

18-60 YAŞ ARASI TÜRKLERDE ELECSYS 2010 İNSÜLİN TESTİNİN REFERANS ARALIĞININ BELİRLENMESİ

Determination of reference intervals for elecsys 2010 insulin assay in 18-60 years old Turkish individuals

Serpil ERDOĞAN¹, Gönül ERDEN¹, M. Metin YILDIRIMKAYA¹

¹ Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi
III. Biyokimya Bölümü
ANKARA

Geliş Tarihi: 03.08.2009
Kabul Tarihi: 02.09.2009

İletişim:
Serpil ERDOĞAN
Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Cebeci Merkez Laboratuvarları
III. Biyokimya Bölümü
Mamak Cd. Aslanlar İş Hanı No: 3
Mamak / ANKARA

Tel : +90 312 362 14 87/1010
e-posta : drsturhan@yahoo.com

ÖZET

Amaç: Referans aralıklar, laboratuvar test sonuçlarının değerlendirilmesinde vazgeçilmez bir öneme sahiptirler ve klinisyenlerin sağlıklı ve hastalıklı bireyler arasında bir ayırım yapmasında yardımcı olurlar. Her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi önerilmektedir. Bu çalışmadaki amacımız, laboratuvarımızın dokuz aylık çalışmalarından elde edilen verilerden, erkek ve kadın bireylerde Elecsys 2010 insülin testinin referans aralıklarını belirlemektir.

Yöntem: Dokuz aylık sürede laboratuvarımıza başvuran hastaların insülin sonuçları analiz edildi. Erişkin bireylerin açlık insülin sonuçlarından referans aralıkları belirlendi. Uç değerler atıldıktan sonra 1280 kadın (median yaş 31y, aralık 18-60) ve 300 erkek (median yaş 36y, aralık 18-60) bireyin sonuçları incelendi. Çalışma yöntemi elektrokemiluminesan immunoassay (ECLIA) idi.

Bulgular: %95 güven aralığı ile hesaplanan referans aralıkları üreticinin referans aralığından daha düşüktü. Hesaplanan referans aralıkları üretici firmanın önerdiği referans aralıklardan belirgin olarak farklı bulundu. Cinsiyetler arasında anlamlı fark saptanmadı. İnsülin test sonuçları için elde edilen referans değerleri %2,5-97,5'lük aralık için 1,7-19,8 µU/mL olarak bulundu.

Sonuç: Referans aralıkları belirleyen çalışmaların, klinisyenlerin hizmet verdikleri kendi hasta popülasyonlarını tanımalarında ve değerlendirmelerinde yardımcı olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: Referans aralık, insülin, Türkiye.

ABSTRACT

Objective: Reference intervals are indispensable for interpretation of laboratory data and it helps clinicians to differentiate healthy person from sick ones. It has been suggested that each laboratory determine its own reference intervals. The aim of this study was to estimate the reference intervals for Elecsys 2010 insulin assay in male and female individuals from the data obtained from the analyses of the laboratory in a nine months period.

Method: The insulin test results of the patients who applied to our laboratory in nine months were analysed. Reference intervals were determined from the results of the fasting insulin levels of the adult individuals. Insulin results of 1280 female (median age 31y, range 18-60) and 300 male (median age 36y, range 18-60) individuals were evaluated after exclusion of the outliers. The assay method was electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA).

Results: Calculation of reference intervals with 95 % confidence limits showed lower values than the defined reference values by manufacturer. For insulin, the determined reference interval for our data was significantly different from the provided by manufacturer. There was no significant difference between the genders. Calculated reference intervals for the insulin assay were found as 1,7-19,8 µU/mL for 2,5th-97,5th percentile range.

Conclusion: We indicate that the studies confirming the reference intervals will be helpful to clinicians to determine and evaluate their patient populations that they served..

Key Words: Reference values, insulin, Turkey.

* Bu makale 2008 AACC kongresinde (Washington, USA) poster olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Referans aralığı tanımı; ‘Klinik Tanı Laboratuvarları’nın mukayeseye dayanan testleri için, sağlıklı toplumdaki elde edilen ‘sağlıklı olmakla ilişkili’ değer aralığının, gerekli en az düzeydeki şartları sağlayacak tarzda güvenli ve kullanışlı olacak şekilde belirlenmesi olarak yapılabilir (1).

Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu (IFCC) ve Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) her laboratuvarın kendi referans aralığını belirlemesini tavsiye etmektedir (2-4). Ancak, referans değerler için kullanılacak uygun referans grup bulmak zaman alıcı ve fazla sayıda numunede ölçüm yapmak pahalıdır. Ayrıca, referans değerlerin belirlenmesi sensitivite, spesifite, kesinlik ve doğruluk gibi analitik kalite parametrelerine de bağlıdır. Bu nedenlerle klinik laboratuvarlar genellikle sadece üretici firmanın verdiği referans değerleri kullanırlar (5). Klinisyenlerin hasta sonuçlarını yorumlamasında kullanılan referans aralıklarının vazgeçilmez bir önemi vardır (6).

İnsülin hormonu, kan şekerinin düzenlenmesinde vazgeçilmez bir öneme sahiptir (7). Postprandiyal olarak glukoz yüklenmesi insülinin pankreas adacık hücrelerinden salgılanmasını uyarır (8). İnsülin yüksek molekül ağırlıklı bir prekürsör olan preproinsülin olarak sentezlenir. Bu molekül çeşitli reaksiyonlarla önce insülinin %5 aktivitesine sahip olan proinsüline, daha sonra da insüline çevrilir. Bu sürecin tamamı pankreasın B hücrelerinde gerçekleşir (9).

İnsülinin en yaygın klinik kullanıma sahip olduğu Diabetes Mellitus (DM)’un Amerikan Diabet Derneği (ADA) sınıflandırmasına göre Tip 1 DM beta hücre yıkımı, çoğunlukla mutlak insülin eksikliği ile giden DM tipidir. Tip 2 DM ise ilerleyici bir hastalıktır ve değişken oranlarda insülin direnci, ilerleyici B hücre disfonksiyonu ile relatif, bazı bireylerde ise mutlak insülin sekresyonu eksikliği ile karakterizedir (10).

Laboratuvarımızda insülin testi için üretici firmanın önerdiği referans aralıkları kullanılmaktadır. Bu çalışmada, kullanılan kitin referans aralığının geçerliliğini teyit etme (1) gerekliliği nedeniyle indirekt yöntemle referans aralık belirleme çalışması yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, Nisan-Aralık 2007 tarihleri arasında Türkiye’nin pek çok bölgesinden gelen hastaların kabul edildiği Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nin polikliniklerine başvuran ve insülin tetkiki istenmiş olan 18-60 yaş arası 1580 hasta üzerinde gerçekleştirilmiştir. Referans aralığı indirekt olarak hesaplanmıştır. Veriler laboratuvar bilgi sisteminden elde edilmiş; 1280 kadın, 300 erkek hastanın sonuçları kullanılmıştır.

İnsülin testi, Roche (USA) Elecsys 2010 cihazında elektrokemiluminesans immunoassay (ECLIA) yöntemi ile analiz edilmiştir.

Son dokuz aylık süre içerisinde iç kalite ve dış kalite kontrol sonuçlarının kabul edilebilir sınırlar içerisinde olduğu belirlenmiştir.

Cihazın analitik sensitivitesi 0,2 µU/mL; total presizyon %2,8 idi.

İstatistiksel Analiz

İstatistik işlemleri için SPSS 13.0 (Statistical Packages for Social Sciences) programından yararlanılmıştır. Veriler cinsiyetlere göre alt gruplara ayrılmıştır. Referans değer verilerinin histogramları çizilmiş, veri dağılımı görsel olarak incelenmiştir. Veriler normal dağılım göstermediği için non-parametrik test uygulanmıştır. Tanımlayıcı istatistik ölçütleri hesaplanmıştır (aritmetik ortalama, medyan, standart sapma, minimum değer, maksimum değer, 2,5 ve 97,5 yüzdelerlik değerleri). Aşırı uç değerlerin atılmasında D/R 1:3 kuralı uygulanmıştır:

D = En uç değer-yanındaki değer, R= Tüm veriler arasındaki aralık değeri, $D/R > 0,33$ ise değeri hesaba katılmamıştır.

BULGULAR

Çalışmaya, 1976 hasta (1641 K, 335 E) dahil edilmiştir. Uç değerler atıldığında 1580 referans birey üzerinde hesaplama yapılmıştır. Referans bireyler kadın (n= 1280, median yaş 31, yaş aralığı 18-60) ve erkek (n= 300, median yaş 36, yaş aralığı 18-60) olarak iki gruba ayrılmıştır. Harris ve Boyd'un önerdiği metod kullanılarak (zhesap<z*) (2) iki grup arasında anlamlı fark olmadığı saptanmıştır. Kadın ve erkek bireylerin insülin test sonuçları için ortak olarak hesaplanan referans aralıkları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Hesaplanan referans aralığı [1,7-19,8 µU/mL (11,9-138,6 pmol/L)], üretici firma referans aralığından [2.6-24.9 µU/mL (17.8-173 pmol/L) (2,5-97,5 aralığı)] anlamlı ölçüde düşük saptanmıştır (p<0,05).

Tablo 2. İnsülin testi için yapılmış referans aralık çalışmaları

Araştırma	n	Yaş	İnsülin Değerleri	Ölçüm Yöntemi
Allard ve ark (28)	E:342	9	10,7-56,3 pmol/L	İmmünoassay (Beckman Coulter-Access)
	K: 369	9	12,0-61,1 pmol/L	
	E: 370	13	19,2-98,5 pmol/L	
	K: 352	13	25,4-114,4 pmol/L	
	E: 375	16	19,6-97,6 pmol/L	
	K: 436	16	22,4-95,1 pmol/L	
Khan ve ark (29)	E+K:145	1-14	40,3±19,4 *	ELISA (DAKO)
Arslanian ve ark (30)	22	8,6-11,9	101,0±9,6 **	RIA
	22	8,0-11,7	80,2±5,4 ***	
Ohki ve ark (31)	72	7-11	78,9±53,8 ****	RIA
	24	12-16	73,9±45,9 ****	
Çalışmamız	E+K: 1580	18-60	11,9-138,6 *****	ECLIA (Roche-Elecsys)

n: Araştırmaya dahil edilen birey sayısı E: Erkek K: Kadın ELISA: Enzim ilintili immün test RIA: Radioimmünoassay ECLIA: Elektrokromiluminesans immünoassay

* pmol/L±SD

** pmol/L±SE (Zencilerde)

*** pmol/L±SE (Beyazlarda)

**** pmol/L±SD (Araştırmada yapılan OGTT'nin 0. dakika değerleri tabloya alınmıştır)

***** Sonuçlar birim dönüşümleri yapılarak tabloya alınmıştır.

Tablo 1. İnsülin testi için hesaplanan referans aralık değerleri

Cinsiyet	Yaş	Median Yaş	n	Referans Aralık (µU/mL)
Kadın+Erkek	18-60	32	1580	1,7-19,8

n: Araştırmaya dahil edilen birey sayısı

TARTIŞMA

İnsülin, DM'lu hastalar için vazgeçilmez öneme sahip bir parametre olmasına rağmen son zamanlardaki araştırmalar başka alanlarda kullanımı ile ilgili yeni bilgiler vermektedir. Hiperinsülineminin kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (8). Nörovasküler sistem, kolorektal kanserler, meme kanseri, benign prostat hipertrofisi, tekrarlayan abortus vakaları ve endometrium kanseri de insülin düzeyleri ile ilgili farklı çalışmaların yapıldığı alanlardan bazılarıdır (11-16). İnsülinin kullanım alanında görülen bu genişleme,

hem testin önemini artırmaktadır hem de güvenilir referans aralıklarını belirleme ihtiyacını ortaya koymaktadır.

Referans aralık belirlemenin gereklilikleri; yeni bir analitik ölçümün yapılmaya başlanması, daha önce referans veya fizyolojik değerleri bilinen bir analitin, farklı veya yeni bir metotla ölçülmeye başlanması ve referans değeri başka laboratuvarlarca (üretici de olabilir) belirlenmiş bir analitin, aynı veya mukayese edilebilir başka metotlarla ölçülmesi durumunda mevcut verinin transferi şeklinde sıralanabilir (1).

Bunların yanı sıra hem kalite yönetim sistemleri hem de literatürler tarafından kullanılan kitin referans aralığının geçerliliğinin teyit edilmesi ihtiyacına dikkat çekilmektedir (1). Biz de bu gerekliliklerden yola çıkarak insülin testi için kendi laboratuvarımıza ait referans aralıklarını belirlemek istedik.

Referans birey seçiminde direkt yöntem kullanılması IFCC ile görüş birliğine varılan tek yöntem olmasına rağmen hem direkt hem de indirekt yöntem kullanılabilir (17-19). Referans değerler için kullanılacak uygun popülasyonu direkt yöntem ile bulmak zaman alıcı ve fazla sayıda numunede ölçüm yapmak pahalı olduğu için referans birey seçiminde indirekt yöntem kullanmak uygun bulunmuştur. Laboratuvar bilgi sistemi üzerinden poliklinik hastalarının (2) sonuçları araştırmaya dahil edilmiştir. Uç değerlere sahip hastalar hesaplama dışı bırakılmıştır (2).

Gerek ülkemizde (6,20-22) gerekse yurt dışında (23-27) referans aralık hesaplamaları ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Ancak insülini de kapsayan referans aralığı çalışması az sayıdadır (28-31). Biz de bu konudaki ihtiyaç nedeniyle insülinin referans aralığını belirlemeyi amaçladık.

Bu çalışmada, Harris ve Boyd'un önerdiği metod (2) kullanılarak insülinin referans aralığının kadın ve erkek bireyler arasında anlamlı bir fark göstermediği bulunmuştur. Ancak üreticinin önerdiği referans değerlere göre anlamlı ölçüde düşük değerler elde edilmiştir.

İnsülin düzeylerinin çalışıldığı diğer çalışmalarla bizim çalışmamızın kıyaslaması Tablo 2'de verilmiştir. Bizim çalışmamızın dışındaki çalışmalar 18 yaş altı bireylerde yapılmış çalışmalardır. 18 yaş altı bireylerde benzer yaş aralıklarını içeren referans aralık değerlerinde bile önemli farklılıklar görülebilmektedir. Bu durum yaş grupları, ülkeler ve yöntemlere göre güvenilir referans aralık çalışmaları yapılmasının önemini vurgulamaktadır.

Bu araştırmanın kısıtlılığı, kadın hastalar için 1280 birey üzerinde çalışılmasına rağmen erkek hasta grubunun sayısının 300 ile sınırlı olmasıdır. Ancak çalışmaya alınan bireyler indirekt yöntemle seçilmiştir ve hastanenin otomasyon sistemine göre çalışma yapılan tarihler arasında hastaneye başvuran hasta dağılımı bu şekilde olduğu için 300 erkek hasta ile yetinilmiştir.

Kendi laboratuvarımızın referans aralığını teyit etme amaçlı olarak yapmış olduğumuz bu çalışma ile üretici firmanın referans aralıklarını kullanmanın çok doğru bir yöntem olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Ülkemizdeki her laboratuvar için referans aralık çalışması yapmak hem zahmetli hem de masraflı olabilir. Ancak laboratuvarlararası iletişimlerle ulusal düzeyde projeler hazırlanarak referans aralık hesaplama ağı oluşturulabilir (20,21). Bu sayede klinisyenlerin tanı ve tedavi takibinde çok önemli bir yeri olan referans aralıkları için sağlıklı veriler elde edilebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Laleli Y. Referans kavramı, ulusal referans politikası ve hasta verilerinin kullanımı. *Turk J Biochem* 2003; 28 (4): 225-7.
2. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Proposed Guideline—Third Edition CLSI Document C28-P3. Vol.28 No.11 Wayne, PA. USA, 2008.
3. Djemli A, Vliet GV, Belgoudi J, et al. Reference intervals for free thyroxine, total triiodothyronine, thyrotropin and thyroglobulin for Quebec newborns, children and teenagers. *Clin Biochem* 2004; 37: 328-30.
4. Solberg HE. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values, and International Committee for Standardization in Haematology (ICSH), Standing Committee on Reference Values. Approved recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25: 337-42.
5. Kratzsch J, Fiedler GM, Leichtle A, et al. New reference intervals for thyrotropin and thyroid hormones based on National Academy of Clinical Biochemistry criteria and regular ultrasonography of the thyroid. *Clin Chem* 2005; 51:1480-1486.
6. Ozarda İlcol Y, Aslan D. Use of total patient data for indirect estimation of reference intervals for 40 clinical chemical analytes in Turkey. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44(7): 867-76.
7. Bender DA, Mayes PA. Gluconeogenesis & the Control of Blood Glucose. In: Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 27th Edition. Singapore: Mc Graw Hill, 2006: 173
8. Mansoub S, Chan MK, Adeli K. Gap analysis of pediatric reference intervals for risk biomarkers of cardiovascular disease and the metabolic syndrome. *Clinical Biochemistry* 2006; 39(6): 569-587.
9. Dods RF. Diabetes Mellitus. In: Kaplan LA, Pesce AJ, Kazmierczak SC. *Clinical Chemistry Theory, Analysis, Correlation*. Fourth Edition. United States of America: Mosby, 2003: 588-589.
10. American Diabetes Associations: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2004; 27 (suppl.1): 5-10.
11. Cardoso CG Jr, Sakai D, Pinto LG, et al. Neurovascular and hemodynamic responses to hyperinsulinemia in healthy postmenopausal women. *Maturitas* 2007; 58(1): 50-8. Epub 2007 Jun 18.
12. Michaud DS, Fuchs CS, Liu S, Willett WC, Colditz GA, Giovannucci E. Dietary glycemic load, carbohydrate, sugar, and colorectal cancer risk in men and women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(1): 138-47.
13. Romieu I, Lazcano-Ponce E, Sanchez-Zamorano LM, Willett W, Hernandez-Avila M. Carbohydrates and the risk of breast cancer among Mexican women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13(8): 1283-9.
14. Dahle SE, Chokkalingam AP, Gao YT, Deng J, Stanczyk FZ, Hsing AW. Body size and serum levels of insulin and leptin in relation to the risk of benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 2002;168(2): 599-604.
15. Craig LB, Ke RW, Kutteh WH. Increased prevalence of insulin resistance in women with a history of recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2002;78(3): 487-90.
16. Troisi R, Potischman N, Hoover RN, Siiteri P, Brinton LA. Insulin and endometrial cancer. *Am J Epidemiol* 1997; 146(6): 476-82.
17. Solberg HE. Establishment and use of reference values. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Fourth edition. Elsevier Saunders, 2005: 425-48.
18. International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25: 337-42.
19. International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation on the theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25: 639-44.
20. Özarda İlçöl Y, Aslan D. Bursa ilinde sağlıklı bireylerde kan biyokimyası profili referans aralıklarının saptanması. *Turk J Biochem*. 2004; 29 (2):183-92.
21. Enli Y, Aslan D, Akalın N ve ark. Denizli'de yaşayan 18-40 yaş arası bireylerde farklı yöntemlerle referans aralıkların saptanması. *Turk J Biochem*. 2003; 28: 228-45.
22. Motor S, Koca Y, Turhan T ve ark. 40 yaş ve üzeri sağlıklı Türk bireylerde rutin biyokimyasal parametrelerin referans aralıklarının belirlenmesi. *Turk J Biochem*; 2009; 34 (2): 71-81.

23. Wiedemann G, Jonetz-Mentzel L, Panse R. Establishment of reference ranges for thyrotropin, triiodothyronine, thyroxine and free thyroxine in neonates, infants, children and adolescents. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*. 1993; 31: 277-8.
24. Cioffi M, Gazzero P, Vietri MT, et al. Serum concentration of free T3, free T4 and TSH in healthy children. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 2001; 14: 1635-9.
25. Djurhuus MS, Rohold A, Vadstrup S, Hyltoft Petersen P, Uldall A. Reference intervals based on hospitalized 'healthy' patients and medical students in relation to analytical bias for serum potassium. *Scand J Clin Lab Invest* 1992; 52: 305-12.
26. Nilsson SE, Evrin PE, Tryding N, Berg S, McClearn G, Johansson B. Biochemical values in persons older than 82 years of age: report from a population-based study of twins. *Scand J Clin Lab Invest* 2003; 63: 1-14.
27. Rustad P, Felding P, Lahti A. Proposal for guidelines to establish common biological reference intervals in large geographical areas for biochemical quantities measured frequently in serum and plasma. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 783-91.
28. Allard P, Delvin EE, Paradis G, et al. Distribution of fasting plasma insulin, free fatty acids, and glucose concentrations and of homeostasis model assessment of insulin resistance in a representative sample of Quebec children and adolescents. *Clin Chem* 2003; 49: 644-9.
29. Khan F, Green FC, Forsyth JS, Greene SA, Morris AD, Belch JJ. Impaired microvascular function in normal children: effects of adiposity and poor glucose handling. *J Physiol* 2003; 551(2): 705-11.
30. Arslanian SA, Saad R, Lewy V, Danadian K, Janosky J. Hyperinsulinemia in African- American children: decreased insulin clearance and increased insulin secretion and its relationship to insulin sensitivity. *Diabetes* 2002; 51: 3014-9.
31. Ohki Y, Orimo H, Kishi M, Ohkawa T. Indexes of insulin resistance using the oral glucose tolerance test (O-GTT) in Japanese children and adolescents. *J Nippon Med Sch* 2004; 71: 84-7.