

间接法建立反三碘甲状腺原氨酸生物参考区间

彭金¹ 李颖¹ 祁烁² 李伟强¹ 周通¹

¹北京中医药大学东直门医院核医学科, 北京 100700; ²北京中医药大学东直门医院甲状腺病科, 北京 100700

通信作者: 周通, Email: wyb98@163.com

【摘要】 目的 采用间接法建立适合本实验室的反三碘甲状腺原氨酸(rT_3)生物参考区间。**方法** 回顾性分析 2019 年 4 月至 2019 年 9 月间北京中医药大学东直门医院住院患者 797 例(男 332 例, 女 465 例, 年龄 12~95 岁), 筛选甲状腺激素及相关抗体均正常且无甲状腺结节或明显甲状腺肿的人群, 并进一步排除各种急慢性疾病、相关药物等影响 rT_3 检测值的参考个体。 rT_3 检测采用化学发光免疫分析法。筛选出的参考个体按年龄进行分组, 采用两独立样本 t 检验、单因素方差分析和最小显著差异 t 检验分析数据。非参数排序法建立 rT_3 生物参考区间, 选取 rT_3 数据分布的 2.5% 和 97.5% 百分位值作为上、下参考限的取值。采用简单随机抽样法抽取符合研究纳入及排除标准的健康体格检查者和住院患者各 20 例, 验证参考区间。**结果** 共有 159 例符合纳入及排除标准的参考个体入组, 其中男 66 例, 女 93 例, 年龄 23~87 岁。23~29 岁(4 例)、30~39 岁(18 例)、40~49 岁(29 例)、50~59 岁(43 例)、60~69 岁(40 例)、70~79 岁(19 例) 和 80 岁以上(6 例) 组的 rT_3 值分别为 (0.62 ± 0.16) 、 (0.63 ± 0.12) 、 (0.64 ± 0.11) 、 (0.61 ± 0.11) 、 (0.65 ± 0.14) 、 (0.65 ± 0.11) 和 (0.79 ± 0.10) $\mu\text{g/L}$, 不同年龄组 rT_3 的差异有统计学意义($F=2.17$, $P=0.049$), 80 岁以上组与其他各年龄组 rT_3 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$), 其余各组间差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。80 岁以下参考个体男性和女性的 rT_3 值分别为 (0.62 ± 0.11) 和 (0.64 ± 0.12) $\mu\text{g/L}$, 差异无统计学意义($t=-0.81$, $P=0.420$)。新建立适合 20 岁以上、80 岁以下人群的 rT_3 生物参考区间为 $0.47 \sim 0.92$ $\mu\text{g/L}$, 与试剂说明书参考区间($0.20 \sim 0.95$ $\mu\text{g/L}$) 比较, 参考下限数值明显提高。20 名健康体格检查者和 20 例住院患者 rT_3 检测值分别为 $0.57 \sim 0.82$ $\mu\text{g/L}$ 、 $0.48 \sim 0.77$ $\mu\text{g/L}$, 均在该参考范围内。**结论** 本研究建立的 rT_3 生物参考区间具有临床实际应用价值, 但其年龄适用范围还需进一步完善。

【关键词】 三碘甲状腺原氨酸, 逆转; 化学发光测定法; 参考值

基金项目: 北京中医药大学 2018 年度基本科研业务费项目(2018-JYBZZ-JS093)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20210331-00090

Establishment of biological reference interval for reverse triiodothyronine by indirect method

Zhang Jin¹, Li Ying¹, Qi Shuo², Li Weiqiang¹, Zhou Tong¹

¹Department of Nuclear Medicine, Dongzhimen Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China; ²Department of Thyroid, Dongzhimen Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China

Corresponding author: Zhou Tong, Email: wyb98@163.com

【Abstract】 Objective To establish reverse triiodothyronine (rT_3) biological reference interval suitable for laboratory by indirect method. **Methods** From April to September 2019, 797 cases (332 males, 465 females, age: 12–95 years) underwent thyroid function, thyroid related antibody and rT_3 tests from hospitalized population in Dongzhimen Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine were retrospectively analyzed. The reference individuals with normal thyroid hormone, antibody and without thyroid nodule or goiter were screened as inclusion criteria, and the factors such as acute and chronic diseases or drugs that might affect the values of rT_3 were excluded. Independent sample t test, one-way analysis of variance and least significant difference t test were used to analyze data. The rT_3 reference interval was established by non-parametric sequencing method, and 2.5% and 97.5% percentile values of data distribution were selected as the upper and the lower reference limits. In order to verify the rT_3 reference interval, 20 healthy individuals and 20 inpatients who met the inclusion and exclusion criteria were selected to test rT_3 with a simple random sampling method. **Results** A total of 159 reference individuals (66 males, 93 females, age: 23–87 years) were enrolled. The rT_3 values of 23–29 ($n=4$), 30–39 ($n=18$), 40–49 ($n=29$), 50–

59($n=43$), 60–69($n=40$), 70–79($n=19$) and over 80($n=6$) years old groups were (0.62 ± 0.16), (0.63 ± 0.12), (0.64 ± 0.11), (0.61 ± 0.11), (0.65 ± 0.14), (0.65 ± 0.11) and (0.79 ± 0.10) $\mu\text{g/L}$, respectively. There was a statistically significant difference in the rT_3 test results among different age groups ($F=2.17$, $P=0.049$). There were statistically significant differences of rT_3 between the individuals over 80 years old and other age groups (all $P<0.05$), while there were no statistically significant differences among the other groups (all $P>0.05$). The rT_3 of males and females under 80 years old were (0.62 ± 0.11) and (0.64 ± 0.12) $\mu\text{g/L}$, respectively, with no significant difference between them ($t=-0.81$, $P=0.420$). The newly established rT_3 reference interval suitable for people above 20 years old and below 80 years old was $0.47-0.92$ $\mu\text{g/L}$, and the lower limit was significantly higher than that of the reference interval in the reagent specification ($0.20-0.95$ $\mu\text{g/L}$). The rT_3 range of 20 healthy individuals was $0.57-0.82$ $\mu\text{g/L}$ and that of 20 inpatients was $0.48-0.77$ $\mu\text{g/L}$, which were all within the new reference interval. **Conclusion** The rT_3 biological reference interval established here has clinical application value, but its applicable range of age still needs to be further improved.

【Key words】 Triiodothyronine, reverse; Chemiluminescent measurements; Reference values

Fund program: 2018 Basic Scientific Research Business Expenses Project of Beijing University of Chinese Medicine (2018-JYBZZ-JS093)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20210331-00090

反三碘甲状腺原氨酸(reverse triiodothyronine, rT_3)是由甲状腺素(thyroxine, T_4)在外周组织中经 5-脱碘酶脱碘形成,是 T_4 降解产生的无生物活性产物,与血清中的三碘甲状腺原氨酸(triiodothyronine, T_3)、 T_4 维持一定比例,可反映甲状腺激素在体内的代谢情况。目前,鲜有 rT_3 生物参考区间建立的文献报道,临床工作中主要借鉴试剂说明书上的 rT_3 生物参考区间。笔者在临床工作中发现少有样本的 rT_3 检测数值低于试剂说明书的参考区间下限,故希望通过本研究建立适合本实验室的 rT_3 生物参考区间,为临床诊断提供可靠的实验室依据。

资料与方法

1.研究对象。回顾性分析 2019 年 4 月至 2019 年 9 月间北京中医药大学东直门医院行甲状腺激素及相关抗体,包括总三碘甲状腺原氨酸(total triiodothyronine, TT_3)、总甲状腺素(total thyroxine, TT_4)、游离三碘甲状腺原氨酸(free triiodothyronine, FT_3)、游离甲状腺素(free thyroxine, FT_4)、促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)、甲状腺球蛋白抗体(thyroglobulin antibody, TgAb)、甲状腺过氧化物酶抗体(thyroid peroxidase antibody, TPOAb)、TSH 受体抗体(TSH receptor antibody, TRAb)和 rT_3 检测的住院患者 797 例,其中男 332 例,女 465 例,年龄 12~95 岁。全部患者入院均行详细的病史采集、体格检查,检测血常规、血糖、肝肾功能、电解质、肿瘤标志物等,行甲状腺、腹部彩色多普勒超声,心电图等检查。纳入标准:甲状腺激素及相关抗体均正常;甲状腺超声检查无甲状腺结节或明显甲状腺肿。排除标准:现病史及既往史中排除甲状腺疾病、心脏病、呼吸系统疾病、糖尿病、肝脏疾病、肾脏疾病、脑

血管疾病、恶性肿瘤等,排除妊娠及哺乳期妇女,排除近期手术史,排除胺碘酮、糖皮质激素、丙硫氧嘧啶、普奈洛尔及含碘对比剂等药物的影响。本研究符合《赫尔辛基宣言》的原则。

2.检测方法。 rT_3 检测使用深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司提供的 CL1000i 全自动化学发光免疫分析系统及配套试剂盒(本研究时间范围内,实验室未更换新批号 rT_3 试剂盒); TT_3 、 TT_4 、 FT_3 、 FT_4 、TSH 检测均使用美国贝克曼库尔特有限公司的全自动微粒子化学发光分析仪 Unicel DXI 800 及配套试剂盒;TgAb、TPOAb、TRAb 检测均使用瑞士 Roche 公司的全自动电化学发光免疫分析仪 cobas e411 及配套试剂盒。 rT_3 、 TT_3 、 TT_4 、 FT_3 、 FT_4 、TSH、TgAb、TPOAb、TRAb 的生物参考区间分别为 $0.20\sim0.95$ $\mu\text{g/L}$ 、 $1.02\sim2.48$ nmol/L、 $70.01\sim152.51$ nmol/L、 $3.30\sim6.48$ pmol/L、 $7.59\sim16.09$ pmol/L、 $0.49\sim4.91$ mU/L、 $0\sim115.0$ kU/L、 $0\sim34.0$ kU/L、 $0\sim1.75$ U/L。

3.参考区间建立及验证方法。非参数排序法建立 rT_3 生物参考区间,选取 rT_3 数据分布的 2.5% 和 97.5% 百分位值作为上、下参考限的取值。采用简单随机抽样法,抽取 2019 年 10 月至 2019 年 12 月符合本研究纳入及排除标准的 20 名健康体格检查者(男 10 名,女 10 名,年龄 32~56 岁)和 20 例住院患者(男 8 例,女 12 例,年龄 25~74 岁)检测 rT_3 ,分别观察 rT_3 检测结果在新建立参考区间内的例数。

4.统计学方法。采用 IBM SPSS17.0 进行统计学分析,正态性检验采用 Kolmogorov-Smirnov 方法,符合正态分布的定量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示。2 组间比较采用两独立样本 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用最小显著差异 t 检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

最终有 159 例住院患者纳入本研究,男 66 例,女 93 例,年龄 23~87 岁,其中慢性胃炎 29 例、原发性高血压 23 例、骨关节病 17 例、腰椎间盘突出症 16 例、颈椎病 13 例、反流性食管炎 12 例、子宫内息肉 8 例、动脉硬化 8 例、下肢静脉曲张 5 例、神经官能症 5 例、睡眠障碍 4 例、面神经炎 4 例、眩晕 3 例、痔疮 2 例、结肠息肉 2 例、泌尿系结石 2 例,月经失调 2 例、胆囊息肉 2 例、跟腱断裂、软组织损伤各 1 例。

按年龄进行分层统计分析(表 1),7 组 rT_3 数值差异有统计学意义($F=2.17, P=0.049$),80 岁以上组与其他各组的 rT_3 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),而其他组间两两比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。

表 1 159 例住院患者按年龄分层的 rT_3 数据分析结果

年龄(岁)	例数	$rT_3(\mu g/L; \bar{x} \pm s)$
23~29	4	0.62 ± 0.16
30~39	18	0.63 ± 0.12
40~49	29	0.64 ± 0.11
50~59	43	0.61 ± 0.11
60~69	40	0.65 ± 0.14
70~79	19	0.65 ± 0.11
80~87	6	0.79 ± 0.10

注: rT_3 为反三碘甲状腺原氨酸

80 岁以下患者共 153 例,其中男 63 例,女 90 例,男性和女性的 rT_3 数值差异无统计学意义[(0.62 ± 0.11) 和 (0.64 ± 0.12) $\mu g/L; t=-0.81, P=0.420$]。

80 岁以下患者的 rT_3 数值呈偏态分布($P=0.030$), rT_3 检测最小值 $0.43 \mu g/L$,最大值 $0.98 \mu g/L$ 。非参数排序法建立 20 岁以上、80 岁以下人群的 rT_3 生物参考区间为 $0.47 \sim 0.92 \mu g/L$,与 rT_3 试剂说明书参考区间($0.20 \sim 0.95 \mu g/L$)比较,参考下限值明显提高。

20 名健康体格检查者和 20 例住院患者 rT_3 检测值分别为 $0.57 \sim 0.82 \mu g/L$ 、 $0.48 \sim 0.77 \mu g/L$,均在该参考范围内,说明本研究新建立的 rT_3 生物参考区间验证通过。

讨 论

rT_3 临床检测主要用于鉴别甲状腺功能减退与甲状腺功能正常病态综合征(euthyroid sick syndrome, ESS),前者血清 T_3 、 T_4 、 rT_3 均降低,TSH 升高,而后者 T_3 、 T_4 降低, rT_3 增高,TSH 在正常水平^[1]。笔者在临床工作中发现少有 rT_3 检测数值低

于试剂说明书参考区间下限,考虑主要原因为本实验室受检人群与试剂说明书建立时的受试人群在地区、生活习惯、流行病学等方面存在差异,故建立适合本实验室的 rT_3 生物参考区间具有重要临床意义。

国际临床化学和检验医学联合会与美国临床实验室标准化委员会于 2008 年共同发布了 EP28-A3 指南^[2],介绍了临床检验项目参考区间的实验方案、参考区间验证方法等内容。临床实验室检测项目的生物参考区间建立方法主要有直接法和间接法,国际上推荐的标准方法是直接法,即通过前瞻性采样,制定纳入、排除标准,选取合适的参考个体以获得参考值,但直接法操作过程复杂、耗时长、且费用昂贵。近年来有很多文献报道间接法建立临床检测项目的生物参考区间,间接法是指利用医院数据库中已有的数据建立生物参考区间,前提是需要实验室数据库中存储大量数据^[3-5]。

既往有研究以住院患者为参考个体,采用间接法建立甲状腺激素的生物参考区间^[6]。本研究以住院患者为参考个体建立 rT_3 生物参考区间,主要有以下几个原因:(1)与直接法相比,该方法相对简便,无需大量人员、费用支出;(2)传统的间接法建立检测项目生物参考区间,多以门诊或体格检查者为参考个体,采用数学统计学方法对数据库中的离群值或错误值进行剔除,缺乏对病例信息的全面掌握,而门诊或体格检查人群潜在的疾病状态可能影响检测数值,而住院患者病历资料详实,有利于排除对结果有影响的诸多因素;(3)我国卫生行业标准——《临床实验室检验项目参考区间的制定》指出,筛选参考个体时应尽可能排除对结果有影响的因素^[7]。本研究从医院数据库中筛选甲状腺激素及相关抗体正常且超声检查无甲状腺结节或明显甲状腺肿的患者,可基本保证参考个体无甲状腺相关疾病,而引起 rT_3 增高的 ESS 多见于营养状况差、手术后、合并各类急慢性疾病的患者^[8-10],故本研究在排除标准中排除了上述情况以及相关药物的影响。

制定检验项目生物参考区间时,应考虑是否需要根据性别或年龄建立相应的参考区间^[7]。本研究在制定 rT_3 生物参考区间过程中,80 岁以下的男性、女性 rT_3 检测值差异无统计学意义,故无需按性别分组建立 rT_3 生物参考区间。年龄方面,受本院收治患者人群的影响,本研究制定生物参考区间的最小参考个体年龄为 23 岁,故未能建立 20 岁以下人群 rT_3 生物参考区间。另外,本研究发现 80 岁以上参考个体 rT_3 检测数值高于其他各年龄组,既往

也有研究指出 80 岁以上健康高龄老年人 rT_3 检测结果较中老年人群明显增高^[11], 与本研究结果一致, 分析因为 80 岁以上高龄老年人机体对热量需求不断下降, 造成不具有产热活性的 rT_3 生成增多, 相反 T_3 的生成减少, 可能为机体避免过度代谢消耗的一种保护性机制。因本研究中 80 岁以上参考个体仅有 6 例, 故不足以单独建立 80 岁以上人群 rT_3 生物参考区间。

本研究采用非参数排序法, 选取 20 岁以上、80 岁以下人群 rT_3 数据分布的 2.5% 和 97.5% 百分位值作为上、下参考限的取值^[7], 新建立的 rT_3 生物参考区间为 0.47~0.92 $\mu\text{g/L}$ 。经过 20 名健康体检格检查者和 20 例住院患者的验证, 符合参考区间验证的可接受标准^[12], 与试剂说明书上的生物参考区间(0.20~0.95 $\mu\text{g/L}$) 比较, 参考下限数值明显提高, 改变了目前本实验室少有 rT_3 检测结果低于试剂说明书参考下限的情况, 说明本研究建立的 rT_3 生物参考区间具有临床实际应用价值。

但本研究尚存在一些不足之处, 比如 rT_3 参考区间年龄适用范围还需进一步完善, 以住院患者为参考个体, 虽然排除了绝大部分可能影响 rT_3 检测数值的因素, 但参考个体其他病理、生理状态可能对 rT_3 检测结果造成影响。基于以上情况, 多中心直接法建立 rT_3 生物参考区间可成为今后的研究方向。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 彭金、李颖: 实验操作、论文撰写; 李伟强: 采集数据、统计分析; 祁烁、周通: 研究指导、论文修改

参 考 文 献

- [1] 中华医学会内分泌学分会. 成人甲状腺功能减退症诊治指南[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2017, 33(2): 167-180. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2017.02.018.
Chinese Society of Endocrinology. Adult hypothyroidism clinical guidelines for the management[J]. Chin J Endocrinol Metab, 2017, 33(2): 167-180. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2017.02.018.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; Approved guideline-third edition CLSI Document EP28-A3[S]. Wayne, PA: CLSI, 2008.
- [3] 朱学彤, 王凯瑾, 周琪, 等. 基于实验室信息系统建立甲状腺激素参考区间[J]. 中华内科杂志, 2020, 59(2): 129-133. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2020.02.011.
Zhu XT, Wang KJ, Zhou Q, et al. Establishing reference intervals of thyroid hormone based on a laboratory information system[J]. Chin J Intern Med, 2020, 59(2): 129-133. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2020.02.011.
- [4] 刘晓文, 沈隽霁, 吴文浩, 等. 采用间接法建立上海地区游离甲状腺素和促甲状腺激素参考区间[J]. 临床检验杂志, 2020, 38

- (5): 380-383. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls. 2020.05.15.
Liu XW, Shen JF, Wu WH, et al. The establishment of the reference intervals of free thyroxine and thyroid stimulating hormone in Shanghai area using the indirect method[J]. Chin J Clin Lab Sci, 2020, 38(5): 380-383. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls. 2020.05.15.
- [5] Wang Y, Zhang YX, Zhou YL, et al. Establishment of reference intervals for serum thyroid-stimulating hormone, free and total thyroxine, and free and total triiodothyronine for the Beckman Coulter Dxl-800 analyzers by indirect method using data obtained from Chinese population in Zhejiang Province, China[J]. J Clin Lab Anal, 2017, 31(4): e22069. DOI: 10.1002/jcla.22069.
- [6] Inal TC, Serteser M, Coşkun A, et al. Indirect reference intervals estimated from hospitalized population for thyrotropin and free thyroxine[J]. Croat Med J, 2010, 51(2): 124-130. DOI: 10.3325/cmj.2010.51.124.
- [7] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. WS/T 402-2012 临床实验室检验项目参考区间的制定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
National Health Commission of the People's Republic of China. WS/T 402-2012 Define and determine the reference intervals in clinical laboratory[S]. Beijing: Standards Press of China, 2013.
- [8] 刘徽婷, 何燕, 张恋麟, 等. 甲状腺激素及超敏 C 反应蛋白在 COVID-19 患者病情评估中的临床意义[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2020, 40(8): 486-488. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20200320-00113.
Liu HT, He Y, Zhang LL, et al. Clinical significance of thyroid hormones and hypersensitive C-reactive protein in the assessment of patients with COVID-19[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2020, 40(8): 486-488. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20200320-00113.
- [9] Moura Neto A, Zantut-Wittmann DE. Abnormalities of thyroid hormone metabolism during systemic illness: the low T_3 syndrome in different clinical settings[J]. Int J Endocrinol, 2016, 2016: 2157583. DOI: 10.1155/2016/2157583.
- [10] 陈胜芳, 毕佳音, 宋浩明, 等. 老年住院患者非甲状腺病态综合征的影响因素分析[J]. 中华老年医学杂志, 2018, 37(5): 532-535. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2018.05.012.
Chen SF, Bi JY, Song HM, et al. Analysis of influential factors of non-thyroidal illness syndrome in elderly inpatients[J]. Chin J Geriatr, 2018, 37(5): 532-535. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2018.05.012.
- [11] 李新, 屈婉莹, 于治国, 等. 健康高龄老年人甲状腺激素水平变化趋势分析[J]. 中华老年医学杂志, 2011, 30(4): 269-271. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2011.04.002.
Li X, Qu WY, Yu ZG, et al. Analysis on variation tendency of serum thyroid hormone level in the healthy elderly aged over 80 years[J]. Chin J Geriatr, 2011, 30(4): 269-271. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2011.04.002.
- [12] 中华医学会核医学分会体外分析学组. 核医学体外分析实验室管理规范[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2015, 35(4): 327-334. DOI: 10.3760/cma.j.issn. 2095-2848.2015.04.025.
In Vitro Analysis Study Group of Chinese Society of Nuclear Medicine. Specification for laboratory management of nuclear medicine in vitro[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2015, 35(4): 327-334. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2015.04.025.

(收稿日期: 2021-03-31)