

## Hemodiyaliz hastalarında biyokimya parametrelerinin bireyiçi ve bireyler arası varyasyon katsayılarının değerlendirilmesi

Evaluating of intraindividual and interindividual variation coefficient of biochemical parameters in hemodialysis patients

Hamdi Oguzman, Guler Bugdayci, Yasemin Cinpolat, Neslihan Yüce, Buket Tekce, Özgür Mehmet Yis

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Bolu



### Özet

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Düzenli takibi yapılan hastalarda biyokimyasal parametrelerin topluma dayalı referans aralığı kullanılarak incelenmesi yeterli olmamaktadır. Özellikle hastalarda bireyiçi varyasyon çok daha değişken olabileceğinden dolayı, hastaların takibinde referans değişim değerinin (RDD) kullanılması parametrelerdeki değişiklikler hakkında daha fazla bilgi sağlayacaktır. Bu çalışmada, hemodiyalize giren hastalarda laboratuvar için sağlıklı bireylerin verilerinden hesaplanan RDD'nin kullanılmasının geçerli olup olmayacağını ortaya koymak amaçlanmıştır.

**YÖNTEM ve GEREÇLER:** Hastanemizde takibi yapılan 22 hemodiyaliz hastasının biyokimya parametreleri retrospektif olarak incelendi ve bireyiçi (CVI), bireyler arası varyasyon katsayıları (CVG) ile RDD'leri hesaplandı. RDD için  $21/2 \times Z \times X (CVA2 + CVI2)1/2$  formülü kullanıldı.

**BULGULAR:** Hemodiyalize giren hastalar ile sağlıklı bireylerin biyolojik varyasyon verileri kullanılarak elde edilen RDD'ler için hesaplanan bias değerleri glukoz için %42.25; alkalen fosfataz (ALP) için %26.15; alanin amino transaminaz (ALT) için %23.66; inorganik fosfat için %31.12 ve C-reaktif protein (CRP) için %103.6 olarak hesaplandı.

**TARTIŞMA ve SONUÇ:** Sonuç olarak, hasta grupların RDD'lerinin sağlıklı gruplardan farklı olduğu ortaya konmuştur.

### Abstract

**INTRODUCTION:** Using the reference interval based population may not be sufficient for the evaluation of biochemical parameters in followed-up patients. Particularly in patient individuals, since intra-individual variation may be more variable, using the reference change value (RCV) will provide more information about the variables in parameters in following the patients. In this study it was aimed reveal to whether usage of RCV estimated from healthy individuals' datum for laboratory will be valid or not in undergone hemodialysis patients.

**METHODS:** In our hospital, the biochemical parameters of 22 hemodialysis patients followed regularly were examined and intra-individual (CVI), inter-individual coefficients (CVG) and RCV were calculated.  $21/2 \times Z \times X (CVA2 + CVI2)1/2$  formula was used for reference change value.

**RESULTS:** By using the undergone hemodialysis patients and our laboratory healthy biological variation datum, bias values obtained were estimated as, 42.25% for glucose; 26.15% for alkaline phosphatase (ALP); 23.66% for alanine transaminase (ALT); 31.12% for inorganic phosphate and 103.6% for C-reactive protein (CRP).

**DISCUSSION AND CONCLUSION:** Consequently, it was demonstrated that reference change values of patient groups are different from healthy groups.

**Anahtar Kelimeler:** Hemodiyaliz, biyokimyasal belirteçler, referans değerler, veri yorumlanması, analitik varyasyon

**Keywords:** Hemodialysis, biochemical markers, reference values, data interpretation, analytical variation

### GİRİŞ

Klinik laboratuvarlarda test sonuçları tarama, tanı, araştırma ve hastaların takibi amaçları için kullanılmaktadır (1).

Test sonuçları yorumlanırken topluma dayalı referans aralıkları, kliniklerce kararlaştırılmış protokoller, uzman kişiler, gruplar veya komiteler tarafından önerilen değerler ve üst referans limitin katları yer almaktadır (2).

Günümüzde klinik laboratuvarlar her yaş grubundan ve farklı cinsiyette en az 120 sağlıklı bireyin sonuçlarının dağılımından elde edilen topluma dayalı referans aralığı bulunan sonuçları raporlamaktadır. Referans aralık, bir bireyin daha önceki verilerine ulaşamadığı durumlarda test sonuçlarının yorumlanmasının temelini oluşturmaktadır (3).

Hastaların takibinde kullanılan parametrelerdeki farklılıklar hastalığın kendisinden

kaynaklanabileceği gibi, birey içi ve analitik varyasyonla da ilgili olabilmektedir. Özellikle birey içi varyasyondaki değişiklik hasta bireylerde çok daha değişken olmaktadır. Son dönemde referans değişim değerinin (RDD) hastaların durumundaki değişikliği göstermek için kullanılması yaygınlaşmaya başlamıştır. Bununla beraber, altta yatan patoloji hasta bireylerde varyasyonun değişmesine neden olabilir. Eğer hastalarda bu durum geçerliyse, hastaların takibinde sağlıklı bireylerden elde edilen RDD'lerin kullanılması çok uygun olmayabilir. Belirli bir hastalığı olan bireylerden elde edilen veriler kullanılarak hesaplanan birey içi varyasyon katsayısı (CVI) ile bireylerarası varyasyon katsayısının (CVG) bu hastalığa sahip hastaların sonuçlarının takibinde kullanılması daha uygun olacaktır (4).

Bu çalışmanın amacı, hemodiyalize giren hastalar için sağlıklı bireylerin verilerinden hesaplanan RDD'nin kullanılmasının geçerli olup olmayacağını saptanmasıdır.

## MATERYAL VE METOT

B AİBÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'na gelen aylık 22 hemodiyaliz hastasına ait prediyaliz kan örneklerinin sonuçları, Aralık 2014 - Ekim 2015 periyodunda retrospektif olarak incelendi. Hastaların her ayın başındaki diyaliz öncesi verileri çalışmaya dahil edildi. Analitik

Verilerin dağılımının normal olup olmadığı Kolmogorov-Smirnov Testi kullanılarak incelendi. 10000 veri seti kullanılarak SDA'in SDW'ya oranlanarak birey içi standart sapma tespit gücünün hesaplandığı çalışmaya göre çalışmamızın gücü 1.00 (22 birey ve 10 örnek) olarak belirlenmiştir (6). Biyolojik varyasyon verileri daha önce Fraser ve arkadaşları tarafından tanımlanan metotlara göre hesaplandı. CVA, CVI, CVG, RDD ve bireysellik indeksi (II) tüm klinik kimya parametreleri için hesaplandı. CVA her test için günlük yüksek, normal ve düşük seviye kontrol sonuçları kullanılarak  $CVA = SDA/ortalama * 100$  formülü ile hesaplandı. CVI, her hastanın ilgili test için hesaplanan kendi varyasyon katsayılarının karesinden CVA'nın karesi çıkartılarak elde edilen sonucun karekökü alınarak oluşturulan tüm

varyasyon katsayısı (CVA) hesaplanması için C-reaktif protein (CRP) hariç diğer tüm parametrelerde günlük olarak çalışılan üç seviye kontrol serumlarından elde edilen değerler kullanıldı. CRP için ise günlük olarak çalışılan iki seviye kontrol serumlarından elde edilen değerler kullanıldı. Kontrol sonuçlarında 2 SD sınırları içerisinde yer alan değerler CVA hesaplamaları için kullanıldı (5).

Hastalardan kan 10-12 saatlik açlığın ardından, hastalar 15 dk. dinlendikten sonra oturur pozisyonda, eğitimli hemşireler tarafından intravenöz olarak jelli seperatör tüplere (SST) (BD, Franklin Lakes, NJ) alınmıştır. Tüplere alınan kanın 30 dk pıhtılaştıktan sonra 1500 G'de 10 dk. santrifüj edilerek serumları ayrıştırılmıştır.

Hastalardan rutin olarak istenen glukoz, üre, kreatinin, sodyum, potasyum, klor, demir, alkalin fosfataz (ALP), alanin aminotransferaz (ALT), ürik asit, kalsiyum, inorganik fosfat, total protein, albümin ve CRP'yi içeren klinik biyokimya parametreleri incelendi. Tüm parametreler için serum matriksi kullanıldı. Bu parametreler Architect c8000® (Abbott Diagnostics, IL, ABD) otoanalizör cihazında çalışıldı. Testler eğitimli laboratuvar teknisyeni tarafından üreticinin talimatları doğrultusunda çalışılmıştır. Çalışılan testlerin metotları, referans aralıkları ve CVA değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

bireysel değerlerin ortalaması alınarak  $[CVI2 = (CVW2 - CVA2)]$  formülü ile hesaplandı. CVG ise ilgili test için hasta sonuçlarının tamamından hesaplanan varyasyon katsayısından CVA2 ve CVI2'nin toplamı çıkartılıp elde edilen sonucun karekökü alınarak  $[CVG2 = CVT2 - (CVA2 + CVI2)]$  formülü ile hesaplandı. RDD  $21/2 \times Z \times (CVA2 + CVI2)^{1/2}$  formülü kullanılarak hesaplandı. Burada Z değeri %95 güven aralığını sağlayabilmek amacıyla 1.96 olarak kullanıldı (3).

## BULGULAR

AİBÜ Tıp Fakültesi Hastanesinde takip edilen hemodiyalize giren 22 (kadın n=8, erkek n=14) hastanın diyaliz öncesi ve sonrası biyokimya parametrelerini retrospektif olarak inceledik. Hastaların yaşlarının ortalaması ve standart sapması  $69 \pm 11,13$  (40-75 aralığında) şeklindeydi.

Tablo 1: Testlerin metotları ve referans aralıkları

Test	Metot	Referans aralık	CV <sub>A</sub> (%)
Glukoz	Hekzokinaz/G-6-PDH enzimatik metodu	75-100 mg/dL	1.1
Üre	Üreaz enzimatik metodu	6-20 mg/dL	2.37
Kreatinin	Kinetik alkalın pikrat metodu	E: 0.72-1.25 mg/dL K: 0.57-1.11 mg/dL	2.22
Sodyum	İyon selektif metot	136-145 mmol/L	0.96
Potasyum	İyon selektif metot	3.5-5.5 mmol/L	2.78
Klor	İyon selektif metot	98-107 mmol/L	1.54
Demir	Ferren metodu	E: 31-144 µg/dL K: 25-156 µg/dL	1.96
ALP	Para-nitrofenil fosfat hidroliz metodu	E: 40-150 U/L K: 40-150 U/L	4.01
ALT	NADH (P-5'-P'siz) metot	0-55 U/L	3.1
Ürik asit	Ürikaz ve peroksidazlı enzimatik metot	E: 3.5-7.2 mg/dL K: 2.6-6.0 mg/dL	1.29
Kalsiyum	Arsenazo III ile mavi-mor kompleks metodu	8.8-10 mg/dL	2.21
İnorganik fosfat	Amonyum molibdat ve inorganik fosfatın heteropoliasit kompleksi oluşturduğu metot	2.3-4.7 mg/dL	2.14
Total protein	Biüret metodu	6.2-8.1 g/dL	1.02
Albümin	Bromkrezol yeşili metodu	3.4-4.8 g/dL	1.32
CRP	İmmünotürbidimetrik metot	0-5 mg/L	4.6

(CV<sub>A</sub>: Analitik varyasyon katsayısı, G-6-PDH: Glukoz 6 Fosfat Dehidrojenaz, ALP: Alkalen Fosfataz, ALT: Alanin transaminaz, NADH: Nikotinamid adenin dinükleotit, CRP: C-Reaktif Protein, E: Erkek, K:Kadın)

Kolmogorov-Smirnov ile incelenen verilerin normal dağılıma sahip olduğu gösterildi. Diyaliz öncesinde çalışılan 15 parametre değerlendirildi. En fazla CVI CRP'de hesaplanırken (79.70), en düşük CVI sodyum için hesaplandı (1.1) (Tablo 2). Hemodiyalize giren hastalardan elde edilen RDD'ler ile Westgard'ın sağlıklı bireylerden elde ettiği CVI ve CVG değerleri kullanılarak hesaplanan RDD'lerin farkları alındı. Hastalardan elde edilen RDD'ler, sağlıklı bireylerden elde edilen RDD'ler ve bias değerleri sırasıyla, glukoz için %58.07, %15.82 ve %42.25; üre %42.20, %34.18 ve %8.02; kreatinin için %22.48, %17.6 ve %4.88; sodyum için %4.05, %3.14 ve %0.90; potasyum için %23.80, %14.90 ve %8.90; klor için %7.65, %5.41 ve %2.24; demir için %75.92,

%73.65 ve %2.27; ALP için %47.20, %21.05 ve %26.15; ALT için %78.12, %54.46 ve %23.66; ürik asit için %26.78, %24.10 ve %2.68; kalsiyum için %15.14, %8.45 ve %6.69; inorganik fosfat için %54.48, %23.36 ve %31.12; total protein için %11.25 - %8.13 ve %3.12; albümin için %14.55, %9.59 ve %4.96 ve CRP için %221.27, %117.67 ve %103.6 olarak hesaplandı.

Sodyum testi için 4 ve klor testi için 3 hastada CVw değerinin CVA'dan düşük çıkması nedeniyle sırasıyla sodyum ve klor testleri için 16 ve 17 hasta çalışmaya dahil edildi. Hemodiyaliz hastalarının sonuçları Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 2: Hasta ve sağlıklı bireylerin birey içi, bireyler arası ve referans değişim değerleri

Test	CVA (%)	CVI (%) (HD)	CVG (%) (HD)	RDD (%) (HD)	CVI (%) (SB)	CVG (%) (SB)	RDD (%) (SB)
Potasyum (mmol/L)	2.78	8.12	10.93	23.80	4.60	5.60	14.90
Ürik asit (mg/dL)	1.29	9.58	15.40	26.78	8.60	17.50	24.10
Sodyum (mmol/L)	0.96	1.10	1.64	4.05	0.60	0.70	3.14
Klor (mmol/L)	1.54	2.29	3.91	7.65	1.20	1.50	5.41
Üre (mg/dL)	2.37	15.04	17.07	42.20	12.10	18.70	34.18
Kalsiyum (mg/dL)	2.21	4.99	7.35	15.14	2.10	2.50	8.45
Glukoz (mg/dL)	1.1	20.92	39.10	58.07	5.60	7.50	15.82
Total protein (g/dL)	1.02	3.93	7.16	11.25	2.75	4.70	8.13
ALP (U/L)	4.01	16.55	74.85	47.20	6.45	26.10	21.05
Demir (µg/dL)	1.96	27.32	25.78	75.92	26.50	23.20	73.65
CRP (mg/L)	4.6	79.70	124.81	221.27	42.20	76.30	117.67
Albümin (g/dL)	1.32	5.08	8.37	14.55	3.20	4.75	9.59
İnorganik fosfat (mg/dL)	2.14	19.54	15.37	54.48	8.15	10.80	23.36
Kreatinin (mg/dL)	2.22	7.80	28.14	22.48	5.95	14.70	17.60
ALT (U/L)	3.1	28.01	55.65	78.12	19.40	41.60	54.46

(CVA: Analitik varyasyon katsayısı CVI: Bireyiçi varyasyon katsayısı, CVG: Bireyler arası varyasyon katsayısı, RDD: Referans Değişim Değeri, HD: Hemodiyaliz hastaları, SB: Sağlıklı bireyler, ALP: Alkalen Fosfataz, ALT: Alanin transaminaz, CRP: C-Reaktif Protein)

Tablo 3'te hemodiyaliz hastalarının ve sağlıklı bireylerin RDD'lerinin bias değerleri ve bireysellik indeksleri gösterilmiştir.

### TARTIŞMA

Bu çalışma hastanemizde takibi yapılan 22 hemodiyaliz hastasının takiplerinde kullanılan 15 biyokimya parametresinin biyolojik varyasyon

Tablo 3: Hasta ve sağlıklı bireylerin referans değişim değerleri ve bireysellik indeksleri

	RDD (%) (HD)	RDD (%) (SB)	BİAS (%) değerleri	II (HD)	II (SB)
Potasyum (mmol/L)	23.8	14.9	8.9	0.74	0.82
Ürik asit (mg/dL)	26.78	24.1	2.68	0.62	0.49
Sodyum (mmol/L)	4.05	3.14	0.91	0.67	0.86
Klor (mmol/L)	7.65	5.41	2.24	0.59	0.80
Üre (mg/dL)	42.2	34.18	8.02	0.88	0.65
Kalsiyum (mg/dL)	15.14	8.45	6.69	0.68	0.84
Glukoz (mg/dL)	58.07	15.82	42.25	0.54	0.75
Total protein (g/dL)	11.25	8.13	3.12	0.55	0.59
ALP (U/L)	47.2	21.05	26.15	0.22	0.25
Demir (µg/dL)	75.92	73.65	2.27	1.06	1.14
CRP (mg/L)	221.27	117.67	103.6	0.64	0.55
Albümin (g/dL)	14.55	9.59	4.96	0.61	0.67
İnorganik fosfat (mg/dL)	54.48	23.36	31.12	1.27	0.75
Kreatinin (mg/dL)	22.48	17.6	4.88	0.28	0.40
ALT (U/L)	78.12	54.46	23.66	0.50	0.47

(RDD: Referans Değişim Değeri, II: Bireysellik indeksi, HD: Hemodiyaliz hastaları, SB: Sağlıklı bireyler, ALP: Alkalen fosfat, ALT: Alanin transaminaz, CRP: C-Reaktif Protein)

verilerini sunmaktadır. Bu çalışmada hasta ve sağlıklı grubun RDD'leri karşılaştırıldığında glukoz, ALP, CRP, inorganik fosfat, ALT, kreatinin ve üre değerlerinin biası %15'in üzerinde bulunmuştur. Özellikle kronik hastalıkların takibinde laboratuvarında RDD'ler arasındaki farklılık ortaya konmuştur.

Posttransplantasyon hastalarında yapılan bir çalışmada RDD'ler kreatinin, üre, ürik asit, albümin, protein, sodyum, potasyum, kalsiyum ve inorganik fosfat için sırasıyla %14.5, %16.5,

%13.7, %12.57, %8.26, %3.25, %12.81, %5.88 ve %21.57 olarak hesaplanmıştır (7). Aynı parametreler için bizim çalışmamızda hemodiyaliz hastalarında RDD değerleri sırasıyla %22.48, %42.20, %26.78, %14.55, %11.25, %4.05, %23.80, %15.14 ve %54.48 olarak hesaplanmıştır.

Biosca ve ark. 40 adet (14 kadın ve 26 erkek) (29-71 yaş aralığı) renal transplantasyon hastasıyla yaptıkları çalışmada, kreatinin ve ürik asit testleri için hastaların uzun dönem ve kısa dönem

takiplerinden hesapladıkları RDD'ler arasında fark olmadığını göstermişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda hasta grupta klinik kararı değerlendirirken laboratuvarın hasta grupta kısa dönem içinde raporlanan RDD'lerin kullanılabilmesini desteklemektedir. Bu çalışmada 7 yıl boyunca her bir hasta için yılda 8 örnek alınarak hesaplanan RDD'ler ile bir yıl boyunca her bir hasta için alınan 8 örnek kullanılarak hesaplanan RDD'leri arasında fark olmadığını göstermişlerdir (8). Bu verilerden yola çıkarak bu çalışmada hastaların son bir yıl içerisindeki verileri kullanılarak RDD hesaplanabileceğine kanaat edilmiştir. Hastaların laboratuvar bilgi sisteminde (LBS) kayıtlı bir seneden eski sonuçları kayıt dışı tutulmuştur. Bizim çalışmamızda hastaların son 1 yıl içerisindeki verileri kullanılarak elde edilen RDD'ler ile sağlıklı bireylerden elde edilen RDD'ler kıyaslanarak hesaplanan bias değerleri kreatinin ve ürik asit için sırasıyla %4.88 ve %2.68'tir. Bu iki parametre için sağlıklı bireylerin ve hemodiyaliz hastalarının RDD'leri arasındaki bias %5'in altındadır parametreler RDD ile değerlendirilirken son bir yıl içerisindeki verilerden elde edilen RDD'ler kullanılarak tahmin yapılabileceği düşünülmektedir. Sambasivan ve ark. yaptıkları çalışmada hemodiyaliz hastası 8 çocukta serum kreatinin için CVI değerini %19 olarak hesaplamışlardır (9). Ricos ve ark.'nın 34 farklı hastalığı ve 66 parametreyi değerlendirdiği çalışmalarında kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda CVI değerlerini albümin, ALT, ALP, kalsiyum, klor, kreatinin, sodyum ve üre için sırasıyla %2.9, %25, %6.4, %1.8, %5.3, %5.1, %0.7 ve %11.7 olarak hesaplamışlardır (4). Aynı parametreler için bizim hesapladığımız değerler sırasıyla %5.08, %28.01, %16.55, %4.99, %2.29, %7.80, %1.1 ve %15.04 şeklindedir. Bizim çalışmamıza katılan hastaların tamamı end-stage kronik böbrek yetmezliği hastasıydı. Yapılan çalışmalardan elde edilen birey içi varyasyon katsayı değerlerinin birbirinden farklı olmasının nedeni hastalıkların her bireyde parametreleri birbirinden farklı düzeyde etkilemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Karaciğer hastalığı olan hastalarda hepatosellüler karsinomayı erken tespit etmek için yapılan bir çalışmada bireysellik indeksi <0.6 olan AFP'deki

değişikliklerin izlenmesi için en iyi yaklaşım RDD olarak görülmüştür. Karaciğer hastalarından elde edilen veriler kullanılarak hesaplanan RDD ile duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla %88.9 ve %93.6 olarak bulunmuştur. Özgüllük değeri, sağlıklı bireylerden elde edilen RDD'ler kullanılarak hesaplandığında %71.7 olarak bulunmuştur (10). Paget hastalarında yapılan başka bir çalışmada da yine bireysellik indeksi <0.6 olan ve kemik turnoverini göstermede kullanılan parametreler için hasta ve sağlıklı bireyler arasında RDD değerleri açısından anlamlı farklılık bulunmuştur (11). Bizim çalışmamızda da bireysellik indeksi <0.6 olan ALP ve CRP için hesaplanan RDD'ler sağlıklı bireylerden elde edilen RDD'lerden yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda diğer tüm parametrelerin II değerleri 0.6-1.4 arasında bulunmuştur ve bu parametrelerin topluma dayalı referans aralığı yanında RDD ile değerlendirilmesi daha fazla bilgi sağlayacaktır.

Kronik kalp yetmezliği olan 43 hastada (kadın n=21, erkek n=22) yapılan bir çalışmada BNP ve NT-proBNP parametrelerinin birey içi varyasyon katsayıları sırasıyla %40 ve %35 olarak hesaplanmıştır. Bu durum bu iki parametrenin kalp yetmezliği hastalarında tanısız açıdan neden yetersiz olduğunu açıklamaktadır (12). Biz de hemodiyaliz hastalarında demir, CRP ve ALT için CVI değerlerini sırasıyla %27.32, %79.70 ve %28.01 olarak hesapladık. Özellikle bu parametreler değerlendirilirken birey içi varyasyonların göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Çalışmamızın sınırlılıkları az sayıda hastaya hizmet veren hemodiyaliz ünitesine sahip kurumumuzda örnek sayısının az olmasıdır.

Sağlıklı bireylerden RDD hesaplanırken CVI ve CVG değerleri tarafımızdan hesaplanmamıştır. Bu çalışmayı biyolojik varyasyon çalışmalarından ayıran diğerleri gibi Westgard biodatabase web sayfasında yer alan güncel veriler kullanılmıştır.

Klinik laboratuvarlar bizim çalışmamızda olduğu gibi, hemodiyaliz ünitelerine gelen takipli hastalarının son bir yıl kontrol verilerinden retrospektif olarak kendi RDD'lerini hesaplamaları mümkündür.



Sonuç olarak, bu çalışmada, hemodiyalize giren hastaların RDD'sinin sağlıklı gruplardan daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar ve literatürde yer alan benzer sonuçlar beraber yorumladığında, sağlıklı gruplardan elde edilen RDD'nin kullanımının kısıtlılıkları ortaya konmuştur.

#### KAYNAKLAR

1. Monach, P.A. Repeating tests: different roles in research studies and clinical medicine. *Biomark Med* 2012;6:691-703.
2. Harris, E.K., T. Yasaka On the calculation of a "reference change" for comparing two consecutive measurements. *Clin Chem* 1983;29:25-30.
3. Fraser, C.G., *Biological variation: from principles to practice*. 2001: Amer. Assoc. for Clinical Chemistry.
4. Ricós, C., N. Iglesias, J.-V. Garcia-Lario, M. Simón, F. Cava, A. Hernández, C. Perich, J. Minchinela, V. Alvarez, M.-V. Doménech Within-subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences. *Ann Clin Biochem* 2007;44:343-352.
5. Westgard, J., T. Groth, T. Aronsson, C. De Verdier Combined Shewhart-cusum control chart for improved quality control in clinical chemistry. *Clin Chem* 1977;23:1881-1887.
6. Roraas T, Petersen PH, Sandberg S. Confidence intervals and power calculations for within-subject biological variation: effect of analytical variation, number of replicates, number of samples and number of individuals. *Clin Chem* 2012;58:1306-13.
7. Ozturk, O.G., S. Paydas, M. Balal, G. Sahin, E.D.Z. Karacor, S.Y. Ariyurek, A. Yaman Biological Variations of Some Analytes in Renal Posttransplant Patients: A Different Way to Assess Routine Parameters. *J Clin Lab Anal* 2013;27:438-443.
8. Biosca, C., C. Ricós, R. Lauzurica, P.H. Petersen Biological variation at long-term renal post-transplantation. *Clin Chim Acta* 2006;368:188-191.
9. Sambasivan, A.S., N. Lepage, G. Filler Cystatin C inpatient variability in children with chronic kidney disease is less than serum creatinine. *Clin Chem* 2005;51:2215-2216.
10. Trapé, J., J.M. Botargues, F. Porta, C. Ricós,

J.M. Badal, R. Salinas, M. Sala, A. Roca Reference change value for  $\alpha$ -fetoprotein and its application in early detection of hepatocellular carcinoma in patients with hepatic disease. *Clin Chem* 2003;49:1209-1211.

11. Alvarez, L., C. Ricos, P. Peris, N. Guañabens, A. Monegal, F. Pons, A. Ballesta Components of biological variation of biochemical markers of bone turnover in Paget's bone disease. *Bone* 2000;26:571-576.
12. Bruins, S., M.R. Fokkema, J.W. Römer, M.J. DeJongste, F.P. van der Dijs, J.M. van den Ouweland, F.A. Muskiet High intraindividual variation of B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with stable chronic heart failure. *Clin Chem* 2004;50:2052-2058.