

Serum B12 Vitamini Ölçümünde Işığın Etkisi(*)

Dr. Berrin Berçik İNAL (1), Dr. Mustafa ŞAHİN (2), Dr. Murat Usta (2), Dr. Hale ARAL (1), Dr. Ömer EMECEN (2), Dr. Güvenç GÜVENEN (3)

ÖZET

Megaloblastik aneminin tanı, tedavi ve takibinde önemli yeri olan serum B12 vitamini düzeyinin, ışıktan etkilenip etkilenmediğini inceledik. 33 olgudan alınan kan örnekleri, 16*100 mm'lik vakumlu tüplere konuldu (Vacutainer® SST™, Becton Dickinson, UK). Preanalitik işlemler tamamlandıktan hemen sonra numunelerin B12 vitamin düzeyleri ölçüldü ve kaydedildi (0. saat). Sonra numunelerin her biri iki tüpe ayrılarak aydınlıkta (grup1) ve karanlıkta (grup2), ağızları kapalı olarak oda sıcaklığında bekletilip 8. ve 24.saatlerde B12 vitamin düzeyleri ölçüldü. Ölçümler elektrokemilüminesans immünolojik (ECLIA) yöntemle çalışan Roche Modular E 170 cihazında yapıldı. İstatistiksel analiz SPSS 16.0 ile yapıldı.

B12 vitamin düzeyleri 0. saat' de $411,233 \pm 166,971$ pg/mL, Grup1'in 8. ve 24.saatlerde sırasıyla: $390,709 \pm 165,723$ pg/mL; $392,391 \pm 163,350$ pg/mL ve Grup 2'nin 8. ve 24. saatlerde sırasıyla: $395,003 \pm 167,666$ pg/mL; $404,306 \pm 172,271$ pg/mL olarak ölçüldü. Yapılan repeated measures ANOVA analizinde zamanın etkisi ($F=34,376$; $p<0,0001$) anlamlı bulunmasına rağmen grup-zaman etkileşimi ($F=3,517$; $p=0,065$) ve grup etkisinde ($F=0,017$; $p=0,896$) anlamlılık saptanmadı. Anlamlı çıkan zaman etkisini araştırmak için grup 1 ve grup 2'nin 0, 8, 24.saatlerdeki B12 seviyelerini karşılaştırmak amacıyla paired sample t testi uygulandı. Sonuçlarımız, gün içinde ışığın B12 vitamini ölçümüne etkisinin olmadığını ancak 24 saat bekletilen numunelerin ışıktan etkilendiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: B12, ışık etkisi, ECLIA

SUMMARY

The Light Effect on the Serum B12 Measurement

We investigated serum B12 vitamin level which is important for megaloblastic anemia's diagnosis, treatment and monitoring, whether it is influenced by light.

Blood samples were collected from 33 participants using 16*100 mm vacutainer tubes (Vacutainer® SST™, Becton Dickinson, UK). As soon as preanalytic processes were completed, aliquated samples were analyzed and recorded. After that, samples were separated and kept in light (group 1) and dark (group 2) at room temperature with tubes capped. B12 levels were measured 0 h, 8 h and 24 h of time. Measurements were done with Roche Modular E 170 autoanalyzer which is used electrochemiluminescence immunologic assay (ECLIA). Statistical analyses were performed by SPSS 16.0.

Serum vitamin B12 level of 0. hour was $411,233 \pm 166,971$ pg/mL, levels of 8. hour and 24. hour were $390,709 \pm 165,723$ pg/mL; $392,391 \pm 163$ for group 1, $395,003 \pm 167,666$ pg/mL; $404,306 \pm 172,271$ pg/mL for group 2, respectively. Repeated measures ANOVA analysis was applied. Although time effect was significant ($F=34,376$; $p<0,0001$), group time effect ($F=3,517$; $p=0,065$) and group effect ($F=0,017$; $p=0,896$) were insignificant. To investigate the time effect further we compared 0, 8, 24 h levels by using paired sample t test. According to our results B12 assay was not effected by light during the day time but if samples were stored 24 h of period the effect was appeared.

Key words: B12, light effect, ECLIA

GİRİŞ

Vitamin B12 hayvanlardan elde edilen ürünlerde çok bulunur. Özellikle ette ve bilhassa karaciğerde depolanmıştır. Bu yüzden vitamin B12 eksikliği nadir görülmektedir. Ancak yaşlı insanlarda midedeki intrinsek faktör ve/veya HCl yapımındaki eksiklikten dolayı görülme

sıklığı artabilmektedir. B12 vitamin eksikliği aynı zamanda ciddi malabsorpsiyonu olan hastalarda ve uzun dönem vejeteryanlarda da görülebilir (1). Bu nedenle sıklıkla istenen bir test olan B12 vitamini ölçümünde preanalitik hata kapsamında değerlendirilebilecek olan ışığın etkisini araştırmak istedik.

AMAÇ

Özellikle megaloblastik aneminin tanı, tedavi ve takibinde önemli yeri olan serum B12 vitamini düzeyinin,

(*) VIII. Ulusal Biyokimya Kongresinde (8-11 Mayıs 2008, Bodrum) poster olarak sunulmuştur.

S.B İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı Uzman (1)

S.B İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı Asistan (2)

S.B İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı Şef (3)

ışıkta etkilenip etkilenmediğini incelemeyi amaçladık. Literatürlerde B12 vitamini eksikliğinin az olduğu bildirilmesine rağmen referans aralığının (191-982 mg/dL) altında ki sonuçlarımızın fazla olduğunu gördük. Kliniklerin B12 vitamini seviyelerinde düşüklük olduğunun geri bildirimleri, iç ve dış kalite kontrol sonuçlarımızın iyi olması preanalitik bir hatanın olup olmadığını araştırmamız gerektiğini düşündürdü.

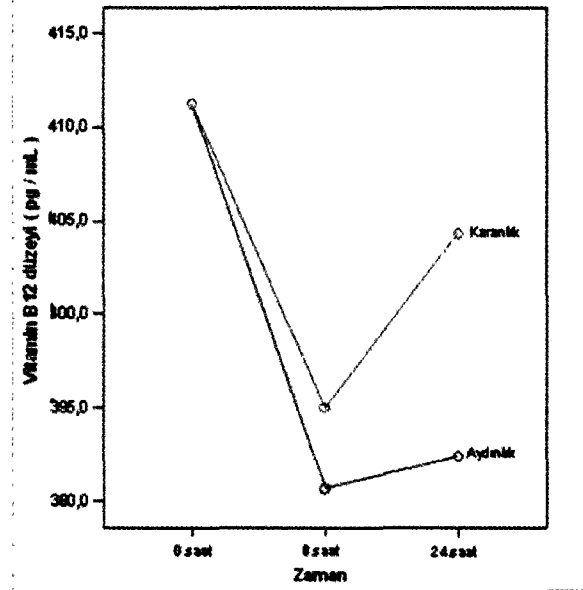
YÖNTEM

33 olgudan sabah aç olarak alınan kan örnekleri, jelli serum seperatörlü 16*100 mm'lik vakumlu tüplere konuldu (BD Vacutainer® SST™ II Advance, lot no: 7246132, Becton Dickonson firma, Plymouth, UK). Serumlar ayrılıp (4000 rpm, 10 dakika, Heraus Multifuge 3S), preanalitik işlemler tamamlandıktan hemen sonra numunelerin serum B12 vitamin düzeyleri ölçüldü ve bu ölçüm zamanı 0.saat olarak belirlenip sonuçlar kaydedildi. Daha sonra numunelerin her biri iki tüpe ayrılarak birinci grup (Grup 1) aydınlıkta ve ikinci grup (Grup 2) alüminyum folyo ile sarılarak karanlıkta, ağızları kapalı olarak oda sıcaklığında bekletilip 8. ve 24.saatlerde serum B12 vitamin düzeyleri ölçüldü. Ölçümler elektrokemilüminesans immünolojik (ECLIA) yöntemle çalışan Roche Modular E 170 cihazında (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) yapıldı. İstatistiksel analiz SPSS 16.0 ile yapıldı.

BULGULAR

Serum B12 vitamin düzeyleri 0. saat' de $411,233 \pm 166,971$ pg/mL; Grup1'in 8. ve 24.saatlerde sırasıyla: $390,709 \pm 165,723$ pg/mL; $392,391 \pm 163,350$ pg/mL ve Grup 2'nin 8. ve 24. saatlerde sırasıyla: $395,003 \pm 167,666$ pg/mL; $404,306 \pm 172,271$ pg/mL olarak ölçüldü. Yapılan Repeated Measures ANOVA analizinde zamanın etkisi ($F=34,376$; $p<0,0001$) anlamlı bulunmasına rağmen grup-zaman etkileşimi ($F=3,517$; $p=0,065$) ve grup etkisinde ($F=0,017$; $p=0,896$) anlamlılık saptanmadı. Paired Sample T-Testi ile grup1 ve grup2'nin 8. ve 24.saatlerdeki serum B12 vitamini düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlılık saptananlar: 0.saat ile 8.saat aydınlık ($p<0,0001$), 0.saat ile 8.saat karanlık ($p<0,0001$), 0.saat ile 24.saat aydınlık ($p<0,0001$),

0.saat ile 24.saat karanlık ($p=0,04$), 24.saat aydınlık ile 24.saat karanlık ($p=0,006$), 8.saat karanlık ile 24.saat karanlık ($p<0,0001$) idi. Paired Sample T-Testi ile istatistiksel olarak anlamlılık saptanamayanlar : 8.saat aydınlık ile 8.saat karanlık ($p=0,158$); 8.saat aydınlık ile 24.saat aydınlık ($p=0,564$) idi.



Şekil: Grup 1 ve grup 2 vitamin B12 düzeylerinin zamana bağlı değişimi

SONUÇLAR

Bu çalışmada; ilk 8 saat içerisinde zamana bağlı serum B12 vitamin düzeylerinde anlamlı bir düşüş gözlenmesine rağmen, bu düşüşün ışığa bağlı olmadığı saptandı. 24. saatte serum B12 vitamin düzeylerinde anlamlı olarak düşme saptandı, bu düşüş ışığa maruz kalan numunelerde çok ileri düzeyde anlamlı bulundu.

TARTIŞMA

Serum vitamin B12 ölçümünde örnek stabilitesi doğru sonuç elde etmek için önemlidir (2). Serum B12 vitamin düzeyinin ışıktan etkilenip etkilenmediği tartışmalı olmakla birlikte bu analitin ölçümünde kullanılan farklı kit ve cihaz sistemlerinin ışıktan farklı şekilde etkilenebildiği bildirilmiştir (3). Bu çalışmadan çıkan sonuçlar gün içinde ışığın serum B12 vitamin düzeyine etkisinin

anlamsız olmadığını ancak bir gün bekletilen numunelerin ışıktan etkilendiğini göstermektedir. Preanalitik hata kaynaklarının kontrol altına alınması adına bu testin ölçümünde uzun süreli ışık etkisinin denetlenmesinin faydalı olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

- 1- Stephen G. Chaney**, Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations, Thomas M. Devlin fifth edition ; 1156-1157
 - 2- Mastropaolo W, Wilson MA.** (1993) Effect of light on serum B12 and folate stability. Clin. Chem. 39: 913
 - 3- Köşem A, Şeneş M, Topkaya Ç, Yücel D.** (2007) Effect of light on serum B12 and folate levels. Turk J Biochem. 32: 61-64
-