

* Anahtar kelimeler: Meme kanseri, β -karoten , vitamin A, vitamin E, non-parametrik testler; Key words: Breast cancer, vitamin A, vitamin E, β carotene, non-parametric tests; Alındığı Tarih: 11 Mayıs 2004; Prof. Dr.Yakut Irmak Özden, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İstanbul; Yazışma Adresi (Address): Dr (Ph.D.). Hayriye Ertem Vehit, Dr (Ph.D.). Tülin Özden: İstanbul Üniversitesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü, 34390, Çapa, İstanbul.

MEME KANSERLİ VE SAĞLIKLI KİŞİLERDE β -KAROTEN, A VİTAMİNİ ve E VİTAMİNİ DÜZEYLERİNİN ÜÇ AYRI PARAMETRESİZ TEST ARACILIĞIYLA KARŞILAŞTIRILMASI *

Yakut IRMAK ÖZDEN, Hayriye ERTEM VEHİT, Tülin ÖZDEN

Background.- The use of unsuitable statistical techniques to compare statistics calculated on different groups may often result in erroneous conclusions.

As it is widely known, while working with small samples (n_1 and /or $n_2 < 30$) or with samples having non-homogeneous variances, it is much safer to use non-parametric techniques.

In this study aiming at comparing the means of two independent samples, Mann-Whitney U test, Smith Satterthwaite and Cochran Cox methods were used.

Levels of β carotene, vitamin A and E in two independent groups consisting respectively of 23 patients with breast cancer and of 10 healthy people were compared using the above – mentioned tests.

While no significant difference could be found between the levels of β carotene and of vitamin E, the difference between the mean levels of vitamin A was statistically significant.

Irmak Özden Y, Ertem Vehit H, Özden A. T. Comparative Application Of Three Non-Parametric Statistical Tests In Evaluating The Levels Of β Carotene, Vitamin A And Vitamin E In Breast Cancer Patients And In Healty Individuals. Cerrahpaşa J Med 2004; 35:

İki bağımsız örnek grubuna ait istatistik değerlerin karşılaştırılmasında kullanılan başlıca parametrik testler, "z" "t" ve "F" testleridir. Bu testlerin kullanılabilmesi için örneklerin içinde yer aldığı yığınların normallik dağılımı ve varyansların homojenliği gibi bazı varsayımlara uyması gerekir. İki yığının varyanslarının homojenliğinin denetimi "F testi" ile yapılır.^{5, 9, 18, 20}

İki grubun karşılaştırılmasında, yöntem seçiminin uygun olmaması değerlendirmede hatalı sonuçlara neden olacaktır. Parametrik istatistik testlerin uygulanmasına uygun olmayan örneklerde, parametrik olmayan istatistiksel testlerin kullanılması daha güvenilir sonuçlara ulaşılmasını sağlar.^{9, 20}

İncelenen örnek gruplarından n_1 ve/veya $n_2 < 30$ ise ve örnek gruplarına ait varyanslar homojen değilse parametrik olmayan testlerin kullanılması önerilir. Bu koşullardaki verilere uygulanabilecek testler arasında en sık kullanılan testlerden biri parametrik olmayan Mann-Whitney U (Mann-Whitney-Wilcoxon) testidir.^{5, 20}

Mann-Whitney U testinde verilerin gerçek ölçüm değerleri yerine sıra sayılar toplamına göre değerlendirme yapılır.^{5, 9, 20}

Varyansları farklı iki bağımsız grup, gözlem değerlerinin sırası yerine gerçek ölçüm değerlerine göre değerlendirilmek istendiğinde, Smith Satterthwaite ya da Cochran Cox yöntemleri kullanılır.^{18, 20}

Bu çalışmada, varyansları farklı olan iki bağımsız örnek grubuna ait verilerin hem Mann-Whitney U testi, hem de Smith Satterthwaite ve Cochran Cox yöntemleri ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.^{5, 9, 18, 20} Patojenik bir faktör olan oksidatif stresin organizmadaki bir çok bozukluğa neden olduğu düşünülür. β -karoten, vitamin A ve E oksidatif strese karşı organizmayı koruyan vitaminler olarak görev yapmaktadır.^{3, 19}

Antioksidan bir madde olan E vitamini hücre solunumu ve nükleik asit sentezinde yer alır. Antioksidan gücüyle, vücut bileşimlerini oksijen etkisiyle parçalanmaktan korumaktadır. A vitamini de bu oksidasyondan etkilenen madde olduğundan; E vitamini, A vitamini oksidasyonunu da engellemektedir.^{6, 22} β karoten, A ve E vitaminlerinin antioksidasyon görevleri, DNA hasarının ve malign değişiminin azaltılması yönündedir.^{4, 13}

Çalışmamızda yer alan iki bağımsız grup meme kanseri olan ve olmayan olgulardan oluşmuştur. Çalışmada, yer alan olgularda β -karoten, vitamin A ve E değişkenlerine ait veriler değerlendirilmiştir.

YÖNTEM VE GEREÇ

Yaşları 32- 60 arasında değişen (44.06 ± 9.08) meme kanserli (n=23) ile yaşları 29-58 arasında değişen (42.85 ± 8.58) sağlıklı bireylerden (n=10) oluşan iki grubun β -karoten, A vitamini ve E vitamini değerleri Mann-Whitney U , Cochran Cox ve Smith Satterthwaite yöntemleri uygulanarak değerlendirildi.^{5, 18, 20} Değerlendirme ile ilgili sonuçlar bulgular bölümünde sunuldu. Ameliyat sırasında frozen yöntemi ile patolojik olduğu saptanan olgulardan alınan kan örneklerinde, spektrofotometreyle çalışıldı. Önce 450 nm dalga boyunda β -karoten, daha sonra ise yine spektrofotometrede 620 nm dalga boyunda A vitamini değerlendirildi.¹⁵ Vitamin E ise spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda 0.25 ml. plazmaya uygulanan kimyasal işlemlerin sonucunda ayraç körüne karşı okunarak değerlendirildi.²

Smith Satterthwaite Yöntemi: Bu yöntem, iki bağımsız örnek grubuna ait verilerin sayıları 30'dan küçükse ve örneklerin varyansları eşit dağılım göstermiyorsa kullanılır.^{5, 18, 20}

Yöntemde; aşağıda sıralanan işlem sırası izlenir.

$$1. t = (| \bar{x}_1 - \bar{x}_2 |) / \sqrt [(SD_1^2 / n_1) + (SD_2^2 / n_2)]$$

2. Sonucun değerlendirilmesinde, serbestlik derecesi olarak $s.d=n_1+n_2-2$ kullanılmaz. Özel serbestlik derecesi (s.d') hesaplanır.

$$s.d' = [(SD_1^2/n_1) + (SD_2^2/n_2)]^2 / [(SD_1^2/n_1)^2/(n_1-1)] + [(SD_2^2/n_2)^2/(n_2-1)]$$

Smith-Satterthwaite yöntemi için hesaplanan serbestlik derecesi, "t" testine ilişkin serbestlik değerinden daima küçüktür. ($s.d.' < s.d$)

Özel serbestlik derecesinin, varyansları farklı iki örnekleme hesaplanan "t değeri" ile " t_{tablosu} " arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı görünüyorsa hesaplanması gerekir ve yorumlamanın bu değere göre yapılması daha uygundur. Bulunan "t değeri" ile " t_{tablosu} " değeri arasındaki fark anlamlılık sınırında değil ise özel serbestlik derecesi hesaplanmadan grup ortalamaları arasında fark olmadığından bahsedilir.

Cochran Cox Yöntemi: İki bağımsız örnekleme ait varyanslar eşit olmadığına ve grupların gözlem sayısı 30'un altında kaldığında kullanılacak istatistiksel yöntemlerden biridir. Yöntemde; Smith- Satterthwaite yönteminden farklı olarak, yeni bir "t değeri" hesaplanır.^{18,20}

$$t' = [t_1 (SD_1^2/n_1) + t_2(SD_2^2/n_2)] / [(SD_1^2/n_1) + (SD_2^2/n_2)]$$

Burada, t_1 ; (n_1-1) serbestlik derecesi için, t_2 ise (n_2-1) serbestlik derecesi için kabul edilen sınırdaki tablo değerleridir.

BULGULAR

Çalışmamızda incelenen örneklem ve kontrol gruplarında β -karoten, A vitamini ve E vitamini değişkenlerine ait aritmetik ortalama, standart sapma ve grupların F değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1'den de gözlendiği gibi kanserli ve kanserli olmayan olguların yer aldığı bağımsız iki grubun varyans değerleri karşılaştırıldığında bulunan F değeri, tablo F değerinden büyüktür. Yani, bu değişkenlerin varyans değerleri birbirinden anlamlı olarak farklıdır.

Çalışmamızda incelenen β -karoten, A vitamini ve E vitamini değişkenlerinin örneklem ve kontrol gruplarındaki ortalama değerlerinin Smith-Satterthwaite, Cochran-Cox ve Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılma sonuçları tablo 2, 3 ve 4'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda, kanserli ve kanserli olmayan olgularda ilk olarak ortalama ve dağılım ölçütlerinden $\bar{x} \pm \sigma$ değerlendirildi. (Tablo 1) Ayrıca, gruplar arası β karoten, A ve E vitaminine ait değerlerin varyanslarının homojen olmadığı gözlemlendi. (Tablo 1)

Araştırmamızda, parametresiz testlerle elde edilen bulguların kendi aralarında tutarlı olduğu görüldü. Buna göre; kanserli ve kanserli olmayan olgulardan oluşan, birbirinden bağımsız iki gruba ait β karoten ve E vitamini sonuçlarının, gerek Smith-Satterthwaite, gerek Cochran-Cox ve gerekse de Mann-Whitney U yöntemleriyle değerlendirildiğinde grup ortalamalarının farklı olmadığı görüldü. (Tablo 2, 3 ve 4) Buna karşılık, aynı yöntemler uygulanarak değerlendirilen A vitamini sonuçlarına göre iki grup ortalamasının her üç testte de istatistiksel olarak farklı olduğu saptandı. (Tablo 2, 3 ve 4)

Çalışmamızda, dikkat çeken bir bulgu da, β karoten ve E vitamini değerleri kanserli ve sağlıklı gruplarda istatistiksel olarak farklılık göstermezken, A vitamini açısından, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın saptanmış olmasıdır. Yakın tarihli bazı araştırmalarda, belli anti-oksidan maddelerinin kandaki düzeylerinin gene bazı kanser türleriyle bağlantılı olabileceğini düşündüren bulgular ortaya konmuştur. Bunlar arasında, karotenoidler, domates ve domatesli bazı ürünlerden yana zengin beslenme biçiminin akciğer kanseri riskini azaltabileceği¹⁰, karotenlerin meme kanserine karşı koruyucu olabildiği¹⁶, bir başka çalışmadaysa⁴, özellikle sigara içen 26-46 yaş grubundaki kadınlarda, A vitamininin gene meme kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir. Buna karşılık bazı diğer araştırmalarda prostat kanseri¹⁷, cilt kanseri^{7, 8},

mesane kanseri¹⁴, olgularında incelenen gruplarda antioksidanların bir etkisi saptanamamıştır. Bu alanda yakın tarihli bir araştırmada, beyin tümörü çıkartılmış hastalarda, henüz çıkartılmamışlara oranla plazmadaki A vitamini düzeyinin daha yüksek olduğu²¹ gösterilmiştir. Adı geçen çalışma, antioksidanların kandaki düzeyiyle habis tümör arasındaki nedensellik ilişkisinin ters yönde olabileceği, diğer bir deyişle antioksidan maddelerinin azalmasının nedeninin, malinyitenin varlığı olabileceği yönünde bir ipucu vermektedir.

Bilindiği gibi bitki kökenli olan β karoten maddesi A vitaminin öncü maddesidir.^{1,}
^{6, 11 12, 22} Çalışmamızda, β karoten düzeyinde farklılık görülmeyip A vitamini düzeyinde gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmesi β karotenin A vitaminine dönüşümünde rol oynayan dioksijenaz ve retinol aldehit redüktaz enzimleri düzeylerinin farklı olabileceğini düşündürmektedir. Bu konu ile ilgili daha kesin sonuçlara ulaşabilmek için ayrıntılı ve çok sayıda çalışılma yapılması gerektiği açıktır.

ÖZET

Bilimsel araştırmalarda gruplararası karşılaştırmalar yapılırken yöntem seçiminin uygun olmaması, değerlendirmede hatalı sonuçlara ulaşılmasına neden olur.

İncelenen örnek gruplarından n_1 ve/veya $n_2 < 30$ ise ve/veya örnek gruplarına ait varyanslar homojen değilse parametrik olmayan testlerin kullanılması önerilir.

Bu çalışmada, varyansları farklı olan iki bağımsız örnek grubuna ait değerlerin hem Mann-Whitney U testi, hem Smith Satterthwaite ve hem de Cochran Cox yöntemleri ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Bu araştırmada, meme kanserli ($n=23$) ve kanser olmayan ($n=10$) olguların yer aldığı iki bağımsız örnek grubu ile çalışıldı. Bu iki grupta β -karoten, A vitamini ve E vitamini değişkenlerinin düzeyleri değerlendirildi. β karoten ve E vitamini değişkenlerin, Smith-Satterthwaite, Cochran-Cox ve Mann-Whitney U yöntemleriyle değerlendirilmesinde iki bağımsız grup ortalamaları arasındaki fark anlamlı

bulunmazken, aynı yöntemlerle değerlendirilen A vitamini sonuçlarına göre iki grup ortalamasının istatistiksel olarak farklı olduğu saptandı.

KAYNAKLAR

1. Berkow R. The Merck Manual. U. S. A, 1982.
2. Brown M A. Resistance of human erythrocytes containing elevated levels of vit. E to radiation –induced hemolysis. Radiation research. 1983; 95: 303-316.
3. Cadenas S, Rojas C, Perez-Campo R, Loperz-Torres M, Barja G. Vitamin E protects guinea pig liver from lipid peroxidation without depressing levels of antioxidants. Int J Biochem Cell Biol. 1995; 27: 1175-81.
4. Cho E, Spiegelman D, Hunter DJ, Chen WY, Zhang SM, Colditz GA, Willett WC. Premenopausal intakes of vitamins A, C and E, folate and carotenoid and risk of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2003; 12: 13-20.
5. Çelik M. Biyoistatistik Araştırma İlkeleri. Diyarbakır, 1999.
6. Değerli Ü. Klinik tanı ve tedavi. İstanbul, 1997.
7. Fung TT, Hunter DJ, Spiegelman D, Colditz GA, Speizer FE, Willett WC. Vitamins and carotenoids intake and the risk of basal cell carcinoma of the skin in women (United States). Cancer Causes Control. 2002; 13: 221-30.
8. Fung TT, Spiegelman D, Egan KM, Giovannucci E, Hunter DJ, Willett WC. Vitamin and carotenoid intake and the risk of squamous cell carcinoma of the skin. Int J Cancer. 2003; 103: 110-5.
9. Gamgam G. Parametrik olmayan istatistiksel teknikler. Ankara,1998.
10. Holick CN, Michaud DS, Stolzenberg-Solomon R, Mayne ST, Pietinen P, Yaylor PR, Virtamo J, Albanes D. Dietary carotenoids, serum beta-carotene and retinol and risk of lung cancer in the alpha-tocopherol, beta-carotene cohort study. Am J Epidemiol, 2002; 156: 536-47.

11. Kaplan AL. Carotenes, methods in clinical chemistry. Ed: Amadeo J. Pesce, Lawrence A. Kaplan. St. Louis,1987; The C.V.Mosby Company, 513-519.
12. Krinsky NI. The antioxidant and biological properties of the carotenoids. *Ann N Y Acad Sci*, 1998; 854: 443-7.
13. Lee IM. Antioxidant vitamins in the prevention of cancer. *Proc Assoc Am. Physicians*, 1999; 111: 10-5.
14. Michaud DS, Pietinen P ,Taylor PR, Virtamo J, Albanes D. Intakes of fruits and vegetables, carotenoids and vitamins A, E, C in relation to the risk of bladder cancer in the ATBC cohort study. *Br J Cancer* 2002; 87: 960-5.
15. Nino H. V., Shaw W. Vitamin A in fundamentals of clinical chemistry Edited by Tietz N.W. Saunders company, 1967.
16. Sato R, Helzsouer KJ, Alberg AJ, Hoffman SC, Norkus EP, Comstock GW. Prospective study of carotenoids, tocopherols and retinoid concentrations and the risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11: 451-7.
17. Schuurman AG, Goldbohm RA, Brants HA, van der Brandt PA. A prospective cohort study on intake of retinol, vitamins C and E, and carotenoids and prostate cancer risk. *Cancer Causes Control.* 2002; 13: 573-82.
18. Steel RGD, Torrie JH: Principles and Procedures of Statistics, London, 1990.
19. Sies H, Stahl W, Sundquist AR. Antioxidant functions of vitamins. Vitamin E and C, betakaroten and other carotenoids. *Ann N Y Acad Sci*, 1992; 669: 7-20.
20. Şenocak M. Temel Biyoistatistik. İstanbul, 1990.
21. Rao GM, Rao AV, Raja A, Rao S, Rao A. Plasma antioxidant vitamins in brain tumors. *Neurol India.* 2003; 51: 220-2.
22. Yenson M. İnsan Biyokimyası. İstanbul, 1988.

Tablo 1: β -karoten, A vitamini ve E vitamini değişkenlerine ilişkin istatistiksel değerler.

İstatistiksel ölçütler	$\bar{x} \pm \sigma$	F
β karoten (% μ g)		3.47*
Kanser (n: 23)	94.64 \pm 34.89	
Kontrol (n: 10)	94.44 \pm 18.72	
A vitamini (% μ g)		6.31*
Kanser (n:23)	47.01 \pm 14.02	
Kontrol (n:10)	35.80 \pm 5.58	
E vitamini (mg/ml)		7.35*
Kanser (n:23)	16.49 \pm 6.86	
Kontrol (n=10)	17.55 \pm 2.53	

*p<0.05

Tablo 2: β -karoten, A vitamini ve E vitaminine ilişkin değerlerin Smith-Satterthwaite yontemiyle değerlendirilmesi.

Deęiřken adı	t testi	sd'	$t_{(0.05)}$
β -karoten ($\% \mu\text{g}$)	0.021	29.33	2.756
A vitamini ($\% \mu\text{g}$)*	3.280	30.92	2.750
E vitamini (mg/ml)	0.647	30.69	2.750

*($t > t_{(0.05)}$)**

** $p < 0.05$

Tablo 3: β -karoten, A vitamini ve E vitaminine ilişkin değerlerin Cochran- Cox yontemiyle değerlendirilmesi.

Deęiřken adı	t testi	t' testi	$t_{(0.05)}$
β -karoten (% μ g)	0.021	2.148	2.704
A vitamini (% μ g)*	3.280	2.930	2.700
E vitamini (mg/ml)	0.647	2.118	2.704

(s.d= 31)

*(t' > $t_{(0.05)}$)**

** p<0.05

Tablo 4: β -karoten, A vitamini ve E vitaminine ilişkin değerlerin Mann-Whitney U yontemiyle değerlendirilmesi.

Deęiřken adı	U	U'	z
β -karoten (% μ g)	131	99	0.626
A vitamini (% μ g)	52	178	2.467*
E vitamini (mg/ml)	150	80	1.371

*p<0.05