

Mersin Bölgesinde Homosistein, Vitamin A ve Vitamin E Düzeylerine Ait Referans Aralıklarının Belirlenmesi

Determination of Reference Intervals of Homocysteine, Vitamin A and Vitamin E Levels in Mersin Region

Serin AKBAYIR¹, Şenay BALCI FİDANCI¹, Fikret ŞEN¹, Arzu YURTSEVER BAKIR¹, Gülhan OREKİCİ TEMEL², Nil ÜNAL¹, Lülüfer TAMER GÜMÜŞ¹

¹Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, ² Biyoistatistik Anabilim Dalı, Mersin

Özet

Amaç: Klinik laboratuvar testlerinin tıbbi karar amacıyla kullanılabilmesi için, her testin referans aralıklarının bilinmesi gerekir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda hastane verileri kullanılarak, referans aralıklarının indirekt yöntem ile daha kolay hesaplanabildiği gösterilmiştir. Bu nedenle bu çalışmada; Mersin bölgesinde homosistein, vitamin A ve vitamin E düzeylerine ait referans aralıklarının indirekt yöntem kullanılarak yaş ve cinsiyete göre belirlenmesi amaçlandı.

Yöntem: Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarı'nda 2003-2010 yılları arasında Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi yöntemi ile çalışılan, yaşları 0-96 arasında değişen ve 3902 erkek ve 3918 kadın bireyden oluşan toplam 7820 bireye ait homosistein, vitamin A ve vitamin E sonuçları kullanılarak indirekt yöntem ile referans aralıkları hesaplandı.

Bulgular: Mersin bölgesinde, homosistein, vitamin A ve vitamin E düzeylerinin referans aralıklarını yaş ve cinsiyete göre, üretici firmanın verdiği aralıkla karşılaştırdığımızda, homosistein ve vitamin A düzeylerinin yaş ve cinsiyete göre, vitamin E düzeylerinin ise sadece cinsiyete göre farklı olduğu bulundu.

Sonuç: Elde edilen verilerin üretici firma referans aralığı ile farklılık gösterdiği; bu nedenle her laboratuvarın kendi bölgesine ait sonuçlarla referans aralıklarını belirlemesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar sözcükler: homosistein; vitamin A; vitamin E; referans aralığı

Abstract

Aim: The reference intervals for each clinical laboratory test should be known for medical decision. In recent studies, it was indicated that the calculation of reference intervals using hospital based data with indirect method is much easier. Therefore, it was aimed to determine the reference intervals for homocysteine, vitamin A and E levels based on gender and age, employing the indirect method in this study conducted in Mersin region.

Method: The reference intervals were calculated with the indirect method using the homocysteine, vitamin A and E data of employees (3902 men and 3918 women in the age range of 0-96) worked with High Pressure Liquid Chromatography from the year of 2003 to 2010 in Mersin University Hospital of Faculty of Medicine, Clinical Biochemistry Laboratory.

Results: Upon comparison of the data for the reference intervals for the homocysteine, vitamin A and E levels calculated based on age and gender of the subjects in Mersin to those given by the manufacturing company, homocysteine and vitamin A levels were found to be different based on both age and gender whereas vitamin E levels varied only with gender.

Conclusion: We suggest that the data obtained in this study differs from the reference intervals given by the manufacturing company and thus, each laboratory should determine its own reference intervals for its own region.

Key words: homocysteine; vitamin A; vitamin E; reference range

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg, 2011;4(1):7-11

Geliş Tarihi : 27.09.2011

Kabul Tarihi : 20.01.2012

Yazışma Adresi: Araş Gör. Şenay Balcı Fidancı MEÜ Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin

Tel : 0324 337 4300/ 1530

Faks : 0324 337 4305

E-posta : sbfidanci@hotmail.com

Giriş

Homosistein, metioninin demetilasyonu ile oluşan, sülfür içeren, esansiyel olmayan bir aminoasittir (1). Epidemiyolojik çalışmalar, yüksek homosistein düzeylerinin kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermiştir (2-6).

A vitamini biyolojik olarak aktif pek çok molekül için kullanılan ortak bir terim olup retinol, retinal, retinoik asit ve β -karoteni kapsar. A vitamini görme, üreme, büyüme ve epitel dokuların normal farklılaşması için gereklidir. A vitamini eksikliği ya da fazlalığı, çeşitli dermatolojik ya da oftalmolojik hastalıklara neden olmaktadır (7).

En aktifi α -tokoferol olan E vitaminleri, sekiz adet doğal tokoferollerdir. Başlıca fonksiyonu, hücre bileşenlerini serbest radikaller ve moleküler oksijene karşı korumaktır. Eksikliği prematürelde hemolitik anemiye sebep olmaktadır (7).

Biyokimyasal testler, klinik tanının konmasında, tedavinin takibinde, prognozunda ve taramada önem taşımaktadır (8). Bu testlerin yorumlanmasında ise referans aralığına başvurulmaktadır (9).

Referans aralığı, iyi tanımlanmış ölçütlere göre seçilmiş kişilerin oluşturduğu örnek referans dağılımından, belli istatistiksel yöntemlerin kullanılması ile elde edilen referans değerlerinin tanımlandığı aralıktır (10). Yaş ve cinsiyet gibi demografik değişkenlerle bireyler arasındaki çeşitlilik, popülasyona ait referans aralıklarının mümkün olduğu kadar özel bir aralık olarak hesaplanmasını gerektirir. Değişen teknoloji ve klinik ihtiyaçlar nedeniyle uygulama ve değerlendirmede değişiklikler olabilir de, her laboratuvarın kendi normal referans aralığını belirlemesine veya en azından kullandığı kitin önerdiği referans aralığının geçerliliğini onaylamasına gereksinimi vardır (8,11).

Bu nedenle bu çalışmada; Mersin bölgesinde homosistein, vitamin A ve vitamin E düzeylerine ait referans aralıklarının indirekt yöntem kullanarak yaş ve cinsiyete göre belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntemler

Çalışmamızda Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarı'nda 2003-2010 yılları arasında, homosistein, vitamin A ve vitamin E kitleri kullanılarak (Chromsystem, Germany), bu testler için referans yöntem olan Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi (HPLC-High Performance Liquid Chromatography) (Agilent, Germany) yöntemi ile ölçülmüş olan, homosistein, vitamin A ve vitamin E sonuçları değerlendirilerek indirekt yöntem ile referans aralıkları hesaplandı.

Çalışmada, yaşları 0-96 arasında değişen ve 3902 erkek ve 3918 kadın bireyden oluşan toplam 7820 bireye ait sonuçlar üç gruba ayrılarak değerlendirildi. Homosistein, vitamin A ve vitamin E düzeyleri, başlangıçta cinsiyet alt sınıfına ayrıldı ve her bir değişkenin yaşlarına ait tanımlayıcı istatistikleri yapıldı. Kadın ve erkeklerde biyokimyasal parametrelerin ortalama değerleri student t testi ile karşılaştırıldı (Tablo I). Yaş alt gruplarının belirlenmesinde Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) tekniği kullanıldı. MARS, bağımsız değişkenlerin farklı değer aralıklarına karşılık gelen temel fonksiyonları kullanarak esnek bir regresyon modeli oluşturur (12).

MARS tekniği sonucundaki her bir biyokimyasal test ile yaş arasındaki parçalı regresyon doğruları çizildi (Şekil I-a,b,c). Ayrıca her bir yaş grubundaki regresyon doğrularının eğimlerinin istatistik anlamlılığına bakılıp eğrinin anlamlı olduğu alt gruplarda referans aralık yöntemi olarak regresyon denklemi, eğrinin anlamlı olmadığı yerlerde ise dağılıma bağlı olarak klasik parametrik ve non-parametrik referans aralık yöntemleri tercih edildi. Çalışmada yaş alt gruplarının belirlenmesinde MARS 2.0 paket programı ve referans aralık hesaplamasında MedCalc®11.2.1 paket programları kullanıldı.

Tablo 1. Çalışma grubunu oluşturan bireylere ait tanımlayıcı veriler

Değişkenler	n	Min	Yaş			SS	p
			Maks	Ort.			
Homosistein	Erkek	2446	0	95	52.62	18.74	0.0066
	Kadın	1957	0	96	49.81	19.43	
Vitamin A	Erkek	692	0	95	46.65	23.16	0.2619
	Kadın	987	0	95	45.50	18.72	
Vitamin E	Erkek	764	0	95	40.03	26.73	0.0010
	Kadın	974	0	95	43.77	20.39	

Bulgular

Laboratuvarımızda, HPLC yöntemi ile ölçülen homosistein, vitamin A ve vitamin E düzeyleri için verilen üretici firma referans aralıkları sırası ile; 5-15 $\mu\text{mol/L}$, 1.05-2.45 $\mu\text{mol/L}$, 11.6-46.4 $\mu\text{mol/L}$ 'dir.

Yaptığımız çalışmada elde edilen verilere göre 0-46, 47 ve üzeri yaş aralığı için erkek homosistein düzeyleri sırasıyla 6.51 - 56.85 ve 9.128+ (0.206 x yaş) $\mu\text{mol/L}$

olarak belirlendi (Tablo II). 0-40, 41 ve üzeri yaş aralığı kadın homosistein düzeyleri ise sırasıyla 5-32 ve 3.325+ (0.239 x yaş) $\mu\text{mol/L}$ olarak belirlendi (Tablo II). 0-21, 22 ve üzeri yaş aralığı için erkek vitamin A düzeyleri sırasıyla 0.56-6.85 ve 2.840- (0.014 x yaş) $\mu\text{mol/L}$ iken, aynı yaş gruplarındaki kadın vitamin A düzeyleri ise sırasıyla 0.744-4.875 ve 2.219- (0.001 x yaş) $\mu\text{mol/L}$ olarak saptandı (Tablo II). Vitamin E düzeylerinin yaşa bağlı olarak değişmediği sadece

cinsiyete bağlı değiştiği belirlendi (Tablo II). Kadın ve erkek vitamin E düzeyleri sırasıyla 11-59.99 ve 8.995-55.95 $\mu\text{mol/L}$ olarak saptandı (Tablo II).

Tablo 2. Kullanılan Yöntem ile Üretici Firmanın Referans Aralıklarının Karşılaştırılması

Değişkenler	Önerilen Yöntem		Üretici Firma		
	Yaş Grubu	Referans Aralık	Yaş Grubu	Referans Aralık	
Homosistein ($\mu\text{mol/L}$)	Erkek	0-46	6.51-56.85	Belli bir yaş aralığı yok	5 - 15
		47 ve üzeri	$H=9.12+(0.20 \times \text{yaş})$		
	Kadın	0-40	5-32	Belli bir yaş aralığı yok	5 - 15
		41 ve üzeri	$H=3.32+(0.23 \times \text{yaş})$		
Vitamin A ($\mu\text{mol/L}$)	Erkek	0-21	0.56-6.85	Belli bir yaş aralığı yok	1.05 – 2.45
		22 ve üzeri	$V=2.84-(0.01 \times \text{yaş})$		
	Kadın	0-30	0.74-4.87	Belli bir yaş aralığı yok	1.05 – 2.45
		31 ve üzeri	$V=2.21-(0.001 \times \text{yaş})$		
Vitamin E ($\mu\text{mol/L}$)	Erkek	Belli bir yaş aralığı yok	8.99-55.95	Belli bir yaş aralığı yok	11.6 – 46.4
	Kadın	Belli bir yaş aralığı yok	11-59.99	Belli bir yaş aralığı yok	11.6 – 46.4

Tartışma

Biyokimyasal testler, bireyin yaşadığı topluma göre değerlendirilmelidir. Her laboratuvarın kendi toplumuna ait referans değerlerini bulması ve uygulaması gerekmektedir. Referans popülasyonunu en iyi şekilde temsil eden referans bireylerin seçiminde direkt ve indirekt yöntem kullanılmaktadır. Direkt yöntem, bireylerin ana toplumdaki tanımlanmış kriterlere göre seçimidir ve bu yöntemde, belirlenmiş kriterlere göre hazırlanan anket formları doldurulup, sonra bireylerin tetkikleri yapılır (13). İndirekt yöntem, bireylere dikkat edilmeksizin, analiz sonuçlarının kayıtlı bulunduğu veritabanından belli kurallara uygun şekilde test sonuçlarının seçimidir (14).

Her laboratuvar için referans aralığı belirlenmesinde, uygulama zorluğu ve masraf gibi etkenler düşünüldüğünde indirekt yöntemin kullanılması avantaj sağlar. Bundan dolayı bu çalışmada; homosistein, vitamin A ve vitamin E düzeylerine ait yaş ve cinsiyete göre referans aralıklarının belirlenmesi indirekt yöntem kullanılarak yapıldı.

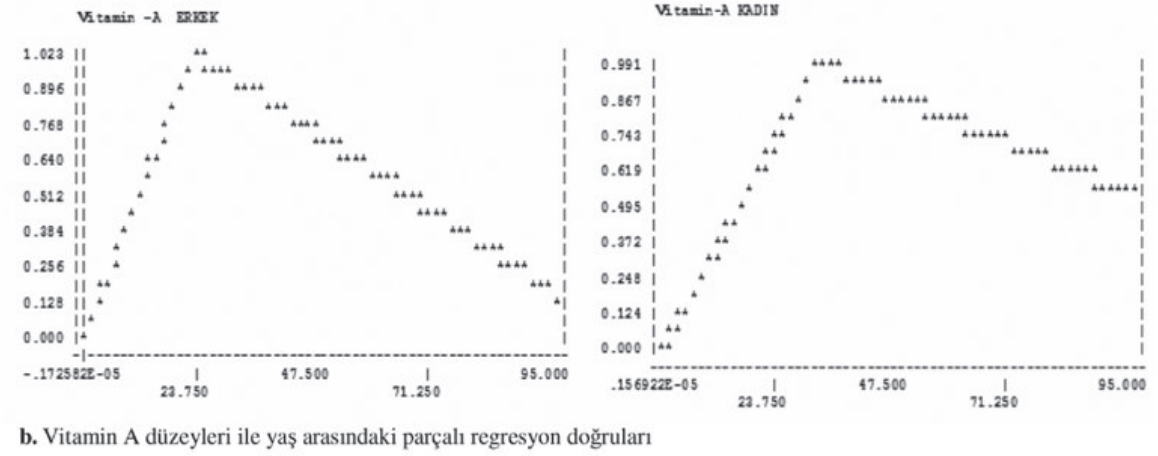
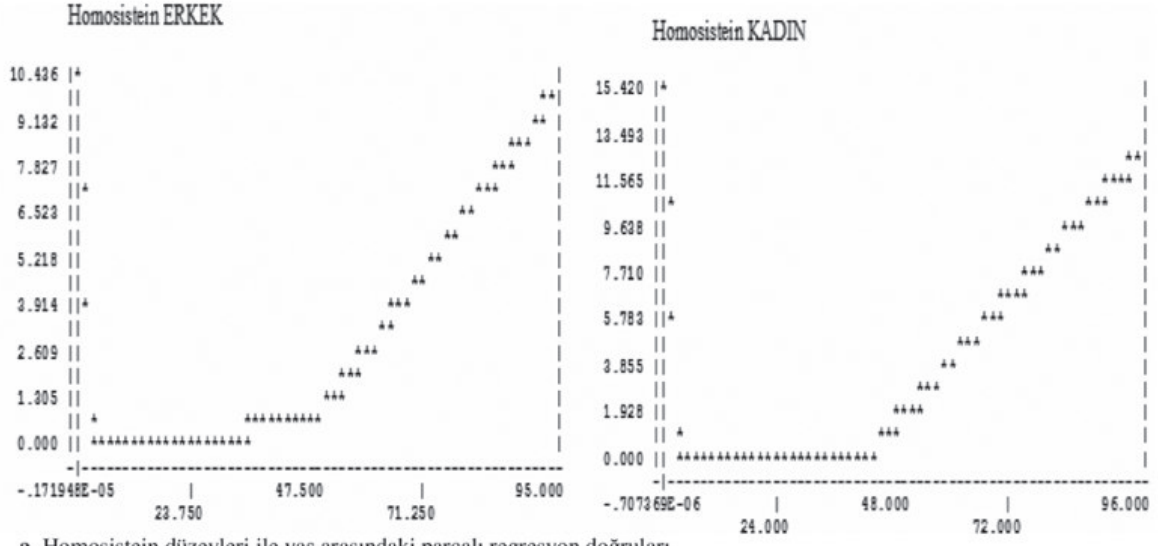
Frederic ve ark. (15) yaptıkları çalışmada, homosistein düzeyinin cinsiyete göre değiştiğini ancak yaşa göre anlamlı bir değişiklik göstermediğini belirtmişlerdir. Taşkın ve ark. (16) Türkiye’de yaptığı çalışmada, homosistein düzeyinin yaş ve cinsiyete göre anlamlı farklılık gösterdiğini bulmuşlardır. Bu çalışmada da, Taşkın ve ark.’nın yaptığı çalışmaya benzer şekilde homosistein düzeyinin yaş ve cinsiyete göre farklılık gösterdiği bulundu.

Winklhofer-Roob ve ark. (17) yaptıkları çalışmada vitamin A ve E plazma düzeylerinin referans aralıklarının

belirlenmesinde yaşın belirgin bir etken olduğunu, ancak cinsiyetin belirgin bir etkisi olmadığını belirlemişlerdir. Hızlı’nın (18) Bursa ilinde yaptığı çalışmada, 18-45 yaş arası bireylerde, vitamin A için cinsiyetler arası fark olmadığı, vitamin E açısından cinsiyetler arası anlamlı fark olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda ise, vitamin A düzeyinin belirlenmesinde yaşın ve cinsiyetin etken olduğu bulundu. Bu çalışmada bunun dışında, vitamin E düzeyinin Winklhofer-Roob ve ark.’nın yaptıkları çalışmanın tersine cinsiyete bağlı olarak farklılık gösterdiği, ancak yaşla direkt bağlantılı olmadığı bulundu.

Referans değerlerin belirlenmesi ve referans aralıklarının ortaya konmasının klinik biyokimyadaki önemi düşünüldüğünde bu çalışmaya göre; Mersin bölgesinde homosistein ve vitamin A düzeylerinin yaş ve cinsiyete göre, vitamin E düzeylerinin ise cinsiyete göre değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu sonuçlar da; her laboratuvarın, kendi hasta popülasyonuna uygun değerleri kullanması gerektiğinin önemini vurgulamaktadır. Ancak her laboratuvarın bu aşamaları izleyerek referans aralığı hesaplaması zor, zaman alıcı ve masraflıdır.

Mersin bölgesinde bu testleri çalışan laboratuvarların, bu testlerin analizinde referans yöntem olarak önerilen HPLC yöntemi ile yapmış olduğumuz bu çalışmanın sonuçlarını kullanarak iş gücü, zaman ve maliyet kayıplarını önemli oranda azaltabileceğini düşünmekteyiz.



Şekil 1. Homosistein, vitamin A ve vitamin E düzeyleri ile yaş arasındaki parçalı regresyon doğruları

Kaynaklar

1. Malinow MR. Homocysteine and arterial occlusive diseases. *J Intern Med* 1994;53:603-7.
2. Montalescot G. Homocysteine: the new player in the field of coronary risk. *Heart* 1996;76:101-2.
3. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattström LE, Ueland PM, Palma-Reis RJ, Boers GH, Sheahan RG, Israelsson B, Uiterwaal CS, Meleady R, McMaster D, Verhoef P, Witteman J, Rubba P, Bellet H, Wautrecht JC, de Valk HW, Sales Luís AC, Parrot-Rouland FM, Tan KS, Higgins I, Garçon D, Andria G. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: for The European Concerted Action. *JAMA* 1997;277:1775-81.
4. Fallest-Strobl PC, Koch DD, Stein JH, Mcbride PE. Homocysteine: a new risk factor for atherosclerosis. *Am Fam Physician* 1997;56:1607-10.
5. Bostom AG, Selhub J. Homocysteine and arteriosclerosis. *Circulation* 1999;99:2361-3.
6. Eikelboom JW, Lonn E, Genest J Jr, Hankey G, Yusuf S. Homocyst (e) ine and cardiovascular disease. *Ann Intern Med* 1999;131:363-75.
7. Champe PC, Harvey RA. Vitaminler. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry. 3rd Ed. Nobel Tıp Kitabevleri. 2007: 371-92.
8. Balcı Y. Laboratuvar hasta verileri kullanılarak biyokimya testlerinde referans aralıkları belirlenmesi. Uzmanlık Tezi. İstanbul, 2000:1-110.
9. Solberg HE. Using A hospitalized population to establish reference intervals: pros and cons. *Clin Chem* 1994;40:2205-6.
10. Solberg HE, Grasberg R, Reference values. *Adv Clin Chem* 1989;27:1-79.
11. Laleli Y. Referans kavramı, ulusal referans politikası ve hasta verilerinin kullanımı. *Turk J Biochem* 2003;28:225-7.
12. Orekici Temel G, Ankaralı H, Yazıcı AC. Regresyon modellerine alternatif bir yaklaşım: MARS. *Türkiye Klinikleri J Biostat* 2010;2:58-66.
13. NCCLS. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; Approved Guideline. 2nd Ed, C28-A2. June 2000.
14. Kutay FZ. Laboratuvar verilerinin istatistiksel değerlendirilmesi. Tıbbi laboratuvarlarda standardizasyon ve kalite yönetimi kitabı Ed: Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ; ISBN:975-97069-2-X. 2004:53-70.
15. Frederic C, Jean-Claude W, Veronique L, Pascale M, Philippe T, Christin G. Reference intervals for plasma homocystein by the AxSYM immunoassay after collection in flouride tubes. *Clin Chem* 2003;49:315-7.
16. Taskin G, Yilmaz Sipahi E, Yildirimkaya M, Nadirler F, Halloran M, Ayoglu FN, Laleli Y. Plasma total homocysteine levels in healthy Turkish population sample. *Acta Cardiol* 2006;6:35-42.
17. Winklhofer-Roob BM, van't Hof MA, Shmerling DH. Reference values for plasma concentration of Vit A, E and carotenoid in a Swiss population from infancy to adulthood adjusted for seasonal influence. *Clin Chem* 1997;43:146-53.
18. Hızlı ZB. Bursa ilinde 18– 45 yaş arası sağlıklı bireylerde vitaminlerin ve antioksidan parametrelerin referans aralıklarının belirlenmesi. Uludağ Üniversitesi, Uzmanlık tezi. Bursa. 2006.