

Hastabaşı Sistemlerle Yapılan Glukoz Monitörizasyonunda Hangi Yöntem Daha Doğru?

Which Method is More Accurate in Patient-side Glucose Monitoring Systems?

Esra Ekiz* Şermin Acar Duran** Mihriban Ulaş**

* İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları, İstanbul, Türkiye

** İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesi, Biyokimya, İstanbul, Türkiye

Başvuru Tarihi: 12.10.2013

Kabul Tarihi: 14.04.2014

ÖZET

Amaç: Diabet yönetiminde kullanılan hastabaşı glukometrelerden Accucheck Active (AC) ve Optium Xceed (OP) adlı hastabaşı cihazların, referans yöntem kullanan Olympus AU 2700 (OL) otoanalizör cihazı ile doğruluk bakımından karşılaştırılması.

Materyal ve Metod: Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesi acil ve dahiliye servislerine başvuran 18 yaş üstü toplam 44 hasta çalışmaya alındı. Antekübital venden 2 cc venöz kan örneği alınarak EDTA'lı tüplere aktarıldı. Her bir plazma örneği her cihazda ikişer kez okutularak ortalama değerleri alındı.

Bulgular: Pyroloquinoline quinon bağımlı glukoz dehidrogenaz (GDH) enziminin bis-(2-hidroksietil)-(4-hidroksiiminohekzo 2,5-dieniliden)-amonyum kloridi mediatör olarak kullandığı reaksiyon, NAD (nikotiamid dinükleotid) bağımlı GDH enziminin PQ (fenantrolin kinon)'u mediatör olarak kullandığı reaksiyona nazaran referans yöntem daha yakın bulundu. Tüm ölçümlerde hegzokinaz yönteminin, glukoz dehidrogenaz yönteminden daha düşük değerler gösterdiği ve iki yöntem arasındaki farkın glukoz değerleriyle doğru orantılı olarak arttığı gözlemlendi.

Sonuç: Hastabaşı glukometrelerinin seçiminde referans yöntemle benzerliklerine özen gösterilmelidir. Tüm taşınabilir glukometrelerin, referans yöntemden daha yüksek değerler ölçtüğü akılda tutularak hastalara bu durumun diabet eğitiminde vurgulanması önerilebilir.

Anahtar sözcükler: Kan glukozu kişisel-izlemi; hegzokinaz; glukoz 1 dehidrogenaz

ABSTRACT

Objective: Comparison of two patient-side glucometers, Accucheck Active (AC) and Optium Xceed (OP) with autoanalyzer Olympus AU 2700 (OL), which uses the reference method.

Materials and Methods: 44 patients, aged over 18, who attended emergency and internal medicine clinics at Goztepe Training and Research Hospital, were recruited for the study. 2 cc blood was drawn from the antecubital vein and transferred to Standard tubes with EDTA. All samples were studied in each device twice, mean values were recorded.

Results: Pyroloquinoline quinon-linked glucose dehydrogenase (GDH) enzyme using bis-(2-hydroxyethyl)-(4-hydroxyiminohexo 2,5-dieniliden)-ammonium chloride as a mediator, was superior to NAD (nicotinamide dinucleotide)-linked GDH enzyme using PQ (phenantrolin quinone) as a mediator,

in measuring glucose levels closer to the reference method. All measurements with hexokinase method were lower than GDH method and the difference between them showed a linear correlation with increasing glucose levels.

Conclusion: Accuracy of measurements with regards to the reference method should be the point of care in choosing patient-side glucometers. It must be kept in mind that all portable glucometers read higher levels than the reference method and this might be emphasized in education for diabetes.

Key words: Home blood glucose monitoring; hexokinase; glucose 1-dehydrogenase

GİRİŞ

Diabetes mellitusun (DM) dünya çapında prevalansı son iki dekatta dramatik olarak artmıştır. 1985'te 30 milyon olarak tahmin edilen diabetli sayısı, 2000'de 177 milyona ulaşmıştır. 2030 yılında bu değer 360 milyonun üzerinde olması beklenmektedir. Her ne kadar hem tip 1 hem tip 2 diabet prevalansı artış göstermekteyse de, obezitenin yaygınlaşması ile birlikte tip 2 DM'deki artış göreceli olarak daha fazla olmaktadır. Bu grup hastalarda, yüksek plazma glukoz düzeylerinin uç-organ hasarına yol açmasını önlemek için, kan şekeri takibi önem arz etmektedir (1).

Diabet yönetiminin önemli komponentlerinden biri bireysel kan şekeri monitorizasyonu (2). Bu şekilde hipoglisemi önlenilemekte, ilaç doz ayarlaması, diyet tedavileri ve fiziksel aktiviteler modifiye edilebilmektedir (3). DCCT (Diabetes Control and Complication) çalışmaları tip 1 diabetlilerde sıkı glukoz düzey kontrolünün mikrovasküler komplikasyon riskini azalttığını göstermiştir (4). Yine UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study)'de diabetiklerin %25'inde sıkı glukoz kontrolü sonrasında mikrovasküler komplikasyonların azaldığı gösterilmiştir (5). Altı randomize kontrollü çalışmanın ele alındığı bir derlemede insulin kullanmayan tip 2 diabetiklerde bireysel kan şekeri monitorizasyonunun etkileri araştırılmış ve bu takiplerin, toplamda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HbA1c'de %0.39'luk istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş sağladığı gösterilmiştir. UKPDS'ye göre %0.39'luk HbA1c düşüşünün mikrovasküler komplikasyonları %14 azalttığını kanıtlanmıştır (6).

Bireysel glukoz monitorizasyonu için çeşitli hastabaşı glukometreler kullanılmaktadır. Birçok cihaz, NCCLS EP9A2 (National

Committee for Clinical Laboratory Standards EP9-A2)'ye göre belirtilen referans yöntemden farklı bir metotla çalışmaktadır. Glukoz ölçümlerinde referans yöntem olarak hekzokinaz enziminin kullanıldığı polarografik yöntem önerilmektedir. ADA (American Diabetes Association) kriterlerine göre hastabaşı glukometrelerin referans laboratuvarın standart sonuçlarından %5'ten fazla deviasyon göstermemelidir (7). Yine 1994 ADA konsensus kararı uyarınca tüm hastabaşı glukometrelerin 30-400 mg/dl (1.6-22.2mmol/L)'lik glukoz konsantrasyonlarında %10'un altında total hata değerine ulaşmaları istenmektedir. Total hata, cihazın analitik performansından kaynaklanan analitik hata ve kullanan kişinin yetkinliğinden etkilenen kullanıcı hatasının toplamından oluşmaktadır (8,9). FDA (Food and Drug Administration) ve CDC (Centers for Disease Control and Prevention)'nin çabalarına rağmen glukoz ölçümü için evrensel anlamda standart bir yöntem bulunamamıştır. 2013 yılında son olarak revize edilen ISO DIS 15197'in, çalışmamızda baz alınan 2003 versiyonuna göre, 75 mg/dl altındaki glukoz değerlerinde glukometre ölçümlerinin $\geq 95\%$ 'inin, referans alınan yöntemin ölçüm aralığından ± 15 mg/dl'den fazla sapmaması, ≥ 75 mg/dl olan değerlerde ise en fazla ± 20 mg/dl'lik bir sapma göstermesi önerilmektedir. (10). Bu yüzden bu metodun referans yöntemle karşılaştırılması gerekmektedir. Daha önce yapılan birtakım çalışmalarda taşınabilir glukometreler ile otoanalizörler arasındaki ölçüm farkını tespit etmek amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmıştır, ancak bu çalışmalarda, glukometrelerin parmak ucu kapiller ve/veya venöz tam kan ile otoanalizörlerin plazma veya serum örneklerindeki ölçümler kıyaslanmıştır. Biz ise bu çalışmamızda, tüm ölçümleri EDTA'lı plazma ile yapmak suretiyle, Accucheck Active (Cihaz

1) ve Optium Xceed (Cihaz 2) adlı hastabaşı glukometre cihazlarını, referans yöntem kullanan Olympus AU 2700 (Referans yöntem) otoanalizör cihazı ile doğruluk bakımından karşılaştırmayı hedefledik .

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesi acil ve dahiliye servislerinden aydınlatılmış onamı alınan 18 yaş üstü toplam 44 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmanın dizaynı ve yürütülmesi için Etik Kurul onayı alındı. Bu çalışmada hastaların cinsiyet, yaş ve kimlik bilgileri kaydedilirken (tanı almış ise) diabet tipi ve kullandıkları ilaçlar dikkate alınmadı.

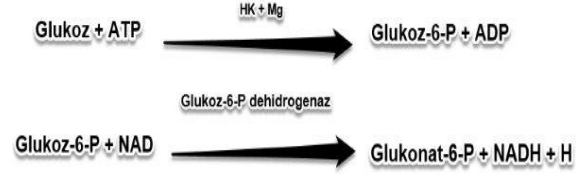
Venöz kan örnekleri antekübital venden (2 cc) alınarak EDTA'lı tüplere aktarıldı. Çalışmamızda EDTA'nın özellikle düşük konsantrasyonlu örneklerin ölçümlerinde heparine kıyasla daha az değişkenliğe neden olduğu üretici firma tarafından bildirildiğinden, anti-koagülan olarak EDTA kullanıldı (11). Alınan kanlardaki glukozun instabilitesini en aza indirecek şekilde, kan örneklerinin 15 dk içinde 3000 g'de 15 dk boyunca santrifüj edilerek plazması ayrıldı. İnterferans kaynağı olabilecek hemoliz, sarılık, lipemi görülen örnekler çalışmaya alınmadı. Glukoz ölçümlerinde glukoz dehidrogenaz (GDH) yöntemi kullanan Cihaz 1 ve Cihaz 2 glukometreleri ile NCCLS'e göre referans yöntem olan heksokinaz yöntemi (enzimatik UV testi) ile çalışan OL AU 2700 model otoanalizörü kullanıldı. 197 mg/dl'lik glukoz değerine sahip sistem kalibratörünü otoanalizör, Cihaz 1 ve Cihaz 2'de okutmak suretiyle kalibrasyon sağlandı. Her bir plazma örneği her cihazda ikişer kez okutularak ortalama değerleri alındı.

Referans yöntemin test prensibi

Glukoz, adozintrifosfat (ATP) ve magnezyum iyonlarının mevcudiyetinde heksokinaz tarafından, glukoz-6-fosfat ve adozindifosfat (ADP) açığa çıkaracak şekilde fosforillenir. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6P-DH), glukoz-6-fosfatı spesifik olarak glukonat-6-fosfata okside eder ve NAD⁺ (nikotinamid dinükleotid), eş zamanlı olarak NADH'ye indirgenir. Absorbansta 340 nm'deki artış numunedeki glukoz konsantrasyonu ile orantılıdır (12).

Cihazın reaksiyon prensibi Şekil 1'de gösterilmiştir.

Testin ölçüm aralığı: 0,6- 45 mmol/L(10- 800 mg/dl)



Şekil 1. Referans yöntemin reaksiyon prensibi

Cihaz 1'in test prensibi

Glukometre cihazlarının monitörü, reaksiyonun sonunda oluşan rengin yoğunluğunu ölçen bir reflektans fotometresi kullanır. Ölçülen bu değeri karşılık gelen glukoz değerine çevirir. Bu otomatik dönüşüm için gerekli olan bilgi cihazın içindeki çipte kayıtlıdır. Glukoz, pyrolinquinoline quinon bağımlı GDH enzimi ile glukonolaktone çevrilir. Bu sırada enzim redükte formuna dönüşür. Sonraki basamakta enzim okside formuna dönerken mediatör olan bis-(2-hidroksietil)-(4-hidroksiiminohekzo 2,5-dieniliden)-amonyum kloridi redükler. Son basamakta mediatörün redükte formu, üzerindeki hidrojen moleküllerini sarı renkteki indikatör olan 2,18 fosfomolibdik asite vererek kendi okside olurken indikatörü redükte eder ve indikatörün mavi renge dönüşmesini sağlar. Şekil 2, bu cihazın reaksiyon prensibini göstermektedir.

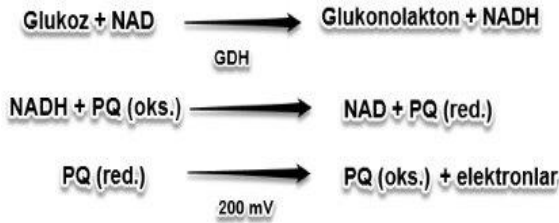


Şekil 2. Cihaz 1'in reaksiyon prensibi

Testin ölçüm aralığı: 0,6- 33 mmol/L (10-600 mg/dl)

Cihaz 2'nin test prensibi

GDH enzimi ile kofaktör olarak NAD, elektron mediatörü olarak da fenantrolin kinon (PQ) kullanımı söz konusudur. GDH-NAD, diğer GDH izoenzimlerine oranla glukozu daha spesifiktir. PQ ise, 200 mV'ta, yani diğer konvansiyonel mediatörlere oranla daha düşük bir potansiyelde çalışmaktadır. Bu da yöntemin salisilat, asetaminofen, C vitamini ve ürik asitten etkilenmesini engellemektedir. Sistem, glukozun enzim ve kofaktör aracılı reaksiyonu sonrasında oluşan elektron akımını ölçmek suretiyle çalışmaktadır. Test stribi 2.5 µL kan ile Hct %20-70 arasında ölçüm yapmaktadır. Bu glukometrenin çalışma prensibi de, Şekil 3'te görülebilir.



Şekil 3. Cihaz 2'nin reaksiyon prensibi

Testin ölçüm aralığı: 1.1-27.8 mmol/L (20-500 mg/dl).

Çalışmanın istatistiksel analizi MedCalc v.9.2.0.1 kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arası farkların değerlendirilmesinde Passing& Bablok regresyon analizi ve Bland&Altman analizleri kullanılmıştır.

BULGULAR

NCCLS kılavuzu EP-9A2 (metot karşılaştırma ve hasta örnekleri kullanarak bias ölçümü) protokolüne göre en az 40 örnek ve çift okuma önerilmektedir (13). Bu doğrultuda biz de toplam 44 hastada glukoz ölçümü yaptık. Yapılan ölçümler sonucundaki en düşük, en yüksek, ve standart sapma değerleri her iki cihaz ve referans yöntem için aşağıdaki gibidir (Tablo 1).

Glukometre ölçümlerinin referans yöntemle arasındaki farkı gösteren Passing&Bablok regresyon analizinde Cihaz 1 ve Referans Yöntem arasında anlamlı farklılık saptanmazken ($p>0,1$) Cihaz 2 ve Referans Yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,01$) (Tablo 2).

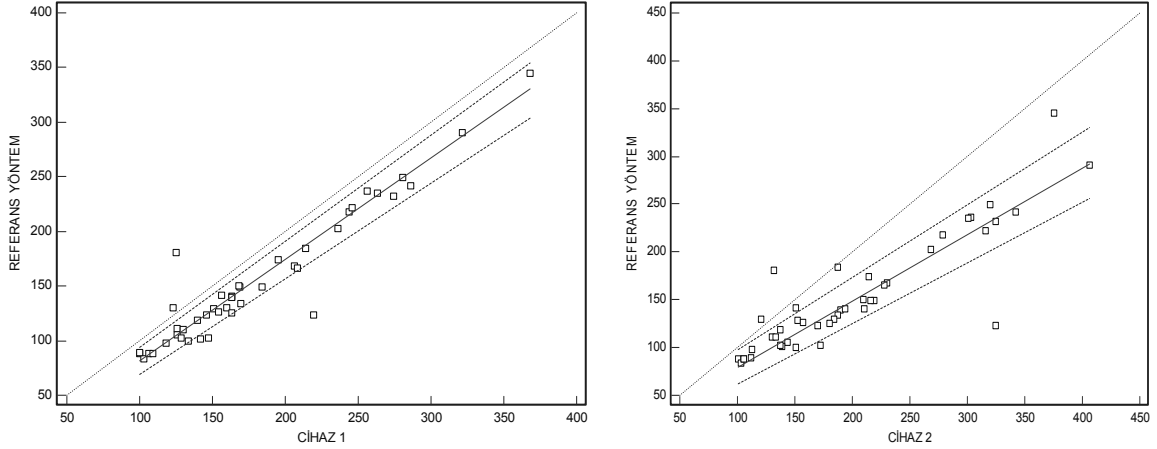
Glukometrelerin referans yöntemle ikili karşılaştırılmasına ait Passing&Bablok regresyon ve Bland&Altman plot grafikleri Şekil 4 ve 5'te gösterilmiştir.

Tablo 1. GDH yöntemi kullanan Cihaz 1 ve Cihaz 2 ile referans yöntemin en yüksek, en düşük ve ortalama değerleri (ölçümler mg/dl cinsinden ifade edilmiştir).

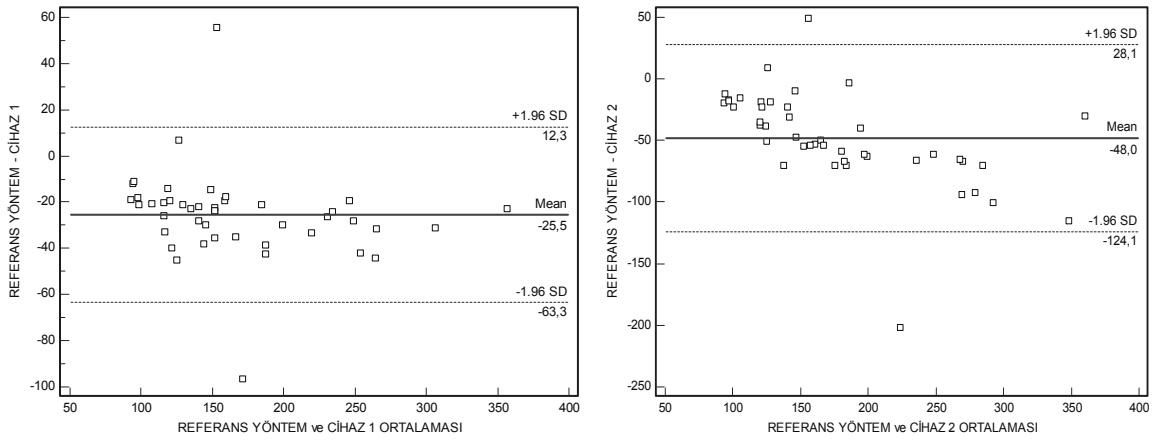
	Cihaz 1	Cihaz 2	Referans yöntem
En düşük	100	100,5	83,5
En yüksek	368	406	345
Ortalama	179,17	201,67	153,68
Standart deviasyon	64,04	81,53	60,03

Tablo 2. Glukometreler ile referans yöntem arası regresyon analizi.

Karşılaştırma	Regresyon formülü	Eğim (%95 GA)	Kesişim (%95 GA)	p
Referans Yöntem-Cihaz 1	$y = -11,9456 + 0,9305 x$	0, 9305 (0,8776 - 0,9725)	-11,9456 (-18,9944 ila - 3,8571)	$>0,1$
Referans Yöntem-Cihaz 2	$y = 9,0016 + 0,6982 x$	0, 6982 (0,6333 - 0,7577)	9,0016 (-1,3150 ila 21,9667)	$<0,01$



Şekil 4. Referans yöntemle glukometreler arası karşılaştırma (Passing&Bablok regresyon analizi).



Şekil 5. Referans yöntem ile glukometreler arası karşılaştırma (Bland&Altman plot).

TARTIŞMA

Diabet yönetiminin önemli bir parçasını oluşturan SMBG (Self Monitoring of Blood Glucose) – Bireysel Glukoz Monitörizasyonu hastabaşı glukometreleriyle gerçekleştirilmektedir; ancak bunlarda kullanılan enzimatik metodun güvenilirliğinin tespiti önem arz etmektedir. ADA konsensus kararına göre referans yöntemle kıyasla kabul edilebilir sayılan %5'lik hata payından daha yüksek deviasyon saptanan bir yöntemle ölçüm yapılması; glukoz regülasyonunda sorunlara yol açacaktır. 2013 yılının nisan ayında altıncısı düzenlenen yıllık SMBG sempozyumunda Schoemaker, günlük glukoz takibinin önündeki en büyük engelin, mevcut cihazların güvenilirliğinde yaşanan problemler olduğunu vurgulamıştır (14).

2004'te Aral ve ark. tarafından yapılan çalışmada, glukoz oksidaz-peroksidaz yöntemi kullanan otoanalizör ile glukoz oksidazın (GO) glukozu glukonolaktone çevirdiği yöntemi kullanan glukometreler doğruluk yönünden karşılaştırılmış ve hastabaşı glukometreler ile otoanalizör, 36 hastanın 35'inde benzer aralıkta sonuç vermiştir (15). Bu çalışmada değerlendirilen glukometre ve otoanalizör aynı enzimatik yöntemle çalışmaktadır; ancak her hastabaşı glukometre, referans yöntem alınan enzimatik metodu kullanmaktadır. Ayrıca bahsedilen çalışmada (her ne kadar biası engellemek için benzer hematokrit aralığındaki örnekler alınsa da) glukometrelerde kapiller tam kan, otoanalizörde ise venöz plazma kullanılmıştır, ki bu durumun, aynı materyal kullanılarak yapılan ölçümlere nazaran daha az güvenilir sonuçlar

ortaya koyacağı açıktır. Chlup ve arkadaşlarının yürüttüğü bir başka çalışmada ise, aynı bölgeden alınan kan ile ölçüm yapmak amacıyla, parmak ucu tam kan örneği üç farklı glukometrede çalışılmış, bundan 2 dakika sonra yine aynı parmak ucundan alınan tam kan örneği heparinli tüpe aktararak santrifüj sonrası otoanalizörde de okutulmuştur (16). Burada kullanılan üç glukometreden ikisi GO, biri GDH bazlıdır; referans olarak ise heksokinaz yöntemi alınmıştır. GO kullanan glukometrelerden yalnızca birinde ISO DIS 15197'ye göre ölçümlerin ± 15 mg/dl'lik aralıkta saptanmıştır. Bu çalışmada tüm örneklerin parmak ucundan alınması ve glukometrelerden ikisinin aynı prensiple çalışmasına rağmen, halen referans yöntemle %100 korrelasyon gösteren bir enzimatik yöntemden bahsetmek mümkün değildir. Biz ise çalışmamızda, hasta hematokrit değerlerinin -glukoz ölçüm striplerinin çalışma mekanizması uyarınca- oluşturacakları etkiyi ekarte etmek, aynı zamanda enzimatik prensiplerden kaynaklanan farkı ortadan kaldırmak için, hem otoanalizörde hem de hastabaşı glukometrelerinde doğrudan plazma kullanmayı tercih ettik. Veriler, her iki hastabaşı glukometresinde de esas prensibin GDH enzimi olmasına rağmen, enzimin kofaktörü ve reaksiyonun mediatörü bazında farklar oluştuğunu gösterdi. Sonuç itibarıyla pyroloquinoline quinon bağımlı GDH enziminin bis-(2-hidroksietil)-(4-hidroksiiminohekzo 2,5-dieniliden)-amonyum kloridi mediatör olarak kullandığı reaksiyonun, NAD bağımlı GDH enziminin PQ'yu mediatör olarak kullandığı reaksiyondan; referans yöntemle daha yakın olduğu bulundu. Tüm ölçümlerde heksokinaz yönteminin, GDH yönteminden daha düşük değerler gösterdiği ve iki yöntem arasındaki farkın glukoz değerleriyle doğru orantılı olarak arttığı gözlemlendi.

Çalışmamızda NCCLS kılavuzu EP-9A2 protokolüne göre yeterli olmasına karşın görece sınırlı sayıda hasta alınması, elde ettiğimiz sonuçların yayılabileceği toplum kesitinin geniş olmasını engellese de ilerleyen dönemlerde örneklem sayısı artırılarak daha bu handikap aşılabilir. İlerleyen dönemlerde, hem hastabaşı glukometrelerde hem

otoanalizörde, plazma ve tam kan örneklerinin birlikte çalışılacağı bir araştırma ile, cihazlar arası farkların nereden kaynaklandığı ve optimizasyon için nelere dikkat edilmesi gerektiğine dair detaylı bilgi elde edilmesini mümkün kılacaktır.

SONUÇ OLARAK

Hastabaşı glukometrelerinin seçiminde referans yöntemle benzerliklerine özen gösterilmelidir. Tüm taşınabilir glukometrelerin, ADA konsensus kararınca referans kabul edilen yöntemden daha yüksek değerler ölçtüğü akıld tutularak hastalara bu durumun diabet eğitiminde vurgulanması önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Powers AC. Diabetes Mellitus In Fauci A.S., Kasper D.L., Braunwald E., Hauser S.L., Longo D.L., Jameson J.L., Loscalzo J., eds. Harrison's Principles of Internal Medicine, 17th Edition, Mc Graw Hill, 2008, Chapter 338, 2275-2277.
2. American Diabetes Association, Self-monitoring of Blood Glucose, *Diabetes Care* 1994;17(1):81-86.
3. Monnier L., Colette C., Lapinski H., Boniface H. Self-monitoring of Blood Glucose In Diabetic Patients: From the Least Common Denominator to the Greatest Common Multiple. *Diabetes Metab* 2004; 30(2): 113-119.
4. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on Development and Progression of Long Term Complications in Insulin Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* 1993;329(14):977-986.
5. UK Prospective Diabetes Study Group (UKPDS): Intensive Blood-Glucose-Control With Sulphonylureas or Insulin Compared With Conventional Treatment and Risk of Complications in Patients With Type 2 Diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352(9131): 837-853.
6. Welschen L.M. Bloemendal E., Nijpels G. et al. Self-monitoring of Blood Glucose in Patients With Type 2 Diabetes Who Are Not Using Insulin: A Systematic Review. *Diabetes Care* 2005; 28(6): 1510-1517.
7. American Diabetes Association: Self-monitoring of blood glucose. *Diabetes Care* 1996; 19 (suppl.1): 62-66.
8. Brunner G.A., Ellmerer M., Sendhofer G., Wutte A, Trajanoski Z, Schaupp L, et al. Validation of Home Blood Glucose Meters With Respect to Clinical and Analytical Approaches. *Diabetes Care* 1998; 21(4):85-90.
9. Zenobi P.D., Keller A., Jaeggi-Groisman S.E., Glatz Y.; Accuracy of Devices For Self-monitoring of Blood Glucose Levels, *Diabetes Care* 1995; 18(4): 587-8.
10. <http://www.fda.gov/diabetes/glucose.html>

11. Fobker M. Stability of glucose in plasma with different anticoagulants. *Clin Chem Lab Med* doi: 10.1515/cclm-2013-1049.
12. Czok R, Barthelmai W. [Enzymatic determinations of glucose in the blood, cerebrospinal fluid and urine]. *Klin Wschr* 1962;40:585-9.
13. Burtis C. A., Ashwood E. R., Bruns D. E. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. *Fourth Edition*. 368-96.
14. Alzaid A, Schlaeger C, Hinzmann R. 6th Annual symposium on self-monitoring of blood glucose (SMBG) applications and beyond, april 25-27, 2013. Riga, Latvia. *Diabetes Technol Ther* 2013; 15(12): 1033-1052.
15. Aral H, Tonbaklar P, Ozdemir AT, Guvenen G. Glukometre performans değerlendirilmesi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2004; 2(3): 105-112.
16. Chlup R, Doubravova B, Bartek J, Zapletalova J, Krystynik O, Prochazka V. Effective assesment of diabetes control using personal glucometers (CONTOURLINK, Bayer, Germany; CALLA, Wellion, Austria; LINUS, Agamatrix, USA). *Dis Markers*. 2013; 35(6): 895-905.

Yazışma adresi:

Dr. Esra Ekiz
İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim
Araştırma Hastanesi
İç Hastalıkları, İstanbul, Türkiye
Tel: 0.216 566 40 00
Faks: 0.216 566 40 00
E-mail: dr.esra@gmail.com
