1.49	1.46	1.19	0.53	1.55	6.03	5.73	2.77
T	Gi %CV kareleri	4.68	2.60	2.22	2.15	1.42	0.28	2.40	36.41	32.92	7.71
U	Gi ortalama %CV	1.61					3.99				
V	Günlerarası %CV	2.01					3.37				

Tablo-33: CK-MB Düzey I ve Düzey II kontrol serumlarının gün içi ve günler arası CV_A değerleri.

		DÜZEY1					DÜZEY 2				
ÖLÇÜMLER		1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün
	CK-MB1	25.4	27.9	29.2	29.8	29.1	80.5	81	84.6	86	76.7
	CK-MB2	28.3	28.9	24.9	32.1	24.1	83.9	78.8	75.5	80.7	82.2
	CK-MB3	27.9	28.7	30.1	28.3	29.7	79.6	85.1	83.2	83.5	80.6
FORMÜLLE											
R	FORMÜL AÇIKLAMASI										
A	Gün içi (G _i) ölçümlerin toplamları (CK-MB1., 2., 3. ölçüm)	81.60	85.50	84.20	90.20	82.90	244.00	244.90	243.30	250.20	239.50
B	G _i toplamının ortalaması	27.20	28.50	28.06	30.06	27.63	81.33	81.63	81.10	83.40	79.83
C	1.ölçümün G _i ortalamasından farkı	-1.80	-0.60	1.13	-0.26	1.46	-0.83	-0.63	3.50	2.60	-3.13
D	1.ölçümün G _i ortalamasından farkının karesi (C ²)	3.24	0.36	1.28	0.07	2.15	0.69	0.40	12.25	6.76	9.81
E	2.ölçümün G _i ortalamasından farkı	1.10	0.40	-3.16	2.03	-3.53	2.56	-2.83	-5.60	-2.70	2.36
F	2.ölçümün G _i ortalamasından farkının karesi (D ²)	1.21	0.16	10.02	4.13	12.48	6.58	8.02	31.36	7.29	5.60
G	3.ölçümün G _i ortalamasından farkı	0.70	0.20	2.03	-1.76	2.06	-1.73	3.46	2.10	0.10	0.76
H	3.ölçümün G _i ortalamasından farkının karesi (G ²)	0.49	0.04	4.13	3.12	4.27	3.00	12.01	4.41	0.01	0.58
I	G _i farklar kareleri toplamı (D+F+H)	4.94	0.56	15.44	7.32	18.90	10.28	20.44	48.02	14.06	16.00
İ	G _i Standart Deviasyon (SD) (I /2)	2.47	0.28	7.72	3.66	9.45	5.14	10.22	24.01	7.03	8.00
J	G _i ort.nın günler arası ort.dan farkı (B-L)	-1.09	0.20	-0.22	1.77	-0.66	-0.12	0.17	-0.36	1.94	-1.62
K	G _i Ort.nın günler arası ort.dan farkının karesi (J ²)	1.19	0.04	0.05	3.14	0.43	0.01	0.03	0.12	3.76	2.64
L	Günler arası (GA)ortalama	28.293					81.460				
M	GA SD kareleri toplamının ortalaması	4.718					10.882				
N	Laboratuvar içi/ Gün içi tekrarlanabilirlik	2.172					3.298				
O	Farkların kareleri toplamının ortalaması	1.217					1.646				
P	Laboratuvar içi/ Günler arası SD	2.088					2.983				
R	G _i SD karaköklere	1.571	0.529	2.779	1.913	3.074	2.267	3.197	4.900	2.651	2.829
S	G _i varyasyon katsayısı (%CV)	5.778	1.856	9.901	6.365	11.12	2.788	3.916	6.041	3.179	3.543
T	G _i %CV kareleri	33.38	3.447	98.04	40.52	123.7	7.775	15.341	36.504	10.107	12.557
U	G _i ortalama %CV	7.736					4.057				
V	Günlerarası %CV	7.382					3.662				

Tablo-34: Düzey 1 ve 2 kontrol havuzlarına ait gün içi ve günler arası CV_A değerleri.

Analit	Düzey 1		Düzey 2	
	Gün içi CV _A	Günler arası CV _A	Gün içi CV _A	Günlerarası CV _A
Troponin I	5.603	5.775	1.383	2.455
Miyogloblin	1.61	2.01	3.99	3.37
CK-MB	7.736	7.382	4.057	3.662

Cinsiyetler için ayrı ayrı hesaplanan BV verileri kullanılarak, tüm grup ve kadın ve erkek bireyler için hesaplanmış RDD ve BI değerleri aşağıda tablolarda görülmektedir. TnI için cinsiyetler arası fark olmadığından sonuçlar tüm grup üzerinden değerlendirilmiştir (Tablo 35-37).

Tablo-35: Troponin I için hesaplanan RDD ve BI değerleri.

RDD_{TÜM GRUP}	$= 1.96 \times \sqrt{2} \times 61.42 =$	%170.24
BI_{TÜM GRUP}	$= 61.42 / 71.18 =$	0.86

Tablo-36: Miyogloblin için hesaplanan RDD ve BI değerleri.

RDD_{TÜM GRUP}	$= 1.96 \times \sqrt{2} \times 4.79 =$	%13.27
RDD_{kadın}	$= 1.96 \times \sqrt{2} \times 11.12 =$	%31,04
RDD_{erkek}	$= 1.96 \times \sqrt{2} \times 19.12 =$	%53
BI_{TÜM GRUP}	$= 4.79 / 39.94 =$	0.12
BI_{kadın}	$= 11.12 / 10.5 =$	1.06
BI_{erkek}	$= 19.12 / 19 =$	1.09

Tablo-37: CK-MB için hesaplanan RDD ve BI değerleri.

RDD_{TÜM GRUP}	$= 1.96 \times \sqrt{2} \times 21.1 =$	%58.48
RDD_{kadın}	$= 1.96 \times \sqrt{2} \times 25.6 =$	%70.96
RDD_{erkek}	$= 1.96 \times \sqrt{2} \times 15.49 =$	%42.94
BI_{TÜM GRUP}	$= 21,1 / 46.6 =$	0.45
BI_{kadın}	$= 25,6 / 22.71 =$	1.13
BI_{erkek}	$= 15,49 / 15.21 =$	1.02

Kardiyak belirteçlerin test performansı açısından analitik kalite özellikleri tablolarda görülmektedir (Tablo 38-40).

Tablo-38: Troponin I için hesaplanan analitik kalite özellikleri.

I_{max}	0.5×61.42	30.71
B_{max}	$0.25 \times [(61.42)^2 + (71.18)^2]^{1/2}$	23.5
TE_{max}	$23.5 + (1.65 \times 30.71)$	74.18

Tablo-39: Miyogloblin için hesaplanan analitik kalite özellikleri.

I_{max}	0.5×4.79	2.4
B_{max}	$0.25 \times [(4.79)^2 + (39.94)^2]^{1/2}$	10.06
TE_{max}	$10.06 + (1.65 \times 2.4)$	14.01

Tablo-40: CK-MB için hesaplanan analitik kalite özellikleri.

I_{max}	0.5×21.1	10.55
B_{max}	$0.25 \times [(21.1)^2 + (46.6)^2]^{1/2}$	12.79
TE_{max}	$12.79 + (1.65 \times 10.55)$	30.20

TARTIŞMA VE SONUÇ

Akreditasyon kapsamındaki izlenebilirliği sağlayan kalite kavramları; her test/her metod için sabit bir kontrolün tekrarlanabilirliği ve EQAS veya referans materyalin hedef değerinden farkı, mevcut CV_I ve CV_G değerleriyle değerlendirilerek yorumlanır (82).

Biz alışmamızda AKS tanısı için önemli olan ve günümüzde halen kullanılması önerilen erken dönem belirteçlerinden TnI, MYG ve CK-MB için BV verilerini elde etmeye çalıştık. Literatürlere bakıldığında Tn'e ait BV verileri elde etmek için yapılan çalışmaların yüksek duyarlılıklı analizlerin uygulanması ile başladığını ve ilk çalışmaların TnI için Wu ve ark. (170), TnT için ise Vasile ve ark. (173) tarafından yapıldığı görölmektedir. Sonraki yıllarda benzer çalışmalar sağlıklı ve hasta bireyler üzerinden, örnekler benzer ya da farklı zaman aralıklarında alınarak yapılmıştır. Bizler, sık yapıldığı üzere çalışmalarımızı sağlıklı kadın ve erkek bireyler üzerinden gerçekleştirdik. TnI için elde ettiğimiz veriler ile düşük BI saptadık ve topluma dayalı RA'nın kullanılabileceğini düşündük. Ancak, RDD'ni oldukça yüksek bulduk ve özellikle akut hadiselerde meydana gelen değişikliklerin RDD kullanılarak değerlendirilmesinden ziyade hastanın klinik ile beraber değerlendirilmesi gerektiği sonucuna vardık. MYG ve CK-MB (kütle) için yapılmış BV çalışmalarının oldukça az olduğu görölmektedir. Biz her iki belirtecin de oldukça yüksek bireysellik gösterdiğini bulduk ve bu haliyle topluma dayalı RA'nın kullanılmasından ziyade bireysel RA'nın kullanılmasının daha doğru olacağı sonucuna vardık. Ancak, kadın ve erkek bireylerde ayrı ayrı hesaplamalar yaparak cinsiyetlere göre alt gruplar oluşturulmasının RA'nın doğru şekilde kullanılabilmesi için gerekli olduğunu düşünüyoruz.

Biyolojik ölçüm sonuçlarındaki varyasyon kaynakları preanalitik varyasyon, CV_A , I, B, CV_I ve CV_G 'i içerir. Tek bir test sonucu varyasyon bileşenlerinin sınıflaması için kullanıldığında CV_A ve CV_I 'ya bağlı varyasyon özgülük ve duyarlılığı azaltarak yanlış sınıflamaya neden olur. Birden fazla

ölçüm sonucunun ortalamasının alınması belli bir dereceye kadar bu etkiyi tersine çevirebilir (175).

Her bir bireyin tek bir ayar noktası etrafındaki CV_I 'sı laboratuvar tıbbi topluluğu tarafından kabul edilmiştir (16). I'ya zıt olarak bu varyasyon birçok analit için ölçülmüştür (176) ve laboratuvarlar arası kullanılabilceği düşünülmüştür (42). CV_I çoğunlukla sağlıklı ve hasta bireylerde sıklıkla benzerlik gösterir, ancak bazen fark etmektedir (39,177). CV_G ise farklı bireylerdeki verilerin karşılaştırılması ile elde edilir. Bu varyasyon özellikle bir bireye ait sonuçlar topluma dayalı RA ile karşılaştırıldığında önemlidir. Verilerin yorumlanması için sadece I değeri değil, aynı zamanda CV_I ve CV_G değerleri de önemlidir. Bir çalışmanın hedefi, I'nın etkisini yorumlamak için toplum arasındaki farkı ölçmek ya da bireyleri toplum içinde sınıflayabilmek olmalıdır. Bireylerde zaman içinde ardışık ölçümler sonucundaki farkın anlamlılığını ölçmek klinik olarak hastaların değerlendirilmesinde önemlidir (175).

Herhangi bir analite ait prosedürün performansının kanıtlanmasında en önemli konu performans hedeflerinin saptanmasıdır. Kalitenin saptanması için hedeflerin ölçütleri ve ölçütlerin belirlenmesi uzun yıllardır üzerinde çalışılan konulardandır. Analiz prosedürünün performansının kanıtlanması için hedeflenen değerler konusunda alanın yetkin uzmanları tarafından kararlaştırılarak yayılan ve tüm dünyada kabul edilen uzlaşmış kriterler vardır. Örneğin, tekrarlanabilirlik ölçüsü olan SD veya CV için hedefler de yine toplam hata ya da BV katsayılarına göre belirlenebilmektedir. Doğruluk için yöntem karşılaştırmalarından elde edilen B değerlerinin hedefleri de yine toplam hata ya da BV katsayılarına göre belirlenebilmektedir (8).

Analitik prosedürün performansının değerlendirilmesi için hedeflenen değerler için 1999'da Stockholm Uzlaşmış Bildirgesi günümüze kadar yaygın olarak kullanılmaktadır (16). Stockholm 1999 Bildirgesi aşağıdaki kriterlere göre sıralama yapmıştır.

1. Klinik kavramlar
2. Klinisyenlere uygulanan anketler
3. BV
4. Alan uzmanları görüşleri/Yasal mevzuat
5. En güncel verilere göre

Milano'da Kasım 2014'te yapılan Avrupa Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonun (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine-EFLM) toplantısında belirlenen yeni taslak halindeki kriterler aşağıdaki gibi listelenmektedir (178).

Model 1. Klinik sonuçlara etkili olan analitik performans temel alınan model

- 1a.Sonuç çalışmaları
- 1b.Simülasyon çalışmaları
- 1c.Klinisyen ve/veya yetkin uzman görüşleri

Model 2. Ölçülen varlığın BV bileşenlerini temel alan model

Model 3. Güncel bulguları temel alan model

Laboratuvar tıbbında, doğru sonuç verebilmek için BV bileşenlerini kullanmak şarttır. Böylelikle, klinik laboratuvarlarda laboratuvar süreci ile ilişkili varyasyonları azaltmak için BV bileşenleri hesaplanmalı ve uygun bir şekilde raporlama yapabilmek için uygulanmalıdır. Birçok klinik laboratuvar için yararlı bir referans olarak yaklaşık 320 analite ait BV bileşenlerine ait kapsamlı veriler her iki yılda bir güncellenmektedir. Ricos ve arkadaşları (21) tarafından oluşturulan bu veriler, Westgard'ın web sayfasında yayınlanmıştır (56). Bu verilerin kalite sistemi içine entegrasyonu laboratuvar uygulamalarının her üç düzeyinde gerçekleşmektedir.

Preanalitik süreçte BV; uygun örnekleme aralığına karar verilmesi, analize en uygun örneğin seçimi ve örnek stabilitesinin tanımlanması için temel sağlamaktadır. Analitik süreçte BV kaynaklı hedefler, laboratuvar performansının değerlendirilmesi ve iç kalite kontrol prosedürlerinin tasarlanması için gerekmektedir. Postanalitik süreçte ise bireydeki seri ölçü sonuçlarının, CV_i değerlerinden elde edilen RDD veya delta kontrollerle yorumlanması ve doğrulanması için kullanılmaktadır (179).

2012 yılında Røraas ve arkadaşları tekrar sayıları, toplam örnek ve birey sayısının yanısıra kullanılan yöntemle göre değişen CV_A 'ların ve GA genişliğinin, CV_I ve farklı çalışma modelleri için belirlenen ölçüm güvenilirliğine etkisini araştırmışlardır. CV_A değişiklikleri, toplam örnek ve birey sayısı ile tekrar sayılarının, CV_I tahminleri üzerindeki etkisini ölçmek için, farklı modellere göre değişen CV_A ile CV_I 'nin %95 GA'yı hesaplamışlardır. Bu faktörlerin etkisinin CV_A/CV_I oranı ile değiştiği gözlenmiş, CV_I ile ilişkili olarak CV_A ne kadar yüksek ise o kadar geniş GA elde edilmiştir (46).

Aynı çalışmada ayrıca değişen CV_A/CV_I oranının CV_I 'nin belirlenme gücü üzerine etkisi incelenmiştir. CV_I 'ya göre düşük CV_A değerleri, deneyin gücünü belirlemede önemli bulunmuştur. CV_A/CV_I oranı ile örnek, birey ve tekrar sayıları arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla deneysel tasarımlar yapılmıştır (Tablo-5). Örneğin; CV_I 'nin en iyi belirlenme gücüne toplam birey sayısı 20; bir bireyde çalışılan örnek sayısı 4, 6, 8 veya 10; CV_A/CV_I oranı 1 ve yapılan tekrar sayısı 2, 3 veya 4 olduğunda erişilmiş ve diğer koşullar aynı iken sadece CV_A/CV_I oranının artması gücün azalmasına neden olmuştur. Yüksek CV_A /CV_I oranı ile genellikle %80'nin üzerindeki güce çok sayıda örnek ve birey ile erişilemediği, daha fazla sayıda tekrarın, ölçümlerin gücünde artma sağladığı görülmüştür (46).

Tablo- 5: Farklı CV_A /CV_I oranları için çeşitli örnek, birey ve tekrar sayılarından oluşan farklı çalışma modellerinde CV_I 'nin belirlenme gücü.

		<u>Analitik varyasyon / bireyiçi biyolojik varyasyon (CV_A / CV_I)</u>											
		<u>Tekrarlar</u>			<u>Tekrarlar</u>			<u>Tekrarlar</u>			<u>Tekrarlar</u>		
Toplam Bireyler	Örnekler	0.65	0.87	0.95	0.32	0.55	0.70	0.19	0.33	0.46	0.11	0.15	0.20
4	4	0.94	1.00	1.00	0.59	0.87	0.97	0.33	0.60	0.79	0.15	0.26	0.38
	6	0.99	1.00	1.00	0.76	0.97	1.00	0.44	0.76	0.92	0.18	0.34	0.51
	8	1.00	1.00	1.00	0.86	0.99	1.00	0.54	0.87	0.97	0.22	0.41	0.62
	10	1.00	1.00	1.00	0.92	1.00	1.00	0.63	0.93	0.99	0.25	0.49	0.71
15	2	0.80	0.96	0.99	0.43	0.69	0.84	0.24	0.41	0.58	0.12	0.19	0.26
	4	0.99	1.00	1.00	0.74	0.96	0.99	0.42	0.74	0.90	0.18	0.32	0.49
	6	1.00	1.00	1.00	0.89	1.00	1.00	0.57	0.89	0.98	0.23	0.45	0.65
	8	1.00	1.00	1.00	0.96	1.00	1.00	0.69	0.96	1.00	0.29	0.55	0.76
20	10	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	1.00	0.78	0.98	1.00	0.32	0.63	0.84
	2	0.88	0.98	1.00	0.51	0.79	0.91	0.28	0.51	0.67	0.14	0.22	0.31
	4	1.00	1.00	1.00	0.83	0.99	1.00	0.52	0.83	0.95	0.22	0.39	0.58
	6	1.00	1.00	1.00	0.95	1.00	1.00	0.68	0.96	1.00	0.28	0.53	0.75
8	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	1.00	0.79	0.99	1.00	0.34	0.65	0.85	
	10	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.88	1.00	1.00	0.39	0.74	0.92

Çalışmamızın başlangıcında toplam 20 birey, her bir bireyde 0., 7., 14., 21. günlerde elde edilen 4 örnek sayısı, aynı örnekte yapılan 2 tekrar sayısı şeklinde bir tasarım modeli ile yola çıkılmıştır. Böylelikle CV_I'yı her bir parametre için belirleme gücümüz 1.00 olacaktı. Ancak, kadın bireylerden birine ait 14. gün serumlarından belirgin hemoliz olması nedeniyle çalışma dışı bırakılmıştır. Cochran ve D/R ile aşırı uç örnekler atıldıktan sonra hesaplamalara dahil edilen birey sayısı TnI, MYG ve CK-MB için sırasıyla 17,17 ve 16'dır. CV_A/CV_I oranını her bir test için 1'den küçük olarak bulduk ve böylelikle tablo verileriyle karşılaştırıldığında çalışmamız için CV_I'nın belirlenme gücü 0.99'un üzerinde olduğu görülmektedir.

Troponinlerin BV ölçümleri önceleri ölçümlerin saptama sınırı (LOD, limit of detection) yetersiz olduğundan mümkün değilken yakın zamanda daha duyarlı Tn ölçümlerinin bulunması ile sağlıklı bireylerde Tn'nin kalp kasındaki tipik değişimini gerçekçi olarak yansıtan konsantrasyonlar saptanabilmiştir (179). Ancak, yüksek duyarlılıkları ölçümlerle bile sağlıklı bireylerin %15'den azında ölçülebilir değerler bulunduğundan, Tn'e ait BV veri bileşenlerinin elde edilemeyeceğini savunan görüşler de mevcuttur (180,181). Ayrıca yüksek duyarlılıkları Tn'ler henüz rutin olarak çok sık kullanılmamaktadır.

Biz de elimizde bulunan yüksek duyarlılıkları olmayan Architect i-Stat Tn kitini kullandık. Magdalena Krintus ve ark. yapmış olduğu yakın zamanlardaki bir çalışmada aynı firmaya ait yüksek duyarlılıkları Architect Stat hsTnI kiti Architect i-Stat TnI kiti ile karşılaştırılmış ve iki metod arasında cTnI'nın geniş konsantrasyon aralığında iyi bir korelasyon ($y=0.97X-10.2$; $r=0.97$) bulunduğu gözlemlenmiştir (182). 0.1-50 ng/mL arasındaki 1237 örnekte benzer şekilde ($y=0.94X-4.06$; $r=0.96$) uyumlu bulunmuş. Sadece 0.5 ng/mL altındaki değerlerde Passing-Bablok regresyon analizi 0.94'lük bir slop olduğunu göstermişler. 99. persentil eşik değerlerinin uyumu için hesaplama yapmışlar. Architect Stat hs-TnI (0.026 ng/mL) ve Architect i-Stat TnI ölçümü (0.028 ng/mL) arasındaki uyum κ istatistiği 0.89 alınarak %95 olarak bulunmuş. Sonuç olarak yüksek duyarlılıkta olmasa da mevcut çalışma kiti ile TnI için BV verileri elde ettik. Ancak 0.000 çıkan sonuçlarımızın sık olması

bazı güçlükler yarattı ve biz aynı sonuçlarla yüksek duyarlılıklı Tn kiti kullanırken de yaşayabileceğimizi düşünüyoruz

Referans aralıkları hesaplanırken TnI için çoğunlukla kadın ve erkekler arasında tabakalandırma yapılır. Kadınlar ve erkekler için her iki grubun kendi içinde benzer sonuçları olması nedeniyle ayrı olarak BV hesaplamaları yapamadık. Bugüne kadar yüksek duyarlılıklı Tn kitleriyle BV verileri elde etmek için yapılmış çalışmalarda da kadın ve erkek olarak ayrı ayrı hesaplama sonuçlarına rastlamadık.

Biz çalışmamızda cTnI için CV_I değerini %61.42 ve CV_G değerini ise %71.18 olarak hesapladık. Değerlerin birbirine yakın bulunması molekülün önemli ölçüde doğal varyasyona uğramadığı ve belirgin bireysel özellik taşımadığı şeklinde yorumlanabilir.

Klinisyenler hastaların rutin laboratuvar testlerini yorumlamak için birçok yaklaşım kullanırlar. Bunlar RA ve eşik değeri kullanma ya da iki ardışık sonuç arasındaki farkı yorumlamadır (183). Her analitte rastgele varyasyonların bu sonuçları etkilediği akılda tutulmalıdır (184). Laboratuvarda çalışılan analitlerin BV'sinin bilinmesi toplum temelli RA geliştirilip uygulanırken çok önemlidir. Bireylerin sağlık durumlarındaki değişiklikleri değerlendirmek için BV verilerinin kullanılması en iyisidir. Bunun nedeni birçok analitin anlamlı bireysellik göstermesidir (67). Bizim çalışmamızda TnI için RDD'yi %170.24 olarak hesapladık. Bireysellik indeksini 0.86 olarak bulduk. Bu bulgularımız bize TnI düzeyindeki değişimi yorumlamak için mevcut kit ile ölçümlerimizde topluma dayalı RA'nın kullanılabileceğini göstermiştir.

Son yıllarda cTn sonuçlarının akut göğüs ağrısı ile gelen bireylerde uygunluğunu göstermek için birçok rehber oluşturulmuştur. Bunlar ME evrensel tanımı (93) ve Ulusal Klinik Biyokimya Akademisi (National Academy of Clinical Biochemistry, NACB) laboratuvar pratik rehberini içermektedir (185) ve bu rehberler cTn, B-tip natriüretik peptid ya da N-terminal proB-tip natriüretik peptidin AKS ve kalp yetmezliği dışındaki nedenler için kullanımını (185), cTn ölçümünde I için Avrupa ve Amerika birliği oluşturulmasını (186) ve yakın zamanda akut kalp hastalıklarının

bakımında cTn ölçümünün kullanımını detaylandırmaktadır (187). Literatürde cTn üzerine bunlar ve birçok diğer rehber ve öneriler belli ölçüde farklılık gösterse de, genel olarak aşağıdaki konularda anlaşma sağlamışlardır:

- Bir bireydeki I yaklaşık olarak %5-7 ise seri ölçümlerde %20 değişim anlamlı kabul edilir.
- Analitik kalite sınıflamasında I referans toplumun 99. persentilin üzerindeki değerde \leq %10 CV olmalı ve $>$ %20 CV yanlış sınıflamaya neden olacağından kullanılmamalıdır.

ME evrensel tanımının kullanımını inceleyen çok önemli bir yayında da bu içeriklerin desteklendiği görülmektedir. \geq %20 cTnI'daki değişikliğin, cTnI artışının akut ve kronik nedenlerinden ayrılmasını ve hastaların doğru şekilde risk sınıflamasını sağladığını gösterilmiştir (188). Aldous ve ark. cTnI için yapmış oldukları çalışma da bu görüşü destekler niteliktedir (189). Ancak, farklı görüşlerde yer almaktadır. Örneğin Apple ve ark. (190) cTnI için $>$ %30'luk değişiminin kullanılmasının AKS semptomları ile başvuran hastalarda başlangıçtaki ve takiplerdeki konsantrasyona ek olarak hem özgüllüğü, hem de ve risk ölçümünü geliştirdiğini belirlemişlerdir.

Hem Apple ve ark. (190), hem de Aldous ve ark. (189)'nın kullandıkları bu delta eşik değerleri analitlerin RDD'nin altındaydı. Çünkü cTn'nin seri ölçümlerindeki değişimler sadece I sonucu oluşmaz. Farklılıklar pre-analitik varyasyon, CV_A ve CV_I 'ya bağlı oluşmaktadır. CV_A ve CV_I üzerine bilgiler de hesaba katılmalıdır. CV_A dağılımı referans ya da karar sınırlarına karşı klinik sınıflama geliştirebilmek için düşük tutulmalıdır. CV_A ve BV verilerinin en önemli kullanım alanlarından biri de bir bireydeki seri ölçümlerdeki farkın anlamlılığını belirlemektir. Keller ve ark. BV çalışmalarının sonuçlarından elde ettikleri verilerle pozitif prediktif değeri (PPD)'i %66'dan 93'e çıkararak %82'lik bir RDD, ancak PPD'i %96.5'e çıkardıklarında %266 olan RDD elde etmişlerdir (191).

Tablo-41'de cTn üzerine yapılmış olan ilk çalışmalar görülmektedir. Wu ve ark. (170) TnI için kısa ve uzun dönem BV bileşenlerini hesaplamışlardır. Benzer şekilde aynı zaman aralıkları ile Vasile ve ark. (173) TnT için BV çalışması yapmışlardır. Her iki çalışmada da kısa dönem

değişiklikleri hesaplayabilmek için örnekler 0-4 saatlik zaman aralığında, uzun dönem için ise 0-8 haftalık zaman aralığında alınmıştır. Bu konuda farklı kabuller de mevcuttur. Frankenstein ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada haftalara dayanan zaman aralığını orta dönem, aylara dayanan zaman aralığını ise uzun dönem kabul etmişlerdir (192). Biz kendi çalışmamızdan da yola çıkarak haftalık dönemleri orta dönem olarak değerlendirmenin daha doğru olacağını düşünüyoruz. Aşağıdaki Tablo 41'de her iki çalışmacının bulguları yer almaktadır.

Tablo-41: cTnl (170) ve cTnT (173) için yapılmış kısa ve uzun dönem çalışmaları.

	0-4 saat (Kısa dönem)		0-8 hafta (Uzun dönem)	
	cTnT (173)	cTnl (170)	cTnT (173)	cTnl (170)
Troponin				
CV _A (%)	53.5	8.3	98.0	15.0
CV _I (%)	48.2	9.7	94.0	14.0
CV _G (%)	85.9	57.0	94.0	63.0
BI	0.84	0.21	1.4	0.39
RDD (% artış)	84.6	46.0	315.0	81.0

Wu ve ark. çalışmalarını Singulex cTnl kitini kullanarak sağlıklı bireylerde gerçekleştirmişlerdir (170). Gerek CV_I ve CV_G değerlerini kısa dönem sonuçlarında uzun döneme göre düşük bulmuşlar. Bu bulguları, cTn'ler açısından kalpte meydana gelebilecek değişikliklerin oluşabilmesi için daha uzun zaman (hafta-hafta) geçmesi gerektiğini düşündürmektedir. Bu durumda bizim çalışmamızda kısa dönem varyasyonu değil, çalışmacıların tanımladığı şekliyle uzun dönem varyasyonu incelemiş olmamız kişide meydana gelebilecek değişiklikleri saptamakta daha faydalı olduğu sonucuna vardık. Aynı çalışmada CV_I ve BI değerleri kısa ve uzun dönem olarak fark etmemiş ve her ikisinde de düşük bulunmuş. CV_I değerleri küçükken CV_G değerleri büyük bulunmuş ve BI değerleri kısa dönem için 0.24, uzun dönem için 0.36 olarak elde edilmiş. Sonuç olarak, Wu ve ark.'nın bulgularına göre herhangi bir sağlıklı kişide bulunan cTnl değerleri referans toplumun küçük bir bölümünü kapsamaktadır. Kişilerde kendilerinde alışık olunmadık şekilde

yüksek değerler görülebilir, ancak bu değerler halen RA içinde ve toplum temelli klinik karar verme noktasının altında yer alabilmektedir. Bu tür değerler ne klinisyen ne de laboratuvar tarafından anlamlı kabul edilmeyecektir. Bu RDD'nin bir bireydeki seri sonuçları saptamada daha iyi olmasının nedenidir. Kısaca uzun dönem risk sınıflamasında, tek bir test sonucunun %99. persentili yakalamasından ziyade seri test etmenin kardiyak yan etkilerin değerlendirilmesinde önemli olduğunu göstermişlerdir. Aynı zamanda 99. persentil eşiğini sağlayan değeri olan bir hasta akut kalp hastalıkları için risk altında olabilir. Örneğin bir bireydeki Tn düzeyinde 10 kat artış normal aralıkta olabilir, ancak hastada kardiyovasküler risk açısından anlamlı olabilir. cTn'lerdeki değişikliklerin gözlemlenmesi üzerine yazılmış olan bir makalede de bu kavram üzerinde durulmuştur (193). Ancak Wu ve ark. BI değerini uzun dönem için 0.39 olarak bulmuş olmaları bizim çalışmamızda elde ettiğimiz BI değeri olan 0.86 ile uyuşmamaktadır. Bunun nedeni kullandığımız kitin yüksek duyarlılıkta olmaması olabilir.

Wu ve ark.'nın (170) çalışmasındaki verilerden RDD hesaplanabilir; %95 olasılıkla kısa dönem değişikliği $RDD = Z * 2^{1/2} * (CV_A^2 + CV_I^2)$ formülünden yola çıkarak $1.96 * 2^{1/2} * (8.32 + 9.72) = \%35.4$ ve uzun dönem için %56.9 hesaplayabiliriz. CV_I değerini de içerdiğinden anlamlı değişiklik sadece I üzerine rehberlerde önerilen %20 değerinden daha fazladır. Bu yönüyle bizim çalışmamızla örtüşmektedir. Wu ve ark. (170) cTnI için elde ettikleri verilerin dağılımını hafif sağa eğik olarak bulmuşlar ve Fokkema ve ark. (194) tarif ettiği gibi formülle log-normal yaklaşım kullanarak RDD hesaplamışlar. Artış için RDD %46, azalış için -%32 bulmuşlar. Ancak bu yaklaşımın hem CV_I, hem de CV_A'yı içeren log-normale dönüştürülmemiş verilere göre bir takım dezavantajları olup RDD üzerine I'nın etkisini göstermeyi zorlaştırmaktadır. Bizim çalışmamız normal (Gaussian) dağılım gösterdiğinden RDD log-normal olarak hesaplama gereği kalmamıştır.

Vasile ve ark. (173) BV ölçümlerini hs-cTnT kullanarak yapmışlardır. Bu çalışmada da BV veri sonuçlarında yine eğiklik olduğundan log-normal yaklaşımla RDD hesaplanmış ve kısa dönem için RDD'i %58 ve -%57.5; uzun dönem için %103.4 ve -%87 bulmuşlar. Bu çalışma ve Wu ve ark.'nın

yapmış oldukları çalışma cTn ölçüm sonuçlarının değişen paternde kullanımı için gerekli kavramsal yapıların geliştirilmesini başlatmıştır. Vasile ve ark. (173)'ninkine benzer çalışma BV verileri için hs-cTn Elecsys 2010 ve E170 (Roche Diagnostics) ile gösterilmiştir ve RDD sırasıyla kısa dönem için (log-normal artış) sırasıyla %64 ve %90, uzun dönem %138 ve %135 bulunmuştur (192). Bizim çalışmamızın bulguları cTnT için yapılmış olan bu çalışmalardakilere benzerlik göstermektedir. Buradaki yüksek değerler biyolojik varyasyondan ziyade düşük konsantrasyonlardaki yüksek l'nın yansımaları olabilir.

BV verilerinin cTnT ve cTnI'nın neden farklı olduğu net değildir. Çünkü ikisi de hasar olduğunda birlikte salınmaktadır. Ancak ikisinin de farklı mekanizmalar ile salınmakta olduğu ve BV verilerinin uygulanabilir olmadığı düşünülebilir.

Nordenskjold ve ark. stabil koroner hastalığı olan bireylerde kısa dönem BV ölçmüşler ve cTnT için BI değerini 0.12 cTnI için BI değerini 0.08 bularak bireysellikleri arasında anlamlı fark olmadığını ifade etmişlerdir. Aynı zamanda cTnI için BV verilerinin tüm bireylerde sağlıklı bireylerde bulunduğu gibi kullanılabileceğine karar vermişlerdir (174). Yakın zamanlarda hemodiyaliz hastalarında diyaliz yapılmayan bir günde ve sağlıklı kontrollerde haftalık ve 90.dakikada cTnI ve cTnT'nin BV'sinin incelendiği bir çalışma yapılmıştır (195). Sağlıklı bireylerle hemodiyaliz hastaları arasında her iki analit için oldukça benzer CV_I sonuçları elde etmişler. Buna rağmen RDD ve BI farklı bulunmuştur ve bu farklılığın CV_A'dan kaynaklandığını düşünmüşlerdir. Bu çalışmalardan yola çıkarak bizim çalışmamızı sağlıklı bireyler üzerinden yapmamızın yeterli olduğunu düşünmekteyiz.

Tablo-42'de cTn'ler için yapılmış farklı çalışmalar, bu çalışmalarda kullanılan cihazlar, çalışmanın süreci ile birlikte elde edilen BV bileşenlerinin bizim çalışmamızla kıyaslanması görülmektedir. Sadece Golberg ve ark. yapmış oldukları çalışmada örnekler hem plazma, hem de serumda çalışılırken, diğerleri serumda çalışılmıştır. Tablo-42'de da görüldüğü gibi Goldberg ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada CV_A değeri plazmada %16.8 ve serumda %16.9 olup benzer bulunmuştur. CV_I değerini plazmada %24.4

serumda 37,1 bulmuşlar. CV_G değerini ise plazmada %124 serumda ise %179.2 olarak elde etmişler. Serumda daha yüksek değerler elde edilmiş olmasına rağmen plazma için BI 0.23 ve serum için BI 0.24 olup her ikisi için benzer bulmuşlar. Buradan çalışmamızda serum örneklerini kullanmış olmamızın çalışmamızın sonuçlarını etkilemediğini düşünüyoruz.

Tablo-42: Kısa ve uzun dönem cTn ölçümlerine ait biyolojik BV bileşenleri.

Kısa dönem								
Kit	CV_A (%)	CV_I (%)	CV_G (%)	BI	RDD (%)	RDD* (%, +)	RDD* (%, -)	Referans
cTnI								
Abott Architect i2000 SR	13.8	15.2	70.5	0.22	50.1	69.3	-40.9	172
Beckman Coulter	14.5	6.1	34.8	0.46	44.5	63.8	-38.9	172
Siemens Dimension Vista	13.0	12.9	12.3	0.11	47	57.5	-36.5	172
Abbott Architect Stat (plazma)	16.8	24.4	124	0.24	82	-	-	196
Abbott Architect Stat (serum)	16.9	37.1	179.2	0.23	113	-	-	196
Erenna Immünoassay sistem (Singuleks)	8.3	9.7	57.0	0.21	-	46	-32	170
Beckman Coulter hs-TnI	3.5	3.4	45.3	0.1	-	45.2	-15.8	171
Abott Architect STAT hs-TnI	8.0	13.5	187	0.08	49	54	-35	174
cTnT								
Roche E170	7.8	15.0	-	-	47	64	-39	192
Roche Elecsys 2010	9.7	21	-	-	62	90	-47	192
Roche Modular E170	53.5	48.2	85.9	0.84	U	84.6	-	173
Elecsys hs-TnT	4.0	7.3	70.0	0.12	23.0	26.0	-21	174
Uzun dönem								
cTnI								
Abbott Architect Stat (serum)	16.8	80.4	124	0.66	228	-	-	196
Abbott Architect Stat (plazma)	16.9	117	179.2	0.66	328	-	-	196
Beckman Coulter hs-TnI	2.7	2.6	41.6	0.1	-	14	-10.6	171
Singulex	15	28	71	0.45	-	98	-49	170
Abott Architect STAT hs-TnI	8.0	23.6	163	0.15	69.0	97.0	-49	174
Abott Architect STAT TnI	1.38	61.42	71.18	0.86	170.24	-	-	Bu çalışma
cTnT								
Roche E170	7.8	31.0	-	-	87	138	-58	192
Elecsys 2010	9.7	30	-	-	86	135	-58	192
Modular E170	98	94	94	1.4	-	315	-	173
Elecsys hs-TnT	4	10.7	65	0.18	32	37	-27	174
*lognormal hesaplama yapıldığında artış(+) ve azalış (-)								

Tablo-42'de görüldüğü gibi yapılan çalışmalarda cTnI için kısa dönem CV_A değerleri % 3.5-16.9 değerleri arasında uzun dönem CV_A değerleri %2.7-16.9 arasında bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise CV_A değerini 1.383 bulduk. Bu değer rehberlerde önerilen $\leq 10\%$ CV koşulunu sağlamaktadır. Tablo-42'de gösterilen TnI için CV_I değerleri kısa dönem %3.4-37.1 arasında iken uzun dönem CV_I değerleri %2.6-80.4 arasında bulunmuş. Bizim çalışmamızda CV_I değerini %61.42 olarak elde ettik ve uzun dönem için bulunmuş değerlerle aynı aralıkta yer almaktadır. Tablo-42'de belirtilen TnI için CV_G kısa dönem değerleri %179.2-12.3, uzun dönem CV_G değerleri %179.2-41.6 arasındadır. Bizim elde ettiğimiz CV_G değeri %71.18 olup uzun dönem için yapılmış çalışmalarla aynı aralıkta yer almaktadır. Kısa dönem olarak yapılmış tüm çalışmalarda ve uzun dönem yapılmış çalışmaların çoğunda BI 0.6'nın altında bulunmuştur ve bu haliyle bireysel RA'nın kullanılmasının uygun olacağı şeklinde yorum yapılabilir. Sadece Goldberg ve ark.'nın (196) yapmış olduğu çalışmada (plazma, serum) BI > 0.6 bulunmuş olup bu şekliyle bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir. Tablo-42'de kısa dönem RDD'nin %44.5-113 uzun dönem RDD'nin ise %69-328 arasında değiştiği görülmektedir. Hem bu çalışmalar, hem de bizim çalışmamız gerek kısa gerekse uzun dönem için rehberlerin önerdiği değişimin >%20 anlamlı kabul edilmesi gerekliliğini sağlamamaktadır.

Tablo-42'de görüldüğü gibi cTnT için yapılmış çalışmalarda da cTnI'da olduğu gibi hem kısa dönem, hem de uzun dönem değerlerinin de çeşitli çalışmalarda farklı bulunduğu görülmektedir. Bizim çalışmamız dışındaki çalışmaların yüksek duyarlılıkta kitlerle yapılmış olmasına rağmen bulguların farklı olması belki de cTn için BV verilerinin tam olarak elde edilemeyeceğini gösteriyor olabilir.

Tablo-43'te bizimle aynı markaya ait yüksek duyarlılıklı TnI kiti kullanılarak yapılmış çalışmalar ve bu çalışmalara ait BV bileşenleri ile bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz BV bileşenleri görülmektedir.

Tablo-43: Architect marka cTn kiti kullanılarak yapılan çalışmalar.

	Simpson ve ark. (197)	Koerbin ve ark. (198)	Nordenskjold ve ark. (174)	Nordenskjold ve ark. (174)	Apple ve Collinson (172)	Golberg ve ark. (196)	Goldberg ve ark. (196)	Bu Çalışma
Zaman aralığı	Kısa (saat)	Uzun (yıl)	Kısa (saat)	Uzun (gün)	Kısa (saat)	Kısa (saat)	Uzun (gün)	Orta (hafta)
Örnek	plazma	plazma	plazma	plazma	serum	serum	serum	serum
Birey sayısı	283	453	23	23	12	24	24	17
CV _A (%)	8.5	5.6	8	8	13.8	16.8	16.8	1.383
CV _I (%)	14	33	14	24	15	24	80	61.42
CV _G (%)	84	106	187	163	71	124	124	71.18
BI	0.17	0.36	0.08	0.15	0.22	0.24	0.66	0.86
RDD % lognormal+	56	72	54	97	69	-	-	-
RDD % lognormal -	-36	-42	-35	-49	-41	-	-	-
RDD %	45	67	49	69	50	82	228	170,24

Tablo-43'da görüldüğü gibi en düşük CV_A değeri bizim çalışmamızda elde edilmiştir. Daha önce belirttiğimiz BV bileşenleri için bulgularımızın çoğunlukla Goldberg ve ark.'nın çalışmasıyla uyumlu olduğu görünmektedir.

Aşağıdaki Tablo-44'te erken dönem kardiyak belirteçleriyle yapılmış çalışmaları ve BV bileşenlerini göstermektedir.

Tablo-44:Erken Dönem Kardiyak Belirteçlerin BV Bileşenleri.

Belirteç	CV _A (%)	CV _I (%)	CV _G (%)	BI	RDD (%)	Süre	Referans
CK	14	22	42	0.52	72.2	gün	124
CK-MB(aktivite)	29	4.9	14	0.35	81.8	gün	124
CK-MB (kütle)	6.8	18	61	0.30	54.4	gün	124
Miyogloblin	13	18	47	0.38	61.42	gün	124
Miyogloblin	6.0	11	14	0.8	35	hafta	123
cTnl	15	14	63	0.39	-	hafta	170
CK-MB (kütle)	3.662	21.1	46.6	0.45	58.48	hafta	Bu çalışma
Miyogloblin	1.61	4.79	39.9	0.12	13.27	hafta	Bu çalışma
cTnl	1.383	61.42	71.18	0.86	170.24	hafta	Bu çalışma

Bizim çalışmamızla MYG ve CK-MB ölçümleri için BV bileşenlerinin diğer çalışmalarla benzerlik gösterdiğini ve CV_I değerlerine göre oldukça geniş CV_G değerine sahip olduğunu bu nedenle yüksek bireysellik gösterdiğini görmekteyiz. Ancak MYG için bulgularımız Panteghini ve ark.'nın

yapmış olduğu çalışma ile benzerlik göstermemektedir (123). Bu fark hasta sayılarının bizim çalışmamızdan daha az olmasından (5 erkek ve 5 kadın) ve otomatize edilmiş flurojenik ELİSA gibi farklı analiz yöntemlerinin kullanılmış olmasından kaynaklanıyor olabilir. Tablo-45'de Anesi ve ark.'nın MYG için 6 hafta boyunca bireyleri genç, yaşlı, kadın ve erkek olarak sınıflayarak yapmış oldukları çalışmanın bizim çalışmamızla karşılaştırması görülmektedir (125).

Tablo-45: Anesi ve ark.'nın MYG için yapmış oldukları çalışmanın bizim çalışmamızla kıyaslanması.

MYG	CV _A (%)	CV _I (%)	CV _G (%)	BI	RDD(%)	Referans
Yaşlı erkek	2.2	13	37.6	0.34	36	125
Yaşlı kadın	2.2	9.9	28	0.35	28	125
Genç erkek	2.2	12.4	18.5	0.67	34	125
Genç kadın	2.2	9.6	13.4	0.71	27.2	125
Kadın	1.6	11.2	10.5	1.06	31.04	Bu çalışma
Erkek	1.6	19.12	19.12	1.09	53	Bu çalışma

Çalışmamızda bireyleri kadın ve erkek olarak iki ayrı grupta sınıfladık, ancak yaşlara göre sınıflama yapmadık. Yaptığımız çalışmada tüm grup için topluma dayalı RA'nın kullanılamayacağını, ancak kadın ve erkek olarak ayrı ayrı oluşturulmuş gruplar halinde değerlendirildiğinde RA'nın kullanılabileceğini bulduk. Ancak bu sonucumuz Anesi ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmaya uymamaktadır (125). Bunun nedeni cinsiyetleri yaşa göre genç ve yaşlı olarak hesaplama yapmış olmaları ve tüm yaş grubunda kadın ve erkek olarak sınıflama yapmamış olmalarından kaynaklanıyor olabilir.

Çalışmamızda CK-MB kütle için tüm grupta BI değerini 0.45 olarak bulduk. Kadınlarda BI değeri 1.13 ve erkeklerde bu değer 1.02'ydi. Buradan topluma dayalı RA'yı kullanmanın uygun olmadığını ve cinsiyetlere göre tabakalandırma yapılmış RA'nın kullanılmasının daha uygun olacağını düşünüyoruz.

Klinik laboratuvarlarda kullanılan testler için performans hedefleri I, B ve TE olarak geliştirilmiştir. TE için, bütün hata kaynakları birleşiminin kabul edilebilir sınırlar içinde yer alması hedeflenmektedir. Bu ise klinisyen açısından ideal olanıdır. Çünkü TE'ye hangi kaynağın yol açtığına

bakılmaksızın yanlış sunulmuş bir laboratuvar raporu istenmeyen sonuçlar doğuracaktır (199). Elde ettiğimiz BV verileri (CV_I ve CV_G) kullanılarak Tnl, MYG ve CK-MB test performansı için analitik kalite özellikleri hesaplanmıştır. Kullandığımız yöntem ile sırasıyla TE_{max} Tnl için %74.18, MYG için %14.01 ve CK-MB için %30.20 olarak bulunmuştur. B_{max} değerleri ise Tnl için %23.5, MYG için %10.06 ve CK-MB için %12.79 olarak elde edilmiştir. CLIA 88 $B < 0.33 \times TE$ olarak önermişlerdir (200). Bulunan TE_{max} değerleri formülde yerine konularak önerilere göre hesaplama yaptığımızda Tnl için $0.33 \times 74.18 = 24.47$, MYG için $0.33 \times 14.01 = 4.62$ ve CK-MB için $0.33 \times 30.20 = 9.96$ değerlerini elde ederiz. Bu hesaplamalar analitik kalite hedeflerinin Tnl için az miktarda aşıldığını gösterirken, MYG ve CK-MB için ise önerilen düzeylerde dir. I_{max} değerini ise Tnl için %30.71, MYG için %2.4 ve CK-MB için %10.55 olarak elde ettik.

Tablo-46'da Westgard'ın web sitesinde yer alan BV verilerinin içinden cTnl, MYG ve CK-MB için sunulmuş değerlerle bizim verilerimizin karşılaştırması yer almaktadır. Westgard'ın web sitesindeki verilerle kıyaslandığında çalışmamızdaki cTnl için TE_{max} değerini yüksek, MYG ve CK-MB için ise TE_{max} değerlerini benzer bulduk. I_{max} değerlerini MYG için Westgard'ın web sitesindeki verilere göre daha düşük, Tnl için daha yüksek olarak elde ettik. CK-MB için ise bulunan I_{max} değerleri benzerdi.

Tablo-46: BV verilerimizin Westgard'ın web sitesi ile karşılaştırılması.

Matriks	Analit	CV_I (%)	CV_G (%)	BI (%)	B (%)	TE (%)	Referans
Serum	Miyoglobin	13.9	29.6	7.0	8.2	19.6	56
Serum	CK-MB (kütle)	18.4	61.2	9.2	14.88	30.06	56
Serum	Tnl	14.05	63.75	7.03	16.32	27.91	56
Plazma	Tnl	37.1	179.2	18.55	45.75	76.36	56
Serum	Miyoglobin	4.79	39.9	2.4	10.06	12.79	Bu çalışma
Serum	CK-MB(kütle)	21.1	46.6	10.55	12.79	30.20	Bu çalışma
Serum	Tnl	61.42	71.18	30.71	23.5	74.18	Bu çalışma

Sonuç olarak BV verileri rutin laboratuvarlarda analitik kalite hedeflerinin saptanabilmesi, topluma dayalı RA'nın kullanımının yararlığının tespit edilebilmesi ve ardışık ölçümler arasındaki farkın öneminin belirlenmesi açısından önemlidir. AKS erken tanısı için günümüzde halen kullanılması önerilen TnI, MYG ve CK-MB için sağlıklı bireyler üzerinden orta dönem BV verilerini hesapladık. Bu parametrelerden TnI için düşük bireysellikte beraber topluma dayalı RA'nın kullanılabileceği sonucuna vardık. Sadece 9 birey dışında 0.000 olan değerler elde ettiğimizden cinsiyetlere göre ayrı ayrı hesaplamalar yapamadık. Bununla beraber seri ölçümler arasındaki farkın anlamlılığını ölçmek için hesapladığımız RDD'nin özellikle akut olaylarda kullanılamayacağı sonucuna vardık. TnI için BV verilerini elde etmenin dolaşımaki düzeylerinin tam ve doğru olarak ölçülmesiyle mümkün olabileceğini düşünmekteyiz. MYG ve CK-MB için ise kadın ve erkek olarak tabakalandırma yapılarak RA'nın kullanımının yararlılığını artıracak ve RDD'nin bu parametreler için kullanılabileceğini düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

1. Lindstedt G, Tryding N. There is difference between decision limits and reference intervals. Reference intervals are based on measurements in healthy individuals, decision limits on measurements in patients. *Lakartidningen* 2007;104:2076-9.
2. Sikaris K. Application of the stockholm hierarchy to defining the quality of reference intervals and clinical decision limits. *Clin Biochem Rev* 2012;33:141-8.
3. Petersen PH, Jensen EA, Brandslund I. Analytical performance, reference values and decision limits. A need to differentiate between reference intervals and decision limits and to define analytical quality specifications. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:819-31.
4. Boyd JC. Defining laboratory reference values and decision limits: populations, intervals, and interpretations. *Asian J Androl* 2010;12:83-90.
5. Ceriotti F, Henny J. Are my laboratory results normal? Considerations to be made concerning reference intervals and decision limits. *eJIFCC* 2008;19:1-96.
6. Sikaris KA. Physiology and its importance for reference intervals. *Clin Biochem Rev.* 2014;35(1):3-14.
7. Ceriotti F, Hinzmann R, Panteghini M. Reference intervals: the way forward. *Ann Clin Biochem* 2009;46:8-17.
8. Aslan D. Tıbbi Laboratuvar Performansının Kanıtlanması Kursu Kitabı (olguya dayalı) İzmir. Türk Biyokimya Derneği Yayınları, İzmir, 2015.
9. Siest G. Study of reference values and biological variation: a necessity and a model for Preventive Medicine Centers. *Clin Chem Lab Med* 2004;42(7):810-6.
10. Güner G, Tuncel P, Örmen M. Preanalitik evrede kalite yönetimi. In: Tıbbi Laboratuvarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi. Tağa Y, Aslan D, Güner G, Kutay ZF (Ed). Ankara: Türk Biyokimya Derneği Yayınları, 2000;139-49.
11. Young DS, Bermes 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.
12. Young DS. Conveying the importance of the preanalytical phase. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:884-7.
13. Burnett D. Understanding accreditation in laboratory medicine. London: ACB Venture Publications, 1996.
14. Aslan D (editör). Kalite Yönetimi içinde: Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler*, 5.baskıdan çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara 2005;285-97.

15. Franzini C. Relevance of analytical and biological variations to quality and interpretation of test results: examples of application of haematology. *Ann. Ist. Super. Sanita*, 1995;1:9-13.
16. Peterson PH, Fraser CG, Kallner A, Kenny D. Editors: strategies to set global quality specifications in laboratory medicine. Proceedings of a international consensus conference in which guidelines incorporating within-subject variation were developed. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59(7): 475- 585.
17. Fierdoz Omar, MB ChB, MMed (Chem Path), FCPATH (Chem). Essential laboratory knowledge for the clinician Laboratory testing forms an integral part of patient management. *CME* 2012 ;30(7):244-8.
18. Aslan D (editör). Yöntemlerin değerlendirilmesi-İstatistiksel Tekniklere Giriş. İçinde: Burtis CA, Ashwood ER. Tietz klinik kimyada temel ilkeler (beşinci baskıdan çeviri) .Palme Yayıncılık, Ankara, 2005;234-49.
19. Fraser CG. Inherent biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med.* 2004;42(7):758-64.
20. Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1989;27(5):409-37.
21. Ricos C, Alvarez V, Cava F, et al. Current databases on biological variation: Pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59:491- 500.
22. Fraser CG. Biological variation: from principles to practice. AACC Press, 6th ed. Washington, 2001
23. Siest G, Henny J, Schiele F. *Interpretation des Examens de Laboratoire*, Basel, Karger, 1981.
24. Aslan D (editör). Örnek toplama ve Analiz öncesi değişkenler. İçinde: Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler, 5.baskıdan çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara 2005; 49-54.
25. Wilding P, Rollason JG, Robinson D. Pattern of change for various biochemical constituents detected in well-population screening. *Clin Chem Acta* 1972;41:375-87.
26. Solberg HE, Gra'sbeck R. Reference values. *Adv Clin Chem* 1989;27:1-79.
27. Meites S. *Pediatric clinical chemistry reference (normal) values*, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1989.
28. Faulkner WR, Meites S, editors. *Geriatric clinical chemistry reference values*. Washington, DC: AACC Press, 1994.
29. Winkel P, Statland BE, Bokelund H. The effects of time of venipuncture on variation of serum constituents. *Am J Clin Pathol* 1975; 64:433-47.
30. Young DS: *Effects of drugs on clinical laboratory tests*, 2nd edition, Washington, DC, AAAC Press, 1997.
31. Yen SCC, Vela P, Ramkin J, Littel AS. Hormonal relationship during the menstrual cycle. *JAMA* 1970;211:1513.

32. Stamp TCB, Round J.M. Seasonal changes in human plasma levels of 25-hydroxyvitamin D. *Nature* 1974;247:563-5.
33. Buxtorf JC, Baudet MF, Martin C, Richard JL, Jacotot B. Seasonal variations of serum lipids and apoproteins. *Ann Nutr Metab* 1988;32:68-74.
34. Maguire GA, Edwards OM. Seasonal variation in glycated haemoglobin in diabetics. *Ann Clin Biochem* 2001;38:59-60.
35. Ricos C, Arbos MA. Quality goals for hormone testing. *Ann Clin Biochem* 1990;8:353-8.
36. Williams RJ. *Biochemical individuality*. Austin: University of Texas, 1956.
37. Caudill SP, Boone DJ. Analytical variance and definition of a reference change as a function of calcium concentration. *Clin Chem* 1986; 32: 308-13.
38. Schmeider AJ. Some thoughts on normal, or standard, values in clinical medicine. *Pediatrics* 1960; 26: 973-84.
39. Ricos C, Iglesias N, Garcia-Lario JV, et al. Within-subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences. *Ann Clin Biochem* 2007;44(4): 343- 52.
40. Sottas PE, Kapke GF, Vesterquist O, Leroux JM. Patient-specific measures of a biomarker for the generation of individual reference intervals: hemoglobin as example. *Translation Research* 2011;158(6);360-8.
41. Cox DR, Solomon PJ. *Components of variance*. Boca Raton, FL: Chapman and Hall/CRC, 2003.
42. Fraser CG. Improved monitoring of differences in serial laboratory results. *Clin Chem* 2011;57(12): 1635-7.
43. Harris EK, Yasaka T. On the calculation of a 'reference change' for comparing two consecutive measurements. *Clin Chem* 1983;29: 25-30.
44. Fraser CG, Cummings ST, Wilkinson SP, Neville RG. Biological variation of 26 clinical chemistry analytes in elderly people. *Clin Chem* 1989;35:783-6.
45. Ricós C, Álvarez V, Garía-Lario JV, et al. Current databases on BV: pros, cons and progress. In: Hyltoft Petersen P, Fraser CG, Kallner A, Kenny D. *Scan J Clin Lab Invest* 1999; 59,7:491-500.
46. Roraas T, Peterson PH, Sandberg S. Confidence Intervals and Power Calculations for Within-Person Biological Variation: Effect of Analytical Imprecision Number of Replicates, Number of Samples, and Number of Individuals. *Clinical Chemistry* 2012;58(9): 1306-13.
47. Biosca C, Ricós C, Jiménez CV, Lauzurica R, Galimany R. Model for establishing biological variation in non-healthy: renal posttransplantation. *Clin Chem* 1997;43:2206-8.
48. Biosca C, Ricós C, Jiménez CV, Lauzurica R, Galimany R. Are equally spaced collections necessary to assess biological variation? Evidence from renal transplant recipients. *Clin Chim Acta* 2000;301:79-85.

49. Cotlove E, Harris EK, Williams GZ. Biological and analytic components of variation in long term studies of serum constituents in normal subjects. 3. Physiological and medical implications. *Clin Chem* 1970;16(12):1028-32.
50. Costongs G, Janson PCW, BAS BM. Short-Term and Long-Term Intra- Individual Variations and Critical Differences of Clinical Chemical Laborator Parametres. *Clin Chem Clin Biochem* 1985; 23: 7-16.
51. Soldberg HE. Subject-based reference values. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 1995; 222: 7-10.
52. Anscombe FJ. The Validity of Comparative Experiments. *Journal of the Royal Statistical Society. Series A (General)* 1995;111(3):181-211.
53. Skendzell LP. How physicians use laboratory tests. *J Am Med Assoc* 1978; 239: 1077- 80.
54. Skendzell LP, Barnett RN, Platt R. Medically useful criteria for analytic performance of laboratory tests. *Am J Clin Pathol* 1985; 83: 200-5.
55. Ricos C, Garcia-Lario JV, Alvarez V, Caval F. Biological variation database, and quality specifications for imprecision, bias and total error (desirable and minimum). The 2004 update. [http:// www.westgard.com /guest26.html](http://www.westgard.com/guest26.html).
56. Ricos C, Garcia-Lario JV, Alvarez V, Caval F. Biological variation database, and quality specifications for imprecision, bias and total error (desirable and minimum). The 2014 update. <http://www.westgard.com/biodatabase-2014-update.html>
57. Peterson PH, Blaabjerg O, Irjala K, Icena A, Bjoro K. Elements of analytical quality. *Uppsala J Med Sci* 1994;99: 19- 39.
58. Franzini C. Relevance of analytical and biological variations to quality and interpretation of test results: examples of application to haematology. *Ann Ist Super Sanita* 1995; 31(1): 9- 13.
59. Fraser CG. Test result variation and the quality of evidence-based clinical guidelines. *Clinica Chimica Acta* 2004;346:19-24.
60. National Cholesterol Education Program Laboratory Standardization Panel. Current status of blood cholesterol measurement in clinical laboratories in the United States. *Clin Chem* 1988;34:193-220.
61. Lacher DA, Hughes JP, Carroll MD. Estimate of biological variation of laboratory analytes based on the third national health and nutrition examination survey. *Clin Chem*. 2005; 51(2):450-2.
62. Fraser CG, Hyltoft Petersen P. The importance of imprecision. *Ann Clin Biochem* 1991;28:207- 11.
63. Fraser CG. Optimum analytical performance for point of care testing. *Clin Chem Acta* 2001;307;37-43.
64. Fraser CG, Hyltoft Peterson P, Libeer JC, Ricos C. Proposals for setting generally applicable quality goals solely based on biology. *Ann Clin Biochem* 1997;34;8-12.

65. Aslan D. Klinik Laboratuvarlarda Analitik Kalite Yönetimi Kurs Kitabı (olguya dayalı) İzmir, Türk Biyokimya Derneği Yayınları, İzmir, sayfa 7- 15, 2010.
66. Scottish Intercollegiate Guidelines Network. Lipids and the primary prevention of coronary heart disease Edinburg: SIGN;1999
67. Ricós C, Perich C, Minchinela J, et al. Application of biological variation - a review. *Biochemia Medica* 2009;19(3):250-9.
68. Harris EK. Some theory of reference values. II. Comparison of some statistical models of intraindividual variation in blood constituents. *Clin Chem* 1976;22:1343-50.
69. Harris EK. Statistical aspects of reference values in clinical pathology. *Prog Clin Pathol* 1981;8:45-66.
70. Harris EK. Effects of intra- and interindividual variation on the appropriate use of normal ranges. *Clin Chem* 1974;20:1535-42.
71. Walton RM. Subject-based reference values: biological variation, individuality, and reference change values *Vet Clin Pathol* 2012;41(2):175-81.
72. Solberg HE. Subject-based reference values. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 1995;222:7-10.
73. Harris EK, Yasaka T. On the calculation of a “ reference change ’ for comparing two consecutive measurements. *Clin Chem* 1983;29:25-30.
74. Plebani M, Lippi G. Biological variation and reference change values: an essential piece of the puzzle of laboratory testing. *Clin Chem Lab Med* 2012;50(2):189-90.
75. Glantz SA. *Primer of Biostatistics*. 3rd ed. New York: McGraw-Hill Medical Pub Division, p: 440, 1992.
76. Iglesias N, Peterson PH, Jensen E, Ricos C, Joergensen P. Reference change values and power functions. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:415- 22.
77. Iglesias N, Petersen PH, Ricos C. Power function of the reference change value in relation to cut-off points, reference intervals and index of individuality. *Clin Chem Lab Med* 2005;43:441-48.
78. Westgard JO, Groth T, Aronsson T, Falk H, De Verdier CH. Performance characteristics of rules of internal quality control: probabilities for false rejection and error detection. *Clin Chem* 1977;23: 1857-67.
79. Westgard JO, Groth T. Power functions for statistical control rules. *Clin Chem* 1979; 25: 863- 9.
80. Fraser CG. The application of theoretical goals based on BV data in proficiency testing. *Arch Pathol Lab Med* 1988;112:404-15.
81. Ricos C, Iglesias N, Garcia-Lario JV, et al. Within-subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences. *Ann Clin Biochem* 2014; (Pt 4): 343-52.
82. Laleli Y. Klinik yarar açısından nasıl bir test duyarlılığı? 8 Mart 2007, SB Ankara Eğitim Araştırma Hastanesi, Ankara.
83. Fraser CG. Reference change values: the way forward in monitoring. *Ann Clin Biochem* 2009;46:264-5.

84. Cooper G, DeJonge N, Ehrmeyer S, et al. Collective opinion paper on findings of the 2010 convocation of experts on laboratory quality. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:793-802.
85. EN ISO 15189:2007. Medical laboratories. Particular requirements for quality and competence. ISO, Geneva 2007.
86. ISO 9001:2008. Quality management systems. Requirements. ISO, Geneva 2008.
87. Comité de Garantía de la Calidad y Acreditación de Laboratorios. Comisión de Calidad Analítica. Base de datos de variación biológica. <http://www.seqc.es/es/Sociedad/51/102>. September 2008.
88. Fraser CG, Hyltoft Petersen P, Ricós C, Haeckel R. Quality specifications. In: R Haeckel. *Evaluation methods in laboratory medicine*. VCH, Weinheim, 1993.
89. Fraser CG. Data on biological variation: essential prerequisites for introducing new procedures. *Clin Chem* 1994;40:1671-3.
90. Petersen P, Ricós C, Stöckl D, et al. Proposed guidelines for the internal quality control of analytical results in the medical laboratory. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:983-99.
91. Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990–2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997;349:1498-504.
92. Homm CW, Bassand JP, Agewall S, et al. Israrcı ST-segment yükselmesi belirtileri göstermeyen hastalarda Akut Koroner Sendromların (AKS) tedavi kılavuzları. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2011;Suppl 3: 73-128. <http://www.tkd.org.tr>
93. Kristian Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Üçüncü evrensel miyokart enfarktüsü tanımı. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2013;Suppl 3: 129-45. <http://www.tkd.org.tr>
94. Goldman L, Braunwald E. *Primary cardiology*. WB Saunders Co. ; 1998
95. The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee. Myocardial infarction redefined — A consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2000;21:1502-13; *J Am Coll Cardiol* 2000;36:959–69.
96. Thygesen K, Alpert JS, White HD. Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myokardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2525-38; *Circulation* 2007; 116: 2634-53; *J Am Coll Cardiol* 2007; 50:2173-95
97. Mendis S, Thygesen K, Kuulasmaa K, Giampaoli S, Ma"ho"nen M, Ngu Blackett K, Lisheng L and Writing group on behalf of the participating experts of the WHO consultation for revision of WHO definition of myocardial infarction. World Health Organization definition of myocardial infarction: 2008–09 revision. *Int J Epidemiol* 2011;40:139-46.

98. Bassand JP, Hamm CW, Ardissino D, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *Eur Heart J* 2007;28:1598-660.
99. Savonitto S, Ardissino D, Granger CB, et al. Prognostic value of the admission electrocardiogram in acute coronary syndromes. *JAMA* 1999;281:707-13.
100. Mandelzweig L, Battler A, Boyko V, et al. The second Euro Heart Survey on acute coronary syndromes: characteristics, treatment, and outcome of patients with ACS in Europe and the Mediterranean Basin in 2004. *Eur Heart J* 2006;27:2285-93.
101. Terkelsen CJ, Lassen JF, Norgaard BL, et al. Mortality rates in patients with ST-elevation vs. non-ST-elevation acute myocardial infarction: observations from an unselected cohort. *Eur Heart J* 2005;26:18-26.
102. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001;104:365-72.
103. Ramasamy I. Biochemical markers in acute coronary syndrome. *Clinica Chimica Acta* 2011;412:1279-96
104. Woo J. Markers of Myocardial Injury, 2006 Clinical Chemistry Resident Conference.
105. Kagen L, Scheidt S, Roberts L, Porter A, Paul H. Myoglobinemia following acute myocardial infarction. *Am J Med* 1975;58:177-82.
106. Kilpatrick WS, Wosornu D, McGuinness JB, Glen ACA. Early diagnosis of acute myocardial infarction: CK-MB and myoglobin compared. *Ann Clin Biochem* 1993;30:435-8.
107. Bhayana V, Cohoe S, Pellar TG, Jablonsky G, Henderson AR. Combination (multiple) testing for myocardial infarction using myoglobin, creatine kinase-2 (mass), and troponin T. *Clin Biochem* 1994;27:395-406.
108. Montague C, Kircher T. Myoglobin in early evaluation of acute chest pain. *Am J Clin Pathol* 1995; 104:472-6.
109. Mockel M, Gerhardt W, Heller G Jr, et al. Validation of NACB and IFCC guidelines for the use of cardiac markers for early diagnosis and risk assessment inpatients with acute coronary syndromes. *Clin Chim Acta* 2001; 303:167-79.
110. Brogan GX Jr, Friedman S, McCuskey C, et al. Evaluation of a new rapid quantitative immunoassay for serum myoglobin versus CK-MB for ruling out acute myocardial infarction in the emergency department. *Ann Emerg Med* 1994; 24:665-71.
111. Bhayana V, Henderson AR. Biochemical markers of myocardial damage. *Clin Biochem* 1995; 28:1-29.
112. Väänänen HK, Syrjälä H, Rahkila P, et al. Serum carbonic anhydrase III and myoglobin concentrations in acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1990;36:635-8.
113. Klootwijk P, Cobbaert C, Fioretti P, Kint PP, Simoons ML. Noninvasive assessment of reperfusion and reocclusion after thrombolysis in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1993;72:75-84.

114. Grachev MA, Matvev LE, Pressman EK, Roschke VV. A rapid method for myoglobin radioimmunoanalysis as a diagnostic tool in myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 1982;124:235-8.
115. Olsson T, Bergstrom K, Tore A. Chemiluminescent immunosorbent assay of serum myoglobin based on the luminol reaction. *Clin Chim Acta* 1984;138:31-40.
116. Nishida Y, Kawai H, Nishino H. A sensitive sandwich enzyme immunoassay for human myoglobin using Fab9-horseradish peroxidase conjugate: methods and results in normal subjects and patients with various diseases. *Clin Chim Acta* 1985;153:93-104.
117. Konings CH, Funke-Kupper AJ, Verheugt FWA. Comparison of two latex agglutination test kits for serum myoglobin in the exclusion of acute myocardial infarction. *Ann Clin Biochem* 1989;26:254-8.
118. Delanghe JR, Chapelle JP, Vanderschueren SC. Quantitative nephelometric assay for determining myoglobin evaluated. *Clin Chem* 1990;36:1675-8.
119. Delanghe JR, Chapelle JP, El Allaf M, De Buyzere M. Quantitative turbidimetric assay for determining myoglobin evaluated. *Ann Clin Biochem* 1991;28:474-9.
120. Silva DP, Landt Y, Porter SE, Ladenson JH. Development and application of monoclonal antibodies to human cardiac myoglobin in a rapid fluorescence immunoassay. *Clin Chem* 1991;37:1356-64.
121. Hausler E, Baumann PC, Rentsch KM, Brogh S. A new rapid and sensitive immunofluorescence assay for the determination of myoglobin in serum. *Lab Med* 1993;17:146-51.
122. Fle'cheux O, Fuet B, Cucurou C, et al. Automated chemiluminescent enzyme immunoassay for the determination of human myoglobin. *Clin Chem* 1995;41: S55.
123. Panteghini M, Pagani F. Biological variation of myoglobin in serum. *Clinical Chemistry* 1997;43(12):2435.
124. Ross SM, Fraser CG. Biological variation of cardiac markers: analytical and clinical considerations. *Ann Clin Biochem.* 1998;35 (Pt 1):80-4.
125. Anesi A, Rondanelli M, Trotti R, Melzi d'Eril GV. Biological variability of myoglobin in healthy elderly and younger subjects. *Aging (Milano)*. 2000;12(3):168-72.
126. Henry JB. *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 20th ed. W.B. Saunders Comp; 2001.
127. Lewandrowski K, Chen A, Januzzi J. Cardiac Markers for Myocardial Infarction. *Am J Clin Pathol* 2002;118:93-99.
128. Santaló Bel M, Guindo Soldevila J, Ordóñez Llanos J. Biological markers for myocardial necrosis. *Rev Esp Cardiol* 2003;57(7):703-20.
129. Gibler WB, Runyon JP, Levy RC et al. A rapid diagnostic and treatment center for patients with chest pain in the emergency department. *Ann Emerg Med* 1995;25:1-8.

- 130.**Apple FS, Voss E, Lund L et al. Cardiac troponin, CK-MB and myoglobin for the early detection of acute myocardial infarction and monitoring of reperfusion following thrombolytic therapy. *Clin Chem Acta* 1995;237(1-2):59-66.
- 131.**Küçükercan Ü, Çakır Ö, Tokdemir G, Baloğlu G, Orçun A. Akut miyokard enfarktüsü ve sağlıklı olgularda ck-mb aktivite ve kütle ölçüm yöntemlerinin karşılaştırılması. *Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi* 2003;14(1):27-9.
- 132.**Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry* 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1999. p.665.
- 133.**Sturk A, Sanders GTB. Macro enzymes: prevalence, composition, detection and clinical relevance (Review). *J Clin Chem Clin Biochem* 1990; 28: 65-81.
- 134.**Sonntag O. Hemolysis as interference factor in clinical chemistry. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986;24:127-39.
- 135.**Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1999. p.658-63
- 136.**Dasgupta A, Wells A, Biddle DA. Negative interference of bilirubin and hemoglobin in the MEIA troponin I assay but not in the MEIA CK-MB assay. *J Clin Lab Anal* 2001; 15:76-80.
- 137.**Kwon HJ, Seo EJ, Min KO. The influence of hemolysis, turbidity and icterus on the measurements of CK-MB, troponin I and myoglobin. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 360-4.
- 138.**Bakker AJ, Gorgels JP, van Vlies B, Haagen FD, Smits R. The mass concentrations of serum troponin T and creatine kinase-MB are elevated before creatine kinase and creatine kinase-MB activities in acute myocardial infarction. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1993; 31:715-24.
- 139.**Singh V, Martinezclark P, Pascual M, Shaw ES, O'Neill WW. Cardiac biomarkers - the old and the new: a review. *Coron Artery Dis* 2010;21(4):244-56.
- 140.**Puelo RP, Meyer D, Wathen C, et al. Use of rapid assay of subforms of creatine kinase-MB to diagnose or rule out acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1994;331:561-6.
- 141.**Winter RJD, Koster RW, van Straalen JP, et al. Critical difference between serial measurements of CKMB mass to detect myocardial damage. *Clin Chem* 1997;43:338-43.
- 142.**Costongs GMPJ, Janson PCW, Bas BM. Short-term and long-term intra-individual variations and critical differences of clinical chemical laboratory parameters. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985; 23: 7-16.
- 143.**Farah CS, Reinach FC. The troponin complex and regulation of muscle contraction. *FASEB J* 1995;9:755-67.
- 144.**Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined-a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee

for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:959-69.

145. Kavsak PA, MacRae AR, Lustig V et al. The impact of the ESC/ACC redefinition of myocardial infarction and new sensitive troponin assays on the frequency of acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2006;152:118-25.
146. Wu AHB, Ford L. Release of cardiac troponin in acute coronary syndromes: ischemia or necrosis? *Clin Chim Acta* 1999; 284(2):161-74.
147. Caffè AS, Davidenka J. Diagnosis of acute myocardial ischemia and infarction in *Cardiology*, ed; Crawford MH, Dimarco JP, Mosby, London; 2001: 137-38
148. Wu AH, Christenson RH. Analytical and assay issues for use of cardiac troponin testing for risk stratification in primary care. *Clin Biochem* 2013;46:969-78.
149. *European Heart Journal*(1998): 19 (Supplement N): N25- N29.
150. Newby K, Christenson R, Ohman M, et al. Value of serial troponin T measures for early and late risk stratification in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 1998;98:1853-9.
151. Kumar A, Cannon CP. Acute coronary syndromes: diagnosis and management. *Mayo Clin Proc* 2009;84:917-34.
152. Lindahl B. Detection of myocardial damage-are the Troponins the ultimate solution? *Scand Cardiovasc J* 2001;35:229-32.
153. Sheehan P, Vasikaran SD. The evolving role of troponins and new acute myocardial infarction guidelines: Implications for the clinical laboratory. *Clin Biochem Rev* 2001;23:52-65.
154. Kempl M, Donovan J, Higham H, Hoper J. Biochemical markers of myocardial injury. *Br J Anaesth* 2004;93:63-73.
155. Anderson JL, Adams CD, Antman EM, et al. ACC/AHA 2007 Guidelines for the management of patients with unstable angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice Guidelines (Writing Committee to revise the 2002 Guidelines for the management of patients with unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction *Circulation* 2007;116:e 148-e 304
156. Unstable Angina and Non-ST-elevation Myocardial Infarction: ACC/AHA 2002 Guideline Update for Management of Patient with JACC 2002; 40:366-74.
157. Özcan Çelebi Ö, Diker E, Aydoğdu S. Kardiyak troponinlerin klinik önemi. *Türk Kardiyol Dern Arş - Arch Turk Soc Cardiol* 2008;36(4):269-77.
158. Cummins B, Auckland ML, Cummins P. Cardiac specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1987;113:1333-44.
159. Bodor GS, Porter S, Landt Y, Ladenson JH. Development of monoclonal antibodies for an assay of cardiac troponin-I and

preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clin Chem* 1992;38:2203–14.

160. Muller-Bardoff M, Hallermayer K, Schroder A, et al. Improved troponin T ELISA specific for cardiac troponin T isoform: assay development and analytical and clinical validation. *Clin Chem* 1997;43:458-66.
161. Christenson RH, Duh SH, Apple FS, Bodor GS, Bunk DM, Dalluge J, et al. Standardization of cardiac troponin I assays: round robin of ten candidate reference materials. *Clin Chem* 2001; 47(3): 431-7.
162. Swaanenburg JCJM, Van-Brummen PJV, DeJongste MJL, Tiebosch ATHM. Content and distribution of troponin I, troponin T, myoglobin and alpha-hydroxybutyric acid dehydrogenase in human heart. *Am J Clin Pathol* 2001; 115(5):770-7.
163. Fred SA. Clinical and analytical standardization issues confronting cardiac troponin I. *Clin Chem* 1999; 45(1):18-20.
164. Katruka A, Bereznikova A, Filatov V, Esakova T. Biochemical factors influencing measurement of cardiac troponin I in serum. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37(11/12): 1091-5.
165. Mair J, Morandell D, Genser N, Lechleitner P, Dienstl F, Puschendorf B. Equivalent early sensitivities of myoglobin, creatine kinase MB mass, creatine kinase isoform ratios and cardiac troponins I and T for acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1995;41:1266-72.
166. Katus HA, Remppis A, Neumann FJ, et al. The diagnostic efficiency of troponin T measurement in acute myocardial infarction. *Circulation* 1991;83:901-12.
167. Hamm CW, Goldmann BU, Heeschen C, Kreyman G, Berger J, Meinertz T. Emergency room triage of patients with acute chest pain by means of rapid testing for cardiac troponin T or troponin I. *N Engl J Med* 1997;337:1648-53.
168. Wu AH, Apple FS, Gibler WB, Jesse RL, Warshaw MM, Valdes R Jr. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. *Clin Chem* 1999;45:1104-21.
169. Than M, Cullen L, Reid CM, et al. A 2-h diagnostic protocol to assess patients with chest pain symptoms in the Asia-Pacific region (ASPECT): a prospective observational validation study. *Lancet* 2011; 377:1077-84.
170. Wu AHB, Lu A, Todd J, Moecks J, Wians F. Short- and long-term biological variation in cardiac troponin I with a high-sensitivity assay: implications for clinical practice. *Clin Chem* 2009;55:52–8.
171. Vasile VC, Saenger AK, Kroning JM, Klee GG, Jaffe AS. Biological variation of a novel cardiac troponin I assay. *Clin Chem* 2011;58: 1080-1.
172. Apple FS, Murakami MM, Wians FH, Ler R, Kaczmarek JM, Wu AHB. Short-term biological variation of cardiac troponin I measured with three high-sensitivity assays. *Clin Chem* 2011;57:C-05.

- 173.**Vasile VC, Saenger AK, Kroning JM, Jaffe AS. Biological and analytical variability of a novel high-sensitivity cardiac troponin T assay. *Clin Chem* 2010;56:1086-90.
- 174.**Nordenskjold AM, Ahlstrom H, Eggers KM, et al. Short- and longterm individual variation in cardiac troponin in patients with stable coronary artery disease. *Clin Chem* 2013;59:401–9.
- 175.**Monach PA. Repeating tests: different roles in research studies and clinical medicine. *Biomark Med* 2012;6(5):691-703.
- 176.**Karanicolas PJ, Bhandari M, Kreder H, et al. Evaluating agreement: conducting a reliability study. *J Bone Joint Surg Am* 2009; 91(3):99-106.
- 177.**Carlsen S, Petersen PH, Skeie S, Skadberg O, Sandberg S. Within-subject biological variation of glucose and HbA(1c) in healthy persons and in Type 1 diabetes patients. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49(9):1501-7.
- 178.**<http://www.efccim.eu/index.php//educational-material.html>
(European Federation of Clinical Chemistry and Lab.Medicine)
- 179.**Queralto JM. Intraindividual reference values. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 765-77.
- 180.**Apple FS, Murakami MM. Serum and plasma cardiac troponin I 99th percentile reference values for 3 2nd-generation assays. *Clin Chem* 2007;53:1558-60.
- 181.**Collinson PO, Clifford-Mobley O, Gaze D, Boa F, Senior R. Assay imprecision and 99th-percentile reference value of a high-sensitivity cardiac troponin I assay. *Clin Chem* 2009;55:1433- 4.
- 182.**Krintus M, Kozinski M, Boundry P, et al. European multicenter analytical evaluation of the Abbott ARCHITECT STAT high sensitive troponin I immunoassay. *Clin Chem Lab Med* 2014; 52(11):1657-65.
- 183.**Ricos C, Cava F, Garcia-Lario JV, et al. The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. *Scand J Clin Lab Invest* 2004;64:175-84.
- 184.**Omar F, Van der Watt GF, Pillay TS. Reference change values: how useful are they? *J Clin Pathol* 2008;61: 426-7.
- 185.**National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Use of cardiac troponin and B-type natriuretic peptide or n-terminal proB-type for etiologies other than acute coronary syndromes and heart failure. *Clin Chem* 2007;53:2086-96.
- 186.**Jaffe AS, Apple FS, Morrow DA, Lindahl B, Katus HA. Being rational about (im)precision: A statement from the Biochemistry Subcommittee of the joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Foundation/ American Heart Association/World Heart Federation Task Force for the Definition of Myocardial Infarction. *Clin Chem* 2010;56:941-3.

187. Thygesen K, Mair j, Katus H, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur Heart J* 2010; 30:2197-206.
188. Eggers KM, Jaffe AS, Venge P, Lindahl B. Clinical implications of the change of cardiac troponin I levels in patients with acute chest pain-An evaluation with respect to the Universal Definition of Myocardial Infarction. *Clin Chem Acta* 2011;41:291-7
189. Aldous SJ, Richards AM, Cullen L, Than MP. Early dynamic change in high-sensitivity cardiac troponin T in the investigation of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 2011;57:1154-60.
190. Apple FS, Pearce LA, Smith SW, Kaczmarek JM, Murakami MAM. Role of monitoring changes in sensitive cardiac troponin I assay results for early diagnosis of myocardial infarction and prediction of risk of adverse events. *Clin Chem* 2009;55:930-7.
191. Keller T, Zeller T, Ojeda F, et al. Serial changes in highly sensitive troponin I assay and early diagnosis of myocardial infarction. *JAMA* 2011;306:2684-93.
192. Frankenstein L, Wu AHB, Hallermayer K, et al. Biological variation and reference change value of high sensitivity troponin T in healthy individuals during short and intermediate follow-up periods. *Clin Chem* 2011;58:1068-71.
193. Aekre KM, Sandberg S. Can changes in troponin results be useful in diagnosing myocardial infarction. *Clin Chem* 2010;56:1047-9.
194. Fokkema MR, Herrmann Z, Muskiet FAJ, Moecks J. Reference change values for brain natriuretic peptides revisited. *Clin Chem* 2006;52:1602-3.
195. Aakre KM, Roraas T, Petersen PH, et al. Weekly and 90 minute biological variations in cardiac Troponin T and cardiac troponin I in hemodialysis patients and healthy controls. *Clin Chem* 2014;60:6-838-47.
196. Goldberg J, Iriarte B, Prostko J, et al. Short and long-term biological variability of troponin I determined using the Architect Stat high sensitive troponin I assay. *Clin Chem* 2011;57:C-04
197. Simpson AJ, Potter JM, Koerbin G, et al. Use of observed within-person variation of cardiac troponin in emergency department patients for determination of biological variation and percentage and absolute reference change values. *Clin Chem* 2014;60(6): 848-54.
198. Koerbin G, Potter JM, Abhayaratna WP, et al. Longitudinal studies of cardiac troponin I in a large cohort of healthy children. *Clin Chem* 2012;58:1665-72.
199. Krouwer JS. Setting Performance Goals and Evaluating Total Analytical Error for Diagnostic Assays. *Clin Chem* 2002; 48(6): 919- 27.
200. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988. U.S. Code 201. Public Law, 1988. 100- 578.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini hiçbir zaman esirgemeyen, ilgi, anlayış ve duyarlılıkla yaklaşan eğitimim ve tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Yeşim ÖZARDA'ya şükranlarımı ve saygılarımı sunarım.

Değerli Biyokimya Anabilim Dalı Başkanım Sayın Prof. Dr. Esmâ GÜR'e, her zaman bana örnek olmuş olan Biyokimya Merkez Laboratuvar sorumlusu değerli hocam Sayın Prof. Dr. Melahat DİRİCAN'a ve değerli hocalarım Prof. Dr. Emre SARANDÖL, Prof. Dr. Zehra SERDAR, Prof. Dr. Asuman TOKULLUGİL ve Prof. Dr. Engin ULUKAYA'ya eğitimime sağladıkları katkılarından ve üzerimdeki emeklerinden dolayı çok teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım.

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Özkan ALATAŞ'a ve kürsünün tüm öğretim elemanlarına eğitimime sağladıkları katkılarından ötürü teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım.

Tez dönemimde bilgi ve deneyimlerini paylaşan, yardım ve desteğini esirgemeyen Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Diler ASLAN'a teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım.

Bilgisi, deneyimleri, dostluğu, sevecenliği ve ablalığı ile her zaman yanımda olan sevgili Doç. Dr. Arzu YILMAZTEPE ORAL'a, beraber görev yaptığım dostluğunu, arkadaşlığını unutmayacağım Dr. İsmiur SAKA KARAGÖZ'e ve diğer asistan arkadaşlarıma, ayrıca Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı personeline, Biyokimya Merkez ve Acil Laboratuvarı teknisyenlerine ve elemanlarına yardımları ve destekleri için teşekkür ederim.

Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Değerli Hocam Prof. Dr. Güher GÖRAL'a ve rotasyon yaptığım tüm anabilim dallarında beraber çalıştığım öğretim üyesi, asistan, teknisyen ve tüm personele teşekkür ederim.

Sevgi, güven, ilgi ve destekleri ile bugünlere gelmemde en çok emeği geçen, canım annem ve canım babama, her daim yanımda olan ablalarım ve abime, bana ben kavramını unutturan biz olarak tüm zorlu zamanlarımda yanımda olan eşime ve biricik oğluma, Göktuğ'uma, sevgilerimi sunar teŖekkür ederim.

Son olarak bu alıŖmaya katılmayı kabul eden tüm kiŖilere ve verdikleri destekten ötürü Abbott'a teŖekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

17 Eylül 1982 yılında Kars'ta doğdum. İlkokulu Halitpaşa İlköğretim Okulu'nda, ortaokul ve liseyi Kars Anadolu Lisesi ve Bursa Yıldırım Ulubatlı Hasan Anadolu Lisesi'nde 2000 yılında tamamladım. Aynı yıl Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesine başladım ve 2006 yılında mezun oldum. Mecburi hizmete Sakarya Merkez Çökekler Sağlık Ocağında başlayıp Eskişehir 2.no'lu Toplum Sağlığı Merkezi'nde devam ettim. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda başladığım biyokimya ihtisasına Nisan 2012'den itibaren Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde devam etmekteyim.