

# *Konferans ve Panel Özetleri*



## K-2

### YENİDOĞAN TARAMASININ GENİŞLETİLMESİNDE KLİNİK BİYOKİMYA UZMANININ ÖNEMİ

Sara Habif<sup>1</sup>, Tolunay Tavil<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Bilim Dalı, İzmir

<sup>2</sup>Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul

Doğumsal metabolik hastalıklar, bir enzim ya da kofaktöründeki eksiklik veya anormallikten kaynaklanmakta olup, spesifik metabolitlerin birikimine veya eksikliğine neden olmaktadır.

Doğumsal metabolik hastalıklar geleneksel olarak etkilenen metabolizma tipine göre sınıflandırılmakta, bazı hastalıklar birden fazla sınıfta yer alabilmektedirler. Temel gruplar arasında yer alan amino asid hastalıkları, organik asidemiler, üre döngüsü hastalıkları, karbonhidrat metabolizması hastalıkları, yağ asidi oksidasyon hastalıkları ve mitokondrial hastalıklar sıklıkla 1) akut veya progresif entoksikasyon / ensefalopati ile seyreden hastalıklar, 2) enerji açığı ile seyreden hastalıklar olmak üzere iki geniş kategoride değerlendirilmektedir. Peroksizomal ve lizozomal depo hastalıkları ise, genelde karakteristik klinik bulgularla seyrederken, tetikleyici etkenlerden bağımsız olan kalıcı ve ilerleyici bulgulara sahiptir.

Hastalara en üst düzeyde yararlı olunabilmesi erken tanı ile mümkün olup, tanıdaki gecikmeler akut metabolik dekompanzasyon, ilerleyici nörolojik sekeller veya ölüme neden olabilmektedir. Yeni doğan tarama testleri bu nedenle erken tanıda büyük bir önem taşımaktadır.

Doğumsal metabolik hastalıkların tanısında öykü ve klinik muayene bulguları yanı sıra laboratuvar bulguları çok büyük bir öneme sahiptir. Olgularda örnekler temel olarak başvuru anında veya semptomların en belirgin olduğu dönemde alınmalıdır. Genel olarak, aşamalı bir laboratuvar değerlendirilmesi yapılması ve özel metabolik incelemelere geçmeden önce, rutinde uygulanabilen temel tetkikler ile başlanması önerilmektedir. Laboratuvar tanıda kullanılan özelleşmiş testler, mevcut bulgular dikkate alınarak seçilmekte olup, laktat ve piruvat, kantitatif plazma amino asitleri, kalitatif organik asitler, açıl karnitin profili, serum ketonları, serbest yağ asitleri, çok uzun zincirli yağ asitleri, glikozaminoglikanlar ve oligosakkaridler, CDT, kreatin ve guanido asetat, pürin/pirimidin paneli ..... gibi çok sayıda testi kapsamaktadır. Doğrulamada ise, kan / idrar/beyin omurilik sıvısında anormal metabolitlerin ölçümü, deri / eritrosit/lökosit / iskelet kası / karaciğerde enzim aktivitesi ölçümü veya moleküler genetik testlere ihtiyaç duyulmaktadır. Metabolomik profil ise yeni gelişmekte olan ve tek bir test ile yüzlerce küçük molekülün taranmasına olanak sağlayan tanısal bir test olup, ekzom analizi ile kombine edilmesinin hastalık nedenini belirlemede çok daha etkili olacağı belirtilmektedir.

Yenidoğan taraması her yeni doğana uygulanması gereken bir koruyucu halk sağlığı hizmetidir. Kan örneği sağlıklı yenidoğan hastaneden taburcu olurken 24-48 saat içinde alınır. Yenidoğan taramasının amacı, hastalıkları klinik bulguları ortaya çıkmadan saptayarak mortalite ve morbiditeyi azaltmaktır. Yenidoğan taraması ile taranan hastalıkların; sağlığı tehdit eden, kesin tedavisi olan, tanı ve tedavi için uygun alt yapısı bulunan, taraması yapılmadığında erken tanısı güç olan, uygun bir tarama testi bulunan, iyi bilinen, tanı ve tedavi işlemleri maliyet etkin hastalıklar olması gereklidir.

Gelişmiş ülkelerde 1965 yılında yenidoğan taraması ilk yaygınlaşan hastalık olan fenilketonüriyi, 1975 yılında kongenital hipotiroidi taraması takip etmiştir. Biotinidaz eksikliği, kongenital adrenal hiperplazi, orak hücreli anemi, akçağaç şurubu idrarı hastalığı, kistik fibrozis, galaktozemi vb gibi hastalıklar, toplumdaki sıklıklarına göre tarama programlarına alınmıştır. 1990'lı yıllarda elektrospray iyonizasyon tandem MS cihazının yenidoğan taramaları merkezlerinde kullanılmaya başlaması ile bir damla kuru kan örneğinden tek bir test ile 35 farklı hastalığın taranabilmesi mümkün olmuştur. American College of Medical Genetics and Genomics 2006'da Amerika Birleşik Devletlerinde 29 temel, 25 ikincil toplam 54 hastalık için yenidoğan taraması kararını netleştirmiştir. Avrupa ülkelerinde European Union Network of Experts on Newborn Screening, 2012 raporu ile 31 temel hastalığın taramaya alınması gerektiğini bildirmiştir.

Ülkemizde fenilketonüri yenidoğan taraması 1980'lerin sonunda Hacettepe ve İstanbul Tıp Fakülteleri Çocuk Kliniklerinde Metabolizma Laboratuvarlarında başladı. 1991 yılında İstanbul Tıp Fakültesinde biotinidaz eksikliği taranması programa eklendi. 1993 yılından itibaren fenilketonüri taraması Sağlık Bakanlığı denetimi altında Dokuz Eylül ve Cumhuriyet Üniversiteleri Tıp Fakülteleri Çocuk Metabolizma Laboratuvarlarında da uygulanarak ülkeye yayıldı. Ulusal Yenidoğan Tarama Programı 2006 yılı sonunda fenilketonüri ve kongenital hipotiroidi için başlatıldı. Programa 2008'de biotinidaz eksikliği, 2015'de kistik fibrozis taramaları eklendi. 2017 yılı için kongenital adrenal hiperplazi pilot çalışması planlanmaktadır. 2018 içinde de Ankara'da doğan bebeklerde genişletilmiş yenidoğan taramasına geçilmesi öngörülmüyor. Genişletilmiş yenidoğan taramasında tek bir test ile yağ asidi oksidasyon bozuklukları, organik asidemiler ve amino asit metabolizması bozuklukları başlıklarında toplanabilecek 35 civarında hastalık taranabilecektir.

Ülkemizde 2007 ve 2012 yıllarında iki "Genişletilmiş Yenidoğan Taraması Pilot Çalışması" yapılmıştır. İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı Laboratuvarında yürütülen ve 78850 yenidoğanın tarandığı ilk çalışmada 94 hasta tanı almış, taranan hastalıkların toplam sıklığı 839:1 bulunmuştur. Ulusal YDT programı içinde ülke genelinden 100.342 bebeğin tarandığı 2012-2013 dönem çalışmasından, doğrulama testleri güvenli bir şekilde

tamamlanamadığı için hastalıkların insidansı hesaplanamamıştır. Yapılan pilot çalışmalar genişletilmiş yenidoğan taramasının ülkemiz için önemini ortaya koyduğundan; alt yapı hazırlıklarını görüşmek amacıyla 22-23 Şubat 2017'de Ankara'da bir çalıştay toplandı. Toplantı sonunda genişletilmiş yenidoğan taraması ile belirlenen hastaların tanı ve tedavisi için «Kalıtsal Metabolizma Hastalıkları Tanı ve Tedavi Merkezleri» kurulması, bu merkezlerde çocuk metabolizma hastalıkları uzmanı, diyetisyen ve genetik uzmanı ile birlikte biyokimya uzmanlarının da yer alması gerekliliği vurgulanmıştır. 2007 yılından beri çeşitli kurslar düzenlendiği halde ülkemizde metabolizma laboratuvarı deneyimi olan, bir laboratuvarı tek başına yürütebilecek klinik biyokimya uzmanı sayısı iki elin parmaklarını geçmiyor. Kurulması planlanan merkezlerde görev yapacak klinik biyokimya uzmanlarının hızla eğitilmesi gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Doğumsal Metabolik Hastalık, Genişletilmiş Yeni Doğan Tarama Testi

# Panel-1a

## LABORATUVAR HATALARI VE HASTA GÜVENLİĞİ-PREANALİTİK HATALAR

Güneş Başol

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Bilim Dalı, İzmir

Hasta güvenliğine verilen önemin artması ve laboratuvarlar tarafından sağlanan bilginin doğrudan hasta tedavisinin üzerinde etkisinin olduğunun anlaşılması ile birlikte, hata oranlarının azaltılması ve mükemmel düzeyde kalite sağlanması klinik laboratuvarların öncelikli hedefleri haline gelmiştir. Preanalitik hatalar, toplam test sürecinde örneklerin laboratuvara kabulünden önce ya da sonra görülebilen; analitik evreden önce meydana gelen hatalardır. Preanalitik hatalar, toplam test sürecindeki hataların büyük bir kısmını oluşturdukları için uygunsuz ya da hatalı terapötik müdahale, gereksiz ileri tetkikler ve tanısal gecikmeler gibi hasta güvenliği açısından birçok risk taşır. Hasta güvenliğinin artırılması ve hastaya zarar verme olasılığının azaltılması için sistematik bir yaklaşıma ihtiyaç vardır.

ISO 15189:2012'ye göre, klinik laboratuvarlar toplam test sürecindeki kritik aktiviteleri belirlemeli; meydana gelen hataları aydınlatılabilmek ve monitörize edebilmek için kalite indikatörleri geliştirmelidir. Toplam hata oranının düşük, hata raporlama oranının yüksek olması iyi bir kalite göstergesidir. Ancak laboratuvarlar arasında preanalitik kalite göstergelerinin tanımlanması, raporlanması ve toplanması açısından birçok farklılık mevcuttur. Çeşitli kuruluşlar çalışma grupları oluşturarak bu duruma bir standardizasyon getirebilmek için çalışmalar yürütmektedir. Öncelikle preanalitik hataların tanımlanması, hataların toplanması ve kayıt altına alınması, elde edilen verilerin analizinin yapılması ve sonrasında hata oranlarını azaltmaya yönelik girişimde bulunulması gerekir.

Preanalitik faz hata kaynakları geleneksel olarak iki grupta incelenir: 1) tanımlama problemleri 2) örneğe ait problemler. Tanımlama problemleri arasında etiketlenmemiş örnek, hatalı etiketlenmiş örnek, yetersiz etiketlenmiş örnek, başka hastadan alınmış örnek sayılabilir. Örneğe ait problemler arasında ise hemolizli örnek, pıhtılı örnek, ikterik/lipemik örnek, hatalı doldurma seviyesi, hatalı örnek, yetersiz örnek ve kaybolmuş örnek sayılabilir.

European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Preanalitik Faz Çalışma Grubu, Avrupa'da preanalitik evre ilke ve uygulamalarının standardizasyonu ve harmonizasyonuna yönelik yaptığı çalışmalarda en kritik ve en acil harmonizasyona ihtiyaç duyulan sekiz alanı belirlemiştir: test istemi, örnek transportu ve saklanması, hasta hazırlığı, örnek alınması, uygunsuz örneklerin yönetimi, kalite indikatörleri, hasta tanımlanması, pediatrik ve neonatal örnek alınması. Bu anahtar preanalitik basamaklarda standardizasyon sağlanarak, tüm Avrupa'da hasta güvenliğinin artırılması amaçlanmaktadır.

International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Laboratuvar Hataları ve Hasta Güvenliği Çalışma Grubu, toplam test sürecini içeren Kalite İndikatör Modellerinin belirlendiği çok uluslu bir proje yürütmektedir. Bu proje ile toplam test sürecindeki hata oranlarının belirlenmesi ve hasta güvenliğinin sağlanmasında kalite indikatörlerinin kullanımının öneminin artması hedeflenmektedir.

**Anahtar Kelimeler :**Laboratuvar hataları, preanalitik faz, kalite indikatörleri

# Panel-1b

## ANALİTİK HATALARIN YÖNETİMİ VE SAĞLIK BAKANLIĞI UYGULAMALARI

Asuman Gedikbaşı

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bakırköy Dr.Sadi Konuk Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, İstanbul

Laboratuvar hizmetleri hem bireysel sağlıkta hem de halk sağlığında kilit rol oynadığından, hasta güvenliğine yönelik plan ve programlarda laboratuvar süreçlerinin iyileştirilmesi kritik öneme sahiptir. Klinik laboratuvar hem ürün hem de hizmet üreten bir işletim sistemidir. Ürünü hasta test raporudur, diğer deyişle bilgi üretir. Hasta güvenliği açısından, klinik ve laboratuvar doktorlarının üretilen veriyi değerlendirme bilgi ve becerileri kazanması şarttır. Hasta raporunun güvenilir, zamanında ve uygun maliyetle sağlanması ana amaçtır. Sıfır hata hedeflenir. Panelin bu bölümünde analitik kalite yönetimi kapsamında yapılanlar, hata kaynakları ve bu konuda Sağlık Bakanlığı'nın yaptığı uygulamalar anlatılacaktır.

Laboratuvar analitik süreç hatalarının diğer süreçlere nazaran az olması, eğitim ve personel niteliklerinin artırılmasına, kalite kontrol prosedürlerinde izin verilen hataların tespit edilmesi için belirli kuralların benimsenmesine ve yeterlilik testlerinin uygulanmasına bağlıdır. Kalite sistemi ve akreditasyon standartları (ISO 15189; 2003 Tıbbi Laboratuvarlar: Kalite ve Yeterlilikler için Özel Şartlar, Joint Commission International Accreditation vb.) incelendiğinde, hepsinde tıbbi laboratuvarın iç kalite kontrol prosedürü olmalı, dış kalite değerlendirme programına katılmalı ve yeterliliğini kanıtlamalıdır gibi zorunlulukları olduğu görülür. Tüm önlemlere rağmen, uzman veya teknik personel düzeyinde bilgi ve dikkat eksiklikleri, eğitim eksiklikleri veya cihaz/otomasyona ait teknik sebeplerle analitik evrede görülen hatalar, yanlış veya gecikmiş sonuçlar üretilmesine sebep olmaktadır.

Analitik evrede hata kaynakları; teknik personelin eğitim eksikliği veya ihmali sonucu uygunsuz iç-dış kalite kontrol sonuçlarına rağmen analizi sürdürmesi, iç-dış kalite kontrol sonuçları kabul edilebilir olsa bile cihaz kalibrasyonunu anlık etkileyen faktörlerden kaynaklanan hatalar (ısı, nem, elektrik akım değişimleri vb), cihaz pipetleme hataları, distile su kalitesinin bozulması, dilüsyon hataları, numunenin uygun hazırlanmaması (fibrin, je içermesi vb) olarak sıralanabilir. Sonuçların hatalı teknik onayı ve uzman değerlendirmesi olmadan otomasyona aktarılması gibi nedenler de analitik hata sınıfında değerlendirilir.

Analitik döneme ait kalite yönetiminde; analiz sırasında oluşabilecek hataları önceden yakalayarak yanlış hasta sonucu vermeyi engellemek, yanlış alarmların en az olmasını sağlamak ve laboratuvarın günlük analiz performansını izlemek adına yapılan iç kalite kontrol yöntemleri kullanılmaktadır. Yani sıra, sistemin içsel kalitesini ve ölçümsel doğruluğunu test ettiği gibi aynı zamanda, global olarak metotların birbirleriyle, cihazların rakipleriyle ve aynı analiti ölçen kitlerin birbirleriyle olan farklarını ortaya koyan dış kalite kontrol programlarıyla da yeterlilik takibi yapılmaktadır. Ayrıca hasta sonuçlarından yararlanılarak analitik süreç kalitesinin değerlendirilmesi için, normallerin ortalaması (Average of Normals/AON) hesaplaması bazı kısıtlamaları olmasına rağmen maliyetsiz bir kalite kontrol yöntemidir.

Analitik hata kontrolünde bir başka araç olan altı sigma metodolojisi, süreç performansının sigma düzeylerine göre belirtilmesi temeline dayanır. Analitik sürecin sigma düzeyinin hesaplanmasında laboratuvarlarda kalite kontrol ve değerlendirme programlarıyla elde edilmekte olan "bias" ve %CV'ler kullanılabilir. Bu olanak Altı Sigma metodolojisinin analitik süreçte uygulanabilmesi için avantaj sağlamaktadır.

Toplam analitik hata (TAH), bir test sonucuna yansıyan Rastlantısal Hata ve Sistemik Hatanın toplamıdır. Hasta güvenliği bakımından toplam analitik hatanın, izin verilen toplam hata sınırını aşmaması gerekmektedir. Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Laboratuvar Hizmetleri Daire Başkanlığı'nın 2016 da yayınlanan "İzin verilen Toplam Hata Sınırları" konulu genelgesinde, ülkemize ait toplam hata sınırları ve izin verilen en yüksek varyasyon katsayıları 15 biyokimya parametresi için belirlenmiştir. Bu uygulama ile birlikte, tüm laboratuvarların belirlenen parametreler için, iç ve dış kalite kontrol verilerinden faydalanarak toplam analitik hatalarını belirlemesi ve bu hataların izin verilen sınırlarda tutulması için düzeltici önleyici faaliyetler planlaması beklenmektedir.

Sağlık Bakanlığı Sağlıkta Kalite ve Akreditasyon Daire Başkanlığı tarafından 21 Mart 2016 tarihinde kullanıma açılan **Güvenlik Raporlama Sistemi (GRS™)**, sağlık tesislerinin ve profesyonellerinin tıbbi süreçlerde karşılaştıkları hataları bildirebilecekleri, ülkemizde yaygın olarak gerçekleşen hatalar konusunda bilgi alabilecekleri bir platformdur. Laboratuvar Hataları Sınıflandırma Sistemi (LHSSTR), laboratuvar süreçlerinde gerçekleşen tıbbi hatalar ve ramak kala olayların kodlanmasını kolaylaştırmak ve standardize etmek amacıyla geliştirilmiş ulusal sınıflandırma sistemidir. Bildirim sırasında ip adresi, lokasyon bilgisi, kişi adı vb. hiçbir kişisel bilgi veri tabanına kaydedilmeksizin her üç evreye ait hata bildirimleri yapılabilmektedir.

Yine Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Sağlıkta Kalite ve Akreditasyon Daire Başkanlığı'nın Mart 2016 da yayımladığı **SKS-Hastane (Versiyon-5; Revizyon-01)**'de, Biyokimya Laboratuvarları, her üç evre için 15 standart ve 41 değerlendirme ölçütü ile değerlendirilmektedir. Standartlardan dördü analitik süreçle ilgili olup, ikisi çekirdek iki tanesi de henüz opsiyonel olarak puanlanmaktadır.

Sağlık hizmetlerinde, hem önleyici aşamada, hem de teşhis ve tedavi aşamalarında oluşan hataların %55' i laboratuvar ve görüntüleme testlerinin gecikmesinden veya sonuçlara uygun hareket edilememesinden kaynaklanan önlenebilir hatalardır. Tıbbi laboratuvarlarda tüm evreler sarmal yapıda birbirini etkilediğinden, laboratuvar uzmanları olarak ekip çalışması ile her evreye hakim olmalı, hasta güvenliğini tehdit edecek hata kaynaklarını kontrol altında tutmalıyız. Bu şekilde, risk ve hataların önlenmesinin sağlık sistemi içinde herkes tarafından bir sorumluluk olarak benimsendiğı bir kültür oluşturulmasına katkı sağlayabiliriz.

# Panel-1c

## LABORATUVAR HATALARI VE HASTA GÜVENLİĞİ-III POST-ANALİTİK HATALAR

**Bahattin Avcı**

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Samsun

Günümüzde tıbbi kararların % 60-80'i laboratuvar verileri ile alınmaktadır. Hatalı sonuçlar tıbbi hataların en önemli nedenlerinden biridir. Tıbbi hataların azaltılmasında, güvenilir laboratuvar test sonuçları çok önemli role sahiptir. Laboratuvar hatası, testin isteminden sonuçların raporlanması ve uygun şekilde yorumlanarak buna uygun işlemin yapılmasını kapsayan döngünün herhangi bir kısmında gerçekleşen bozukluktur.

Laboratuvar güvenliğini ve güvenilirliğini sağlamak laboratuvarı bir birim olarak değil bir süreç olarak görmekten geçmektedir. Klinik laboratuvarında yapılan hatalar, hasta sağlığını direkt olarak etkileme potansiyeline sahiptir. Laboratuvar sonuçlarının kesinlik ve doğruluğu direkt olarak hastalıkların ayırıcı tanısını, tedavisini, takibini ve iyileşme aşamalarını belirlemede önemli rol oynar. Rapor edilen hatalar bize sadece fikir verirler. Çünkü hataların %75'i referans değerlerin içinde sonuçlar üretmektedirler. %12.5'inde üretilen sonuç tamamen anlamsızdır ve değerlendirmede dikkate alınmaz. %12.5'inde ise hasta sağlığa etkisi olan hatalı sonuçlar üretilmektedir.

Preanalitik, analitik ve postanalitik süreçlerin değerlendirilmesinde her bir evreye özgü kalite indikatörlerinin kullanılması oldukça yaygındır. Kalite indikatörleri, bir sürecin kantitatif olarak değerlendirilmesini imkan kılmaktadır. Diğer bir ifadeyle, bir sürecin kalitesinin nicelik kazanmasını sağlayan araçlardır. Böylece, daha önceki laboratuvar verilerine ya da literatürden elde edilen verilere göre belirlenmiş hedef değerlerle kıyaslama yapılabilmektedir. Bir sürece ait kalite indikatörüne ilişkin veri, belli bir zaman periyodunda sürekli olarak toplanır, analiz edilir ve hedef değer ile kıyaslanarak süreç performansı değerlendirilir. Yapılan çalışmalar laboratuvar hatalarının analiz öncesi ve analiz sonrası evrelerde analiz evresinden daha fazla olduğunu göstermektedir. Ancak preanalitik, analitik ve postanalitik süreçlere ilişkin uluslararası uzlaşmaya varılmış kalite indikatörleri mevcut değildir. Laboratuvar hataları bu evrelere göre değerlendirildiğinde, hataların büyük çoğunluğunun % 61,9 oranla preanalitik evrede, ardından % 15 oranla analitik evrede ve % 23,1 oranla postanalitik evrede gerçekleştiği belirlenmiştir.

Post analitik evre; testin sonuçlanmasından klinisyene ulaşmasına kadar geçen süreçtir. Laboratuvar sürecinin analiz sonrası bölümünü ilgilendiren post-analitik hata oranları bir kısım çalışmalara göre % 18,5, diğer bir kısım çalışmalara göre de % 47 gibi azımsanmayacak orandadırlar. Toplam test sürecindeki en zayıf halka pre-pre-analitik evre olup bunu post-post-analitik evre izlemektedir. Pre-pre-analitik evre, klinisyenin hastadan hangi testleri isteyeceğini planladığı evredir. Post-post-analitik evre ise klinisyenin bilgi ve deneyimine bağlı olarak test sonuçlarının yorumlandığı ve aynı zamanda hasta yararına kullanıldığı evredir. Pre-pre-analitik ve post-post-analitik evreleri izlemek oldukça güçtür ve kontrol etmek de zordur.

Post-analitik süreçte yanlış hasta protokolü, okunamayan raporların verilmesi, yanlış yada eksik raporlama, sonuçların geç raporlanması, analizör ile laboratuvar işletim sistemleri (LİS) veya hastane işletim sistemleri (HİS) uyumsuzlukları gibi teknik nedenler, panik değer ve kritik değer sonuç bildirimlerinin atlanması gibi birçok test raporlama hataları olabileceği gibi; hastanın bir önceki sonuçlarının olmaması gibi basit bir nedenle test yorum hataları da olabilmektedir.

Bir testin analitik olarak yeterli performansa sahip olması tıbbi yararı konusunda bilgi vermez. Bir laboratuvar testinin klinik yönünün değerlendirilmesi için ilave kriterlere ihtiyaç vardır. Tanısal duyarlılık (sensitivity), tanısal özgüllük (specificity) gibi performans belirteçlerinin yanında testin etkinliği (efficiency) de önem taşımaktadır. Etkin testin seçilmesi ve test sonucunun etkin değerlendirmesi gerekmektedir.

Elde ettiğimiz laboratuvar sonuçlarını referans aralığı olarak kabul ettiğimiz değer kümesinin içinde olup olmadığına, farklı test sonuçlarının birbiriyle ilişkisine, testlerden elde edilen ardışık sonuçlardaki farkın düzeyine, sonuçların şahsın kliniğiyle uyumuna, zamana bağlı değişikliğin biyolojik değişiklikten farklı olup olmadığına göre yorumlarız. Referans aralığı içindeki değer, aranan parametreyle ilgili hastalığı tamamen dışlamaz. Sonuç referans aralığından ne kadar uzaksa hastalık ihtimali o kadar yüksektir.

Panik/kritik değerlerin önceden belirlenmesi ve tespiti durumunda zamanında bildirim yapılması, hasta güvenliğinin sağlanması açısından önemli olduğu gibi bazen hastayla ilgilenen sağlık çalışanları, hatta toplumun sağlığının korunması açısından da çok büyük öneme sahiptir. İlgili laboratuvarında çalışılan testlere ilişkin panik değerlerin ve panik değer bildirim süreci ile ilgili kuralların belirlenmesi, belirlenen panik değerlerin izlenebilirliğini sağlamak adına Hastane Bilgi Yönetim Sistemi'nde tanımlanması ve uyarı sisteminin olması, söz konusu panik değerlerin ilgililere en kısa zamanda bildirilmesi, bildirim kayıtlarının tutulması üzerinde önemle durulması gereken hususlardandır.

Tüm analitik fazlarda bilinen ve kendimizin belirlediği olası hata kaynakları sürekli takiple değerlendirilmekte ve oluşmasına imkan verilmemektedir. Oysa, karar düzeyi veya düzeyleri tanı testlerinin yorumlanmasında önemli noktalar. Bu düzeyler hastalık ihtimalini derecelendirmeye ve bu düzeylerin gerektirdiği uygulamaların yapılabilirliğinin verileri olarak kabul edilmelidir. Klinik karar oluşturacak bu noktalarda sonuç güvenliğini sağlamak için gerekli analitik performansın sağlanması yanında sonuçların doğru yorumlanabilmesi için Hekimler çoğunlukla kanıta dayalı bilgiyi benimsemesi ve uygun bir şekilde uygulanmasından sorumludurlar.

**Anahtar Kelimeler :**Laboratuvar hataları, Hasta güvenliği, Post analitik hatalar



# K-3a

## KRONİK LENFOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA AKAN HÜCRE ÖLÇER (FCM) UYGULAMALARI

Klara Dalva

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İbni Sina Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı Laboratuvarı, Ankara

Kronik Lenfoproliferatif Hastalıklar (KLPH), lenfositlerin klonal proliferasyonundan kaynaklanan heterojen bir hastalık grubudur. Bu hastalıklar genellikle “Non\_Hodgkin” Lenfomaların (NHL), alt grupları olarak anılırlar ve sıklık sırasına göre -B, -T, -NK hücre serilerinden köken alırlar. Olgun hücreli lenfoid malinitelerin %90 kadarını B hücreli kronik lenfoproliferatif hastalıklar oluşturur. Dünya Sağlık Örgütü, morfolojik ve immunfenotipik özellikleri, tespit edilen moleküler işaretlere göre bu hastalıkları 101 farklı antite olarak sınıflamaktadır.

Akan Hücre Ölçer (Flow Cytometry, FCM), klinik uygulama laboratuvarlarında çok sayıda hücreyi tek hücre bazında değerlendirme imkanı veren bir teknik olarak bilinmektedir. Aynı anda hücrenin çok sayıda özelliğini değerlendirebilme imkanı verir. Bu değerlendirmeler, çeşitli istatistiksel parametreler aracılığı ile ortaya koyulabilir (% , Mean Fluoresan Intensity-MFI, CV, SD,...). FCM ile heterojen hücre grupları içinde yer alan her farklı hücre grubunun tanımlanması mümkündür. Hücrelerin immunfenotipik özellikleri değerlendirilirken fluorokrom konjuge edilmiş antikorlar ile işaretlendiklerinde verdikleri floresansın şiddeti de değerlendirilebilir. Işık saçılım özelliklerinden yararlanarak hücrenin çapı, granuler yapısı, kompleks iç yapısı gibi fiziksel özellikleri hakkında bilgi edinmek de mümkündür.

FCM, klonal B hücre proliferasyonunun tespit edilmesinde, B hücreli lenfomaların sınıflanmasında, bu hastalıklara özgün olan özelliklerin ortaya koyulmasında, kronik lenfosit lösemi(KLL) ve saçlı hücreli lösemnin (HCL) tanısında, anormal fenotipik özellikler gösteren T hücrelerin tanımlanmasında, T-lenfoproliferatif hastalıkların, plazma hücre hastalıklarının tanısında ve KLPH için prognostik faktörlerin belirlenmesinde, kalıntı hastalık tespitinde, tedavi hedefi olabilecek parametrelerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. FCM aracılı immunfenotipleme, kesin bir tanıya ulaşmak/ayırıcı tanı için yetersiz kalabilir. FCM nin en büyük dezavantajı, dokudaki yapısal özelliklerin değerlendirilememesi ve bazı örneklerde hazırlık işlemleri sürecinde hedefteki hücrelerin kaybedilmesidir. Bu sebeplerdir ki FCM, “Hodgkin” lenfoma tanısında uygulanan algoritmalar arasında yer almaz. Buna karşın aynı anda çok sayıda parametrenin, heterojen bir hücre grubu içinde hızla değerlendirilmesi FCM incelmelerinin en önemli üstünlüğüdür. Lenfomaların tanısı ve sınıflanması, morfolojik değerlendirmenin FCM inceleme verileri ile desteklenmesi ve tamamlanması ile mümkün olmaktadır.

İmmunfenotipleme, kan veya kemik iliği aspirasyon materyali, lenfoid dokulardan serbestleştirilen, vücut sıvılarından elde edilen hücrelere uygulanabilir. Zaman zaman invaziv bir yöntem olan lenf nodu biyopsisi yerine klonaliteyi tespit etmek amacıyla lenf nodu ince iğne aspirasyon materyalleri kullanılsa da kesin bir tanısal yaklaşım için bu örnek yeterli olmayabilir. Hastalığın doğası ile ilgili olarak hastalık bulunsa bile alınan aspirasyon örnekleri, bunu destekleyecek verileri ortaya koymakta yetersiz kalabilir.

FCM incelemeleri, lenfositöz ve sitopenilerin etiyojisini, lenfadenopati ya da splenomegalinin sebeplerini ortaya koyabilmek amaçlarıyla talep edilebilir. Soru lenfositöz veya lenf nodülü, cilt tutulumu ise ilk akla gelen kronik lenfosit lösemi (KLL), prolenfositik lösemi(PLL), saçlı hücreli lösemi(HCL), ve diğer B hücreli NHLlar olacaktır. HCL lökopeni ile de seyredebilir. B hücreli lenfomalar arasında yer alan Burkitt Laanfoma (BL), diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), folliküler lenfoma(FL), manto hücreli (MCL), marjinal zon hücreli(MZL) lenfoma da ilk sırada akla gelen neoplazilerdir. T hücreli ve NK hücreli lenfoproliferatif hastalıklar çok daha seyrek görülmektedir.

Tanısal amaçla yapılan immunfenotiplemenin ilk adımı, hedefteki hücrelerin ne olduğunun tespit edilmesidir. Bu amaçla tarama ya da oryantasyon amacı ile kullanılan genel kabul görmüş bir dizi antikor mevcuttur. B hücre serisinin tespiti için CD19, CD20, T hücre serisi için CD3, CD5, NK hücreler için CD56 tanımlayıcı olarak kullanılmaktadır. CD45 “pan lökosit” antijen olarak bilinir ve iskeleti oluşturan antikorlar arasında yer almaktadır. Mevcut olan atipik hücrelerin orijini tespit edildikten sonra, FCM ile değerlendirilebilen hücre çapı, granularite, villöz yapılar gibi fiziksel özelliklerinden de yararlanarak bir görüş sahibi olunur ve ek antikorlar yardımı ile ayırıcı tanıya yönelik çalışmalar planlanır. Bu çalışmalarda hücrelerin oranları ve antijen ifade profilinin çevredeki normal eşdeğerlerinden farkı değerlendirilir. Aberan bir antijen ifadesi, klonaliteyi destekleyecek veriler değerlendirilir (ör: Kappa/lambda ifade eden hücre oranının >5 olması, TCR, TCR ifade eden hücrelerin oranları). Aberan(Bulunduğ gelişim evresinde o hücrede bulunması beklenmeyen) bir antijen ifadesi ya da klonalitenin tespit edilmiş olması her zaman bir malinitenin habercisi olmayabilir. Önemi bilinmeyen monoklonal gammopati(MGUS), monoklonal B hücreli lenfositöz(MBL) veya EBV gibi viral enfeksiyonlar benzer bulgulara sebep olabilirler.

Tarama için kullanılan antikorlar ile atipik olan hücre serisi saptandıktan sonra bu hücrelerin farklılaşmasının saptanması ve hastalığın sınıflanabilmesine yönelik ek çalışmalara yapılır. Tarama tübüne CD19 ile işaretlenmiş B hücrelerde değerlendirilmeye üzere CD5, CD10, CD38 eklenmesi, CD5+ ya da CD10+ hastalıklara yönelmemizi, CD38+ plazma hücrelerinin tespitini, CD19+ CD10+ CD38+ olan sağlıklı genç B hücreleri(hematogon) tespit etmemizi sağlayacaktır. Cd19 ile CD5in eş ifadesine CD23 varlığının, CD22, CD81, CD79b, hafif zincir ifadelerindeki azalmanın/kaybın eklenmesi KLL için karakteristik olacaktır. Prolenfositik lösemiler genelde antijen ile karşılaşmamış “naive” B hücrelerden kaynaklanır ve CD23, ve CD5 yokken CD79b, CD20 ifadesinin parlak olması ile karakterizedir. CD19, CD103, CD123, CD25, CD11c eş ifadesi HCL için karakteristiktir.

CD10 ifadesi FL, DBBHL, BL habercisi olabilir. Veriler değerlendirilirken antijen ifade profillerinde istisnaların olabileceği hatırlanmalı ve bulgular mutlaka morfolojik veriler ile birlikte değerlendirilmelidir.

T hücreleri incelerken CD2, CD3, CD4, CD5, CD7 ve CD8 ifadelerinin oranı ve ifadelerinin şiddeti değerlendirilmelidir. Bu hücrelerdeki TCR, TCR ifadeleri ve buna yönelik yapılan özel çalışmalar ile klonalite olgularının %80i nin tespit edilmesi mümkündür. T hücrelerde CD7 ve CD26 nin eksik olması ve CD 4 hücre oranlarının çok artması, Sezary sendromu için karakteristiktir. CD57, sitoplazmik garanzim ve perforin sitotoksite işaretleridir ve T-LGL tanısı için kullanılırlar. CD10 ve CD279 anjiyoimmunoblastik T hücreli lenfoma; CD30 anaplastik T hücreli lenfoma ve Hodgkin lenfoma hücrelerinde ifade edilebilir.

NK hücrelerin incelenmesi için CD3-CD56+ olan hücelere odaklanmak gerekir. CD45 in incelemeye eklenmesi hem NK hücrelerin seçilmesini kolaylaştırır hem de varsalar CD45-CD56+ olan atipik plazma hücrelerinin tanınmasına yardımcı olur. CD56 miyelomonositer seri hücrelerde de aberan olarak ifade edilebilir ve bu hücre serilerindeki displazinin bir işaretidir. NK hücrelerde CD94 ve HLA-DR ifadesinin artması ya da beklenenden daha geniş bir dağılım görülmesi, klonal NK artışını destekleyen verilerdir; CD45RO ifadesi buna eşlik edebilir. NK hücrelerin yüzeyinde bulunan “Killer Immunglobulin like receptors”, KIRlar, CD138, CD11b, CD161 diğer yardımcı işaretlerdir.

İlk çalışmalarda alınan verilere göre ek bazı parametreler kullanılması ayırıcı tanıya yardımcı olur. Örneğin CD5+CD19+ olan malinitelerden KLL ve MCL nin ilkinde CD43+, CD200+ iken MCL de CD43+ ancak CD200- dir ve Cyclin D1 ifadesi gözlenir. CD123 HCL için karakteristik iken HCLnin varyant formunda (HCLv) CD123 ifadesi yoktur. CD19+ CD5+ olması yanı sıra CD22 ve CD81 ifadelerinin zayıf olması KLL için karakteristik olup; tedaviden sonra kalıntı hastalığın belirlenmesi amacıyla kullanılabilir.

Özetle: FCM, kronik lenfoproliferatif hastalıklarda kullanılan önemli bir inceleme yöntemidir. B hücreli KLPH tanısında (klonalitenin tespiti, NHL sınıflması, santral sinir sistemi tutulumunun ortaya koyulması), hastalığın WHO sınıflmasına göre adlandırılması ve kalıntı hastalık tespitinde yardımcı olur. T hücreli KLPH şüphesinde klonal-reaktif T hücrelerin tespitinde, CD4+ KLPHastalıkların ayırıcı tanısında yardımcı olur. Standart yöntemlerle yapılan FCM incelemeleri tanıya yardımcı olduğu gibi KLPH için yeni hastalık kategorilerinin tespitinde, prognostik değeri olan alt grupların ortaya koyulmasında yol gösterici olabilecek kıymetli verilere ulaşılmasını sağlar.

# K-3b

## HEMATOLOJİDE TANI VE TEDAVİDE LABORATUVAR

**Mehmet Ali Özcan**

Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Onkoloji Enstitüsü, İzmir

Hematoloji hem benign hem de malign hastalık alt başlıklarında hastalıkların tanı ve yönetimi ile ilgilenmektedir. Günlük pratik uygulamalarda neredeyse tanısal eylemlerinin tümü kolay ulaşılabilir bir sistem olan kan sistemi hastalıkları ile ilgili olduğundan kandan gerçekleştirilen laboratuvar uygulamaları temelindedir. Bu kadar geniş başlıkta tam kan sayımı ve periferik yayma ilk test uygulaması olup ardından tanısal açılım için ileri tanısal yöntemler kullanılır. Ancak kompleks ve pahalı yeni yöntemler yanında halen çok uzun süredir kullandığımız ve çok daha ucuz testler geçerliliğini korumaktadır. Biyokimyasal testlerden pek çoğu ileri tanısal uygulamalardan daha çabuk öngörüler sunabilir. Hemolizi saptamakta kullanılan bilirubin ve LDH düzeyleri tanıyı hızla doğrularken altta yatan etioloji için Coomb's testi yardımcı olur. Malign hastalıkların tanısal yaklaşımında sitolojik tanı ile birlikte organ hasarı göstergelerinin belirlenmesi ve prognoz belirlenmesi açısından pekçok basit biyokimyasal testler kullanılmaktadır. Lenfomalı bir hastada eritrosit sedimentasyon hızı ve laktat dehidrogenaz olanak varsa beta 2 mikroglobulin gibi testler hastalık seyri hakkında önemli bilgiler vererek hasta yönetim karar aşamasına katkı sağlamaktadırlar. Multiple myeloma ya da kronik lenfositik lösemi gibi hastalıkların tanı ve tedavi yanıt izlemlerinde protein elektroforezi serum ve idrar immünfiksasyonu çok değerlidir.

Son yıllarda tanı tedavi kararı ve tedavi yanıt değerlendirmesinde hücrel immünfenotipik özelliklerin tespiti giderek kullanım sıklığı ve önemini artırmıştır. Akım sitometride yaşanan teknolojik gelişmeler artı tedavi yanıt değerlendirmesinde kalıntı hastalık belirlenmesine ve bu bilgiye dayalı tedavi kararının yönlendirilmesinde ciddi bir rol oynamaktadır.

Tanısal bilgide genetik konvansiyonel ya da yeni nesil sekanslamaya kadar giden güncel moleküler tetkiklerle de hematolojide önce hastalıkların anlaşılmasında ardından belirlenen hastalık hedeflerine yönelik tedavisel gelişmeler sağlanmasında çok hızlı rol almıştır. Günümüzde bu teknikler araştırma amaçlı nadir kullanımlarının yerine rutin uygulamalara girmeye başlamıştır.

Sunumumuzda detay ve örneklerle pratik bakış açısı ile hematolojik hastalıklarda laboratuvar rolünü tartışma fırsatı bulacağız

# K-4a

## BEYİN HASARI BİYOBELİRTEÇLERİ

Pınar Akan

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, İzmir

Spesifik bir durum ya da uyarıya yanıt olarak santral sinir sisteminden salınan ya da açığa çıkan ve normal olarak periferik sirkülasyonda bulunmayan bir molekül ideal bir biyobelirteç olarak tanımlanabilir. Ancak santral sinir sistemi için böyle bir belirteç henüz tanımlanmamıştır. Beyin ile periferik sirkülasyon arasındaki kan-beyin bariyeri nedeni ile beyin hasarında serum incelemeleri diğer organların hasarlarına göre sınırlı sonuçlar verebilir. Beyin omurilik sıvısı (BOS) analizlerinin değerlendirilmesinde ise beyin-BOS ara yüzü ve kan-BOS bariyeri varlığı ve protein dinamikleri dikkate alınmalıdır.

BOS proteinleri beyinden köken alabilir ancak çoğunlukla beyine spesifik değildir. BOS proteinlerinin yaklaşık %80'i serumdan geçer, %20'si koroid pleksus epitelinden sentezlenir. Beyin hasarını gösterebilen tau, nöron-spesifik enolaz, S-100b protein vb proteinler nöron ve glial hücre kaynaklıdır, ventriküler ve sisternal BOS'da daha yoğun olarak bulunurlar. Beta trace protein ve sistatin-c gibi proteinler ise, leptomeninks kaynaklıdır ve lomber BOS'da daha yoğun olarak bulunur. Bu nedenlerle BOS proteinlerinin analizinde örnek alım şeklinin belirlenmesi ve BOS'daki düşük protein düzeylerini saptamak için yeterli duyarlılıkta yöntemlerin kullanılması gerekir.

Nörolojik hastalıklar için laboratuvar tanı yaklaşımı genel olarak **iki aşamalı** gerçekleşir. Birinci aşama var olan nörolojik belirtilerin ikincil nedenlerini açıklamak için spesifik olmayan rutin serum analizlerinin kullanılması ve metabolik ve/veya endokrinolojik nedenlerin dışlanması şeklindedir. İkinci aşama ise sinir sistemi hastalıklarına özel serum ve beyin omurilik sıvısında gerçekleşen tanı testleri kullanılmasıdır. Beyin omurilik sıvısı analizleri, invaziv olmakla birlikte santral sinir sisteminin mevcut durumu hakkında serum analizlerine kıyasla değerli bilgiler verebilir. Klinik biyokimya laboratuvarında gerçekleşen BOS incelemeleri "**acil analizler, rutin analizler ve ileri analizler**" şeklinde üç grupta toplanabilir. Acil analizler örnek bekletilmeksizin yapılan görsel inceleme, protein, laktat, glukoz, elektrolit ve hücre sayımı incelemelerini kapsar. Rutin BOS analizleri ise serum ile birlikte gerçekleşen IgG, IgA ve IgM incelemeleri yanı sıra oligoklonal bant analizi ve gereğinde hastalıklara özel spesifik antikorların indeksleri kapsar. Beyin hasarı belirlemek için yapılan kreatin kinaz BB izoenzimi, S-100b (asidik kalsiyum bağlayıcı protein), nöron spesifik enolaz, miyelin temel protein ve glial fibrillar asidik protein, demans ayırıcı tanısı için tau ve  $\beta$ -amiloid 1-42 ve Creutzfeld-Jacob hastalığı için protein 14.3.3 gibi beyin kaynaklı proteinlerin analizleri, BOS/nazal sekresyon ayırımı için beta-trace protein ve sarkoidoz tanısı için anjiyotensin dönüştürücü (ACE) analizleri ileri BOS analizleri olarak kabul edilebilir.

Günümüzde serum biyobelirteçlerinin erken dönem inme tiplerinin ayırımında, doku hasar derecesinin belirlenmesinde ve ilk kez/tekrarlayan inmeyi önceden tahmin etmede önemleri giderek artmaktadır. Demyelinizan hastalıklar, paraneoplastik nörolojik sendrom, nöropatiler ve nöromusküler hastalıkların ayırıcı tanısında anti-nöral antikorlar/otoantikorlar ve izoelektrik odaklama tekniği ile birlikte elektroforetik analizler tanısal ve prognostik değere sahiptir. Kan ve BOS'da albümin yanı sıra immünglobulin düzeylerinin birlikte değerlendirilmesi kan-beyin bariyer durumunun belirlenmesinde önemli ip uçları sunar. Nörolojik hastalıkların tanısı, risk derecesinin belirlenmesi ve takibinde klinik laboratuvarın rolü giderek artmaktadır.

**Anahtar Kelimeler :** inme, demiyelinizan hastalık, paraneoplastik sendrom, beyin omurilik sıvısı, kan-beyin bariyeri

# K-4b

## NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA BİYOBELİRTEÇLER VE TANIDA ÖNEMİ

Demet Adapınar

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, Eskişehir

Biyobelirteçler, vücut sıvılarında veya dokularda bulunan ve kimyasal bir sürecin indikatörü görevini gören biyolojik moleküllerdir. Biyobelirteçler hastalıkların riskini, çevrenin etkilerini ve hastalığın metabolik süreçlerini değerlendiren göstergeler takımı olarak bilinir.

Ortalama yaşam süresinin artması ile beraber yaşam kalitesini etkileyen hastalıkların başında nörodejeneratif hastalıklar gelmektedir. Nörodejeneratif hastalıklar, sinir sisteminin yapısınınve fonksiyonunun ilerleyici dejenerasyonu ile karakterize heterojen bir hastalık grubu olup, en sık görülen tipleri arasında Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Amyotrofik lateral skleroz, vasküler demans, frontotemporal demans, kortikobazal dejenerasyon, progresif supranükleer palsi, Lewy-body demans, ve Huntington hastalığı olarak sıralanabilir.

Nöroinflamasyon, nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisinde önemli bir mekanizmadır. Nöroinflamasyon ise hastalık yada hastalıklara özgü mekanizmaların ortaya çıkardığı madde yada moleküller ile ilgilidir. Mevcut bilgiler, nörodejenerasyonun altında yatan mekanizmaların ortamda biriken ve hastalıklara özgü olacak şekilde artan oligomer veya polimerler, protein agregasyonları ile mümkün olduğu konusunda önemli bilgiler vermekte ve böylece yeni varsayılan biyolojik belirteçlerin ve / veya farmakolojik hedeflerin geliştirilmesini kolaylaştırmaktadır.

Spesifik proteinlerin bir araya toplanması çeşitli nörodejeneratif hastalıkların etyopatogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Günümüzde bu hastalıkların sinir sistemi içinde yaptığı değişiklikleri, beyin omurilik sıvısındaki bazı biyobelirteçler yardımı ile daha kolay bir şekilde öğrenmek mümkün olmaktadır.

Son zamanlarda, nörodejeneratif hastalıkların çoğunluğunda, Tau, fosforile Tau, Aβ1-42, TDP-43, α-sinüklein, SOD 1, FBSP51, IRS-1, fosforile IRS-1, katepsin D (CTSD), tip 1 lizozom-bağlantılı membran proteini (LAMP1), ubikuitinlenmiş proteinler (UBP), ısı-şok proteini 70 (HSP70), nöron- Spesifik enolaz (NSE), ne filament hafif zincir (NFL), CD9, CD63, CD81 ve CD171 olarak keşfedilen belirteçler, toksik heteroagregatlar oluşturmak için birbirleriyle veya diğer "patolojik proteinlerle etkileşime girdiği gösterilmiştir.

Bu son bulgular, her bir nörodejeneratif hastalığın tek bir spesifik proteinin yanlış katlanmasıyla ilişkili olduğu kavramının üstesinden gelmektedir.

Alzheimer hastalığında hiperfosforillenmiş protein tau'dan oluşan β-Amiloid (Aβ) peptid içeren plaklar ve intranöronal nörofibriler yumaklar iki ana nöropatolojik lezyondur ve hastalık ile ilişkili mikroglial aktivasyonun göstergeleridir. Alzheimer demans biyobelirteçlerin en erken ve en sık kullanıldığı hastalık olarak bilinir. Hastalığın prelinik tanısı biyobelirteçler ile desteklenmekte olup, bugün pek çok ilaç çalışması bu biyobelirteçlerin varlığı ile yapılmaktadır. Yapılan meta-analizler, Alzheimer hastalığında, BOS içinde, azalmış amiloid-beta 1-42 (Aβ 1-42 ), artmış toplam tau ve fosfo-tau proteinlerinin birlikte, hastalığın erken ve ayırıcı tanısı için % 80-90 duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduklarını göstermiştir. Son çalışmalar bu biyobelirteçlerin yanısıra yeni bazı mikroglial aktivasyon ürünlerinin varlığını da BOS içinde hastalığa ait bir biyobelirteç olarak saptamış olup, YKL-40 takıma en son katılan adaydır.

Diğer taraftan, Parkinson hastalığı, a-synuclein'in (α-syn) önemli bir protein bileşeni olarak tanımlandığı intranöronal inklüzyonların (Lewy cisimcikleri) varlığı ile tanımlanır.

Tüm bu biyobelirteçler bugün özgün nörodejeneratif hastalık tanımını yapmak için birer set oluşturmuşlardır. Ölçülen maddelerin en az% 40 özgüllükte kişinin bir nörodejeneratif bozukluğa sahip olup olmadığını göstermesi ve diğer bulgular ile beraber bu özgüllüğün % 90 lara çıkması istenmektedir.

Abraham JD, Calvayrac-Pawlowski S, Cobo S, Salvatat N, Vicat G, Molina L et al. Combined measurement of PEDF, haptoglobin and tau in cerebrospinal fluid improves the diagnostic discrimination between alzheimer's disease and other dementias. Biomarkers. 2011

Goetzl, Edward J. Biomarkers and differential diagnosis of Alzheimer Disease and other neurodegenerative disorders, United States Patent Application, 2016

Charlotte E Teunissen, Lucilla Parnetti, New CSF biomarkers on the block, Embo, Molecular medicine, april, 2017

**Anahatar Kelimeler:** Nörodejeneratif hastalık, Biyobelirteç

# K-5a

## TÜRKİYE’DE TIBBİ BİYOKİMYA UZMANLIK EĞİTİMİNDE GÜNCEL DURUM

**Pınar Tuncel**

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, İzmir

Tıbbi Biyokimya Çekirdek Eğitim Programında, Tıbbi Biyokimya uzmanlık eğitiminin temel ilkesi; “sağlık ve hastalıktaki mekanizmaları tartışabilen, analiz öncesi, analiz ve analiz sonrası süreçleri yönetebilen, laboratuvar yönetimi konusunda yetkin, laboratuvar bulgularını ilgili klinik bilgi ile ilişkilendirerek klinisyene konsültanlık yapabilen, araştırma planlayarak yürütebilen, bilgilerini aktarabilecek becerilere sahip, etik kuralları ve hasta haklarını gözetken ve yaşam boyu öğrenmeyi benimsemiş, yüksek nitelikte uzman yetiştirmektir” şeklinde tanımlanmıştır. Bu niteliklere sahip bir uzmanın yetişmesi için, Tıpta Uzmanlık Kurulu’nun, Müfredat Oluşturma ve Standart Belirleme Sistemi (TUKMOS) çerçevesinde oluşturduğu Tıbbi Biyokimya Müfredat Komisyonu tarafından çekirdek eğitim programı hazırlanmış; bir tıbbi biyokimya uzmanının sahip olması gereken klinik yetkinlikler ve girişimsel yetkinlikler ile hangi düzeyde bu yetkinliklere sahip olunacağı tanımlanmıştır. Ayrıca eğitim sürecinde yapılması gereken rotasyonlar, süreleri ve rotasyon hedefleri yapılandırılmıştır. Eğitim içeriği yanı sıra eğitici standartları ile eğitim verilen kurumdaki mekan ve bulunması gereken donanım standartları da belirlenmiştir. Elbette oluşturulan kriterler eğitim programı ve eğitim kurumu için “minimum” olması gerekenlerdir. Her kurumun kendi özelliklerine, kaynaklarına göre çekirdek eğitim programını içeren, ancak kendine özgü fazlalıkları olan genişletilmiş eğitim programı olabilir/olmalıdır.

Bu çalışma, Türkiye’de Tıbbi Biyokimya uzmanlık eğitiminin; eğitim programı, eğitici ve eğitim ortamı açısından standardizasyonunu sağlayarak uzmanlık eğitiminin kalitesinin artırılmasını; hangi kurumda eğitim alırsa alsın uzmanlık unvanını alan bir kişinin alanında belli bilgi, beceri ve tutuma sahip olmasını garanti ederek daha yetkin uzmanlar yetişmesini sağlayacaktır. Ancak bu da yeterli değildir. Bundan sonraki hedef eğitim programlarının akredite edilmesi olmalıdır.

**Anahtar Kelimeler :**uzmanlık eğitimi, çekirdek eğitim programı

# K-5b

## TIBBİ BİYOKİMYA UZMANLIK EĞİTİMİNDE ROTASYONLAR

**Tülay Köken**

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Afyonkarahisar

Tıbbi Biyokimya uzmanlık eğitiminin tamamlayıcı parçası olan rotasyon eğitimleri 2016 yılında yeniden düzenlenmiştir. Tıpta Uzmanlık Kurulunun karar ile 4 ay İç Hastalıkları, 2 ay Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ve 1 ay Tıbbi Mikrobiyoloji olarak belirlenmiştir. Avrupa ülkelerinde uzmanlık alanımızdaki rotasyonlar ülke dinamiklerine göre değişiklikler göstermektedir. Polivalan sistemde uzmanlık veren ülkelere göre değişiklik göstermekle beraber biyokimya, endokrinoloji, immünoloji, hematoloji, kan bankası ve mikrobiyoloji rotasyonlarını içeren eğitimler verilir iken monovalan sistemlerde bu rotasyonlar farklılıklar göstermektedir. Örneğin İngiltere de “Clinical Chemistry” uzmanlık alanında endokrinoloji eğitime yer verilirken, İsviçre’de endokrinoloji ve hematoloji eğitimi yer almaktadır. Amerika Birleşik Devletlerinde “Clinical Pathology” uzmanlık eğitiminde ise klinik kimya, hematoloji, transfüzyon tıbbı, moleküler tanı, immünoloji ve mikrobiyoloji gibi alanlarda rotasyonel eğitim verilmektedir.

Tıbbi Biyokimya uzmanlık eğitimi rotasyonlarında uygulanacak eğitim programları ve yetkinlik hedeflerinin belirlenmesi gereklidir. Bu yıla kadar bu konunun ele alınmadığını görmekteyiz. Bu konuda eğitimcilerin birikimlerini, uzmanlık öğrencilerinin de sorunlarını paylaştığı bir platform oluşturulacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Uzmanlık eğitimi Rotasyonlar

# K-6

## ONAY DESTEK SİSTEMLERİ

**Tamer Cevat İnal**

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Adana

Klinik laboratuvarların iş yükü her geçen gün artmaktadır. Bir yandan yeni testlerin menülere eklenmesi, diğer taraftan kalite beklentilerinin yükselmesi ve daha kısa “test istem sonuç süresi” beklentileri laboratuvar uzmanları üzerinde baskı oluşturmaktadır. Diğer birçok işin yanı sıra, her gün binlerce test sonucunun onaylanması gerekmektedir. Test sonucu onaylanması, test sonuçlarının kendi içindeki uyumunu izlemek, klinik tanı ile uyumluluğunu değerlendirmek, yaşam ile bağdaşmayan sonuçları fark etmek ve sonuçları klinisyene göndermeden önce olası hataları veya yanlış sonuçları önceden yakalamak amacını taşımaktadır. Hatta uluslararası arena da laboratuvar uzmanının görev tanımında “test sonuçlarının hasta yararına kullanılmasını sağlamak” ve klinik laboratuvarın tanımında “...hastalıkların tanı ve tedavisinin yönlendirilmesini sağlayan...” gibi tanımlamalar kullanılmaktadır. Ancak, günlük test sayıları yüksek olan birçok kurumda uzmanlarımız, laboratuvar bilgi sisteminde önüne gelen sonuçları tam göremeden sadece “enter” tuşuna hızlı hızlı basmak suretiyle onay “görevlerini (!)” yerine getirmeye çalışmakta, uzman sayısının oldukça yetersiz olduğu diğer bazı kamu kurum ve üniversite hastanesi laboratuvarlarında ise bu iş teknisyenler tarafından yerine getirilmektedir. Laboratuvar uzmanı ise bu kadar çok test sonucunu onaylayayım derken gerçek işi olan “hasta”yı gözden kaçırmaktadır. Onay Destek Sistemleri işte tam bu noktada devreye girmekte ve gereksiz iş yükünü azaltarak laboratuvar uzmanının “gerçek işini” yapabilmesi için gereken zamanı sağlamaktadır.

Onay destek sistemi herhangi bir insan girişimine gerek duyulmaksızın yapılan otomatik ve post-analitik bir test onaylama sürecidir. Daha önceden kullanıcı (laboratuvar uzmanı-yöneticisi) tarafından belirlenmiş kriterleri kullanarak test sonuçlarının onaylanıp onaylanmayacağına karar veren bir yazılım programıdır. Tamamen algoritma temellidir; daha önceden belirlenen algoritmaya göre sadece sağlıklı kişilerin sonuçlarını değil patolojik sonuçların bile onaylanmasını sağlayabilir. Algoritmalar birçok veri elementi içerir; onay destek sistemi yazılımları laboratuvarlar tarafından test sonuçlarının manuel olarak onaylanmasına kullanılan algoritmalara benzer hatta çok daha gelişmiş şekildedir. Eğer daha önceden uzman tarafından belirlenen kriterler sağlandı ise yazılım sonuçları otomatik olarak sonuçları onaylar. Eğer algoritmasının herhangi bir noktasında uyumsuz bir sonuç varsa bu sonucu uzmanın önüne getirir. Onay destek sistemi için algoritma yazarken birçok pre-analitik, analitik ve post-analitik veriler kullanılabilir ve bir araya getirilerek sonuçlar için mümkün olan en etkin kontrol mekanizmasının oluşturulması sağlanır. Basit bazı kurallar kullanılabilmesi gibi kompleks kurallar da kullanılabilir. Doğru kural zinciri oluşturulduğunda genel olarak güvenli bir şekilde onaylanan rapor sayısı artırılabilir. Algoritmalarda veri kaynağı olarak pre-analitik bilgiler (hasta bilgileri, cinsiyet, yaş, tanı, ilaç bilgisi, biyolojik faktörler ya da örnek bilgileri örnek alınma zamanı gibi), analitik bilgiler (örnek bütünlüğü, cihaz bilgileri, kalibrasyon verileri, kalite kontrol sonuçları, cihaz üzerinde flag olup olmaması, yöntem özü interferans bilgileri) ve post-analitik bilgiler (delta çek veya referans değişim değeri kullanılabilmesi gibi hasta sonuçlarının ortalamasının takibi) kullanılır. Onay destek sisteminin doğru bir şekilde kullanılmaya kullanılmasıyla sonuçların yüzde 90 kadarının onaylanabilmesi mümkündür.

**Anahtar Kelimeler :** algoritma, laboratuvar informasyon sistemi, otomasyon, verifikasyon



# K-7a

## HASTA BAŞI TESTLERİN YÖNETİMİ

**Dilara Kaman**

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Elazığ

Hasta Başı Testi (HBT), 'test sonucunun zamanında karar alınmasına ve iyileştirilmiş bir sağlık sonucuna götürebilecek bir önlem alınmasına yol açan bir testin performansı' olarak tanımlanabilir. Bu test formuna verilen diğer isimler arasında 'yatak başı', laboratuvar dışı', 'merkezi olmayan' 'saha dışı', 'yardımcı' ve 'alternatif alan' testleridir. Hasta başı testlerinin değerlendirilmesi derhal bir karar verme ihtiyacını göz önünde bulundurmalı ve bunun sonucu iyileştirilip iyileştirilmeyeceğini değerlendirmelidir.

POCT, evden yoğun bakım ünitesine kadar, birçoğu izleme uygulamaları içerebilen bir dizi alanda tanımlanmıştır. Evde, işyerinde ve dinlenme yerinde yapılan en yaygın test şekli, diabetes mellitus yönetiminde kan glikozunun kendiliğinden izlenmesidir. Ayrıca, test sıklığı çok düşük olmasına rağmen, antikoagülasyon izlemeyi üstlenmek için bir eğilim mevcuttur. Birinci basamakta HBT sağlık ocağında, eczanede veya teşhis ve tedavi merkezi adı verilen bir yerde yapılabilir. Hastanelerde, ayakta tedavi kliniklerinde, acil serviste, koğuştta ve ameliyathane de dahil olmak üzere bir dizi yoğun bakım ünitelerinde HBT testleri yapılabilir. Acil serviste HBT kullanımının nedenleri, hayatı tehdit edici durumların hızlı teşhisi (örneğin hipoglisemi), kritik değişkenlerin (örn., Potasyum ve kan gazları) durumunu belirleme ve izleme ve hızlı triyaj; Yoğun bakımda baskın kullanım kritik fizyolojik değişkenlerin (örneğin potasyum, kan gazları, iyonize kalsiyum) izlenmesinde, bunları kabul edilebilir sınırlar içinde korumaktır. Bu uygulamaların tümünün faydaları, klinik, operasyonel ve ekonomik sonuçlarla ölçülmelidir.

POCT'nin izlemeye uygulanması üç ana alanda yararlı olabilir:

- (I) kendi kendini denetleme;
- (II) uzun vadeli hastalıkların izlenmesinde;
- (III) akut müdahalelerin izlenmesinde.

Dolayısıyla, HBT hizmetinin sunulması, aşağıdaki kontrol listesi unsurlarını dikkate alan bir risk değerlendirmesi gerektirir:

- HBT cihazının sağlamlığı;
- Üretilen sonuçların kalitesi, örneğin doğruluk ve hassaslık;
- Cihazın operatörünün eğitim ve yetkinliği;
- Sonuçların bakım verene iletilmesi süreci;
- Sağlanan sonuçları hasta ve bakım verenlerin yorumlayabilme yeteneği;
- Sonuçların doğru kayıtlarının tutulmasını sağlamak için prosedürler;
- Kaynakların yeniden tahsisi de dahil olmak üzere tespit edilen faydaların sağlanması için yönetim değişikliklerinin tanımlanması gerekebilir;
- Uygun olduğunda ve hastalar veya personel nasıl yeniden eğitilecektir;
- Uygulamadaki değişiklikler değerlendirilmesi, örneğin PHBT'nin klinik ziyaretlerle entegrasyonu

Hata azaltma için iyi bir yaklaşım, çok disiplinli bir HBT koordinasyon komitesini ve organizasyon çapında bir HBT politikasını kullanmaktır. Bir birinci basamak sağlık kuruluşu için, bu, sadece HBT için sorumluluk alan bir kişiyi, diğer organizasyonlarda çalışan profesyonellerle birlikte çalışmayı, örneğin yerel laboratuvar hizmetini içerebilir.

HBT için bir koordinasyon komitesi, yüksek kaliteli bir HBT hizmeti sunmanın tüm sürecini yönetmekle yükümlü tutulmalıdır. Üyelik; doktorları, hemşireleri, yerel laboratuvarı, hastaya yakın diğer tanı ve tedavi ekipmanlarını (Örn. Solunum ölçme teknolojileri), organizasyonun yönetim ekibini, tercihen kalite yönetim ekibinden birisini içermelidir. Grup üyeleri, POCT'nin kullanılabilirliği alanları mümkün olduğunca temsil edecek şekilde seçilmelidir

Bir HBT cihazına olan güven, klinik düzenlemenin analitik ihtiyaçlarını karşılamış olduğu düşünüldüğünde, cihazın sağlamlığı ve operatörün yeterliliğine büyük ölçüde bağlıdır. Bir eğitim programı, testin kullanıldığı bağlamı, hastanın ve numuneyi hazırlama, cihazın çalışması (ve güvenli bir şekilde elden çıkarılması), sonucun önemini ve gerekli işlemi anlamasını sağlamalıdır. HBT'nin tüm yönlerinin kaydedilmesi, son zamanlara kadar laboratuvar ve hastane bilgi sistemlerinde verilerin depolanmasının sınırlı ve çoğu zaman tutarsız olması nedeniyle, uzun yıllar önemli bir problem olmuştur. Bu nedenle, test talebini, alınan sonucu ve gerçekleştirilen işlemi doğru bir şekilde kaydetmek mutlak bir minimumda önemlidir. Bazı sorunlar, elektronik hasta kayıtlarının ortaya çıkması, elektronik talep ve HBT enstrümantasyonunun hasta kayıtlarıyla bağlantılı bilgi sistemlerine bağlantısıyla giderilmiştir. Hastanın sonuçlarına ek olarak dokümantasyon; HBT sistemi için standart işletim prosedürüne, operatörlerin eğitim ve sertifikasyon kayıtlarına, dahili kalite kontrol ve kalite güvencesine ve hata günlüklerine ve alınan düzeltici önlemlere kadar uzanmalıdır.

HBT cihazı, kendi laboratuvarına denk kalibrasyon için kullanılan referans noktasına karşı genellikle kalibre edilmelidir. Bununla birlikte, hastanın her iki sistemin sonuçlarına dayanarak yönetilmesi muhtemel olduğu için, herhangi bir HBT cihazı, yerel laboratuara uyumlu sonuçlar vermelidir. Herhangi bir testin doğruluğu, genellikle, tanımlanmış uluslararası bir referans materyaline göre kalibre edilmiş bir referans metotuna göre oluşturulmuştur. Bununla birlikte, bunlar tüm analitler için, özellikle de mikroorganizmalar gibi daha karmaşık olan analitler için mevcut değildir.

Test başına maliyet açısından bakıldığında, HBT laboratuvar bazlı testlerden kaçınılmaz olarak daha pahalıdır. Bununla birlikte, kişi daha geniş bir görüşe sahip olursa, bölüm başına maliyet veya yıllık bakım masrafına bakarsa, HBT önemli yararlar getirebilir.

Sonuç olarak ideal bir HBT cihazı;

- Kısa bir sürede sonuçları sağlamalı,
- Kullanılabilir reaktif kartuşları ile taşınabilir aletler olmalı,
- Tek adımlı işletim protokolüne sahip olmalı,
- Tam kan, BOS, idrar ve dışkı numuneleri (işlenmemiş numuneler) üzerinde direkt numune analizi yapma kabiliyeti olmalı,
- Laboratuvar eğitilmiş bir kullanıcıyı gerektirmeyen basit işletme prosedürlerine sahip olmalı
- Gerekirse, merkezi laboratuara kıyaslanabilir doğruluk ve kesinlik ile "uygun amaç" olan analitik spesifikasyonları karşılayan sonuçlara sahip olmalı,
- Dahili / entegre kalibrasyon ve kalite kontrolü olmalı,
- Sonuçlar, basılı olarak, depolanarak ve iletme hazır olarak sağlanmalı,
- Düşük enstrüman maliyetine sahip olmalı,
- Kayıtlar düzenli bir şekilde hasta bilgilerine aktarılmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Hasta Başı Testi

# K-7b

## HASTA BAŞI TESTLERİNİN YÖNETİMİ

**Ceyda Kabarođlu**

Ege Üniversitesi Tıp Fakóltesi, Klinik Biyokimya Bilim Dalı, İzmir

Mevcut Tıbbi Laboratuvar Yönetmeliđi'nde, "Kalıcı ve özel bir alan gerektirmeksizin, hastanın bulunduğu yerin yanında hemşire, hekim, tıbbi laboratuvar teknikeri veya tıbbi laboratuvar teknisyeni tarafından gerçekleştirilen, elde taşınabilen veya hasta başına geçici olarak getirilebilen kit, cihaz veya aygıtlar ile yapılabilen testler" olarak tanımlanan hasta başı testleri günümüzde hızla ilerleyen teknolojiye bağlı olarak sadece sağlık kurumlarının değil, adeta günlük hayatımızın da bir parçası haline gelmiştir. Hızlı sonuç alma, nispeten kolay kullanım, taşınabilir özellik ve az numune hacmi gereksinimi gibi nedenlerden dolayı sağlık pazarındaki yüzdesi gittikçe büyümektedir.

Hasta başı testlerinin yaygın kullanımı nedeniyle, bu testlerin kullanımı sırasında sonuçlar üzerinde etkili olabilecek hata kaynakları, cihaz kullanımına ait dikkat edilmesi gereken noktalar, sonuçların saklanması-aktarımı, numune hataları gibi analiz öncesi, analiz sırası ve analiz sonrasında dikkat edilmesi gereken birçok basamak bilinmek zorundadır. Bu kapsamda hasta başı cihazlarının sağlık kurumları içindeki sorumluluğu tıbbi biyokimya uzmanlarına verilmiştir.

Hasta başı testlerinin hızlı sonuç vermesi her zaman doğru sonuç verdikleri anlamına gelmemektedir. Hasta bakımının sağlıklı sürdürülebilmesi için diğer laboratuvar testlerinin tabi olduğu sistem performans özellikleri, kısıtlılıkları, iç ve dış kalite programları gibi gereksinimler bu grup testler için de söz konusudur.

Dünya'da ve ülkemizdeki güncel yaklaşım ve standartların bilinmesi kadar bu bilgilerin azami ölçüde uygulanması da hasta sağlığı için son derece önemlidir. Bu sunumda sağlık kurumlarında hasta başı test ihtiyacı, devamlılığı, kalite gereksinimi kısaca yönetimi ile ilgili bilgiler aktarılacaktır.

# K-8a

## LİTERATÜRDE AÇLIK (TANIMI, STANDARDİZASYON VE HARMONİZASYON GEREKLİLİĞİ)

Pınar Eker

KHK İstanbul Anadolu Kuzey Birliği Mekezi Laboratuvarı, İstanbul

Tıbbi laboratuvar dünyasında her aşamada hatalar meydana gelebilmektedir. Preanalitik fazın, laboratuvar uzmanı kontrolü dışındaki alanlarda gerçekleşiyor olması hata oranlarının bu fazda yoğunlaşmasının arkasındaki temel unsurdur. Preanalitik fazda yoğunlaşan hata oranlarının nedenleri standardizasyonun yetersizliği, kötü yönetim ve iyi pratik uygulama rehberlerine yetersiz uyumdur. (1,2) Preanalitik değişkenlik hasta hazırlığı ve biyolojik değişkenliklerin toplamından oluşur ve laboratuvar test sürecinde önemli bir değişkenlik kaynağı teşkil etmektedir. (3)

Diyet, fiziksel aktivite, sigara içimi, alkol tüketimi gibi kontrol edilebilir faktörler çok uzun zamandır biliniyor olsa da preanalitik faz açısından hasta hazırlığı konusunda hala standardizasyon sağlanması noktasında açıklar mevcuttur. Bu kontrol edilebilir faktörlerden bir tanesi de açlıktır (4)

Ayaktan hasta grubu üzerinde yapılan bir anket çalışmasında %39 hastanın açlığın tanımı konusunda farkındalık sahibi olduğu, %46 sınıfın son öğünün bir gün önce yenmesi gerektiğini bildiği ancak son yemekten ne kadar zaman geçmesi gerektiğinin çok önemini bilmediği, %52 sinde kan vermeden önce nasıl hazırlık yapılması gerektiği konusunda kendilerine bir bilgi verilmediği, ancak %60 hastanın numune alımı hazırlığı yaparak kan vermeye geldikleri sonucu yer almıştır. (5)

Preanalitik değişkenlerden açlık durumu laboratuvar öncesi dönemde hazırlık gerektiren ve doğru diagnostik değerlendirme açısından kontrol edilmesi gerekli, bir değişkendir.

### Uluslararası rehberlerde “açlık” tanımı:

Sağlık birimlerinde ve bilimsel literatürde kullanılan açlık tanımlaması açısından büyük bir heterojenite bulunmaktadır. (6)

CLSI H21-A5 Collection, Transport And Processing Of Blood Specimens For Testing Plasma-Based Coagulation Assays And Molecular Hemostasis Assays Sixth Edition:

Hastanın hazırlanmasında açlık konusundan söz edilmiyor.

CLSI H03-A6: Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture: Approved Standard—Sixth Edition:

Zaman ve diyet kısıtlamaları testlere göre değişkenlik gösterir deniyorsa da testler veya test grupları için tam olarak ne tür kesin gereklilikler aranmalıdır ve sağlık kurumu açlık tanımlaması için nasıl sorumluluk üstlenmelidir sorusunun cevabını içermemektedir.

(WHO) Guidelines on Drawing Blood give thorough recommendations on best practices in phlebotomy:

Hastaların açlık durumu ile ilgili hiçbir dikkat çekici ifade yer almamaktadır, sadece “son iki saat içerisinde bir şey yiyip içtiniz mi” sorusunun kan alımı öncesi sorulacağından söz edilmekte ama cevabın evet olması durumunda ne yapılması gerektiği konusunda bir yönlendirme bulunmamaktadır.

2005 de diagnostik uygunluk açısından biyokimyasal parametrelere açlığın etkisini izah etmek için Medline (1965-2004 yılları arası) ve Pub Med (Ulusal Tıp Kütüphanesi) aracılığıyla sistematik bir literatür araştırması yapılmış, başlıklar ve abstraktlar yoluyla kritik değerlendirme için 835 yayın seçilmiştir. Literatürün incelenmesi sonucunda açlığın çeşitli yönleriyle güçlü kanıt ihtiyacı olduğu ifade edilmiştir. Bu konular açlığın süresi, sigara içimi, kahve, fiziksel aktivite olarak tespit edilmiştir. (6)

### Tokluk durumundan biyokimyasal parametreler nasıl etkilenmektedirler?

Yemek yedikten sonraki dönem postprandial dönem olarak tanımlanır ve oksidatif stres, inflamasyon ve endotelial disfonksiyon ile karakterizedir. (7)

En belirgin ve klinik açıdan önemli biyokimyasal değişiklikler yemekten sonraki 4 saat içerisinde izlenir ve etkilenen parametreler trigliserid, albümin, Alanin amino transferaz, Aspartat amino transferaz, kalsiyum, sodyum, magnezyum, potasyum, c reaktif protein, ürik asit ve total bilirubindir. (3)

Öğünden 1 saat sonra lenfosit sayısı belirgin düşüş göstermekte en büyük klinik önemli değişkenlik ise yemekten 4 saat sonra nötrofil, eosinofil, eritrosit sayılarında, hematokrit değerlerinde ve MCH de izlenmektedir. (8)

Açlık süresi ve günün hangi saatinde numunenin alınması da biyokimyasal analizlerde önemlidir (9)

Ayrıca açlık dışı durumlar ölçüm metodlarında ışığın transmisyonunu kullanan testlerin sonuçlarını 3 ayrı mekanizma ile etkiler: Işığın dağılması, akıcı olmayan fazın çoğalması ve polar ve nonpolar fazların arasındaki bölünme. (10)

350 ml kadar kahve tüketiminin ardından 1 saat içerisinde açlık glukoz değeri %12 oranında artış gösterir. Bu etki aşırı kilolu ve kadınlarda daha belirgindir. (11)

## **European Federation of Clinical Chemistry and**

### **Laboratory Medicine (EFLM) Preanalitik çalışma grubu tarafından hazırlanan ve sunulan öneriler (12)**

1. Filebotomi için var olan “guideline” ların revize edilmesi gerekmektedir Revize edilen öneriler laboratuvar test öncesi hasta hazırlığı ile ilgili olarak tam tanımlamalar içermelidir. Tüm kan testleri için kan tercihan sabah 7 ile 9 saatleri arasında alınmalıdır. Açlık 12 saatte sonlandırılmalıdır, su tüketimine izin verilmelidir. Alkol kullanımı kan vermeden 24 saat öncesi itibarı ile kesilmelidir. Sabah kan vermeden önce sigara içilmemeli, kahve, çay tüketilmemelidir.
2. IFCC EFLM gibi profesyonel dernekler harmonizasyon çalışmalarını açlık tanımı için standardize öneriler yayınlamakla desteklemelidir.
3. Dünya genelinde laboratuvarlar kan alınması ve hasta hazırlığı için standardize prosedürler uygulamalıdır.
4. Laboratuvarların açlık ile ilgili numunelerin kabul kriterleri için politikaları olmalıdır. Rutin kan numuneleri eğer hasta numune alımı için uygun şekilde hazırlanmamış ise kesinlikle alınmamalıdır. “Kötü numunedense hiç numune alınmamış olması daha iyidir” ilkesi her zaman ön planda olmalıdır.
5. Laboratuvar profesyonelleri açlık gereklilikleri konusunda hastalara olduğu kadar klinik hekimlere ve aile hekimlere de gerekli bilgiyi sağlamaktan sorumludurlar ki hastalar genellikle bilgi almak için aile hekimlerini tercih etmektedirler.

Total test sürecinde her basamak hata potansiyeline sahiptir ve bu hatalar laboratuvar sonuçlarının total belirsizliğine katkı oluşturmak yoluyla ilave etki yaratırlar. Preanalitik fazın kritik basamakları tanımlanmalıdır ve standardize edilmelidir. Toplam preanalitik değişkenliği azaltmak için hasta hazırlığı konusu standardize edilmek zorundadır, aksi halde hastalara ait longitudinal data ne karşılaştırma çalışmalarında ne de tıbbi kararlar almak konusunda kullanılabilir. (4)

### **REFERANSLAR:**

1. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. Clin Chem Lab Med. 2006;44:358–65.
2. Lippi G. Governance of preanalytical variability: travelling the right path to the bright side of the moon? Clin Chim Acta. 2009;404:32–6.
3. Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Lippi G, Gelati M, Montagnana M, Danese E, et al. Influence of a regular, standardized meal on clinical chemistry analytes. Ann Lab Med 2012;32:250–6.
4. Simundic AM, Cornes M, Grankvist K, Lippi G, Nybo M. Standardization of collection requirements for fasting samples: for the Working Group on Preanalytical Phase (WG-PA) of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). Clin Chim Acta. 2014 May 15;432:33-7. doi: 10.1016/j.cca.2013.11.008. Epub 2013 Nov 20.
5. Kackov S, Simundic AM, Gatti-Drnic A. Are patients well informed about the fasting requirements for laboratory blood testing? Biochem Med (Zagreb). 2013;23(3):326-31.
6. Nybo M, Grinsted P, Jørgensen PE. Blood sampling: is fasting properly defined? Clin Chem 2005;51:1563–4.
7. Chan DC, Pang J, Romic G, Watts GF. Postprandial hypertriglyceridemia and cardiovascular disease: current and future therapies. Curr Atheroscler Rep 2013;15:309
8. Lippi G, Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Montagnana M, Gelati M, Picheth G, et al. Influence of a light meal on routine haematological tests. Blood Transfus 2010;8:94–9.
9. Emberson JR, Whincup PH, Walker M, Thomas M, Alberti KG. Biochemical measures in a population-based study: effect of fasting duration and time of day. Ann Clin Biochem 2002;39:493–501
10. Kroll MH, Elin RJ. Interference with clinical laboratory analysis. Clin Chem. 1994;40:1996–2005
11. Zargar A, Auttapibarn C, Hong SH, Larson TJ, Hayworth KH, Ito MK. The effect of acute café latte ingestion on fasting serum lipid levels in healthy individuals. J Clin Lipidol 2013;7:165–8.
12. Simundic AM, Cornes M, Grankvist K, Lippi G, Nybo M, Kovalevskaya S, et al. Survey of national guidelines, education and training on phlebotomy in 28 European countries: an original report by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) working group for the preanalytical phase (WG-PA). Clin Chem Lab Med 2013;51:1585–93.

**Anahtar Kelimeler :** Açlık, Preanalitik değişkenler, Standardizasyon, Harmonizasyon

# K-8b

## ANALİZ ÖNCESİ EVREDE DIŞ KALİTE KONTROL

Giray Bozkaya

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bozyaka Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı, İzmir

Analitik evre ile ilgili dış kalite kontrol programları oldukça yaygın olarak her tıbbi laboratuvarında kullanılmaktadır. Ancak analiz öncesi evre ile ilgili dış kalite kontrol yeni bir kavramdır ve henüz pek bilinmemektedir. ISO 15189 Tıbbi Laboratuvar Standartları, analiz öncesi ve sonrası işlemler dahil, tüm analiz sürecini kontrol etkisine sahip dış kalite kontrol programlarının seçilmesi gerektiğini belirtmektedir. Buradan hareketle dış kalite kontrol programları geliştirilmeye başlanmış ve kullanıma sunulmuştur.

Analiz öncesi evre ile ilişkili dış kalite kontrol programları; analiz öncesi evrede karşılaşılan hataları önlemeye yönelik yöntemlerin kaydedilmesi, analiz öncesi evreye ait hata içeren dış kalite kontrol örneklerinin çalışılması ve belirli bir sürede saptanan hataların bildirilmesine yönelik olarak sınıflandırılabilir.

İlk grupta genellikle çeşitli analiz öncesi evre hataları içeren olgular hazırlanarak katılımcı laboratuvara gönderilir ve belirledikleri hataları bildirmeleri istenir. Bir anket çalışmasına benzeyen bu uygulamanın değerlendirilmesinde tespit edilmesi gereken hatalar, açıklamalı bir şekilde katılımcıya gönderilerek analiz öncesi süreçte alınan önlemleri geliştirici önerilerde bulunulur.

İkinci gruptaki dış kalite kontrol programı alıştığımız analitik evre yöntemine benzer. Hemoliz veya lipemi gibi hatalı örneklerin laboratuvarlara gönderilerek belirli testlerin çalışılması ve elde edilen sonuçların gönderilmesi istenir. Laboratuvarın gönderdiği sonuçların değerlendirildiği bu tip dış kalite kontrol, tüm katılımcılara aynı örneğin gönderilmesindeki zorluk nedeniyle tedarikçi açısından daha sıkıntılıdır.

Üçüncü grup ise belirli bir sürede gerçekleşen hataların rapor edilmesi esasına dayanır. Kalite göstergelerinin istatistikleri tutularak elde edilen verilerin rapor edildiği bu uygulamada yapılması gereken iyileştirmelerin önerileriyle birlikte veriler hakkında değerlendirme yapılır.

Henüz çok yaygın olmasa da yakın bir gelecekte analiz öncesi evre dış kalite kontrolün laboratuvar uzmanlarının rutinine gireceği anlaşılmaktadır. Bu sayede analiz sürecine olumsuz etki yaratan faktörlerin önlenmesi hususunda gerekli iyileştirmeler yapılarak toplam test sürecinde karşılaşılabilecek hatalar mümkün olduğu kadar en aza indirilebilecektir.

**Anahtar Kelimeler :**dış kalite kontrol, analiz öncesi

## Panel-2a

### KALP YETMEZLİĞİ VE AKUT KORONER SENDROMDA PROGNOZ BELİRLEYİCİ BELİRTEÇLER

Tevfik Noyan

Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Ordu

Natriüretik peptidler (NP), atriyal NP (ANP), B-tipi NP (BNP) ve C-tipi NP (CNP)'leri içeren genetik olarak farklı, yapısal olarak ilişkili bir peptid ailesidir. ANP ve BNP çoğunlukla kalp kası hücrelerinden salgılanırken, CNP esas olarak merkezi sinir sistemi, endotel, kemik ve üreme sistemi tarafından üretilir. İnsan NP genleri daha uzun bir plazma yarılanma ömrüne ve dolayısıyla klinik kullanım için daha uygun biyolojik belirteç özelliklerine sahip inaktif peptidleri kodlar. BNP, aktivasyonu öncesi 108 amino asitlik (a.a) öncü polipeptid olan pro-BNP olarak her iki ventrikülün ve az miktarda atriumun sekreteruar granüllerinde depolanır. Volüm yüklenmesine bağlı myokardiyal gerilme ile proBNP sekrete edilir ve biyolojik olarak etkisiz 76 a.a'den oluşan N- terminal proBNP (NT-pro-BNP) ve 32 a.a'den oluşan aktif BNP'ye ayrılır. Her iki fragman plazmaya eşit konsantrasyonda salgılır ve konjestif kalp yetmezliğinin değerlendirilmesinde kullanılır. Dolaşımdaki BNP ve NT-pro-BNP seviyeleri normal durumda oldukça düşüktür, ancak kalp yetersizliği gibi sıvı retansiyonu ile karakterize patofizyolojik koşullarda artar. Buna ek olarak hipoksi-tepki uyarı alıcıları BNP geninin promotör bölgesinde mevcuttur ve hem myokardiyal iskemi hem de hipoksi güçlü BNP salgınını uyaran faktörlerdir. Bu durum, yüksek BNP düzeylerinin akut koroner sendromda veya egzersiz kaynaklı iskemide ventriküler dilatasyonun olmamasına rağmen neden serumda NP miktarında artışlar olduğunu açıklamaktadır. NP'lerin özellikle normal sol ventrikül atım fraksiyonuna sahip kalp yetersizliğini dışlamak için kullanılması önerilmektedir. NP'ler ortak bir moleküler konfigürasyonu paylaşan yüksek afiniteli transmembran reseptörlerine bağlanırlar (NPR-A, NPR-B, NPR-C). Hem ANP hem de BNP, diürezis ve natriürezisi teşvik etmek, vazodilatasyon sağlamak için böbrekler üzerinde etki gösterirler ve kalpte hipertrofi ve fibroza neden olabilen yüksek ön yük ve arka yük basınçlarından kalbi korurlar. Ek olarak, ANP ve BNP sempatik tonusu düşürür, renin aldosteron salgınını bastırır; bu nedenle aynı zamanda renal ve kardiyovasküler etkilere karşı olan sistemlerin etkinliğini de düşürürler. Stabil ve akut dekompanse kalp yetersizliğinin tanısı, hastalık ciddiyetinin saptanması ve optimal medikal tedavisinin düzenlenmesinde natriüretik peptidlerin düzeylerinin değerlendirilmesi önerilmektedir. İki geniş çaplı meta-analiz B-tip natriüretik peptide dayalı tedavi ile mortalite oranlarının azaldığını göstermektedir.

Koronar arter hastalığı ve akut koroner sendromda yüksek BNP veya NT-pro-BNP düzeylerinin kötü prognozla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. NT-pro-BNP ve BNP düzeyleri ile glomerüler filtrasyon hızı (GFR) arasında ters ilişki olduğu saptanmıştır. BNP plazmadan glomerüler filtrasyon ve endopeptidazlar tarafından temizlenirken, NT-pro-BNP büyük oranda glomerüler filtrasyonla kandan temizlenir. Bu nedenle renal yetersizliğe sahip hastalarda, BNP ve NT-pro-BNP için kullanılan cut-off değerleri farklılıklar göstermektedir. GFR < 60 ml/dk hastalarda kronik kalp yetersizliği cut-off değeri olarak BNP için >200 pg/mL, NT-pro-BNP için ise >1200 pg/mL değerlerinin kabul edilmesi gerekmektedir. GFR'ye bağlı değerlendirmede yaşa bağlı eşik değerlerin de dikkate alınması gerekmektedir. Renal klerens tersine, obezite ile BNP düzeyleri arasında ters ilişki vardır. Kalp yetersizliği olan zayıf bireylerin BNP düzeyleri, obez kişilere göre 3 katı daha yüksektir. Atriyal fibrilasyon yüksek BNP düzeylerine sebep olur. Bu nedenle kalp yetersizliğinin ekarte edilmesi için daha yüksek cut-off değeri kullanılması önerilir.

C-reaktif protein (CRP), streptokokus pnömoni adlı bakterinin hücre duvarının C-polisakkaritine bağlanan bir proteinden ismini alır. CRP, beş 23 kD' luk alt biriminden oluşan pentraksin ailesinden olup, insan doğal bağışıklık cevabında rol oynar. Sentezi enfeksiyon, travma ve aterosklerozla cevap olarak damar düz kas hücrelerindeki aktive lökositlerden serbestleşen IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$  gibi çeşitli inflamatuvar sitokinlerle uyarılır. Yüksek duyarlılıkta CRP (hs-CRP) analiziyle sağlıklı bireyde çok düşük düzeyler saptanabilmektedir. hs-CRP, inflamatuvar belirteçler içerisinde en stabil olan ve koroner arter hastalığı konusunda klinik çalışmaları en fazla olan proteindir. hsCRP, artmış kardiyovasküler hastalık riski oluşturan, vasküler plak birikimi ve yeniden modellenme ilişkili immünolojik sürece dahil olmasına rağmen, atherothrombozise neden olan bir etken olarak oynadığı role ilişkin kesin kanıtlar yoktur. hs-CRP düzeyi >3.6 mg/L hastalarda koroner olay gerçekleşme riskinin < 3 mg/L altında olanlara göre 2 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. Akut koroner olayı takiben 3 ay süreyle yüksek olan hs-CRP düzeylerinin ise tekrarlayan koroner olayla ilişkisi araştırılmış ve +1 SD hs-CRP artışının, koroner olay riskini % 50 artırdığı bildirilmiştir.

Çözünür ST2; interleukin-1 (IL-1) reseptör ailesinin bir üyesidir. ST2 geni ST2 ligand (ST2L)- transmembran form ve çözünür ST2 (sST2) insan plazma dolaşımında çözünür form olmak üzere iki izoform kodlar. sST2; kardiyovasküler sistem için daha özgüldür. Mekanik stres, myokard hasarı, inflamasyon ve yeniden şekillenme (fibrozis, hipertrofi) durumlarına ilişkin sST2'nin, hsCRP'den daha fazla bilgi verdiği ileri sürülmektedir. sST2 kardiyovasküler ve bütün ölüm mortalitesini belirlemede hsCRP'den daha iyi bir indikatör ol

**Anahtar Kelimeler:** Natriüretik peptidler, hsCRP, sST2 ve kardiyak prognoz

## Panel-2b

### AKUT KORONER SENDROMLARIN TANI VE İZLEMİNDE GÜNCEL YAKLAŞIMLAR: KARDİYAK TROPONİNLERİN DÜNÜ, BUGÜNÜ VE YARINI

Özlem Yavuz

Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Balıkesir

Kardiyak troponinler (cTn), aktin ve miyozinin kalsiyuma bağlı etkileşimini düzenleyerek kalpteki ekstrasistolik–kontraksiyon sürecinde görev alan, çizgili kas sarkomerinin ince filamentinin bileşenleridir. Üç cTn altbiriminden (C, I ve T) sadece cTnT ve cTnI'nın kardiyak kasa spesifik izoformları eksprese edilir. cTn'lerin büyük çoğunluğu kontraktıl aparatın ince miyoflamanına bağlı halde, küçük bir kısmı da (%3-6) miyozitlerin sitoplazmasında bağlanmamış protein olarak bulunur. cTn-T ile I'nın spesivite ve sensitivitesi böbrek disfonksiyonlu hastalar dışında benzerdir ve miyokard hasarı için oldukça yüksektir. European Society of Cardiology/American College of Cardiology (ESC/ACC) tarafından 2000 yılında akut miyokard infarktüsü (MI) tanısında, ACC/American Heart Association (AHA) tarafından ise anstabil anjina pektoris tanısı ve takibinde standart belirteç olarak kabul edilmişlerdir.

cTnT ve cTnI, kardiyak enzimler veya kreatin kinaz-MB (CK-MB) kütle ile karşılaştırıldığında, üstün sensitivitesi ve mutlak kalp dokusu spesivitesi nedeniyle miyokardiyal nekroz tanısında tercih edilen biyobelirteçlerdir. Sitolik havuzda bulunan cTn miktarı CK-MB konsantrasyonu ile aynıdır; ancak, kontraktıl aparatı da önemli miktarda cTn bulunması nedeniyle, miyokardın gramı başına cTn konsantrasyonu CK-MB'nin 13-15 katıdır. Bu nedenle erken dönemde c-Tn sensitivitesi CK-MB'den daha fazladır ve çok küçük miyokard doku hasarında (iskemi, infarkt, travma, toksik hasar veya inflamasyon), periferik kanda CK-MB düzeyleri normalden de cTn daha yüksek bulunur.

Sağlıklı bir kişide periferik kanda cTn düşük düzeydedir; ancak, miyosit hasarı durumunda, erken dönemde sitolitik havuzdan, geç dönemde ise kontraktıl aparatın periferik kana salınma nedeniyle ölçülebilen düzeylere erişmektedir. Akut miyokard hasarı sonrası 2-4 saat içinde kan düzeyleri yükselmekte, 24 saatte zirveye ulaşmakta, sonrasında yaklaşık 2-3 hafta kadar kan cTn düzeyleri yüksek seyretmektedir. CK-MB düzeyinden farklı olarak uzun süreli yüksekliğinin nedeni, cTn'nin geç dönemde kontraktıl aparatın salınımının devam etmesidir.

Miyokard infarktüsünün (MI) tanımı, rafine edilmiş EKG kriterleri, daha ileri görüntüleme yöntemleri ve daha duyarlılık ve spesifik biyolojik belirteçler geliştirildikçe değişmeye, evrim geçirmeye devam etmektedir. Daha önce 2000 yılında yapılmış olan "Miyokard İnfarktüsünün Evrensel Tanımı" 2007 yılında güncellendi. Klinik semptomlar, kardiyak biyobelirteçler ve EKG değişikliklerinin kombinasyonu ile 2012 yılında "Üçüncü Evrensel MI" Tanımı yapıldı. Günümüzde geçerli olan bu tanıma göre, çok küçük miktarlarda miyokardiyal hasar veya nekrozun biyokimyasal belirteçler ve / veya görüntüleme yöntemleri ile saptanabildiği kabul edilmektedir.

cTn analizinde konvansiyonel yöntemler, yeni jenerasyon duyarlılık ve yüksek duyarlılık (hs) analizleri üretmek üzere kademeli olarak geliştirildi, yeniden geliştirildi ve yeniden formüle edildi. "Duyarlılık" ve "yüksek duyarlılık" deyimleri üreticiler tarafından yöntemlerinin hassasiyetinin artmış olduğunu tanımlamak için kullanıldı. Normal referans popülasyonun %50'sinin cTn düzeyini belirleyen duyarlılık; %90'ının cTn düzeyini belirleyen yöntem yüksek duyarlılık cTn olarak adlandırıldı. "Kardiyak Biyobelirteçlerin Klinik Aplikasyonları" ile ilgili IFCC çalışma grubu (Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers-IFCC TF-CB) 2011 yılında oluşturuldu. Laboratuvar tıbbi uzmanları, acil tıp hekimleri ve kardiyologlardan oluşan TF-CB'nin ilk icraatı klinik uygulamada yüksek duyarlılık kardiyak troponin (hs-cTn) testlerinin uygulanmasına ilişkin iki önemli hususa değinmek oldu. Bu anahtar konulardan biri üst referans sınırının (URL) 99. persentili ve diğeri de MI'nın evrensel tanımına uygun seri değişim değerlerinin (Delta, D) hesaplanmasıdır. Üst Referans Sınırının (URL) 99. persentil değeri, akut miyokard infarktüsünün tanısına yardımcı olmak için referans karar düzeyi olarak evrensel olarak onaylanmıştır.

IFCC TF-CB tarafından önerilen ve uygulamada hs-cTn analizlerini kullanmak için gerekli olan temel bileşenler şunları içerir: a) 99. Persentil değeri sağlıklı popülasyonda belirlenmeli, b) literatürde veya üretici prospektüsünde kabul edilmiş olmalı, c) hs-cTn analizleri £ %10 analitik imprecizyonla ölçülmeli, d) yüksek duyarlılık analizler sağlıklı olguların %50'sinden fazlasında belirlenebilir en düşük konsantrasyonun üzerindeki cTn'yi ölçebilmeli, e) 99. Persentil değerleri sadece tam sayı ve ng/L olarak rapor edilmelidir.

IFCC TF-CB, hs-cTn analizlerinin 99. persentilini etkileyen faktörleri şekilde özetlemiştir: a) Yaş: cTn düzeyleri yaşla arttığı için 60 yaş üzerindeki kişiler seçilmeli. b) Cinsiyet: erkeklerde değerler kadınlardan daha yüksektir. c) Analiz Yöntemi: Analizler standardize edilmediği için 99. persentil her analiz için belirlenmelidir. d) Örnek Tipi: 99. persentil serum, plazma ve/veya tam kanda farklı olabilir.

IFCC TF-CB yüksek duyarlılık analizlerin en az iki analitik kriteri karşılaması gerektiğini önermektedir: 1) 99. Persentil değerinde % CV £10% olmalıdır. 2) Ölçülebilir konsantrasyonlar, sağlıklı bireylerin en az %50'si için analizin LoD (limit of detection) değerinin üzerinde bir konsantrasyonu ölçebilmelidir. Limit of detection (LoD): Limit of blank (LoB)'den daha



büyük bir konsantrasyondur. Klinik uygulama için güvenli olarak rapor edilebilen düşük bir cTn konsantrasyonu içeren bir örnekte, LoB'den güvenilir bir şekilde ayrıntıdilebilen belirlenebilir en düşük cTn konsantrasyonudur.

Duyarlılık ve yüksek duyarlılık kardiyak troponin testlerinin geliştirilmesi ve uygulanması, sadece akut miyokard enfarktüsünün (AMI) erken tanısını ve tanının dışlanmasını hızlandırmış değildir, aynı zamanda 99. persentilden yüksek kardiyak troponin konsantrasyonlarının varlığında, nekrozlu miyokardiyal hasar riski taşıyan hastaların tanımlanmasına da katkıda bulunmaktadır.

Kardiyak troponin değerlerindeki seri değişikliklerin derecesinin belirlenmesi, AMI da dahil olmak üzere her türlü akut kardiyak hasara sahip hastaları, çoğu yapısal kalp hastalıklarıyla ilgili daha kronik artışı olanlardan ayırt etmenin en iyi yoludur. Özellikle de yüksek duyarlılık analizlerde cTn değerlerinin genellikle yüksekliği nedeniyle bu yaklaşım gereklidir. AMI tanısı için altın standart, zamanlamanın buna izin verdiği varsayıldığında, daima delta değişikliklerine dayanmalıdır. Göğüs ağrısı olan hastalarda AMI'ı ekarte etmek için de delta değişikliklerin belirlenmesi esastır. Yalnız tek başına yükselmeler yetersizdir çünkü koroner arter hastalığı veya enfeksiyon, metabolik hastalıklar gibi kardiyak olmayan hastalıkları veya koroner kalp hastalıklarını da içeren yapısal kalp hastalığına bağlı olarak yüksek cTn saptanabilir. Klinik spesiviteyi optimize etmek amacıyla cTnI ve cTn T değerleri için belirlenmiş evrensel D, Delta (göreceli değişim değerleri olarak da adlandırılır) değeri bulunmamaktadır.

hs-cTnI ve hs-cTnT analizlerinin kullanılmasıyla (a) kısa vadede (kabul sırasında) ve uzun vadede (6 aydan uzun) semptomatik ve stabil akut koroner sendromlu hastaların önemli kardiyak risklerinin belirlenmesi (b) miyokardiyal hasara neden olan noniskemik patolojilerin tanımlanması ve akut koroner sendromlu hastalarla karşılaştırılan daha yüksek risklerin gösterilmesi ve (c) artmış hs-cTn değerlerinin yapısal kalp hastalığı ve kronik böbrek hastalığı ile ilişkili olduğu, bilinen koroner arter hastalığı olan ya da olmayan çok ırklı populasyonlarda kardiyovasküler mortalitenin önlenmesi mümkün olacaktır.

Görünürde sağlıklı bireylerin gelecekteki risklerini tahmin etmek üzere yapılacak taramalarda hs-cTn analizlerinin rolünün belirlenmesi için gelecekte yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulacaktır.

**Anahtar Kelimeler :**Kardiyak troponinler, yüksek duyarlılık, akut koroner sendrom

# Panel-2c

## AKUT KORONER SENDROMLARIN TANI VE İZLEMİNDE YENİ BELİRTEÇLER

Evin Ademoğlu

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, İstanbul

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de kardiyovasküler hastalıklar tüm ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır ve koruyucu önlemlere rağmen bu hastalıkların küresel ölçekte uzun bir süre daha bir numaralı ölüm sebebi olmaya devam edeceği öngörülmektedir. Kardiyovasküler hastalıkların acil servise başlıca başvuru nedenini oluşturan akut koroner sendromlar (ACS), kararsız anjina pektoris, ST-yükselmesi olan ve ST-yükselmesi olmayan miyokard enfarktüsü gibi hepsi morbidite ve mortaliteye yol açan geniş bir spektrumu kapsar. Diğer taraftan, ACS yol açtığı iş gücü kaybı, morbidite ve mortaliteye ek olarak yüksek tanı ve tedavi giderleri nedeniyle de önemli bir sağlık sorunu oluşturmaktadır. ACS'li bir hastaya yaklaşımda temel hedefler en kısa sürede tanı konulması, risk sınıflandırılması ve tedavi seçeneklerinin belirlenmesidir. Hızlı ya da hatalı verilen kararlarla hastaların acil servisten taburcu edilmesi tedavi gecikmelerine ve hastanın ölümüne neden olurken ilk bulgulara dayanılarak hastaneye yatırılan hastaların yaklaşık yarısının daha sonra ACS olmadığı gösterilmiş. Sonuç olarak, ACS'de tanı koyma süresinin gecikmesi mortalite ve morbidite oranlarını artırırken, tanının dışlanması için geçen sürenin uzaması acil servislerde ciddi yığılmalara ve sağlık harcamalarının artmasına neden olmaktadır.

Günümüzde ACS tanısı hasta öyküsü, fizik muayene, EKG bulguları ve başta kardiyak belirteçlerin düzeyi değerlendirilerek konulmaktadır. ACS'li hastalar klinik ve laboratuvar bulgular açısından oldukça heterojen bir dağılım göstermektedir, vakaların yaklaşık 1/3'ünde göğüs ağrısı yoktur. ST-yükselmesi ve Q dalgası gibi miyokard enfarktüsü tanısını kuvvetle destekleyen EKG bulguları akut miyokard enfarktüslü hastaların ancak yarısında bulunmakta ve göğüs ağrısı ile başvuran hastaların ancak %20'sinde enfarktüs tanısı hemen konulabilmektedir. Stabil olmayan anjina pektorisli veya ST-yükselmesi ya da EKG değişikliği olmayan vakalarda tanı koymak daha zor ve zaman alıcı olmaktadır. Bu nedenle, göğüs ağrısı ile başvuran hastalarda tanı ve ayırıcı tanı için belli aralıklarla EKG ve kardiyak belirteçlerin düzeyindeki değişikliklerin izlenmesi gerekmektedir. Yüksek duyarlılığı ve özgünlüğü nedeni ile kardiyak troponinler (cTn), özellikle de yüksek duyarlılık-cTn'ler günümüzde miyokard hasarının gösterilmesinde altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak, cTn'lerin akut miyokard enfarktüsü tanısının doğrulanması ya da dışlanması için seri ölçümler gerektirmesi; çok erken dönemdeki vakaları ya da küçük iskemik olayları saptamadaki kısıtlılığı; miyokardit, kalbi tutan amiloidoz, sarkoidoz gibi kronik hastalıklar, pulmoner emboli, kardiyak travma gibi koroner arter hastalığı dışındaki bazı durumlarda da yükselmesi; kronik böbrek yetersizliği olan hastalarda özel cut-off değerleri gerektirmesi acil servis koşullarında önemli bir dezavantaj oluşturmaktadır. ACS riskinin öngörülmesi, hastalığın tanısı ya da dışlanması, risk değerlendirmesi, tedavi takibi ve prognozunun belirlenmesi için tek başına ya da cTn'lere ek olarak kullanılabilen yeni belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla son yıllarda ACS'nin patofizyolojisini yansıtan ve ACS riskinin öngörülmesi, yüksek riskli hastaların erken saptanması ya da prognozunu belirlenmesinde yararlı olduğu ileri sürülen çok sayıda yeni belirteç tanımlanmıştır. Bu belirteçlerden üzerinde durulmaya değer bulunur kardiyovasküler hastalık süreci ile ilişkilerine göre aşağıdaki sınıflandırılabilir;

- I. *Enflamasyon ve platelet aktivasyonu ile ilişkili belirteçler:* C-reaktif protein (CRP), lipoprotein ilişkili fosfolipaz A<sub>2</sub> (Lp-PLA<sub>2</sub>), interlökin-6 (IL-6), plasental büyüme faktörü (PIGF)
- II. *Aterom plağının kararsızlığı veya yırtılması ile ilişkili belirteçler:* Miyeloperoksidaz, matriks metalloproteinazlar, gebelikle ilişkili plazma proteini A (PAPP-A), çözünebilir CD40 ligandı (sCD40L)
- III. *Hemodinamik değişiklikler ve iskemi ile ilişkili belirteçler:* Kopeptin (CT-proAVP), modifiye albumin (IMA), glikojen fosforilaz BB izoenzimi (GPBB)
- IV. *Nekrozu ile ilişkili belirteçler:* Kalp tipi yağ asidi bağlayıcı protein (hFABP)
- V. *Kardiyak remodelling ve kalp yetersizliği ile ilişkili belirteçler:* Natriüretik peptidler, çözülebilir ST2, galektin-3

Akut koroner sendromların tanı ve takibinde yararlı olduğu ileri sürülen yeni belirteçlerin rutinde kullanılmakta olanlara, özellikle de cTn'lere ilave bir yararı henüz net olarak gösterilememiştir. Bu belirteçlerin rutin kullanıma girebilmesi için özgüllük, duyarlılık ve kesim (cut-off) değerlerinin saptanması; hızlı, güvenilir ve standardize ölçüm yöntemlerinin geliştirilmesi konusunda geniş katımlı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler :** Akut koroner Sendrom, kardiyak belirteçler, yeni belirteçler

Notlar: Yüklemiş olduğum bildiri "Akut Koroner Sendromların Tanı ve İzleminde Güncel Yaklaşımlar" başlıklı panelde son panelist olarak sunacağım

## **K-9a**

### **MİKROBİYOTA VE HASTALIK İLİŞKİSİ: NEDENSELLİK ÜZERİNE BİR DENEME**

**Hakan Abacıođlu**

İzmir Ekonomi Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İzmir

Hastalıkları ve nedenlerini tanımlamak tıbbın temel soru(n)larından biridir. Koch önermeleri enfeksiyon hastalıklarına neden olan etkenlerin tanımlanmasında yüzyılı aşkın süredir kullanılan bir yaklaşımdır. Önerildiđi andan itibaren eksikleri farkedilmiş olsa da Koch önermeleri birçok etkenin tanımlanmasını sağlamıştır. Mikrobiyom projesi ile birlikte mikroorganizmalar ile konak arasındaki etkileşimlerin doğasına ilişkin bilgiler artmış ve paradigmalarda değişime neden olmuştur. Bu konuşmada, mikrobiyom projelerinin temel çıktılarına yönelik bilgiler özetlenecek ve hastalıklar ile ilişkisine yönelik yeni bulgulardan bazıları dinleyici ile paylaşılacaktır.

# K-9b

## MİKROBİYOTANIN BESLENME KAYNAKLI BİYOAKTİF METABOLİTLERİ

**Ash Pınar**

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD ve Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri  
Merkez ve Acil Laboratuvarları, Ankara

Mikrobiyota, bedenimizdeki tüm mikroorganizmalardan oluşan hayatı paylaştığımız ekolojik yapıdır. Günümüzde, insan sağlığı ve hastalıklarla ilişkisini gösteren çalışmalar hız kazanmıştır. Mikrobiyotanın ayrı bir organ olarak kabul edilmesini gerektiğini öne süren görüşler bulunmaktadır. Obezite, ateroskleroz, Crohn hastalığı, ülseratif kolit, ilaç toksisitesi ve hatta otizme kadar geniş bir yelpazede çeşitli patolojiler ile mikrobiyal dinamikler arasındaki ilişkilere kanıtlar sunulmaktadır.

Bağırsak mikrobiyotasının alınan besinler üzerinde önemli biyokimyasal transformasyonlar yaptığı bilinmektedir. Safra asitlerinin, K ve B vitaminlerinin metabolizmaları en iyi bilinen dönüşümlerdir. İntestinal mikrobiyota kaynaklı birçok biyoaktif metabolit vardır: safra asitleri, kısa zincirli yağ asitleri, kolin metabolitleri, indol türevleri, vitaminler, poliaminler, fenolik türevler, D-laktat, lipopolisakkaritler. Bu metabolitlerin bir kısmının doğrudan hastalığa yakınlığı arttırdığı, diğer bir kısmının ise koruyucu olarak etkili olduğu görülmektedir. Ayrıca, mikrobiyota türevli metabolitler, sistemik etkilerinin yanı sıra, lokal seviyelerde bağışıklık sisteminin olgunlaşmasını da düzenlemektedirler.

Popülasyon temelli bir cohort çalışmasında belirli bir mikrobiyom ile obezite arasında bağlantı gösterilmiştir. En çarpıcı çalışma elbette ki, germ free fareye obez bireyden mikrobiyom kolonize edildiğinde o farenin, yalın türdeşlerine kıyasla kilo aldığına gösterilmesi ile olmuştur. Son 10 yılda ise çalışmalar artarak çok detaylı bilgiler toplanmıştır. Hayvan ve insan çalışmalarından elde edilen kanıtlara göre obezitede mikrobiyota enerjisi daha verimli değerlendirmekte, konak gen fonksiyonunu etkileyebilmekte, adipozite artışına, inflamatuvar mekanizmaların ağırlaşmasına, metabolik endotoksemiye ve metabolik disfonksiyona yol açabilmektedir. Barsak florasının sistemik lipid metabolizmasına ve adipozite üzerinde önemli etkileri gösterilmiştir.

Bağırsak mikrobiyotasının etkisi ile besinlerde bulunan kolin/fosfatidilkolin ve L-karnitinden öncül trimetilaminden oluşmaktadır. Trimetilaminden insan karaciğerinde oksidasyon (flavin monooksijenaz-3) ile oluşan trimetilamin N-oksit (TMAO) ise aterosklerotik kalp hastalığı patogenezinin ve kardiyorenal patolojilerden sorumlu tutulmaktadır. Kanda yüksek düzeylerde TMAO bulunması kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilendirilmektedir. Aynı zamanda TMAO sağlıklı kontrollere göre tip 2 DM hastalarında da yüksek bulunmuştur. Yapılan son çalışmalarda FMO3/TMAO yolunun diabet patofizyolojisinde rol alabileceği öne sürülmektedir.

Safra asitleri ise nükleer reseptörler ve G protein ilişkili reseptörler ile etkileşen sinyal molekülleridir. Mikrobiyal safra asidi hidrolazlar belirgin olarak lipid metabolizmasını, kolesterol metabolizması, gastrointestinal homeostazi etkilemektedir.

Monosakkaritlerin primer parçalanma ürünleri birçok kısa zincirli yağ asitlerine (asetik asit, bütirik asit ve propionik asit) fermente edilir. Bu kısa zincirli yağ asitleri, mukozal epiteli monokarboksilat taşıyıcılar ile geçerek düzenleyici molekül veya substrat olarak fonksiyon gösterirler.

Günümüzde sayısı giderek artan yayınlardan açığa çıkan görüş: mikrobiyota ve metabolitleri metabolik, inflamatuvar ve hatta davranışsal süreçleri kontrol etmekte konak fizyolojisini ve patofizyolojisini düzenlemektedir. Ancak bu konularda ileri araştırmalarla mekanizmaların açıklanmasına gereksinim duyulmaktadır. Bu alanda multi disiplinler olarak yapılacak çalışmalar ile heyecan verici sonuçlara ulaşılabileceği düşünülmektedir. Elde edilecek bilgilerle, beden ve yaşam ortaklarımızdan hastalıklardan korunma ve tedavi için yararlanılması beklenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Mikrobiyota, biyoaktif metabolitler, metabolik hastalıklar, homeostazis

# Panel-3a

## SENTETİK KANNABİNOİDLERİN TESPİTİ

Hüseyin Kayadibi

Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Çorum

Yeni nesil psikoaktif maddeler başlıca sentetik kannabinoidler, sentetik katinonlar, fenetilaminler, piperazinler, ketamin ve bitkisel tabanlı maddelerdir. Bunlardan sentetik kannabinoidler doğal kannabinoidlere alternatif olarak doğal kannabinoidlerin etkilerini taklit etmek için molekül yapısına metil, hidroksil, alkil, alkoksi ve diğer kimyasal yapıların eklenmesi ile laboratuvarlarda oluşturulurlar. Oluşturulan bu sentetik kannabinoidler ise kimyasal yapılarına göre naftoil indoller (JWH-018, JWH-073 ve JWH-398), naftil metil indoller (JWH-185), fenil asetil indoller (JWH-250), benzoil indoller (AM-694), naftoil piroller (JWH-369), naftil metil indenler (JWH-176), siklo heksil fenoller ya da klasik olmayan kannabinoidler ve klasik kannabinoidler şeklinde sınıflandırılabilirler. Bunlardan da naftoil indoller en geniş grubu oluştururlar ve 1990'lı yıllarda John William Huffman ve arkadaşları tarafından sentezlenen bu maddeler isimlerini bu kimyagerin isminin baş harflerinden (JWH) almıştır. Sentezi kolay ve farmakolojik aktivitesi yüksek olduğu için günümüzde en yaygın kullanılan sentetik kannabinoid JWH-018'dir.

Sentetik kannabinoidler doğal kannabisden daha güçlü etkiye sahip olmaları, kolay ulaşılabilir ve ekonomik olmaları, birçok farklı isim altında pazarlanmaları (Aztec Gold, Black Mamba, Cloud 9, Mad Hatter, Armageddon, Aroma, Demon, Dream, K2, Spice, Spice Diamond, Spice Gold ve Spice Artic Energy), paketlerin üzerinde yasal amaçlar için kullanıldığı algısını yaratan yazılar olması (banyo tuzu, bitki gübresi, koku giderici, sadece araştırma içindir, insanların tüketimi için değildir, tütsü, havuz temizleyici), bir çoğunun hala uyuşturucu madde kapsamında olmaması nedeni ile yasal sorumluluğu olmaması, 2012 yılına kadar imalatı ve kullanımının yasal olarak engellenmemesi, yasal engelleri aşabilmek için piyasaya sürekli yeni sentetik kannabinoidlerin çıkması, kokusuz oldukları için fark edilmeden kullanılabilmeleri ve farklı kimyasal yapıları nedeniyle standart madde tarama testlerinde saptanamamaları nedeni ile madde kullanıcıları için cazip hale gelmiştir. Sentetik kannabinoidler Avrupa'da ilk defa 2004 yılında 'Spice' adı ile, Amerika'da ise ilk defa 2008 yılında 'K2' adıyla piyasaya çıkmıştır.

Yeni sentetik kannabinoidlerin içerdiği kimyasalların miktarları ve türleri oldukça değişkenlik gösterdiği için ve ayrıca sentetik kannabinoidler ile karıştırılan başka maddelerin konsantrasyonları sentetik kannabinoidlere oranla çok daha fazla olduğu için kütle spektrometri gibi yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip ileri teknoloji cihazlar ile analizleri yapılabilir. Bu amaçla düşük çözünürlüklü (LC-MS/MS, GC-MS) ve yüksek çözünürlüklü (MALDI-TOF, FT-IR, Orbitrap) kütle spektrometri cihazları kullanılabilir. Molekül yapısı aydınlatılmış ve ne ölçüleceği bilinen sentetik kannabinoidlerin analizinde düşük çözünürlüklü kütle spektrometri cihazları yeterli olabilir iken, yeni sentetik kannabinoidlerin tespitinde yüksek çözünürlüklü farklı kütle spektrometri cihazları ile yapılacak bazı analizlerden sonra bu yeni sentetik kannabinoidler belirlenebilir. Kütle spektrometri cihazları ile yapılan bu analizlerde izomer ve türev bileşiklerden kaynaklanan problemler ile sık karşılaşılabilir. İzomer bileşikler aynı kapalı formüle sahip ve ana yapısı aynı olan ancak atomların uzayda dizilimi farklı olan moleküllerdir. Türevlendirme ise belirli bir ana yapı üzerinde eklemeler yapılması veya var olan fonksiyonel grup ve/veya grupların değiştirilmesidir. İzomer bileşiklerin tespitinde kromatografi gibi seperasyon tekniklerinin optimum bir şekilde kullanılması çözüm olabilir iken, türev bileşiklerin belirlenmesinde yüksek çözünürlüklü kütle spektrometri cihazlarının kullanımı faydalı olabilir.

Yeni sentetik kannabinoidlerin tanımlanması aşamasında da bazı problemler ile karşılaşılabilir. Eğer elde edilen kromatogramlardaki pikler kütle spektrometri cihazlarının lisanslı kütüphaneleri ile karşılaştırıldığında eşleştirilemez ise bu maddelerin tanımlanması yapılamaz. Bu durumda eğer o maddeye özgü referans standart materyal varsa madde tanımlanması yapılabilir. Ancak genellikle yeni sentetik kannabinoidler piyasaya yeni girdiğinde firmalar tarafından üretilmiş referans standart materyali bulmak çok zordur. Çünkü; referans standart materyaller sentetik kannabinoidler piyasaya çıktıktan aylar-yıllar sonra elde edilebilir. Bu problemi çözmenin yolu ise referans standart materyallerin kendi laboratuvarlarımızda yüksek saflık derecesinde üretilmesidir. İlgili maddeyi hala tanımlayamazsak izlenebilecek en pratik yol maddenin laboratuvarımızda saflaştırılması, FT-IR ile fonksiyonel gruplarının belirlenmesi, GC-MS ile elde edilen kütle spektrumu sayesinde ana grupların belirlenmesi ve LC-MS/MS ile de molekül ağırlığının saptanmasıdır.

Düşük çözünürlüklü kütle spektrometri cihazları olan GC-MS ve LC-MS/MS özellikle bilinen sentetik kannabinoidlerin tespitinde yeterli iken, piyasaya yeni çıkmış ve kimliği henüz bilinmeyen yeni sentetik kannabinoidlerin tespitinde bu maddelerin kütle spektrometri cihazının lisanslı kütüphanesinde olmaması ve bu maddelere özgü referans standart materyallerin henüz piyasada olmamasından dolayı yeterli değildir. Yeni sentetik kannabinoidlerin tespiti amacıyla referans standart materyallerin yüksek saflık derecesinde laboratuvarımızda üretilmesi ve TOF, Orbitrap, FT-IR gibi yüksek çözünürlüklü kütle analizörleri ve GC-MS, LC-MS/MS ile maddelerin kimliklendirmesi yapılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kütle spektrometri, sentetik kannabinoid, tespit

## Panel-3b

### MADDE TESTLERİNDE ULUSLARASI SORUNLAR: YENİ PSİKOAKTİF MADDELER VE YENİ HİLE YÖNTEMLERİ

Tuncay Küme

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, İzmir

Ulusal ölçekte madde analizlerinde mevzuat düzenlenmesi sonrası uygulanmaya başlayan kalite - güvenlik gereklilikleriyle ilgili temel sorunlar; uluslararası ölçekte ise yeni psikoaktif maddelerle ve hile yöntemleriyle ilgili daha ileri sorunlar tartışılmaya ve çözüm yolları aranmaya devam edilmektedir.

Yeni psikoaktif maddeler, geleneksel maddelerin yasal bir alternatifi veya bunlardan farklı etki arayışlarının sonucu olarak ortaya çıkmıştır. Bu maddelerin üretim, dağıtım, satış stratejilerindeki farklılıklar kadar yasal, klinik ve laboratuvar alanındaki yetersizlikler de etkin madde mücadelesini zorlaştırmaktadır. Yeni psikoaktif maddelerin analizi; doğrulama analiz yöntemlerinin kullanılmasını, yeni standartların teminini ve yeni metot geliştirmeyi gerektiren emekli ve zaman alıcı bir süreçtir.

Yeni hile yöntemleri ise, bilinenlerden farklı olarak farkedilmeden madde test sonucunu yanıltmaya yönelik arayışların sonucu olarak ortaya çıkmıştır. Bu yöntemlerin bir kısmının üretim, dağıtım, satışı internet aracılığıyla ticari ürün olarak yapılmakta iken, bir kısmı internet aracılığıyla forumlarda bilgi olarak paylaşılmaktadır. Nadiren suçüstü yapılması veya şüphelenme sonrası yapılan doğrulama analizleri ile saptanabilen yeni hileler de madde ile mücadeleyi zorlaştırmaktadır.

Madde analizinde yeni psikoaktif maddelere ve hile yöntemlerine bağlı sorunlar da ulusal ölçekte madde ile mücadeleyi önemli şekilde etkilemektedir. Bu konferansta ulusal madde mücadelesini etkileyen bu daha ileri sorunlar hakkında detaylı açıklamalar yapılacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** madde ile mücadele, madde testleri, yeni psikoaktif maddeler, yeni hile yöntemleri

# Panel-3c

## BAĞIMLILIK YAPICI MADDE İZLEMİNDE LABORATUVAR

**Tarık Zafer Kocabey**

Bursa Devlet Hastanesi Amatem Laboratuvarı, Bursa

### **Bursa AMATEM Laboratuvarı Madde İzlem Deneyimi**

1. Denetimli Serbestlik Nedir?
2. Denetimli serbestlik uygulamaları sürecinde laboratuvar takibinin yeri, analiz öncesi, sırası ve sonrasında rutin laboratuvarlardan farklılaşan yönleri
3. Madde bağımlılığında izlem ve tedavi sürecinde laboratuvar
4. Numune alma süreci
5. Madde analizlerinde kullanılan analitik yöntemler
6. Madde izlemi test menüsü
7. Madde eliminasyonu
8. Kullanılan test yöntemleri ve kullanılış yerleri
9. Kullanılan tekniklerin artı ve eksileri
10. Tarama testleri, kimyasal immunoassay teknik ve kitleri
11. Adulterasyon
12. Sonuç değerlendirme
13. Analiz sonrası süreç

**Anahtar Kelimeler:** Bağımlılık, madde analizi, denetimli serbestlik, madde izlemi, adulterasyon, madde izleminde numune alım süreci, kreatinin ile normalizasyon

# K-10a

## KARACİĞER FİBROZİSİ VE EPİGENETİK

Gülden Başkol

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Kayseri

Hepatik fibrosis, karaciğerde hasar oluşturan tekrarlayıcı veya kronik uyarılara sekonder gelişen, bağ dokusunun progresif birikimiyle sonuçlanan “yara iyileşmesi benzeri” karmaşık ve dinamik bir süreçtir. Bu süreç içerisinde ekstrasellüler matriks (ESM) yapımında artış, skleroza dönüşme eğilimi ve bağ dokusunun dejeneratif değişimi sonucunda, birçok kronik karaciğer hastalığının son noktası olan karaciğer sirozuna kadar uzanan bir süreç görülmektedir. Fibrozis tedavi edilmediği takdirde, siroza kadar ilerleyebilir ve sonunda karaciğer yetmezliğine ve ölüme neden olabilir.

Herhangi bir etkenle ortaya çıkan karaciğer hasarında (Viral veya hepatic toksinler aracılığı ile), enflamasyon süreci, HSH’lerin aktivasyonu sonucunda fibroze ilerler. Fibrozisin iyileşme süreci, ESM komponentlerinin yıkımı ve yeniden yapılanması ile gerçekleşir. Etken ortadan kaldırılamaz veya HSC kalıcı olarak aktivasyona uğrarsa, ekstrasellüler proteinlerin birikimi sonucunda progresif fibrosis meydana gelir.

Karaciğer hasarını takiben hepatik stellat hücreler, proliferasyon olarak myofibroblastlara dönüşerek kollajen ve kollajen olmayan ESM bileşenlerini, büyüme faktörleri ve çeşitli sitokinleri sentezlerler.

Epigenetik DNA dizisinde değişiklik yapmadan gen ekspresyonunda meydana gelen kalıtsal değişiklikleri ifade eder. Epigenetik modifikasyonlar kalıtsaldır, gelecek nesillere taşınır, çevresel etkilerle değişir. Hücre bölünmesiyle epigenetik durum korunur. Epigenetik durum çevre koşulları, beslenme, stres, kimyasal ve radyasyona maruz kalma, çeşitli hastalıklar gibi çevresel etkilerle değişir ve geri dönüşümlüdür. Epigenetik mekanizmalar üç ana başlıkta toplanmaktadır. 1. DNA metilasyonu, 2. Histon modifikasyonları, 3. RNA ile indüklenen sessizleşme (RNA-induced silencing). Bu mekanizmaların birlikte çalışması sonucu gen ifadesinde kalıtsal değişiklikler meydana gelmektedir. Mekanizmaların herhangi birindeki hata, genlerin ifadesinin aşırı artmasına veya baskılanmasına neden olarak epigenetik hastalıklara yol açmaktadır.

Karaciğer fibrozisi ile epigenetik ilişkisine bakacak olursak, sessiz hepatik stellat hücrelerinin farklılaşarak, matriks sekrete eden myofibroblastlara dönüşümü fibrozis için kritik bir basamaktır. Bu fenotipik transformasyon, gen ekspresyonlarında genom boyunca görülen değişikliklerle ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir. Özellikle, DNA metilasyon inhibisyonunun miyofibroblast dönüşümünü engellediği ileri sürülmektedir. 5-azadeoksisitidin (DNA metilasyon inhibitörü) ile 5 metin sitozin dönüşümü suprese edilmiş ve bu durumda miyofibroblast dönüşümünün engellendiği gösterilmiştir. Yine histon modifikasyonlarının da karaciğer fibrozisinin patogenezinde rol oynadığına dair çalışmalar yayınlanmaktadır. Epigenetik mekanizmaların son grubu olan kodlanmayan RNA’ların, özellikle de mikroRNA’ların hepatik fibroziste önemi hakkında çalışmalar son yıllarda artmıştır. miRNA 29 ailesinin fibrojenik potansiyele sahip olduğu bildirilmektedir. Karaciğer fibrozisi ve epigenetik ilişkisi oldukça yeni ve güncel bir konudur. Fibrozisin erken tanısında epigenetik markerların geliştirilmesi ve karaciğer fibrozisinin tedavisinde epigenetik ilaçların geliştirilmesine yönelik çalışmaların artırılarak devam edilmesi tavsiye edilmektedir.

**Anahtar Kelimeler :**Karaciğer fibrozis, epigenetik, mikroRNA



# K-10b

## KARACİĞER HASTALIKLARINDA YENİ YAKLAŞIMLAR

**Kadir Demir**

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı, İstanbul

Karaciğer hasarı yapan neden ne olursa olsun, uzun sürerse fibroz ve nodülleşme ile birlikte siroz gelişimine, bu zeminde gelişecek hepatosellüler karsinom ve siroz komplikasyonları ile yaşamı tehdit edecektir. Karaciğerde fibrozun gelişip gelişmediğini, gelişmiş ise derecesini bilmek, hastanın prognozunu belirlemekte ve tedavisini yönlendirmekte oldukça önemlidir. Karaciğer fibrozunu belirlemekte altın standart olarak kabul edilen karaciğer biyopsisinin invaziv bir işlem olması, patoloğlar arasında değerlendirme farklarının olması ve % 28'e varan örnekleme hatası görülebilmesi, noninvasiv göstergelerin araştırılmasına yol açmıştır. Burada karaciğer fibrozunun indirekt göstergeleri olarak literatürde sunulan biyokimyasal ve radyolojik tetkiklerden biyokimyasal olanlarından bahsedilecektir.

Çalışmalarda noninvasiv testler, histopatolojik skorlama sistemleri ile karşılaştırılarak değerlendirilir. Sık olarak histopatolojik olarak kullanılan "METAVİR" fibroz skorunda; fibroz yok..... siroz arasında, 5 durak vardır (F0-F4). Burada F0-F1: önemli fibroz yok, F<sub>2</sub> ise önemli fibroz olarak değerlendirilirken; F3-F4 ileri fibroz, F4 de sirozu gösterir. Tüm önerilen testler F1 ile F4 arasındaki evrelerinin ayırt edilmesinde yetersizdir, ancak tedavinin yönlendirilmesi veya prognozun belirlenmesinde önemli fibrozun var olup olmadığını veya sirozu göstermede önemli olabileceğini gösteren çok sayıda çalışmalar mevcuttur. Karaciğer hastalığının etiolojisine göre de önerilen testler farklılık gösterir, her test her etiolojide, fibrozu göstermede aynı düzeyde duyarlılığa ve özgüllüğe sahip değildir (tablo 1).

Noninvasiv testleri piyasada ticari olarak bulunan sistemler veya rutin yapılan testlerden hesaplanarak üretilenler olarak iki alt başlıkta inceleyebiliriz. Piyasada kabul görmüş 4 ticari test vardır: FibroTest/FibroSure, Hepascore, FibroSpect, and the European Liver Fibrosis Study Group panel. Ek olarak aspartat aminotransferaz/ platelet ratio (APRI) de yaygın kullanılan basitçe hesaplanan testtir. Bir diğer bakış açısından bu testleri, fibrozu direkt (ekstrasellüler matriks yapımının artışı veya yıkımının azalması - prokollajen tip I ve III, hiyaluronik asit, doku metalloproteinaz inhibitörleri) veya indirekt olarak gösteren tetkikler olarak da değerlendirilebilir. Fibrozun indirekt göstergeleri, ekstrasellüler matriks metabolizmaları göstermezler. Siroz gelişimi ile azalan trombosit sayısı, aminotransferazlar, gamma-glutamyl transferase (GGT), total bilirubin, koagülasyon testlerinde değişiklikler, alpha-2-macroglobulin ve alpha-2-globulin (haptoglobulin) gibi. Bu testler çoğu kez tek başına değil bazen paneller şeklinde kullanılırlar.

**APRI (AST / PLT oranı):** AST yüksekliği (ölçülen/referans değeri) / (Trombosit sayısı/mm<sup>3</sup> : 1000) X 100 olarak hesaplanır. Örneğin: AST düzeyi, üst sınırı 45 U/L olan laboratuvarında hastanın değeri 90 ve trombosit sayısı 120:000/ mm<sup>3</sup> ise, 90/45 = 2, 120.000 /1000 = 120 ve APRI= (2 / 120) X 100 = 1.67 bulunur. Bir metaanalizde APRI eşik değeri 0.7 olarak alınırsa; önemli fibroz (F2-F4) göstermede; duyarlılık % 77, özgüllüğü de % 72 dir. HCV enfeksiyonunda oldukça değerli iken HIV+HCV koenfeksiyonunda önemi azalır. Yağlı karaciğerde de kullanılabilir.

**FibroTest, FibroSure:** Avrupa ve Amerika'da farklı isimlerle satılan aynı testtir. **ActiTest** ise modifiye şeklidir. HCV ve HBV de yaygın çalışılmıştır. Alfa-2-macroglobulin, alfa-2-globulin (haptoglobulin), gamma globulin, apolipoprotein A1, GGT ve total bilirubin ile hesaplanır. Hastanın yaşı ve cinsiyetide eklenir. Duyarlılığı % 60-75, özgüllüğü % 80-90 dir. ActiTest'te ALT de eklenir, bu nekroinflamatuvar aktiviteyi gösterir. tedavi yanıtını değerlendirmekte HCV de kullanılabilir.

**Hepascore:** Bilirubin, GGT, hiyaluronik asit, alpha-2-macroglobulin, yaş ve seks değerlendirilir. Alkolik karaciğer hastalığında a Fibrotestten daha değerli bulunmuştur.

**AST/ALT oranı:** Normalde AST/ALT oranı yaklaşık 0.8 tir. Bu oranın > 1 olması siroz göstergesi olarak değerlidir.

**Diğer indirekt testler:** Sık kullanılmazlar, bazı özel gruplar için değerlidirler.

**FIB-4 indeksi:** Trombosit sayısı, ALT ve AST ile yaş değerlendirilir. HCV ve yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) fibrozu belirlemede kullanılır. Alkol kullanımında hepatosellüler kanser (HCC) gelişimini göstermede çalışılmıştır. Günde 10 gr.dan fazla alkol alanların ortalama 6.2 yıl izlendiği bir çalışmada, FIB-4 indeksi  $\geq 1.75$  ise <1.0 olanlardan daha fazla HCC geliştirmiştir. İndeks  $\geq 2.1$  ise risk daha fazladır. Özellikle >30 g /gün alkol alanlarda , indeks  $\geq 2.1$  ise risk çok yüksektir (HR 16.6; 95% CI 3.9-71).

**NAFLD fibroz skoru:** Yaş, vücut kütle indeksi (BMI), kan glukoz seviyesi, aminotransferaz düzeyleri, trombosit sayısı ve albumin değerlendirilir. Skor

>0.676 eşik alınır, PPV ("positive predictive value") ileri fibroz için (F3 to F4) % 82 (duyarlılık %43, özgüllük %96), eşik değeri <-1.455 alınır NPV ("negative predictive value") % 88 (duyarlılık %77, özgüllük %71). "AUROC" değerleri de karaciğer hastalığına bağlı komplikasyonlar için 0.86 ve karaciğer transplantasyonu veya ölüm için 0.70.

**PGA indeksi:** Prothrombin indeksi, GGT düzeyi ve apolipoprotein A1 düzeyini (PGA) içerir. Alkolik karaciğer hastalığında kullanılır. Sirozu % 66-%88 arasında gösterir.

**Fibroİndeks** (trombosit sayısı, AST ve gamma globulin), **Forns indeksi** (yaş, GGT, kolesterol ve trombosit sayısı), **Fibrometer** (trombosit sayısı, protrombin indeksi, AST, alfa-2-makroglobulin, hşyaluronik asit, BUN ve yaş), **BARD skoru** (BMI, AST/ALT oranı, diabetes mellitus varlığı) gibi sık kullanılmayan testlerde mevcuttur.

#### **Fibrozun direkt göstergeleri:**

Bunlar, ekstrasellüler matriks yapımını, yıkım ürünlerini veya fibrojenizde rol oynayan sitokin/kemokinleri içerir. Burada da indirekt göstergelerde olduğu gibi kullanılan birçok panel mevcuttur. Bazılarında indirekt göstergelerde kombine edilmiştir. Bunlar: FibroSpect II, SHASTA ve "the European Liver Fibrosis panel (ELF)" dir.

**FibroSpect II:** Hiyaluronik asit, "tissue inhibitor of metalloproteinase-1" (TIMP-1) ve alfa-2-makroglobulini içerir. HCVde ileri fibroz % 77 duyarlılık, % 73 özgüllük ile gösterdiği saptanmıştır.

**SHASTA:** Hiyaluronik asit, serum AST ve Albumin düzeylerinden (SHASTA) hesaplanır.

**European Liver Fibrosis panel (ELF):** Hiyaluronik asit, tip III kollajenin amino-terminal propeptid düzeyi, ve TIMP-1 ile hesaplanır. Orşijinal tanımlamasında yaş var iken sonrasında çıkarılmıştır. Eşik değeri 0.102 alındığında ileri fibroz % 87 - 90 duyarlılık, % 41 - 51 özgüllük ile gösterir.

Ekstrasellüler matriks yapımının artışı göstermek için prokollagen tip I carboksi-terminal peptid, prokollagen tip III amino-terminal peptid, tip I and tip IV kollagen, laminin, hiyaluronik asit ve YKL-40 (chondrex) düzeylerine bakılabilir. Doku metalloproteinazlar da yıkımın artışı göstermek için değerlendirilebilir.

Noninvaziv biyokimyasal göstergelerin dışında radyolojik tetkikler tek başlarına veya biyokimyasal testler ile kombine kullanılabilir. Ancak günümüzde halen karaciğer biyopsisinin yerini tamamen alabilecek, kabul görmüş bir test veya tetkik yoktur. Genellikle radyolojik tetkikler son dönemlerde daha popülerlik kazanmıştır. Özellikle ultrasonografik veya MR ile yapılan elastografilerde doku sertliğinin fibroz özellikle şişman olmayanlarda yüksek doğrulukla gösterdiği birçok çalışmada gösterilmiştir. Biyokimyasal testlerde genellikle ileri fibroz, sirozu göstermede başarılıdır, ama noninvaziv yöntemler presirotik dönemde fibroz derecesini göstermekte ise yeterli gözükmemektedir.

## **Kaynaklar**

1. Lurie Y, Webb M, Cytter-Kuint R et al. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis World J Gastroenterol 2015 November 7; 21(41): 11567-11583.
2. European Association for the Study of the Liver, Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis Journal of Hepatology 2015;63:237-264.
3. Papastergiou V, Tsochatzis E, Burroughs AK. Non-invasive assessment of liver fibrosis. Annals of Gastroenterology 2012;25:218-231.
4. Chládek J, Simková M, Vanecková J, et al. Assessment of methotrexate hepatotoxicity in psoriasis patients: a prospective evaluation of four serum fibrosis markers. J Eur Acad Dermatol Venereol 2013; 27:1007.
5. Sheth SG, Flamm SL, Gordon FD, Chopra S. AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. Am J Gastroenterol 1998; 93:44.
6. Suh B, Yun JM, Park S, et al. Prediction of future hepatocellular carcinoma incidence in moderate to heavy alcohol drinkers with the FIB-4 liver fibrosis index. Cancer 2015; 121:3818.

**Tablo 1.** Kullanılan biyokimyasal göstergeler

### HCV

*Fibrotest*® (Biopredictive, Paris, France) patentli ürün,  $\alpha$ -2-macroglobulin,  $\gamma$ GT, apolipoprotein A1, haptogloblin, total bilirubin, yaş, seks

*Forns Index* =  $7.811 - 3.131 \times \ln(\text{trombosit sayısı}) + 0.781 \times \ln(\text{GGT}) + 3.467 \times \ln(\text{yaş}) - 0.014 \times (\text{kolesterol})$

*AST / Platelet Ratio (APRI)* =  $\text{AST} / (\text{ULN}) / \text{trombosit} (10^9/\text{L}) \times 100$

*FibroSpectII*® (Prometheus Laboratory Inc, San Diego, USA) patentli ürün,  $\alpha$ -2-macroglobulin, hyaluronat TIMP-1 içerir.

*MP3* =  $0.5903 \times \log(\text{PIIINP [ng/ml]}) - 0.1749 \times \log(\text{MMP-1 [ng/ml]})$

*Enhanced Liver Fibrosis score*® (ELF) (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) patentli ürün, yaş, hyaluronat, MMP-3 ve TIMP-1 içerir.

*Fibrosis Probability Index (FPI)* =  $10.929 + (1.827 \times \ln[\text{AST}]) + (0.081 \times \text{yaş}) + (0.768 \times \text{alkol kullanımı}) + (0.385 \times \text{HOMA-IR}) - (0.447 \times \text{kolesterol})$

*Hepascore*® (PathWest, University of Western Australia, Australia) patentli ürün, bilirubin,  $\gamma$ GT, hyaluronat,  $\alpha$ -2-macroglobulin, yaş ve seks içerir.

*Fibrometer*® (Echosens, Paris, France) patentli ürün, trombosit sayısı, protrombin indeksi, AST,  $\alpha$ -2-macroglobulin, hyaluronate, ure ve yaş içerir.

*Lok index* =  $-5.56 - 0.0089 \times \text{trombosit} (103/\text{mm}^3) + 1.26 \times \text{AST/ALT oranı} = 5.27 \times \text{INR}$

*Gotebörg University Cirrhosis Index (GUCI)* =  $\text{AST} \times \text{prothrombin} - \text{INR} \times 100 / \text{trombosit}$

*Virahep-C model* =  $-5.17 + 0.20 \times \text{ırk} + 0.07 \times \text{yaş (yr)} + 1.19 \ln(\text{AST [IU/L]}) - 1.76 \ln(\text{trombosit sayısı [103/ml]}) + 1.38 \ln(\text{alkaline phosphatase [IU/L]})$

*Fibroindex* =  $1.738 - 0.064 \times (\text{trombosit [104/mm}^3]) + 0.005 \times (\text{AST [IU/L]}) + 0.463 \times (\text{gamma globulin [g/dl]})$

*HALT-C model* =  $-3.66 - 0.00995 \times \text{platelets} (103/\text{ml}) + 0.008 \times \text{serum TIMP-1} + 1.42 \times \log(\text{hyaluronat})$

### HBV

*Hui skoru* =  $3.148 + 0.167 \times \text{BMI} + 0.088 \times \text{bilirubin} - 0.151 \times \text{albumin} - 0.019 \times \text{trombosit}$

*Zeng skoru* =  $-13.995 + 3.220 \log(\alpha\text{-2-macroglobulin}) + 3.096 \log(\text{yaş}) + 2.254 \log(\text{GGT}) + 2.437 \log(\text{hyaluronat})$

### HIV-HCV

*FIB-4* =  $\text{age (yr)} \times \text{AST [U/L]} / (\text{trombosit [109/L]} \times (\text{ALT [U/L]})^{1/2})$

*SHASTA indeksi* =  $-3.84 + 1.70 (\text{HA } 41\text{-}85 \text{ ng/ml ise } 1, \text{ diğ}er\text{leri } 0) + 3.28 (\text{HA } >85 \text{ ng/ml ise } 1, \text{ diğ}er\text{leri } 0) + 1.58 (\text{albumin } <3.5 \text{ g/dl},$

$\text{diğ}er\text{leri } 0) + 1.78 (\text{AST } >60 \text{ IU/L ise } 1, \text{ diğ}er\text{leri } 0)$

### NAFLD

*NAFLD Fibrosis Score (NFS)* =  $(-1.675 + 0.037 \times \text{yaş (yr)} + 0.094 \times \text{BMI (kg/m}^2) + 1.13 \times \text{IFG/diabetes (evet = 1, hayır = 0)} + 0.99 \times \text{AST/ALT oranı} - 0.013 \times \text{trombosit sayısı (x10}^9/\text{L}) - 0.66 \times \text{albumin [g/dl]})$

*BARD skoru* (BMI  $\geq 28 = 1$ ; AST/ALT oranı  $\geq 0.8 = 2$ ; diabetes = 1; skor  $\geq 2$  ise ileri fibroz için odds ratio = 17)

# K-11

## TAM KAN SAYIMINDA OTOMATİK ONAM

Taner Özgürtaş

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Ankara

**Otomatik onam** terimi hasta sonuçlarının uzmanın belirlediği değerlere ve kurallara göre bilgisayar tarafından onaylanarak sisteme sonucun hızlı bir şekilde atılmasını anlatmaktadır. Hasta değerlerinin belirlenen kuralların dışında kalması halinde, sistem sonucu onaylamadan uzmanın yorumuna bırakır. **Otomatik onam**, gelişen teknolojinin tıp sektörüne uygulanan küçük bir yansımasıdır. Asıl beklenti, çok kısa sürede sonuçlarla ilgili doğru karar verebilme ve sisteme verileri hızla iletebilmektir.

Bu amaçla, Gülhane Tıbbi Biyokimya AD'mızda kurulu olan Sysmex tam kan cihazlarının **otomatik onam** prosedürlerini pratiğe sokabilmek için öncelikle: Hastane yönetiminden ve onun bağlı bulunduğu bölge müdürlüğünden gerekli izinler alındı. Sysmex firması ile yapılan ortak toplantılarda **Otomatik Onama** ilişkin hareket tarzı belirlendi ve konu ile ilişkili olabilecek Hematoloji, Onkoloji ve Çocuk Hastalıkları kliniklerinin sonuç raporlamaya ilişkin görüşleri alınarak koordinasyon sağlandı. Genel kriterlerde ortak görüş sağlandıktan sonra firmanın yazılım bölümü gerekli altyapı işlemlerini başlattı ve 5 cihazın hastane yazılım sistemi(FONEX) ile Extended IPU entegrasyonunu gerçekleştirdi.

**Otomatik onam** eylem planında ilk olarak, Acil Laboratuvarımızdaki iki tam kan cihazından biri bağlandı. 5 gün boyunca sistem izlendi ve arkasından sırasıyla acilin ikinci cihazı ve daha sonra Hematoloji laboratuvarımızdaki 2 cihaz bağlandı. En son olarak, gözetimli laboratuvarımız Onkoloji kliniğinin tam kan cihazı SNCS (Online Kalite Kontrol Takibi) programına alındı.

Tüm ilgili laboratuvar personeline ve sorumlu uzmanlara yeni sistemle ilgili eğitim verildi, aynı zamanda kliniğimizdeki tüm doktor odalarındaki bilgisayarlara Extended IPU programı yüklenerek laboratuvar dışı uzaktan onam işlemi devreye sokuldu.

Bu tip bir onam sisteminin yurtdışında uzun zamandır uygulanmasına karşın, ülkemizde bir özel hastane grubunun dışında ilk defa gerçekleştiren Tıbbi Biyokimya Kliniği olmaktan ötürü memnunuz. Bu konudaki gelişmelerin uzmanlık fonksiyonumuzu azaltmadığı aksine, yorum gerektiren örneklerin onayı konusunda uzmanlara daha konforlu zaman bıraktığı düşüncesindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Otomatik onam, Sysmex XN 1000, Extended IPU

# K-12

## YALIN BİR LABORATUVAR DİZAYNINDA SİNERJİ YARATMAK; PRE & POST ANALİTİK SİSTEM ÇÖZÜMLERİ VE AKREDİTASYON

**Ozlem Görüroğlu Öztürk**

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı, Adana

Ülkemizde sağlık hizmetleri ile koordineli olarak laboratuvar hizmetlerine duyulan talep te artmaktadır. Bu da laboratuvarlardan olan beklentiyi arttırmış, laboratuvarları “daha azla daha fazlasını yapmaya” zorlamıştır. Bu nedenle verimlilik kavramı her zamankinden daha önemli hale gelmiştir.

Yalın laboratuvar uygulamaları kaliteli bir laboratuvar dizaynında kullanılan en önemli araçlardan biridir. Yalın laboratuvar uygulamalarının temel amacı rutin süreçleri yeniden değerlendirerek verimliliği artırmak, daha az kaynak kullanarak, daha az emek harcayarak, daha kısa sürede, daha az maliyetli ve daha kaliteli test hizmeti sunmaktır. Yalın laboratuvar çalışmaları ile test sonuçlarının kalitesinin artırılması, hataların azaltılması, hem laboratuvar çalışanları hem de hasta güvenliği açısından önemli kazanımlar sağlanabilmektedir.

Laboratuvarda sürekli iyileştirilme için analiz işlemlerinde bekleme süresini uzatan, tıbbi hataya açık olabilen ve biyolojik tehlike riski taşıyan tüm süreçlerin gözden geçirilerek gerekli düzeltici ve önleyici faaliyetlerin uygulanması esastır. Bu amaçla preanalitik, analitik ve postanalitik işlem basamaklarının detaylı bir iş akışı analizinin gerçekleştirilmesi ve gereksinimlerin buna göre ortaya konması gerekmektedir.

On-line pre ve postanalitik sistemlerin yalın laboratuvar uygulamalarına katkıları; tekrar çalışılacak testlerin otomatik çalışılması, çalışılmamış bir testin otomatik olarak tespit edilmesi, depolama ünitesindeki arşivleme modülleri sayesinde istenilen tüplere kolaylıkla erişmeye imkan vermesi, insan gücü ve hata payının en aza indirilmesi, çalışma sonunda barkod okutma adımının kaldırılması, buharlaşma nedeniyle oluşan hatalı sonuçların ve dökülmelerin önlenmesi şeklinde sıralanabilir. Bu sistemler ek olarak personelin daha verimli kullanılması, zaman tasarrufu, yer ve alan tasarrufu da sağlamaktadır. On-line pre ve post analitik sistemler laboratuvardan standart sonuçlar elde edilebilmesi açısından da önemlidir. Birçok manuel işlem adımı ve bu adımlara bağlı israf edilen iş gücü ve zaman kayıpları otomatize sistemler kullanılarak en aza indirilebilmektedir. Manuel işlem adımlarının azalması ile biyolojik tehlike risklerinde de azalma sağlanmıştır. Bu da kalitenin önemli komponentlerinden biri olan çalışan güvenliği açısından önem taşımaktadır. Yine otomatize sistemler sayesinde sonuç çıkış sürelerinde sağlanan azalma, tıbbi hata risklerinin azalması da hasta güvenliği açısından oldukça değerlidir.

Sonuç olarak, laboratuvarlarda kalite yönetim politikalarının amacı düşük maliyet, yüksek verimlilik ile medikal ve idari süreçlerin organize edilmesi, izlenilmesi, ölçülmesi, değerlendirilmesi, iyileştirilmesi ve laboratuvarda kalite kültürü oluşturarak hizmet verilen birey ve organizasyonların memnuniyetinin devamlılığını sağlayabilmek olmalıdır. Bunun gerçekleştirilmesinde de önemli kalite planlama araçlarından biri olan yalın laboratuvar uygulamaları önem taşımaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** akreditasyon, kalite, on-line pre ve postanalitik sistemler, yalın laboratuvar

# K-13

## LABORATORY MEDICINE – CHALLENGES AND OPPORTUNITIES

**Michael Oellerich**

Institute for Clinical Pharmacology, University Medicine Göttingen, Germany

The changes occurring in laboratory medicine imply that there is a risk it is becoming more a service and less an academically oriented profession. The main forces currently driving clinical laboratory organisation involve outcomes-based healthcare with the goals of improving quality and patient safety, containing costs and delivering value for money. Further factors are technological advances, including laboratory automation, molecular diagnostics, and new Point-of-Care solutions. Economic pressures result in increasingly limited budgets with consolidation and regionalisation of laboratory services. Consequences of healthcare cost reductions include fewer positions for academic clinical laboratory directors, downsizing of post-doctoral training programs, and less time for research because of increased clinical service demands. These developments pose major structural risks, as laboratory medicine may be viewed by health policy makers primarily as a service unit. The development of value-based strategies is important. Value in healthcare is described as “outcomes relative to costs”. Advanced diagnostics (molecular and genetic tests) will contribute to a move from a volume- to a value-based system. As an example, genotype-directed cancer care is gaining increasing importance, as noninvasive genotyping of circulating cell-free tumor DNA in plasma can be used for personalizing therapy. Serial quantification of plasma tumor genotypes allows detection of resistance mutations up to 16 weeks before radiographic progression. In transplantation, graft- derived cell-free DNA can be used to detect rejection episodes at an early, actionable stage and help to personalize immunosuppression. Cost-effective approaches like droplet digital PCR are available with same-day turnaround. The concept of Value Proposition for laboratory medicine allows the assessment of the contribution of laboratory tests to economic efficiency in healthcare. Value Proposition for laboratory medicine is expressed in terms of outcomes; from guiding clinical decision making, process of the care delivered and resources required to deliver that care. The role of laboratory medicine should be enhanced through participation as an integral member of the healthcare team instead of being only a service provider. Laboratory medicine should implement scientific innovations into diagnostics, develop value-based strategies for advanced diagnostics, take leadership on how tests are used, and generate Value Proposition. Laboratory medicine should be a driver to ensure multi-disciplinary cooperation to best promote personalized medicine. This would benefit patients and the healthcare system by shifting the emphasis in medicine from reaction to prevention, facilitating targeted therapy, reducing trial-and-error prescribing, reducing adverse reactions, and increasing the cost-effectiveness of healthcare. Despite all its challenges, the current pace of innovation seems to provide an environment in which laboratory medicine as an academic profession has a chance to grow.

# K-14

## THE CLINICAL VALUE OF LABORATORY

**Roberto Verna**

President incoming, WASPaLM

Member, Executive Board of the Council for International Organizations of Medical Sciences CIOMS Director, Center for Sports Medicine and Management Sapienza University of Rome- Italy

This presentation has the meaning to highlight the importance of professional training in the definition of laboratory tests really useful to the clinic.

The difference between School and Practice is very important; Medical School dedicates a lot of time to Anatomic Pathology, a little less to Radiology, but very few time to Laboratory Medicine. In the every day practice, a doctor will face an enormous amount of Clinical Laboratory Tests, an amount of Radiology tests and a very small number of Anatomic Pathology tests.

An additional cause of misunderstanding is given by the scarce uniformity in the names of the tests. Many different names and abbreviations are used for the same test; are we sure that the ordering doctor really wanted the correct test?

The Diagnostic Management Team is an answer to all this.

According to the Conventional approach, tests are ordered and these bits of data are “tossed over the wall” to the physician who orders the tests and that is responsible for synthesizing clinical and laboratory data to achieve a diagnosis, often in a limited timeframe

What does a diagnostic management team do? The new approach is: Physicians order tests by requesting evaluation of abnormal screening test or clinical sign or symptom.

The expert physician and colleagues in the DMT synthesize the clinical and laboratory data and provide a narrative interpretation based upon medical evidence.

How to save money is the main question. In many Countries they try to save money by reducing the number of Lab tests. In itself this is not a damage; the problem is that reduction is random, only cutting the number of tests. In some places the so called “wide areas” have been established. These wide areas are designed according to the idea that a unique laboratory could serve millions of people who live within a ray of hundred kilometers. Such a laboratory shall result as a collector of many hospitals and the saving is due to the enormous number of tests that result in a cheaper cost for each test.

This vision has a lot of problems, the main one being the lack of communication with the ordering doctors, that leads to increase the number of tests.

Another strategy for money saving. If the total budget of hospital is 3 billion, with 3% of healthcare lab tests, and we wish to save money, there are two possible directions: 1) one third reduction in lab tests, leading to 2% of the expense for lab tests, that reduces the hospital budget to 2,97 billions, OR, 2) increase lab tests by using useful tests that allow a more rapid and accurate diagnosis. This increases the expense for the lab to 4%, but reduces the budget of hospital to 2.5 billions with an important general saving.

This is inherent in the concept of appropriateness: TO DO WHAT IS USEFUL WHEN IT IS USEFUL

# Panel-4a

**Funda Kırtay Tütüncüler**

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bozyaka Eğitim Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı, İzmir

## **Tıbbi Biyokimya Alanında Sorunlar ve Beklentiler**

Sağlık politikalarının ve performans sisteminin de etkisi ile hastanelere olan başvuru sayısı ülke nüfusunu geçen bir hale gelmiştir. Hastanelerin büyümesi ve laboratuvarların günden güne otomatize hale gelmesi ile istenen test miktarı sayısı katlanarak artmaya başlamıştır. Klinisyenler özellikle polikliniklerde olmak üzere yoğun bir iş yükü altında ezilmekte ve malpraktis yasalarının zorlayıcılığı altında, gün geçtikçe hastaya dokunmadan görüntüleme ve laboratuvar testleri ile hareket eder hale gelmişlerdir. Bu kısıtlı bir zaman içinde hekimin bir sonuç deryasının içinde tanıya varıp tedavisini düzenlemesi beklenmektedir. Bu aşamada sonuç ekranına girilecek notlar ile klinisyene yol göstermek olası preanalitik, analitik, postanalitik hatalar konusunda uyarıda bulunmak biyokimya uzmanının en etkin rol oynaması gereken durumların başında gelmektedir. Büyüyen hastane yapısı ve artan iş yükü hastane çalışanları arasındaki iletişimi olumsuz etkilemekte, sorunlar kısır döngüler içinde büyümektedir. Bunun için laboratuvarlar kapalı bir kutu gibi faaliyet göstermek yerine etkin katılımlı iletişime açık bir tavır sergilemelidir. Yapılan bakanlık denetimlerinde uygulanan kriterler bu yönde düzenlenirse daha etkili adımlar atılacağı kanaatindeyim.



# Panel- 4b

## TIBBİ BİYOKİMYA ALANINDA SORUNLAR VE BEKLENTİLER: HALK SAĞLIĞI LABORATUVARLARI

Ceyhun Gözükara

Sakarya Halk Sağlığı Laboratuvarı, Sakarya

Halk sağlığı laboratuvarı (HSL); biyokimyasal ve mikrobiyolojik analizler gibi klinik laboratuvar hizmetlerinin yanı sıra insani tüketim amaçlı suların, yüzme sularının, kaplıca sularının, peloidlerin ve deniz suyunun mikrobiyolojik ve kimyasal analizleri, atık suların ve yüzey sularının mikrobiyolojik ve kimyasal analizleri, işçi sağlığı ve güvenliği ile ilgili analizler, gıda, yakıt, temizlik ürünleri, oyuncak gibi tüketime sunulan her türlü ürünün halk sağlığı açısından gerekli analizlerini gerçekleştiren kompleks laboratuvardır.

HSL içerisindeki klinik laboratuvarlar tıbbi laboratuvarlar yönetmeliğine göre, klinik dışı laboratuvarlar ve klinik laboratuvarların ikisi birlikte halk sağlığı laboratuvarları ve yetkilendirilmiş laboratuvarların çalışma usul ve esasları yönetmeliğine göre çalışmalarını düzenlemektedir. İki yönetmeliğe tabi olmak klinik laboratuvarları laboratuvar sorumlusu (mesul müdür) altında çalışan birimler olmayı beraberinde getirmektedir. Yönetmelikte halk sağlığı laboratuvar sorumlusu, **tercihen** 26/4/2014 tarihli ve 28983 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan **Tıpta ve Dış Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğine göre klinik mikrobiyoloji, klinik biyokimya, enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji uzmanı veya tabip**, veteriner hekim, kimya mühendisi, biyoteknoloji ve genetik mühendisi, gıda mühendisi, ziraat fakültesinin gıda bölümü mezunu ziraat mühendisi, çevre mühendisi, kimyager ve biyologlardan tercihen laboratuvar çalışma alanında doktora/yüksek lisans eğitimi almış olanlar veya bu unvanlı personelden en az iki yıl laboratuvarında çalışmış olanlar arasından görevlendirilir denilmektedir. Bu durumun tercihe bırakılması HSL işleyişinde iş barışını bozabilecek sorunlar yaratabilmektedir. HSL sorumlusunun bir uzman hekim olarak tercih edilmesi halinde de bizlere herhangi bir eğitim almadığımız klinik dışı numune analizlerinin altına elektronik imza atarak onaylama yetkisi verilmektedir. Bu durumda hem iş yükümüz hem de yasal sorumluluğumuz artmaktadır. Peki bu artış ek ödemede bir artış yaratmakta mıdır? Artmış iş yükünün ve sorumluluğun karşılığı ek ödeme katsayımızın 2.8’den 3’e çıkmasıdır. Oysaki aynı kurumda çalışan halk sağlığı uzman tabibi ek ödeme katsayısı 3 iken herhangi bir birimde sorumlu olduğunda katsayısı 3.4’e yükselmektedir. Ek ödeme ile ilgili aynı kurumda çalışan uzman tabipler arasında bu fark varken diğer kurumlardaki uzman tabiplerle aramızdaki ek ödeme farkı çok daha fazladır (~2kat).

Ayrıca ihale komisyonu, muayene kabul komisyonu gibi çeşitli komisyonlardan ya da yapılan hizmetiçi eğitimlerden ek ödemede yüzdeler artışın olmaması, PDC sayılarımızın yetersiz olması, Sağlık Bakanlığı bağlı kuruluşlar arası yer değiştirme kurası adı altında yılda bir kez kurum değiştirme hakkı verilmesi gibi özlük haklarımızı etkileyen sorunların yanısıra preanalitik süreçte yaşanan sorunlar, gözetimli hizmet laboratuvarları sorumluluğunun getirdiği sorunlar sunumda tartışmaya sunulacaktır.

Beklentimiz kurum kuruluş ayrımı yapılmadan iş yükünün adil dağıtıldığı ve özlük haklarının eşit olarak verildiği laboratuvarlarda çalışabilmektir.

**Anahtar Kelimeler:** halk sağlığı laboratuvarları, sorunlar, beklentiler

## Panel-4c

### ÖZEL HASTANELERDE ÇALIŞAN BİYOKİMYA UZMANLARININ SORUNLARI VE BEKLENTİLERİ

Gültekin Taş

İzmir Özel Kent Hastanesi, Klinik Biyokimya Laboratuvarı, İzmir

Biyokimya uzmanı olarak görev yaparken elbette birçok durumla ve zorlukla karşılaşmak kaçınılmazdır. Bu sunumda özel hastanede 12 yıllık çalışma deneyiminin sonuçları ve geleceğe yönelik beklentiler ele alınmaya çalışılacaktır. Özel Kent Hastanesi İzmir’de 2004 yılında hizmete açılan bir hastanedir. JCI Akreditasyon Standartları çerçevesinde iş akışları düzenlenen Kent Hastanesi, 2006 yılında ilk defa akredite olmuş, 2009, 2012 ve 2016 yıllarında da JCI akreditasyon sertifikasını yenilemiştir.

Özel hastane koşullarında en sık rastlanan zorluklardan biri, deneyimli ve kalifiye teknisyenlerle bir arada çalışma olanağının kısıtlı olmasıdır. Ekip çalışmasının gerekli olduğu alanımızda bu durum birçok zorluğu da beraberinde getirmektedir.

Bir diğer sorun alanı, testlerin çeşitliliğinin fazla olması (onkoloji, kemik iliği ve organ nakli vb), bunların düzenlenebilmesi ve zaman zaman dış laboratuvarlardan hizmet alma gerekliliğinin ortaya çıkmasıdır. Tüm bu sürecin idaresini yürütmek kolay değildir, ekstra özen ve dikkat gerektirmektedir.

Biyokimya uzmanlığı alanının güçlüklerini konuşmanın, birlikte düşünebilmeyi, alanımıza ait sorunları etkili bir biçimde çözebilmeyi ve geleceğe yönelik beklentileri oluşturup gerçekleştirebilmeyi sağlayacağını umuyorum.

**Anahtar Kelimeler:** özel hastane, biyokimya uzmanlığı

# Panel-4d

## TIBBİ BİYOKİMYA ALANINDA SORUNLAR VE BEKLENTİLER (ÜNİVERSİTELER)

Yusuf Kurtulmuş

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Aydın

Üniversitelerin Tıp Fakültelerinde Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalları çeşitli hizmetler üretmekte ve farklı alanlarda faaliyetler sürdürmektedir. Üniversite hastanelerinin rutin laboratuvar hizmetleri, Tıp Fakültesi ve Tıpta Uzmanlık öğrencilerinin eğitim ve öğretimleri, bazı üniversitelerde devam etmekte olan yüksek lisans ve doktora eğitimleri, klinik ve deneysel araştırmalar gibi görevler eş zamanlı olarak yürütülmektedir. Bütün bu alanların her biri kendine özgü imkanları ve sorunları da beraberinde getirmektedir. Bazı üniversitelerde bütün bu işlerin az sayıda öğretim üyesi ile sürdürüldüğü bilinmektedir.

Tıp Fakültesi organizasyonunda Anabilim Dalımızın yerine ilişkin tanımlama sorunları dikkat çekici bir seri başka alt sorunlara yol açmaktadır. Bunlardan birisi Temel Tıp Bilimleri içinde yer alan Anabilim Dalımızın döner sermaye ek ödemesinde en alt basamaktan pay almasıdır. Ekim 2016' dan beri hastaneye aktif katkısı olan bölümlere bir miktar ilave yapılmış olmasına rağmen yetersizlik devam etmektedir. En küçük üniversite hastanesinin bile yıllık test sayıları oldukça yüksek sayılara ulaşmakta, üstlenilen hasta sorumluluğu ile orantılandığında çok az miktarda ek ödeme alınmaktadır. Bu sorun Tıbbi Mikrobiyoloji için de aynıdır. Öncelikle Anabilim Dalımızın, Dahili Tıp Bilimleri Bölümüne transfer edilmesi yerinde olacaktır. Bunu takiben de işlem başına puanlama sistemine geçiş çalışmaları planlanabilir. Üniversite hastanelerinin yapısı gereği en zor ve en masraflı vaka grubuna tanı-tedavi hizmeti verdiği bir gerçektir. Diğer hastanelerle aynı SUT fiyatları ile yürütülmeye çalışılan bu yoğun çalışma temposu maddi imkanların rahatlaması beklentisini de beraberinde getirmektedir.

Üniversitelerin kendine özgü idari yapılanmalarına bağlı olarak geçmiş yıllarda bazı test grupları ve hatta bazı laboratuvarlar özünde bizim alanımızda yer aldığı halde başka laboratuvar dallarına ya da klinik dallara devredilmiştir. Örneğin CRP, kan sayımı, sedimentasyon, protrombin zamanı gibi testlerimiz başka bölümlerin elinde kalmıştır. Bu bölümlerle uygun bir geçiş programı üzerine görüşülebilir.

Yine aslında bizim tarafımızdan yapılması gereken moleküler testler de, istem yapması ve hastaya tanı tedavi için izlemesi gereken bölümler tarafından yapılmaktadır. Bunların standardizasyon açısından eksikleri olduğu günlük pratiğimizde görülmektedir. Bu testlerin sonuçlarına dayanarak hastaların genetik bozuklukları olduğu veya kanser dokularının ayrımının yapıldığı düşünüldüğünde konunun önemi görülecektir.

Tıpta uzmanlık eğitimi üniversitemizde üst düzeyde verilmektedir. Bu eğitime başlayabilmek için en zor kazanılan fakülteyi bitirmek, 550 gün mecburi hizmet yapmak, TUS'ta en yüksek puanları almak gereklidir. Bu eğitimin içeriği de üniversitemizde yapılmakta olan diğer lisansüstü eğitim aşamalarından farklıdır. Hem tıpta uzmanlık eğitimi, hem de doktora eğitimi kendi alanlarında değerlidir. Ancak alanları ve bitirildikten sonra kişilerin üstleneceği roller oldukça farklıdır. Bu iki alanda eğitim görenlerin uygun konumlarda çalışmaları daha uygun olacaktır.

Üniversitelere öğretim üyesi düzeyinde atamalar yapılırken üst yönetimlerin kendilerine tanınan yetkileri kullanması doğaldır. Ancak burada mevzuata uygun ve etik değerleri gözetilen bir yöntem belirlenmesi mümkün olabilir.

Hastanedeki klinisyenlerin de katkı sağladığı klinik araştırmalar bir miktar daha kolay yürütülebilse de, temel biyokimyasal araştırmaların sürdürülmesi çoğu üniversitede araştırma merkezleriyle yaşanan sorunlara bağlı olarak zorluklarla ilerlemektedir. En başta gelen ödenek yetersizlikleri bu alanda öncelikli sorundur. Üniversitelerin kendi proje ödenekleri yanısıra, merkezi bütçeden de çeşitli destekleyici kurumlar kanalıyla maddi katkılar artırılabilir.

Araştırma alanında yapılacak kişisel tıp ve laboratuvar uygulamaları, nanoteknoloji, hızlı tanı kitlerinin geliştirilmesi gibi çalışmalar özgün, patente dönüştürülebilir, üniversite-sanayi işbirliğine zemin oluşturan ve ülkemiz için katma değere dönüşebilecek potansiyele sahip çalışmalardır. Bu alanlara verilecek maddi desteklerin üniversitemiz için geri dönüşleri son derece olumlu olabilecektir.

**Anahtar Kelimeler:** Üniversiteler, eski sorunlar, yeni fırsatlar.

# K-15

## THE ROLE OF THE PHYSICIAN IN LABORATORY MEDICINE

**Siraj A Misbah**

President, UEMS Section of Laboratory Medicine Oxford University Hospitals, John Radcliffe Hospital, İngiltere

Advances in medical laboratory technology have significantly influenced the role of the physician in many laboratory medicine (LM) specialties. While the role of histopathologists in the critical analysis of diseased tissue has not been overtaken by molecular biology and image analysis, the same cannot be said of the physician's role in clinical biochemistry, haematology, immunology and microbiology laboratories. In these disciplines, the generation of results by sophisticated automated, cross-disciplinary single platform analysers is not dependent on direct physician involvement. What added value then, does a laboratory physician bring to these disciplines<sup>1</sup>?

From the perspective of both patient and treating physician, an essential role of the laboratory physician is to improve clinical outcomes by providing expert interpretation of test results to ensure diagnostic accuracy and evidence-based clinical management. Clinical quality indicators for LM have been produced<sup>2</sup> and range from the communication of critical results, education of users and quality assurance but crucially have not tackled the challenge of assessing how laboratory based physicians influence clinical outcomes. This talk will explore the changing role of physicians in LM with a particular focus on clinical outcomes.

### References

1. Misbah SA, Kokkinou V, Jeffery K et al. The role of the physician in laboratory medicine: a European perspective. *J Clin Path* 2013;66:432-437
2. Barth JH. Selecting quality indicators for laboratory medicine. *Ann Clin Biochem* 2012;49:257-61

# K-16a

## AKILCI LABORATUVAR KULLANIMI

Ferzane MERCAN

T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Tıbbi Laboratuvar Hizmetleri Daire Başkanlığı, Ankara

Tıbbi laboratuvarlar arası standardizasyon ve maliyet etkin bir hizmet sunumu sağlanması amacıyla tıbbi biyokimya laboratuvarlarını, tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarını, tıbbi patoloji laboratuvarlarını, tıbbi genetik laboratuvarlarını ve doku tipleme laboratuvarlarını kapsayan “Akılcı Laboratuvar Kullanımı” çalışması yürütülmektedir. Bu kapsamda ilk olarak Daire Başkanlığımız bünyesinde Akılcı Laboratuvar Kullanımı Çalışma Grubu oluşturulmuştur. Bu çalışma grubu ile tıbbi laboratuvar süreçleri kapsamında çalışma basamakları oluşturulmuş ve 17.02.2017 tarihinde ilgili dal uzmanlarının dakatılımlı ile “Akılcı Laboratuvar Kullanımı Çalıştayı” gerçekleştirilmiştir. Çalıştay esnasında “Akılcı Laboratuvar Kullanımı Basamakları” şu şekilde güncellenmiştir;

- Test İstemi:
  - ✓ Tanı ilişkili test istem algoritmalarının belirlenmesi
  - ✓ Test istem periyotlarının belirlenmesi
  - ✓ Refleks test sistemi
- Laboratuvarda Konsültasyon
  - ✓ Sonuç raporlarının standardizasyonu ile konsültasyona eklenmesi
  - ✓ Otomasyonda konsültasyon
  - ✓ Klinisyen ile tıbbi laboratuvar uzmanları arasında periyodik konsültasyon toplantısının yapılması
- Laboratuvar İşletim Sistemi
- Eğitim
  - ✓ Tıbbi laboratuvar uzmanı
  - ✓ Tıbbi laboratuvar teknikeri/teknisyeni
  - ✓ Klinik derneklerin kongrelerinde tıbbi laboratuvarlara ait panel/video sunumu yapılması
- Eşik değerlerinin belirlenmesi
- Kılavuz/guideline hazırlanması
  - ✓ Doku tipleme laboratuvarları bünyesinde klinisyen ve laboratuvar uzmanı için kılavuz çalışmasının yapılması
- Raporlama standardizasyonu
- Translasyonel Laboratuvar

Belirlenen basamaklar ışığında klinik yararlılığın sağlanması göz önüne alınarak klinik dernekleri ile iştişare toplantıları düzenlenmiş ve toplantıların sonucunda klinisyenlerin tıbbi laboratuvarlar hakkında bilgilendirilmesinin sağlanmasına karar verilmiştir. Ayrıca ilgili çalışma basamakları doğrultusunda çalışmalarımız devam etmekte olup çalışmaların bitirilmesini takiben sahaya bilgilendirme amaçlı resmi yazışmalar yapılacaktır.

# K-16b

## AKILCI LABORATUVAR KULLANIMI

Filiz Akbıyık

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Ankara

Akılcı laboratuvar kullanımı; kanıta dayalı veriler ışığında ve doğru klinik soru ile en uygun test seçimini sağlayarak, maliyet-etkin ve hasta-çalışan güvenliğini de gözeterek doğru ve etkin laboratuvar kullanımı olarak tanımlanabilir. Laboratuvarların gelişen bilim ve teknolojiye uyum sağlayabilmesi, sistematize organizasyonu ve klinisyen ile laboratuvar arasında hızlı ve doğru iletişimin kurulabilmesi klinik tanıda giderek daha da önem kazanmaktadır. Bir yandan maliyet ve harcamalar konusunda baskı altında kalan laboratuvar uzmanları bir yandan da etkin, doğru ve hızlı sonuç taleplerini yerine getirmeye çalışmaktadırlar. Laboratuvar testlerinin hızla artışı ve test performanslarının klinisyenler tarafından yeterince bilinmiyor olması, istemlerin geliştiği güzel ve alışkanlıklar çerçevesinde yapılıyor olması, sonuçların yorumlanmasında yapılan hatalar ve tekrar edilen istemler gibi nedenlerle gereksiz ve uygunsuz test istemleri %25-40 oranlarına ulaşmaktadır. Düşük maliyetler ile nitelikli ve kaliteli tıbbi hizmet verilmek istendiğinde gereksiz ve etkin olmayan test istemlerinin kontrol altına alınması en önemli hedef haline gelmiştir. Akılcı laboratuvar kullanımı kanıta dayalı test istemi ve kanıta dayalı klinik kararların alınmasındaki rolü ile bilimsel katkı sağlarken, kaynakların doğru ve yerinde kullanımını artırarak sağlık ekonomisinde verimliliği artırmaktadır. Gereksiz işlemlerle hasta güvenliğini, gereksiz iş yükü ile sağlık personeli güvenliğini tehdit eden unsurları minimuma indirmektedir. Bu amaçlar doğrultusunda SB Tıbbi Laboratuvar Hizmetleri Daire Başkanlığı tarafından Akılcı Laboratuvar Kullanımı ile ilgili çalışma grupları oluşturulmuştur. Bu çalışmalar sonunda var olan sorunların çözülmesi amaçlanmıştır.

Gereksiz ve uygun olmayan test istemlerinin önlenmesi ve test istem periyodlarının belirlenebilmesi için klinisyenler ile ortak çalışmalar ve algoritmalar oluşturulması gerekmektedir. Test istem panellerinin kaldırılması, tetkiklerin basamaklandırılması, sık istenen testler için hastane bilgi sisteminde uyarı notlarının yer alması uygun olacaktır. Refleks test istemi ve gereksiz testler için red yetkisinin laboratuvar uzmanlarına tanınması akılcı laboratuvar kullanımına katkı sağlayacaktır. Kılavuz ihtiyacı olan testler için listeler ve uygun formatta kılavuzlar hazırlanması; hastane/laboratuvar bilgi sisteminde hasta bazında veya genel sorular hakkında konsültasyon noktalarının kurulması klinisyen/laboratuvar uzmanı arasındaki iletişimi sağlayacaktır. Translasyonel laboratuvar kavramı kapsamında ArGe, klinik tanı, laboratuvar tanı yapılarının iç içe çalıştığı kurumsal yapılar oluşturulması bilimsel ve kanıta dayalı laboratuvar kullanımında önemli rol alacaktır.

Sağlık hizmetlerine değer katabilmesi ve yüksek kalitede, etkin laboratuvar tıbbi hizmetinin geleceği için laboratuvar uzmanlarının laboratuvar içinde ve dışında aktif katılım göstermesi çok önem kazanmıştır. Bu nedenle mezuniyet öncesi ve uzmanlık eğitimi süresince akılcı laboratuvar kullanımı eğitimleri vermek, hizmet içi sürekli eğitimler düzenlemek gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Akılcı laboratuvar kullanımı, kanıta dayalı test istemi, laboratuvar uzmanı

# K-17a

## D VİTAMİNİ; GÜNCEL YAKLAŞIMLAR

Sezer Uysal

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, İzmir

Son yıllarda üzerinde birçok araştırma yapılan D vitamini geleneksel vitamin tanımlamasına uymayıp günümüzde daha çok prohormon olarak adlandırılmaktadır. D vitamininin büyük bir kısmı deride UV radyasyonun etkisiyle 7-dehidrokolesterolden oluşur. Daha sonra karaciğerde CYP2R1 ve böbreklerde ise CYP27B1 aracılığıyla 1 $\alpha$  ve 25 hidroksilasyona uğrayarak aktif forma [1,25(OH)D<sub>3</sub>] dönüşür. Diyetle alınabilen miktar ise oldukça kısıtlıdır. Aktif D<sub>3</sub> nükleusta "Vitamin D Reseptörü" (VDR) ile bağlanır. VDR, "Retinoid X Reseptörü" (RXR) ile heterodimer oluşturarak DNA üzerinde "Vitamin D Response Elements" (VDREs) ile etkileşir ve birçok genin aktivitesini düzenler. VDR ekspresyonu deri, immün hücreler, damarlar, prostat gibi birçok dokuda saptanmıştır. D vitamininin en iyi bilinen fonksiyonu kan kalsiyum düzeyinin düzenlenmesidir. Kan kalsiyum düzeyleri düşünce parathormon tarafından 1 $\alpha$  hidroksilasyonu uyarılan D<sub>3</sub>, bağırsaklar ve kemik üzerine etki ederek kan kalsiyum düzeylerini yükseltir.

Epidemiyolojik çalışmalarda hemen hemen bütün toplumlarda D vitamini eksikliği ve yetersizliği gözlenmiştir. Özellikle güneş ışığına maruziyetin azaldığı durumlarda eksiklik görülmektedir. D<sub>3</sub> eksikliğinde başta kolorektal kanserler olmak üzere prostat, meme gibi birçok kanser insidansında artış gözlenmiştir. Ayrıca prelinik çalışmalarda da D<sub>3</sub>'ün antianjiyogenik, proapoptotik, antiproliferatif gibi kanser gelişimini azaltan etkileri gösterilmiştir. Ancak metaanalizlerde takviye olarak D<sub>3</sub> kullanılması ile kanser progresyonunda ya da prognozda farklılık bulunmamıştır. Benzer durum immün sistem üzerine olan düzenleyici etkileri için de geçerlidir. Neredeyse bütün immün hücreler VDR eksprese eder. Ayrıca birçokta CYP27B1 aktivitesi vardır. D<sub>3</sub> eksikliğinde otoimmün hastalıkların sıklığında artış saptanırken suplementasyonun önleyici etkisi bulunmamıştır. Bunun bir nedeni prelinik çalışmalarda gözlenen etkilerin oluşması için verilmesi gereken yüksek dozların D<sub>3</sub>'ün hiperkalsemik etkisi nedeniyle insanlarda uygulanamaması olabilir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda klasik hidroksilasyonlara ek olarak yeni aktivasyon yolları saptanmıştır. Alternatif yollar CYP11A1 tarafından 20 hidroksilasyon ile başlamakta ve daha sonra CYP27A1, CYP24A1, CYP34A4 veya CYP27B1 ile ek hidroksilasyonlara uğramaktadır. Bu şekilde oluşan 20'den fazla hidroksimetabolit saptanmıştır. Endojen oluşan metabolitlerin biyolojik fonksiyonları bulunmaktadır. Alternatif hidroksilasyon epidermal keratinositler, adrenal bez, plasenta, gonadlar gibi birçok dokuda gözlenmiştir. Alternatif hidroksilasyon ile oluşan ürünlerin başta 20(OH)D<sub>3</sub> olmak üzere 1,25(OH)D<sub>3</sub>'e eşit veya daha kuvvetli düzeyde antikanser etkileri vardır. Bu metabolitler farklı olarak nonkalsemikler ("biased agonist"). Bu sayede yüksek dozlarda kullanımının mümkün olabileceği düşünülmektedir. Farelerde melanom tedavisinde 30 kat yüksek dozlarda bile kalsemik etki gözlenmemiştir. Oral alınan 25(OH)D<sub>3</sub> alternatif hidroksilasyona uğramaz. Yeni saptanan D<sub>3</sub> metabolitleri ancak güneş etkisiyle oluşabilir. Bu durum D<sub>3</sub> takviyesi ile kanser sıklığının azalmamasını açıklayabilir.

D vitamininin nükleer VDR dışında "Retinoic Acid-Related Orphan Receptors" (RORs)  $\alpha$  ve  $\gamma$ , membran yerleşimli VDR ve "1,25D<sub>3</sub>-Membrane Associated, Rapid Response Steroid-Binding Protein" (MARRS) reseptörleri ile de etkilerini gösterdiği belirlenmiştir. Ligand bağımlı transkripsiyon faktörleri olan ROR'lar kanser gelişimi, immün hastalıklar, metabolik sendrom, insülin direnci gibi birçok hastalıkla ilişkilidir. Alternatif D<sub>3</sub> hidroksilasyon ürünleri ROR üzerine "inverse agonist" etki gösterirler, yani bazal aktivitesini azaltırlar. Ayrıca nongenomik etkileri ve MARRS üzerine düşük-afiniteli agonist etkileri de gösterilmiştir.

Bazı kanser hücreleri aktif D<sub>3</sub>'ü inaktif metaboliti 24,25(OH)D<sub>3</sub>'e dönüştüren CYP24A1 eksprese eder. Aday onkogen olarak da tanımlanan CYP24A1'in spontan upregülasyonu kötü prognozla ilişkilidir. Tedavi ile D<sub>3</sub> düzeyleri yükselse de CYP27B1 aktivitesinin ve VDR ekspresyonunun azalması ve CYP24A1 artışı kanser hücrelerini D<sub>3</sub> etkilerine dirençli kılar. CYP24A1 inhibisyon çalışmaları ise hiperkalsemi gelişimi nedeniyle henüz uygulanamamaktadır.

Endojen olarak oluşan ve biyolojik aktiviteye sahip D vitamini alternatif hidroksilasyon ürünlerinin ve alternatif reseptörlerin saptanması sadece 1,25(OH)D<sub>3</sub> ve VDR'ye atfedilen çeşitli ve farklı etkilerin aydınlanmasına katkıda bulunabilir. Ayrıca hiperkalsemik etkisi olmayan yeni hidroksitürevler kanser ve otoimmün hastalıklar gibi D<sub>3</sub> ile ilişkisi bilinen durumlarda potansiyel fayda sağlayabilir.

### Kaynaklar:

1. Vaughan-Shaw PG, O'Sullivan F, Farrington SM, et al. The impact of vitamin D pathway genetic variation and circulating 25-hydroxyvitamin D on cancer outcome: systematic review and meta-analysis. Br J Cancer 2017 Mar 16. doi: 10.1038/bjc.2017.44.
2. Slominski AT, Kim TK, Hobrath JV, et al. Endogenously produced nonclassical vitamin D hydroxy-metabolites act as "biased" agonists on VDR and inverse agonists on ROR $\alpha$  and ROR $\gamma$ . J Steroid Biochem Mol Biol. 2016 Sep 28. doi: 10.1016/j.jsbmb.2016.09.024.
3. Dankers W, Colin EM, Hamburg JP, Lubberts E. Vitamin D in autoimmunity: molecular mechanisms and therapeutic potential. Front Immunol. 2017 Jan 20;7:697. doi: 10.3389/fimmu.2016.00697.

**Anahtar Kelimeler:** D vitamini, VDR, ROR

# K-17b

## VİTAMİN D, KARDİOVASKÜLER HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ VE ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

Ece Onur

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Manisa

Kemik mineral dansitesinin sürdürülmesinde büyük bir öneme sahip olan Vit D'nin inflamasyonu azalttığı, renin- anjiyotensin – aldosterone sistemini düzenlediği, insülin hassasiyetini arttırdığı ve immun sistemi module ettiği yönünde de bulgular mevcuttur (1). Vitamin D eksikliğinin kanser, kardiyovasküler hastalıkları otoimmun hastalıklar, immun disfonksiyon, enfeksiyöz hastalıklar iskelet dışı bazı hastalıklara yatkınlık oluşturduğu ileri sürülmektedir. Özellikle son zamanlarda D vitamini eksikliğinin koroner arter hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, periferik arter hastalığı ve serebrovasküler hastalıkları da içeren kardiyovasküler hastalıkları arttırdığı yönünde birçok epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur (2). Bugüne kadar KVH ile düşük D vit düzeyleri arasındaki ilişkiyle ilgili yapılan çalışmalar, vit D depolarının en iyi belirteci olarak 25-hidroksi vitamin D [25(OH)D] seviyeleri olduğunu vurgulamaktadır. Vit D suplementasyonunun kronik hastalıkları önlediğine dair çok az çalışma bulunmaktadır.

Son zamanlarda ön plana çıkan D vitamini ölçüm yöntemleri; biyoyararlanırlığı olan 25(OH)D, serbest 25(OH)D, 1,25-dihidroksi vitamin D [1,25(OH)2D, kalsitriol], 24,25- dihidroksi vitamin D3 [24,25(OH)2D3] ve son olarak vitamin D metabolik oran (VMR) olarak da bilinen 24,25(OH)2D3'nin 25(OH)D'ye oranıdır. Asemptomatik erişkinlerde D vitamini eksikliğinin taranmasının yararlı mı ya da zararlı mı olduğu, aynı zamanda D vitamini durumunun en iyi göstergesi olarak total 25 (OH) D yerine biyoyararlanırlığı olan 25 (OH) D'nin kullanılması gerekip gerekmediği hala araştırma konusudur (3).

25(OH)D'nin iki öncülü D3 (kolekalsiferol) ve D2 (ergokalsiferol)'dir. D vitamini ana kaynağı UVB'nin deriye temasıyla 7 dehidrokolesterolün dönüşümüyle oluşur. Son zamanlarda D vitamini takviyelerinin kullanımı artmış olsa da besinlerle alınan D vitamini etkisinin son derece az olduğu bilinmektedir (4).

Dolaşımda 25(OH)D ve 1,25(OH)2D'nin büyük kısmı Vit D bağlayan proteine (VDBP) bağlı bulunmaktadır. Aslında dolaşımdaki 25(OH)D'nin % 85-90'ı VDPB'ye bağlı iken, % 10-15'i albümine a bağlıdır. %1 den az bir kısmı ise serbesttir. Biyoyararlanılabilirliği olan D vitamini, 25 (OH) D'nin serbest ve albumin bağlı fraksiyonlarının toplamı olarak kabul edilmektedir. Klinik testler, bağlı 25 (OH) D ile bağlı olmayan 25 (OH) D arasındaki ayırımı yapamadığından, düşük total 25 (OH) D'li bir bireyin biyoyararlanırlığı olan 25 (OH) D düzeyine sahip olması mümkün olabilmektedir (5).

D vitamini 25 (OH) D formu, kardiyak doku da dahil olmak üzere hemen hemen her organ sisteminde bulunan D vitamini reseptörüne (VDR) bağlanan 1,25 (OH) 2D formuna (kalsitriol) aktive olmaktadır. Reseptörün aktivasyonu ile D vitamini birincil sağlık etkileri meydana gelmektedir. Erişkin popülasyonda nispeten yaygın olarak görülen Vitamin D eksikliğinin çeşitli nedenlerle KVH riskine yol açtığı ileri sürülmektedir. D vitamini düzeyinin tayini için dolaşımdaki depo formunun en büyük kısmını oluşturan serum 25 (OH) D ölçülmektedir (6).

VDR'nin aktivasyonunun, renin gen transkripsiyonunun downregülasyonu, vazodilatör ve anti-trombotik etkili proteinlerin aktivasyonu ve makrofajlarda köpük hücre oluşumunun inhibe edilmesi yanında artmış kolesterol akışı dahil olmak üzere kardiyovasküler sistem üzerinde bir takım potansiyel etkilere sahip olan önemli bir adım olarak kabul edilmektedir.

D vitamini eksikliği tedavisi amacıyla süt, yumurta ve yağlı balık gibi beslenme kaynakları ve ayrıca D2 ve D3 vitaminleri kullanılmaktadır. D vit eksikliği taraması için vitamin D düzeyleri kolayca ölçülebilir olmalıdır. Mevcut kılavuz ilkeler PTH, KMY ve kırık riski ile ilişkili olan hasta popülasyonlarında D vit taraması için 25 (OH) D'nin ölçümünü önermektedir.

Serum 25(OH)D referans aralığı: Normal popülasyon için optimum düzeyi her toplum kendisinin belirlemesi önerilmektedir

Genel olarak  $\geq 20.0$  (ya da  $30.0$ )– $50.0$  ng/mL kabul edilmektedir.

Son zamanlarda Vitamin D düzeyi yeni ölçüm yöntemlerine ilgi arttıysa da, iki farklı formdaki 25 (OH) D2 ve 25 (OH) D3 arasındaki farklılıkları nedeniyle 25 (OH) D'nin bile ölçümü zor olmaktadır. Her iki formun serum proteinlerine farklı afiniteye sahip olması nedeniyle gebelik, yüksek östrojen durumu ve böbrek yetmezliği gibi bazı tıbbi durumlarda yanlış düşük D vit seviyeleri ile karşılaşılabilir.

25(OH)D tayin yöntemleri

- Vitamin D bağlayan protein tayini: total 25(OH)D
- Immunoassay: total 25(OH)D
- Radioimmunoassay
- Enzim immunoassay
- Immunochemiluminescent assay
- HPLC - UV: D2 ve D3



•LC - MS/MS: D2 ve D3

25OHD tayini ölçüm kısıtlılıkları

- Matrix effect
- farklı vitamin D formlarının varlığı
- ölçüm standardizasyon yokluğu
- 3 - epimer

LC-MS, 25 (OH) D değerlendirmesi için "altın standart" olarak kabul edilmekle birlikte, yüksek maliyetler göz önüne alındığında, immünoassay yöntemler daha fazla kullanılmaktadır. İdeal olarak, hormonun aktif hali olan kalsitriol (1,25 (OH) 2D) vitamin D aktivitesinin faydalı bir göstergesidir. Fakat D vitamini eksikliği olan bireylerde PTH, fosfor ve FGF-23 içeren kompensatuar mekanizmalar yoluyla 1-alfa-hidroksilaz ekspresyonu artabilir ve eksiklik olsa bile aktif form normal seviyelerde ölçülebilir. Ayrıca 1,25 (OH) 2D'nin yarı ömrü yaklaşık 4 saattir ve dolaşımdaki düzeyleri 25 (OH) D'den 1000 kat daha düşüktür ve tayini teknik olarak zorlayıcıdır

Sonuçta, hali hazırda ölçüm için kabul edilmiş ideal bir referans yöntemi olmadığı, bu konudaki araştırmalara açık olduğu aşıkardır (6,7).

#### **Referanslar:**

1. Rosen CJ, Adams JS, Bikle DD, et al. The nonskeletal effects of vitamin D: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev.* 2012;33(3):456–92.
2. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiol Rev.* 2016;96(1):365–408.
3. Cashman KD. Vitamin D: dietary requirements and food fortification as a means of helping achieve adequate vitamin D status. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2015;148:19–26.
4. Herrmann M, Farrell CL, Pusceddu I, Fabregat-Cabello N, Cavalier E: Assessment of vitamin D status—a changing landscape. *Clin Chem Lab Med* 2016.
5. Yousefzadeh P, Shapses SA, Wang X. Vitamin D binding protein impact on 25-hydroxyvitamin D levels under different physiologic and pathologic conditions. *Int J Endocrinol.* 2014;2014:981581.
6. Lankes U, Elder PA, Lewis JG, George P. Differential extraction of endogenous and exogenous 25-OH-vitamin D from serum makes the accurate quantification in liquid chromatography-tandem mass spectrometry assays challenging. *Ann Clin Biochem.* 2015;52(Pt 1):151–60.
7. Tai SS, Nelson MA. Candidate reference measurement procedure for the determination of (24R),25-dihydroxyvitamin D3 in human serum using isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chem.* 2015;87(15):7964–70.

# K-18

## TÜRK KLİNİK BİYOKİMYA DERNEĞİ ÇALIŞMALARI

**Özkan Alataş**

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, Eskişehir

Türk Klinik Biyokimya Derneği Klinik Biyokimya Uzmanlarının; ulusal, mesleki ve bilimsel tıpta uzmanlık derneğidir. Derneğimiz; Türkiye’de çalışan Klinik Biyokimya Uzmanları arasında bilimsel bilgi alışverişi için gerekli koşulları hazırlayan ve bu konuda teşvik edici çalışmalar yapan, uzmanlık dalının saygınlığının korunması ve yüceltilmesi için önderlik eden, üyelerinin uzmanlık alanlarına ilişkin haklarının korunması ve geliştirilmesi için gerekli girişimlerde bulunan ve olumsuzlukların giderilmesi için çalışan bir sivil toplum örgütüdür.

Bu oturumda Türk Klinik Biyokimya Derneği’nin mesleki ve bilimsel çalışmaları hakkında bilgilendirme yapılacaktır.

# Panel-5a

## DÜNYA'DA VE TÜRKİYE'DE DİYABET EPİDEMİSİ VE TÜRKİYE'DE TİP 2 DİYABET BAKIMINDAKİ SORUNLAR

İlhan Satman

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul

Diabetes mellitus, mutlak veya göreceli insülin yetersizliğine bağlı olarak karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki kronik bozukluk sonucu ortaya çıkan, tüm sistemleri ilgilendiren ve sürekli bakım gerektiren önemli bir sağlık sorunudur (1). Tüm diyabet vakalarının %90'dan fazlasını oluşturan tip 2 diyabet; nüfus artışı, yaşam beklentisinin uzaması ve yaşam tarzındaki küresel değişimler sonucunda hem gelişmiş hem de gelişmekte olan toplumlarda hızla artmaktadır.

Bulaşıcı Olmayan Hastalıklar Risk Faktörleri İşbirliği Platformu (NCD-RisC)'nin tahminlerine göre; dünyada 1980 yılında 108 milyon olan diyabetli yetişkin nüfus, 2014 yılında 422 milyona ulaşmıştır (2). Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından, 2015 yılında yayınlanan 7. Diyabet Atlası'nın verilerine göre, dünya genelinde 415 milyon yetişkin (20-79 yaş) diyabetlinin yaşamakta olduğu tahmin edilmekte ve 2040 yılında bu sayının 642 milyona ulaşması beklenmektedir (3). Diyabet Atlası'nın bir önceki baskısında ise 2013 yılı itibarı ile Türkiye, Avrupa'da diyabet prevalansının en yüksek olduğu ülkedir, ayrıca diyabet nüfusunun en yoğun olduğu 3. ülke konumundadır (4).

1997-1998 yıllarında gerçekleştirilen toplum-temelli 'Türkiye Diyabet, Hipertansiyon ve Obezite Epidemiyoloji Çalışması (TURDEP-I)'nda diyabet prevalansı %7.2 iken; 2010 yılında tekrarlanan TURDEP-II çalışmasında %13.7'ye ulaşmıştır (5,6). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), 2016 yılı nüfus istatistiklerine göre 80 milyona dayanan nüfusumuzun %75'i yetişkin yaşlarda olup TURDEP-II prevalans rakamlarına göre yaş ve cinsiyet standardizasyonu yapıldığında, halen 8.5 milyon diyabetli nüfusumuzun olduğu anlaşılmaktadır (7).

Türkiye'de diyabet hastalarının yaklaşık yarısı hastalıklarının farkında değildir (3,6), bu durum hastalığın, belki de komplikasyonlar geliştikten sonra, daha geç dönemde farkedilmesine yol açmaktadır. Ek olarak düzenli tedavi altında olduğunu ifade eden diyabetli hastaların %51'inde HbA1c, optimal kontrol kabul edilen %7 hedefinin üzerinde bulunmaktadır (6).

Öte yandan, diyabet hastalarının takibinde kaynakların verimli kullanılmaması, disiplinleri arası iletişim eksiklikleri, hekimin zamankısıtlılığı, diyabet hemşiresi ve diyetisyen gibi Diyabet Bakım Ekibi'nde yer alması gereken diğer sağlık personelinin sayıca yetersiz olması, hastaların önceki klinik ve laboratuvar verilerine hızlı ve pratikerişimin sağlanamaması veya hasta uyumsuzluğubinedenlerleciddisorunlaryaşanabilmektedir. Geç tanı alan, uygun şekilde tedavi görmeyen ve iyi takip edilmeyen diyabet; tüm vücutta neden olduğu mikro ve makrovasküler değişikliklerle göz, böbrek, sinir ve damar komplikasyonlarına yol açabilir. Komplikasyonlar tedavi maliyetlerini artırır, yaşam kalitesini düşürür ve yaşam beklentisini kısaltır (3).

Son yıllarda uluslararası ve ulusal otoriteler tarafından oluşturulan ve düzenli aralıklarda güncellenen 'Diyabet Tanı, İzlem ve Tedavi Rehberleri', diyabet tanısındaki gecikmeleri önlemek, hastalığı erken dönemde ve güncel gelişmelere uygun tedavi etmek, komplikasyon riskini azaltmak, hastaları eğiterek tedaviye uyumlarını artırmak ve bakım-tedavi maliyetlerini düşürmek suretiyle hekimlere yol göstermektedir (8-10). Ancak günlük pratikteki zaman ve ekip kısıtlılıkları nedeniyle kılavuz önerilerini uygulamak her zaman mümkün olamamaktadır. Aslında iletişim teknolojilerinde kaydedilen yeni gelişmeler yardımı ile geliştirilen çeşitli elektronik takip uygulamaları bu zorlukların üstesinden gelmede yararlı olabilmektedir (1). Türkiye'de üniversite-sanayi işbirliği ile gerçekleştirilen 'Tele-Diyabet' pilot çalışması, elektronik takiple daha iyi bir glisemik kontrol sağlanabileceğini ve bunun sürdürülebileceğini ortaya koymuştur (11).

Ülke olarak, sağlık bütçemizin yaklaşık dörtte birini diyabet hastalarının tedavisi ve komplikasyonlarına ayırmaktayız. Yakın zamanda yapılan çok merkezli gözlemsel bir çalışmada, Türkiye'de uzman hekimlerin tanı-tedavi kılavuzlarındaki önerileri çoğu kez uygulamadıklarını ortaya koymuş ve tanıdan itibaren ortalama 8.5 yıl süreyle uzman hekimler tarafından izlenen tip 2 diyabet hastalarının %60'ında en az bir komplikasyonun geliştiği bildirilmiştir (12).

Ülkemizde diyabet hastalarının tanı, izlem ve tedavisi için geliştirilen ortak bir veri tabanının bulunmaması, hastaların takip edildikleri kurum dışında başka bir merkezde takiplerini olanaksız kılmakta, hastaların farklı merkezlere başvurması durumunda önceki verilerine ulaşılabilmesi nedeniyle çoğu kez gerekmediği halde tetkiklerinin yeniden istenmesine, tedavi hatalarına, önemli zaman kaybı ve maliyet artışlarına neden olmaktadır. Son yıllarda diyabet tedavisinde kaydedilen dinamik gelişmeler; hekimlerin tedavi seçiminde güncel bilgi donanımlarının yetersiz olmasına ve hastaya uygun rasyonel tedavi seçiminde zorlanmalarına yol açmakta; üstüne üstlük bir hastaya ayırdıkları zamanın da kısıtlı olması nedeniyle hastaya kayıtsız kalmalarına (klinik inertia) ve kimi zaman da tıbbi hatalara neden olabilmektedir. Ayrıca hastaların çoğu, sağlık durumları hakkında yeterli bilgiye sahip değildir. Oysa hastanın bakım ve tedavi sürecine ortak edilememesi, tedaviye uyumlarını daha da azaltmaktadır.

Sonuç olarak diyabetin kronik ve ilerleyici tabiatı nedeniyle hastaların erken dönemden itibaren hastalığın her evresinde yakından ve ekip yaklaşımı içinde izlenmesi, güncel standartlarda tedavi edilmesi, klinik ve laboratuvar verilerinin kayıt altına alınması, bu

verilerin erişime açık olması, disiplinler arası bilgi paylaşımı ve analiz edilmiş verilere dayanan entegre bir sistem geliştirilmesi; iletişim sorunlarından kaynaklanan zaman kaybını ve tıbbi hataları azaltacağı gibi, takip ve tedavi protokollerinin güncellenmesine de ışık tutabilir.

#### Kaynaklar

1. İmamoğlu Ş, Satman İ, Akalın S ve ark. (Ed). *Geçmişten Geleceğe Diabetes Mellitus*. Bayt, 2015, Ankara.
2. NCD-RisC. *Lancet* 2016; 387 (10027): 1513-30.
3. IDF *Diabetes Atlas*. 7<sup>th</sup> Ed. Bruxelles, 2015.
4. IDF *Diabetes Atlas*. 6<sup>th</sup> Ed. Bruxelles, 2013.
5. Satman I, Yılmaz T, Sengül A, et al. *Diabetes Care* 2002;25: 1551-6.
6. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, et al. *Eur J Epidemiol* 2013; 28: 169-80.
7. ADNKS Sonuçları 2016. Erişim: [www.tuik.gov.tr/jsp/duyuru/adnks/adnksIndex.html](http://www.tuik.gov.tr/jsp/duyuru/adnks/adnksIndex.html).
8. ADA. Standards of medical care in diabetes-2017. *Diabetes Care* 2017; 40 (Suppl. 1): S99-S104.
9. Garber AJ, Abrahamson MJ, Barzilay JI, et al. Consensus Statement by the AACE and ACE on the Comprehensive Type 2 Diabetes Management Algorithm-2016. *Endocr Pract* 2016; 22: 84-113.
10. Satman İ, İmamoğlu Ş, Yılmaz C ve ark. (Ed). *TEMED Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavisi ve İzlem Klavuzu-2016*. 8. Baskı, Bayt, Ankara, 2016.
11. Satman I, Bağdemir E, Turker F, et al. 17<sup>th</sup> ECE, 16-20 May 2015, Dublin, *Endocrine Abstracts* 2015; 37: EP-470.
12. Satman I, İmamoglu S, Yılmaz C, et al. *Diabetes Res Clin Pract* 2012; 98: 75-82.

# Panel-5b

## DIYABETES MELLİTUS TANI VE İZLEMİNDE GÜNCEL GELİŞMELER

**Burcu Barutçuoğlu**

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Biyokimya Bilim Dalı, İzmir

Diyabetes mellitus (DM), insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, kronik bir metabolik hastalık olup tanı ve sınıflamasında son yirmi yılda birçok değişiklik yapılmıştır. 1997 yılında, Amerikan Diyabet Birliği (ADA) yeni tanı ve sınıflama kriterlerini yayınlamış ve 1999'da Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu kriterleri bazı küçük değişikliklerle kabul etmiştir. Bundan sonra zaman zaman yapılan yenilikleri ile tüm dünyada bu tanı kriterleri benimsenmiştir.

Diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozuklukları belirgin diabetes mellitus, izole bozulmuş açlık glukozu (BAG), izole bozulmuş glukoz toleransı, (BGT), BAG + BGT'dir. Diyabet tanısı dört yöntemden herhangi birisi ile konulabilir. Eski yıllarda "Sınır Diyabet" ya da "Latent Diyabet" olarak adlandırılan BGT ve BAG, artık 'Prediyabet' olarak kabul edilmektedir. Diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozuklukları için güncel tanı kriterleri aşağıdaki gibidir.

*Belirgin DM* tanısı için; en az 8 saat sonrası alınan açlık plazma örneğinde glukoz  $\geq 126$  mg/dl, 75 g oral glukoz tolerans testinde 2. saat glukoz  $\geq 200$  mg/dl, rastgele ölçülen glukoz  $\geq 200$  mg/dl + diyabet semptomları veya HbA1c  $\geq 6.5$  olan dört tanı kriterinden sadece birinin olması yeterlidir.

*İzole BAG* tanısı için; en az 8 saat sonrası alınan açlık plazma örneğinde glukoz 100-125 mg/dl ve 75 g oral glukoz tolerans testinde 2. saat glukoz  $< 140$  mg/dl olan iki tanı kriteri birlikte bulunmalıdır.

*İzole BGT* tanısı için; en az 8 saat sonrası alınan açlık plazma örneğinde glukoz  $< 100$  mg/dl ve 75 g oral glukoz tolerans testinde 2. saat glukoz 140-199 mg/dl olan iki tanı kriteri birlikte bulunmalıdır.

*BAG + BGT* tanısı için; en az 8 saat sonrası alınan açlık plazma örneğinde glukoz 100-125 mg/dl ve 75 g oral glukoz tolerans testinde 2. saat glukoz 140-199 mg/dl olan iki tanı kriteri birlikte bulunmalıdır.

Tanı kriterleri venöz plazmada glukozun glukoz oksidaz yöntemi ile yapılan ölçümlerine göre dir. Hastaların glisemi takibinde tam kan, kapiller kan ve serum glukoz sonuçları plazmaya göre daha düşüktür. Geliştirilen formüllere dayanarak, son yıllarda kapiller tam kanda glukoz düzeyini ölçen cihazların plazma glukoz düzeylerine göre kalibre edilerek kullanılabilir.

Plazma glukoz (mg/dl) =  $0.102 + [19.295 \times \text{kapiller kan glukoz (mg/dl)} / 18]$

Plazma glukoz (mg/dl) =  $0.558 + [20.254 \times \text{tam kan glukoz (mg/dl)} / 18]$

Plazma glukoz (mg/dl) =  $-0.137 + [18.951 \times \text{serum glukoz (mg/dl)} / 18]$

HbA1c, standardizasyonundaki problemler ve tanısal eşik değerinde yaşanan belirsizlik nedeniyle diyabet tanı kriteri olarak uzun süre önerilmemiştir. Standardizasyonu için yapılan çalışmalar ve prognostik önemine dair kanıtların artması sonucunda HbA1c diyabet tanı testi olarak kullanılabilirliği gündeme gelmiştir. Amerika'da tüm laboratuvarların kullandığı HbA1c ölçüm yöntemlerinin "Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı" (NGSP: *National Glycohemoglobin Standardization Program*) tarafından sertifikalandırılması ve sonuçların DCCT (*Diabetes Control and Complications Trial*) çalışmasında kullanılan ve altın standart olarak kabul edilen HPLC yöntemine göre kalibre edilmesi şartı istenmektedir. 2008 yılında, IFCC'in de içinde yer aldığı Uluslararası Diyabet Uzmanlar Komitesi, diyabet tanısı için HbA1c cut-off değerini % 6.5 olarak belirlemiştir. HbA1c  $\geq 6.5$  olması ve, açlık plazma glukozu  $\geq 126$  mg/dl olan kişilere diyabet tanısı konulmasını ve bu yaklaşımın OGTT'ye alternatif olarak kullanılmasını günümüzde benimsenmiştir. WHO'nun 2011 yılında yayımladığı Konsültasyon Raporu'nda, güvenilir bir yöntemin kullanılması ve uluslararası referans değerlerine göre düzenli olarak standardize edilmesi koşulu ile HbA1c'nin tanı testi olarak kullanılabilirliği önerilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** diyabetes mellitus, açlık glukoz, hemoglobin A1c

# Panel-5c

## DIYABETİK NEFROPATİDE GLOMERÜLER HASAR

S. Halide Akbaş

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Antalya

Diabetes Mellitus (DM)'un en önemli mikrovasküler komplikasyonlarından biri diyabetik nefropatidir (DN). Tip 1 DM hastalarının yaklaşık % 40–45'inde, Tip 2 DM hastalarının % 30'unda DN oluşmaktadır. Son dönem böbrek hastalığı (SDBH) tanısı alan hastaların önemli bir kısmını DN vakaları oluşturmaktadır ve bu hastalarda diyaliz ya da transplantasyon gibi renal replasman tedavilerine gereksinim duyulmaktadır. Diyabetik nefropati erken renal hipertrofik değişikliklerden, glomerul, interstisyum ve tubuler yapıların bozulmasına kadar giden süreci kapsayan bir tablodur.

Diyabette oluşan glikotoksisite ve hemodinamik değişiklikler, glomerüler filtrasyon bariyerinde yapısal değişikliklere neden olur. Glomerüler filtrasyon bariyeri içinde glomerüler endotel hücreler, glomerüler bazal membran (GBM), podositler ve podositler arasında yer alan slit diyafram bulunmaktadır. Diyabetik nefropatide podositlerdeki ayaksı çıkıntılarda yapışma, GBM incilmesi, glikokalikslerde azalma, mezengial matrikste birikim ve glomeruloskleroz oluşur. Albuminüri; DN erken tanısı için halen kullanımda olup düşük duyarlılık ve geniş varyasyon gibi sınırlamaları bulunmaktadır. Bu nedenle erken dönemde tanıda kullanılabilir yüksek duyarlılık ve özgüllükte biyobelirteçlere gereksinim bulunmaktadır.

Glomeruler filtrasyon fonksiyonunun bozulmasına neden olan bir çok faktör olmasına rağmen podositlerdeki hasar önemlidir. Podositler glomerüler kapillerlerin dış yüzeyini kaplayan, ayaksı çıkıntılar ile oldukça özelleşmiş bir görünüm sergileyen hücrelerdir. Son yıllarda yapılan araştırmalar podositlerin aslında birer protein olan transmembran hücre reseptörleri aracılığıyla altta uzanan glomerüler bazal membrana yapıştıklarını ortaya koymuştur. Bu yapılarda gelişen farklı anormallikler podosit ayaksı çıkıntılarında morfolojik ve fonksiyonel değişikliklere ve proteinüriye neden olmaktadır. Podosit ayaksı çıkıntılarında yer alan podokaliksin anyonik bir proteindir ve negatif elektrik yüklü bir yüzey oluşturur.

Glomeruler filtrasyon bariyerinin son ayağını oluşturan slit diyafram, podositlerin ayaksı çıkıntılarını birbirine bağlayan karmaşık yapıdır. Bu yapı sadece podositleri birbirine bağlamaz, boyutlarına göre molekül geçişini de belirler. Slit diyaframı oluşturan protein yapılar nefrin, NEPH1-3, podosin, adaptör proteinler gibi membran proteinleridir. Slit diyaframın yapısı açısından anahtar komponent nefrindir. Nefrin, fosfatidilinozitol-3 kinaz yoluyla NCK adaptör proteinleri ile etkileşir ve bu etkileşim hücre iskeletini oluşturan aktin mikrofilamentlerinin yeniden yapılanmasını sağlar. Slit diyaframın bir başka önemli komponenti podosindir. Slit diyaframın diğer proteinleri ile birlikte podosit ayaksı çıkıntılarının iskeletini oluşturmaktadır. Aktin demetlerinin oluşturduğu hücre iskeleti, podokaliksin, FAT1, sinaptopodin gibi proteinlerle düzenlenmekte ve glomerüler filtrasyon bariyerinin bütünlüğü sağlanmaktadır.

Dolaşımdaki yüksek glukoz düzeyleri ve glomerüler kapiller basınç artışı çeşitli hücre yolakları aktive ederek DN oluşturmaktadır. Son çalışmalarında DN ile ilişkili moleküler ve hücre yolaklar, glomerüler insulin sinyali, oksidatif hasar, endoplazmik retikulum stresi ve podosit-endotel iletişimi ile açıklanmaktadır;

**DN Oluşumunda İnsülin Direnci:** Böbrekte insuline duyarlı olan ve fonksiyonel insulin reseptörleri bulunan çeşitli hücreler bulunmaktadır. Podositlerin insuline yanıt verdiği, insulin reseptörünün yanısıra GLUT4 ve GLUT1 gibi glukoz taşıyıcıları içerdiği, podosit-spesifik insulin reseptörü taşımayan farelerde yapılan çalışmalarda normoglisemik koşullarda bile albuminüri ve glomerül hasarı olduğu bildirilmektedir. Diyabetik koşullarda oluşan adipozite, hiperglisemi ve inflamasyon, podositlerde insulin direncini ve glomerüler bozukluğu tetiklemektedir. Podositlerde insulin direnci ve mitokondrial disfonksiyon, inflamasyon-fibrosis yolağında SMAD3 ekspresyonu ile açıklanmıştır. NOD2 ve TLR ilişkili kronik inflamasyonun podositler ve glomerüler geçirgenlikte olumsuz etkileri gösterilmiştir.

**Glomerüler İnsülin Direnci, ER stresi ve Otofaji:** Glomerüler insulin direnci mitokondrial metabolik yükü artırarak hücrede oksidatif ve ER stresine neden olur. Strese bağlı katlanmamış protein yanıtı (UPR), belirli bir eşiği geçtiğinde ise proapoptotik yanıtlar oluşur. Glukoz/oksidatif stress aracılı ER stresi, DN'de kronik vasküler komplikasyonların gelişiminde de rol oynar. Hücresel dengenin sürdürülmesi için, toksik ve hasarlanmış hücre içeriklerin otofaji ile temizlenmesi gereklidir. Glomerüler insulin direncinde otofaji de baskılanır.

**Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü A ve Glikokaliks:** VEGF-A podosit kaynaklıdır ve glomerüler endotelial hücrelerin gelişiminde ve fonksiyonlarını düzenli sürdürmelerinde son derece önemli bir rol üstlenir. Diyabette VEGF-A artışı endotel fenestrasyonunu ve glikokaliks yapısını etkilemektedir.

**TGFβ ve Glomerüler Hasar:** Glomerüler hücrelerde hemodinamik uyarılarla oluşan GLUT-1 upregülasyonu, hücresel glukoz alımını artırarak TGFβ ile ilgili metabolik yolakların aktiflenmesini sağlar. İleri glikolize ürünlerin de özellikle TGFβ salınımını artırdığı ortaya konmuştur. TGFβ, ekstrasellüler matriks sentezini artıran, skleroza yol açan ve renal hasarın gelişimine katkıda bulunan bir sitokindir.

Glomerüler filtrasyon bariyerini oluşturan yapıların her biri şüphesiz çok önemlidir. Diyabetik nefropatide glomerüler endotel hücresinin ve protein komplekslerinden oluşan hücresel komponentlerin iyi anlaşılması hedefe yönelik farmakolojik tedavilerin

de kullanıma girmesini sağlayacaktır. Modern diyabet tedavisi kronik komplikasyonların önlenmesini gerektirir. Bu kapsamda diyabetin mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarını geliştirebilecek bireylerin önceden tanınması önem kazanmıştır. Diyabetin kendisi ve komplikasyonlarını önceden gösteren belirteçlerin bulunması tanı ve tedavi yaklaşımlarını kolaylaştıracaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Diabetik nefropati, podosit, glikotoksisite

# Panel-5d

## DIYABETİK NEFROPATİYE TÜBÜLER YAKLAŞIM

Emel Altekin

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, İzmir

Diyabetik nefropati (DN), böbrekte yapısal ve fonksiyonel anormalliklerle karakterize diyabetin yaygın ve ciddi bir komplikasyonu olması yanı sıra, diyabetik hastalarda son dönem böbrek yetmezliğinin önde gelen nedenidir. DN'nin erken ve doğru tanımlanması bu nedenle kritik öneme sahiptir. Diyabetik nefropati gelişiminin erken bir göstergesi olarak en yaygın kullanılan ölçüt mikroalbuminüridir (30-300 mg/gün). Normalde, albumin glomerüler filtrasyona uğradıktan sonra proksimal tübüllerde kubilin ve megalin tarafından reseptör aracılı endositoz yoluyla reabsorbe edilir. Albumin değişmeden ya da lizozomlarda yıkıma uğrayarak peritübüler kan dolaşımına verilir. Diyabetik böbrek hasarının taranmasında erken gösterge olarak en sık kullanılan yöntem albuminüri düzeyinin tespiti olsa da erişkin diyabetlilerde normoalbuminürik dönemde iken GFR kaybı ile gösterilen böbrek hasarı olabildiği, sadece albuminüri takibi yapıldığında nefropatili hastaların %25'inin atlanabileceği bildirilmiştir. Çocukluk ve adolesan dönemde böbrek yetmezliği ve belirgin diyabetik nefropati nadiren ortaya çıksa da yakın bireylerde tanıdan hemen sonra başlayan ve pubertede hızlanan böbrek hasarı söz konusudur. Bu nedenle, diyabetli hastaların renal işlev bozukluğunun risk faktörleri ile erken göstergeleri açısından taranmaları ve nefropatiye gidişin önlenmeye çalışılması önerilmektedir.

Yakın dönemde yapılan çalışmalarda, diyabetik nefropati işareti olan glomerüler filtrasyon hızı azalmasının mikroalbuminüri ortaya çıkmadan önce gelişebildiği bildirilmiştir. Önemli oranda böbrek yetmezliğinin normoalbuminürik diyabetli hastalarda gözlenmesi ve bu hastalarda ilerlemiş glomeruler lezyon ve artmış progresyon riskinin birlikteliği düşündürücüdür.

Son zamanlarda böbrek tübüllerinde diyabetik tübülopati olarak adlandırılan yapısal bozukluğun progresif diyabetik böbrek hastalığı gelişimine işaret edebileceğine ilişkin çalışmalar bulunmaktadır. Proksimal tübül, diyabetik böbrek hastalığında önemli rol oynar, çünkü diyabet ile ilişkili çeşitli metabolik ve hemodinamik faktörlere özellikle hiperglisemiye çok duyarlıdır. Proksimal tübüllere glukoz girişi insulinden bağımsız olarak gerçekleşir, bu da tübül hücrelerini kronik hipergliseminin zararlı etkilerine karşı daha hassas hale getirir. Glukozun polar yapılı hücre membranından geçebilmesi için değişik taşıyıcılara ihtiyaç vardır. Bu nedenle glukoz tübül epitel hücresine protein yapısındaki değişik taşıyıcılar ile girer ve çıkar. Bu taşıyıcı proteinler sodium-glucose co-transporter (SGLT) ve glucose transporters (GLUT) olarak adlandırılır. Vücutta dağılımı ve özellikleri farklı değişik SGLT'ler bulunur. SGLT1, böbreklerde proksimal tübülün distal kısmında (S3 segmentinde) bulunur. SGLT2 ise glukozu karşı düşük afinitesi olmasına karşın taşıma kapasitesi oldukça yüksektir ve vücutta başlıca böbreklerde proksimal tübülün proksimal kesimlerinde (S1-2 segmentinde) bulunur. Proksimal tübüllerin proksimal kısmında daha fazla taşıma kapasitesi olan SGLT2 ve GLUT2'nin yoğun olması glomeruler filtrata geçen glukozun büyük kısmının (yaklaşık %90'ı) buradan emilmesini sağlamaktadır. Geri kalan az miktardaki glukoz ise proksimal tübüllerin distal kısmında yoğun olarak bulunan ve glukozu yüksek afiniteli, düşük taşıma kapasiteli SGLT1 tarafından reabsorbe edilir, böylece sağlıklı insanlarda proksimal tübül içerisine geçen glukozun neredeyse tamamı reabsorbe edilir. Glukozu maruziyet tübül hücrelerinden anjiyotensin gibi vazoaaktif hormonların, TGF- (transforming growth factor 1) ve matris proteinlerinin (fibronektin, tip IV kollajen, hyalüronik asit) salınmasına, AGE lerin oluşmasına neden olur. Daha yeni çalışmalarla Kallikrein-kinin sistemi ve Toll-like reseptörlerinin de (TLRs) bu süreçte yer aldığı gösterilmiştir. Glukoz bağımlı metabolik yollar ve vazoaaktif hormonlar tübüler ve interstisyel hücreleri etkileyerek glomerülden bağımsız renal disfonksiyona neden olurlar. Tübüler hipertrofi, ve azalmış organik iyon transportu gibi değişiklikler proteinüri ortaya çıkmadan gelişir. Tübüler dokuda büyüme total böbrek hacim artışına katkıda bulunur. Tübüler bazal membranda kalınlaşma, tübüler hipertrofi ve hiperplazi, interstisyel fibroz, ve arteriyoskleroz tübüler patolojik değişikliklerdir. 144 tip 1 diyabetli hastanın idrarında immünoreaktif ve total albumin atılımının ölçüldüğü ADA toplantısında sunumu yapılan bir çalışmanın sonuçlarıyla diyabetik nefropati patogenezinde glomerul ve tübüllerinde birlikte rol oynadıklarını öne sürülmüştür. Daha da önemlisi tübüler hasar diyabetik nefropatide glomerüler hasardan önce gelebilir. Buna paralel olarak glomeruler birkaç belirtece ek olarak DN'nin başlangıç ve ilerlemesini işaret eden tübüler biyobelirteçler klinik tanıda giderek önem kazanmaktadır. Şaşırtıcı olan, tahmini glomeruler filtrasyon hızı normal olan (eGFR) normoalbuminürik diyabetik kişilerde bu belirteçlerin artmış düzeyde tespit edilebilmesidir. Bu nedenle DN'nin progresyonunu çok erken dönemlerde tespit edebilmek için daha hassas ve spesifik belirteçlere ihtiyaç vardır. Ayrıca, tübulointerstisyel belirteçler diyabetik nefropatinin seyrinin izlenmesi yanı sıra teşhis ve tedaviyi de kolaylaştıracaktır.

Bu konuda son çalışmalar, Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin (NGAL) ve Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) üzerine yoğunlaşmakla beraber,  $\alpha$ 1-mikroglobülin, retinol bağlayıcı protein, Sistatin-C, Karaciğer tipi yağ asidi bağlayıcı protein (L-FABP) diyabette tübüler hasar göstergesi olarak araştırılan başlıca belirteçlerdir.

NGAL ve KIM-1'in kardiyopulmoner bypass sonrası gelişen akut böbrek hasarının tespitinde serum kreatinininden daha erken dönemde yükselmeleri bu proteinlere olan ilgiyi arttırmış ve diyabetik nefropati gibi kronik bir süreçte böbrek hasarını



albuminden daha erken ve spesifik olarak gösterip gösteremeyeceği farklı tip ve yaş guruplarını içeren sınırlı sayıda çalışmada incelenmiştir.

NGAL Lipocalin protein ailesine ait 25 kD ağırlığında 8 heliks yapısında bir proteindir. Sağlıklı insanlarda, çok düşük miktarda nötrofillerde ayrıca böbrek, kolon, karaciğer, ve akciğer epitel hücrelerinde üretilir. Plazmada bulunan NGAL glomerüllerden serbestçe filtre olur, megalin ve diğer reseptörler aracılığı ile proksimal tübüllerden reabsorbe edilir. İdrarda saptanan NGAL'in sistemik dolaşım kökenli olmadığı beraberinde gelen NGAL reabsorbsiyonunun engellenmesine neden olan proksimal renal tübüler hasarına ve/veya artmış de novo NGAL sentezine bağlı olduğu gösterilmiştir.

KIM-1 (TIM-1- T cell İmmunoglobulin and mucin containing molecule) hasarlanmış böbrekte proksimal tübül apikal membrandan salınır. Glomerüllerde, peritübüler interstisyel hücrelerde veya medüller hücrelerde sentezlenmez. KIM-1 sağlıklı böbreklerde eksprese edilmez. İskemik hasarda, nefrotoksik ilaçlara maruziyette ve akut/kronik böbrek transplant fonksiyon bozukluğunda, polikistik böbrek hastalığında artan bir transmembran proteindir.

NGAL ve KIM-1 ile hastalara ait çeşitli klinik diyabet parametreleri arasında ilişkilere bakılan bir çalışmada KIM-1 ile idrar albumini ve Hb A1c (<0,05) düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu gözlenmiş bu konuda diğer yapılan çalışmalarda dikkate alınarak özellikle kısa süreli ve nispeten ılımlı düzeyde diyabeti olan hastalarda KIM-1' in bir erken nefropati göstergesi olarak daha umut verici bir parametre olduğu, NGAL'in ise daha ileri düzey hastalarda daha erken bir tanı aracı olarak değerlendirilebileceği öngörüsünde bulunulmuştur. Bu öngörüü desteklemeyen çalışmalar da bulunmaktadır. Şu anda literatürdeki bu konudaki tüm çalışmalar farklı diyabet tiplerinde, hastalık evresinde ve hastalık sürelerindeki gruplarda yapılan öncü çalışmalardır. Elimizdeki veriler bu markırlardan birinin rutin klinik kullanımını destekleyecek yeterlilikte değildir. Bir taraftan geniş hasta guruplarını da içeren çok merkezli yeni çalışmalarla, diğer taraftan aynı hastalarda, hastalık gelişimi ile bu parametrelerdeki değişimleri izlemeye olanak sağlayan uzun süreli çalışmalarla bir sonuca varmak mümkün olabilir.

**Anahtar Kelimeler :**Diyabet, nefropati, tübül, belirteç

# K-19a

## ALLERJİK HASTALIKLAR VE LABORATUVAR

Arzu Yılmaztepe Oral

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Bursa

Allerjiler, deri reaksiyonları (ürtiker, dermatit), solunum sistemi reaksiyonları (Astım, rinit), gastrointestinal semptomlar ve anafilaktik şok gibi IgE-aracılı ani tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarını içermektedir. Bu reaksiyonlar genetik olarak yatkın ve duyarlanmış kişilerde, çevrede yaygın olarak bulunan ve normalde sağlıklı bireyler tarafından iyi tolere edilen maddelerle temas sonucu ortaya çıkmaktadır.

Allerjik yanıt genel olarak iki faza ayrılır

1) İndüksiyon fazı: Allerjenle ilk temasa karşı yanıt olarak IgE tipi antikorların yapıldığı fazdır. Bu faz aynı zamanda erken faz yanıtı olarak da isimlendirilir.

2) Reaktif faz: Allerjenin, mast hücrelerindeki (dokularda) ve bazofillerdeki (kanda) Fc reseptörlerinde bağlı bulunan IgE moleküllerine bağlanarak bu hücrelerden daha önceden yapılmış veya hızla yeni sentezlenen mediyatörlerin salındığı fazdır. Bu faz aynı zamanda geç faz yanıtı olarak da adlandırılır.

IgE, allerjik reaksiyonların gelişiminde esas rolü oynaması nedeniyle, allerjik hastalıkların tanısına yönelik kullanılan laboratuvar testlerin de temelinde yer almaktadır. Allerjen-spesifik IgE testi allerjik hastalıkların tanısında en yaygın kullanılan laboratuvar tanı aracıdır. Serumdaki spesifik IgE molekülünü saptamaya yönelik olarak kullanılan ilk rutin teknik 1967 yılında tanımlanan radyoallergosorbent testidir (RAST). Bu teknikte allerjenler kağıt disklere kovalent olarak bağlanmıştır ve hasta serumları bu disklere eklenmektedir. Çeşitli yıkamalarla bağlı olmayan proteinler ve antikorlar ortamdaki uzaklaştırıldıktan sonra antijene spesifik olarak bağlanmış olan IgE molekülleri ortama <sup>125</sup>I-işaretleli anti-insan IgE molekülü eklenerek saptanabilmektedir. Günümüze kadar allerjen-spesifik IgE'yi kantitatif olarak saptamaya yönelik otomatize sistemlerin kullanıldığı çok modern testler geliştirilmiştir. Bugüne kadar allerjen-spesifik IgE'yi saptamada en sıklıkla kullanılan sistem olan ImmunoCAP Sistemi (Thermo Fischer Scientific, Uppsala) allerjik hastalıkların tanısı için "altın standart" olarak kabul edilmektedir. Son zamanlarda ise, allerjen mikroarray temelli yeni tanı testleri hem araştırma hem de klinik pratiğe girmeye başlamıştır.

Bu teknolojik gelişmelere karşılık allerjinin in vitro tanısıyla ilişkili bazı problemler hala çözülememiştir. Serumdaki allerjen-spesifik IgE duyarlanma için bir belirteç ve IgE-aracılı allerjinin gelişimi için bir ön koşuldur, fakat semptomların indüksiyonu için yeterli değildir. Gerçekten de allerjen-spesifik IgE saptanan bireylerin %20'sinden fazlası asemptomatiktir. Serumdaki allerjen-spesifik IgE efektör hücrelerdeki yüksek afiniteli Fcε reseptörlerine bağlanmadıkça biyolojik olarak bir anlam ifade etmemektedir. Sonuç olarak, sadece serumda allerjen-spesifik IgE'nin varlığı veya yokluğu tüm olgularda bir allerjinin mevcut olup olmadığını belirlemede yetersizdir. Bu nedenle, allerjik hastalıkların tanısı için serum allerjen-spesifik IgE düzeyleri, klinik hikaye ve provokasyon testleri ile birlikte değerlendirilmelidir.

Allerjen-spesifik IgE antikorların saptanması allerji tanısında önemliken total serum IgE'nin ölçümünün tanısal değeri sınırlıdır. Çünkü total IgE düzeyleri yaşa bağlı olarak değişiklikler gösterir ve farklı toplumlardaki normal değerleri farklıdır. Allerjik hastalıklardan ziyade helmint enfeksiyonları, hiper IgE sendromu gibi immün yetersizlikler, vaskülitler ve IgE miyelomalarnın tanısında daha büyük bir anlam ifade eder.

Hasta hikayesi ile spesifik IgE ya da deri testleri uyumsuzsa; güvenilir bir spesifik IgE veya deri testi sonucu yoksa; veya deri testleri sistemik bir yanıtı neden oluyorsa bu hastalarda bir hücresele allerji testi olan Bazofil Aktivasyon Testinin (BAT) kullanılması gerekmektedir. Bazofil aktivasyonu, allerjen temasına yanıt olarak ya histamin salınımı ya da granül proteinlerinin hücre yüzeyindeki artışı olur. Kan bazofillerinin yüzeyinde en sık ölçülen antijen CD63 molekülüdür. CD63 aslında bazofil ve mast hücrelerin granüllerinin iç yüzeyinde bulunur ve aktivasyonu takiben degranülasyon sırasında bu granüllerin iç yüzündeki bu molekül hücrenin dış yüzünde belirerek akım (flow) sitometri ile ölçülebilir.

Sonuç olarak özellikle *in vivo* testlerinin yetersiz kaldığı veya değerlendirmesinin güçleştiği durumlarda *in vitro* allerji testleri hem tanıda hem de allerji hastalarının izleminde büyük öneme sahiptir.

**Anahtar Kelimeler :** Allerji, IgE, Bazofil Aktivasyon Testi

# K-19b

## ALLERJİK HASTALIKLAR VE LABORATUVAR

### Arzu Babayigit Hocaoglu

Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Allerji-İmmunoloji Bilim Dalı, Lefkoşa, Kıbrıs

Allerjik hastalıkların tanısı için en yaygın olarak kullanılan ve Ig E aracılı allerjik hastalıklar (Astım, allerjik rinit, ürtiker, besin allerjileri) için en değerli bilgileri veren testler deri testleridir.

Test yöntemleri:

1. Epidermal: Prik, delme veya çizme
2. İntradermal: Burada dermisin içine ince uçlu enjektörlerle (26 G) 0.01-0.02 ml allerjen verilerek uygulama yapılmaktadır.

Epidermal test uygulaması en sık kullanılan ve en değerli bilgileri veren metoddur. Epidermal test uygulamasında en önemli uygulama sorunu derideki uygulama derinliğidir. Daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarına göre 1 mm derinlikteki deliciler kullanılarak yapılan testte yeterli ödem reaksiyonu elde edilmektedir. Lanset derinliği arttıkça daha geniş ödem oluşmamakta, kanamalar meydana gelmektedir. Kanamalar ise yanlış sonuçlara neden olabilmektedir. Test, 15 dakika sonra değerlendirilmelidir. Testin değerlendirilmesi için negatif kontrol cevabının olmaması, pozitif kontrol ödem cevabının da 3 mm ve daha fazla olması istenir. Allerjene verilen ödem reaksiyonunun çapı cetvelle ölçülür. Bu ölçümde en geniş çap ile ona dik olan çap ölçülür. Bu ölçüm negatif kontrol cevabından 3mm ve daha fazla ise test pozitif olarak değerlendirilir. Pozitif kontrol için genelde histamin, negatif kontrol için ise salin veya diluent maddesi kullanılır. Uygulanan allerjenler birbirinden en az 2 cm uzakta yer almalıdır. Deri testinde, uygulanacak allerjenler, kişinin yaşadığı coğrafyaya göre ve allerjik hastalığın tipine göre değişkenlik gösterebilir. Genel olarak ev tozları, mantarlar, hayvan tüyleri, polenler ve çeşitli besinlere duyarlılığı araştırmak için uygulanabilecek en uygun yöntemdir.

Deri testi teknik olarak yapılması kolay gibi görünen bir test olsa da, sistemik reaksiyonları hemen tedavi edebilecek bir doktor hazır olmadıkça test asla yapılmamalıdır. Test odasında, epinefrin dahil acil müdahale ekipmanının hazır olmalıdır. Testin sağlıklı sonuç verebilmesi için hastanın daha önce aldığı ilaçlar tespit edilmelidir ve antihistaminik özelliği olan ilaçların testi baskılayabileceği ve testten bir süre önce kesilmesi gerektiği unutulmamalıdır.

Allerjene duyarlılığın değerlendirilebildiği başka bir test yöntemi de, serumda sIgE düzeyini ölçmektir. Uygun koşullarda yapıldığında, deri testleri ile sIgE ölçümleri birbiri ile uyumlu sonuçlar vermektedir. sIgE ölçümü için değişik yöntemler bulunmaktadır. Ig E aracılı allerjik hastalıklarda deri testi, sIg E ölçümlerine kıyasla daha tercih edilen bir yöntemdir. Bunun nedeni ise, çok hızlı sonuç vermesi, yüksek duyarlılık ve özgüllüğünün olması, bir defada çok fazla allerjene duyarlılığın araştırılabilmesi ve daha ucuz bir yöntem olmasıdır.

Son yıllarda, üzerinde daha fazla durulan başka bir tanısal yöntem de, bileşene dayalı tanı yöntemleri, kişinin duyarlı olduğu allerjenleri, allerjen ekstreleri yerine pürifiye doğal veya rekombinan allerjen bileşenleri kullanılarak moleküler düzeyde belirleyen yaklaşımdır. Allerjik hastalık tanısı koymak ve tetikleyen allerjeni tanımlamak için günümüzde rutin uygulamada olan sp Ig E ölçümleri ve deri prik test uygulamasında kullanılan allerjen ekstreleri, spesifik allerjen bileşenleri yanında çapraz reaktiviteye neden olan bileşenleri de içermektedir. Bu özellikle çoklu duyarlılığı olan hastalarda bir dezavantaj olarak görülmekte, hastalığa neden olan gerçek allerjenin belirlenmesinde yanılgılara yol açabilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, moleküler tanı yöntemlerinin allerjik hastalıkların prognozunu belirlemede katkı sağlayabileceğini göstermiştir.

# K-20

## ORGAN TRANSPLANTASYONU VE DOKU TİPLEME TESTLERİ

Gürbüz Polat

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Mersin

Organ transplantasyonu, son dönem organ yetmezliği olan hastaların etkin tedavi yöntemidir. Transplantasyonda verici kaynağı, canlı veya kadavralardır. Ancak bağışıklık sisteminde kendinden olmayı tanımak üzere doku antijenleri bulunmaktadır ve bunlar *MHC* (HLA) antijenleridir. Altıncı kromozomun kısa kolunda yerleşmiş *MHC* gen bölgesi bu antijenleri kodlamaktadır. İlk olarak lökositlerde gösterildiklerinden dolayı İnsan Lökosit Antijenleri (Human Leukocyte Antigens, HLA) olarak adlandırılmışlardır. Bu antijenler HLA sınıf I (-A, -B, -C) ve HLA sınıf II (-DR, -DQ, -DP) olarak iki sınıfa ayrılır. HLA antijenleri yabancı antijenlere karşı immün yanıtta rol oynarlar ve organ reddi reaksiyonlarından sorumludurlar. Bu nedenle aynı HLA antijenlerine sahip bireyler birbirlerinin doku greftlerini kabul edebilir ve farklı HLA antijenlerine sahip bireyler arasında greft reddi gelişir. Uyumluluğu incelemek üzere yapılacak testler nakli yapılacak organ çeşidine göre farklılıklar gösterir. Örneğin karaciğer naklinde doku uyumluluğu pek aranmazken, böbrek naklinde uyum aranır. Böbrek nakillerinde kan grubu uyumu, doku uyumu (HLA), anti-HLA antikorların durumu, cross-match negatifliği gibi ön koşullar aranır.

Doku uyumu ne kadar yüksekse yapılan transplantasyon o derece başarılı olacaktır. Yakın akrabalar arasında yapılan nakillerde (anne veya baba gibi) anne ve babadan geçen haplotipler uygun verici şansı sağlar. Naklin başarılı sonuçları tam HLA uyumlu donörler ile sağlanır. Her hasta için tam uyumlu donör bulmak HLA sisteminin oldukça polimorfik olması nedeniyle zordur. Bazı hastalara uyumsuz (mismatch) greft nakledilebilmektedir. HLA uyumunun olması yüksek greft ömrü, yüksek organ fonksiyonu ve immüsupresyon tedavisinin azaltılma avantajlarını sağlar. Organ nakillerinde HLA -A,-B,-DR antijenlerindeki uyumun önemi gösterilmiştir. Böbrek, pankreas ve kalp nakillerinde transplante organ ya da dokunun yaşamında HLA-DR uyumu önemliken, kornea nakillerinde HL-A, -B uyumu önemli bulunmuştur. Hematopoetik kök hücre nakillerinde ise tek haplotip uyumu ile nakil uygulamaları olsa da, önemli olan tam uyum gösteren bir donörün kullanılmasıdır.

Son yıllarda HLA tipinin belirlenmesi çok duyarlı yöntemlerle yapılabilmektedir ve HLA tiplerini tanımlarken kullanılan terminoloji de kullanılan yöntemlerle ilişkilidir. Moleküler yöntemlerin giderek diğer yöntemlerin yerini alması nedeni ile güncel olarak kullanılan adlandırma alelleri tanımlayan terminolojidir. Bu amaçla kurulmuş olan bir komisyon (W.H.O Nomenclature Committee), sürekli olarak bilgileri güncelleyerek yayınlamaktadır. HLA tiplerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler; serolojik olarak sınıf I ve II moleküllerin gösterilmesi, sınıf I- II moleküllerin hücresel yöntemlerle tayini ve HLA çeşitliliğinin DNA temelinde dayanan yöntemlerle gösterilmesidir. Moleküler yöntemler yeni alellerin tanımlanmasına olanak sağlaması, istenen duyarlılıkta çalışma yapabilecek seçenekler sağlaması, canlı hücre gerektirmemesi, eş zamanlı çok sayıda örnek çalışabilmesi, HLA genlerindeki tüm çeşitlilikleri gösterebilmesi, serolojik olarak tanımlanamayan alellerin tanınabilmesini sağlaması nedeniyle giderek daha çok kullanılmaktadır.

Anti-HLA antikorlarının saptanması hücresel ret yanıtının göstergesi olarak kabul edilmektedir. Anti-HLA antikor düzeyinde artışla akut transplant reddi arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur. Alıcı adaylarında antikor oluşmasıyla ortaya çıkan duyarlılaşma uygun organ bulunmasını zorlaştırmaktadır. Transplantasyon hastalarında antikorlar değerlendirilirken hastada HLA antikorlu olup olmadığı ve bu antikorların klinik olarak anlamlı olup olmadığı incelenmektedir. Antikoru HLA ya da nonHLA antikorlu mu olduğu, anti-HLA antikorunun sınıfı, antijeni, alleli ve antikor tipi (IgG,IgM) belirlenir. Presensitizasyon değerlendirmesi için önceki kan transfüzyonları veya gebeliklerin varlığı sorgulanmaktadır.

Transplantasyonda antikor değerlendirmesi donör/alıcı uyumluluğunun değerlendirmesi için cross-match ve hastanın HLA antikor repertuarının değerlendirmesi için izlem testleri uygulanmaktadır. Bu amaçla panel reaktif antikorların (PRA) değerlendirmesi önemlidir, çünkü PRA transplant hastalarının alloimmünizasyonun kalitatif ve/veya kantitatif olarak değerlendirilmesidir. PRA hastanın nakil olunabilirlik indeksinin göstergesidir. Transplantasyon öncesi yüksek PRA düzeylerine sahip hastalar yüksek greft yetmezliği insidansına sahiptir. PRA potansiyel transplant alıcısının HLA antikor profilinin belirlenmesini sağlayan bir yöntemdir. Nakil bekleyen adayların serumlarının belirli aralıklarla, HLA tipi bilinen lenfositlerle veya mikropartiküllerle karşılaştırılarak yapılan PRA testi ile HLA duyarlılıkları belirlenir. Alıcı adaylarında antikor oluşmasıyla ortaya çıkan duyarlılaşma uygun organ bulunmasını zorlaştırmaktadır.

Organ nakillerinde uygulanan doku tiplene testleri, doku uyumunu değerlendirmek üzere Büyük Doku Uyumu Kompleksi (MHC) ile ilgili olarak uygulanan incelemelerdir ve HLA tiplerinin belirlenmesini, HLA antijenlerine karşı gelişmiş (antiHLA) antikorların saptanmasını, cross-match çalışmalarını ve hücresel testleri kapsamaktadır. Bu testlerin yapıldığı laboratuvarlar, özelleşmiş olmaları gerektiğinden hareketle gerek dünyada ve gerekse ülkemizde düzenli olarak denetlenebilir belirli kurullarla yapılandırılmışlardır.