

Problémy měření PTH při sledování chronické renální choroby. Minireview.

Vávrová J., Friedecký B., Pavlíková L.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

SOUHRN

Cíl: Stručný přehled analytických a klinických aspektů měření parathyroidního hormonu v séru s důrazem na posouzení srovnatelnosti současně používaných metod v klinických laboratořích.

Metoda: Prostudování a vyhodnocení recentní odborné literatury z let 2009-2014, doplněné experimentem u souboru pacientů léčených na hemodialýze. V něm bylo sledováno 99 pacientů třemi metodami druhé generace (Roche, DiaSorin, Siemens DPC) a dvěma metodami 3. generace (DiaSorin, Roche).

Výsledky a diskuse: Výsledky získané různými metodami jsou velmi odlišné. Hodnoty mediánů jsou až dvojnásobně odlišné a u zvýšených hodnot jsou rozdíly ještě vyšší. Systematické difference jsou významné nejen mezi metodami různých generací, ale (méně) i mezi metodami generací stejných. Četnost výsledků uvnitř rozhodovacího limitu KDIGO 2009 se v závislosti na použitém kitu lišila u pacientů na hemodialýze až 2,5 násobně. Prvním krokem k postupné harmonizaci měření PTH u renálně nemocných pacientů by mělo být použití 3. generace imunochemických metod. Principiálním řešením bude standardizace na bázi separačních metod LC-MS/MS.

Klíčová slova: PTH, druhá a třetí generace, hemodialýza, srovnatelnost, standardizace.

SUMMARY

Vávrová J., Friedecký B., Pavlíková L.: Problems of measuring PTH in following chronic renal disease: A mini-review.

Method: Overview of recent literature on the PTH comparability from 2009-2014. Comparison of PTH results obtained from 99 patients on the hemodialysis during their regular controls. We used for this purpose three methods of 2nd generation (DiaSorin, Roche, Siemens DPC) and two methods of 3rd generation (DiaSorin, Roche).

Results and discussion: Results obtained by different methods are not comparable. Median values are two times or more (in higher concentrations) different between results obtained by 2nd or 3rd generation of methods. Differences between methods of the same generation are also significant. Number of patients on the hemodialysis with values in required interval of decision limits according to KDIGO 2009 was strongly dependent on the used method and maximum of these differences was approximately 250%. In our opinion is introducing the 3rd generation methods of measurement PTH first step to improving the use of PTH in chronic renal diseased patients. Definitive step to rational use of PTH measurement is standardization.

Keywords: PTH, 2nd and 3rd generation of methods, hemodialysis, comparability, standardization.

Role PTH

Parathyroidní hormon PTH je malá proteinová molekula s 84 aminokyselinami (intaktní 1-84 PTH). Jsou známy dva prekurzory, jejichž postupným štěpením 1-84 PTH vzniká -prePTH (115 aminokyselin) a proPTH (90 aminokyselin). Oba jsou imunochemicky nedetekovatelné. Biologický poločas PTH je krátký (2-4 minuty). Do krevního oběhu je uvolňován v závislosti na hodnotách Ca^{2+} v krvi. PTH je klíčový pro regulaci metabolismu Ca a P. Stimuluje kostní resorpci, reabsorpci Ca v ledvinách, hydroxylaci 25-OH vitamínu D v ledvinách, podílí se na snižování koncentrace anorganických fosfátů v séru. Na obrázku 1 jsou regulační role PTH a vztahy k metabolismu a funkci ledvin a kostí schematicky znázorněny. Stanovení PTH hraje důležitou roli u chronické ledvinové choroby, kostního metabolismu, hyper a hypokalcémie a u hyperparathyroidismu [1].

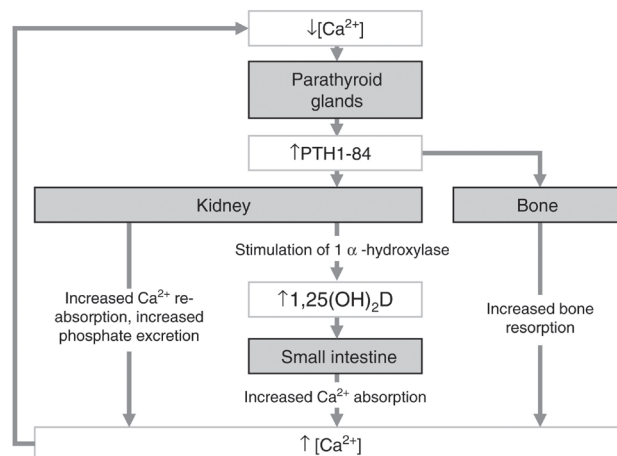


Fig. 1. Direct and indirect mechanisms for PTH regulation of plasma-ionised calcium (reprinted from [15]).

PTH, doporučení, chronické ledvinové choroby a poruchy elektrolytů u kostního metabolismu

Základní poznatky o interpretaci výsledků PTH u pacientů s ledvinovými chorobami a s poškozením kostního metabolismu jsou obsaženy v mezinárodním nefrologickém doporučení KDIGO 2009 [2]. V doporučení KDIGO 2009 se jako diagnostický rozhodovací limit uvádí interval 2-9*URL (upper reference limit - horní referenční limit). Hodnoty nad 2*URL by měly vždy vést k vyšetření Ca, P, ALP a 25-OH vitamínu D. U pacientů léčených hemodialýzou má být hodnota PTH udržována v rozmezí 2*URL až 9*URL. Nižší hodnoty jsou indikací k změně terapie, která by vedla ke snížení fosfátů, zvýšení Ca (pomocí léčby kalcimimetiky). Zvýšení nad hodnotu 9*URL by mělo být jedním z ukazatelů provedení parathyroidektomie. U pacientů s eGFR < 0,75 ml/s/1,73m² doporučuje KDIGO 2009 stanovení základní linie (base line) hodnot Ca, P, ALP, PTH a vitamínu D v séru a poté sledování změny v čase a závislosti na terapii. S klesající hodnotou eGFR roste počet pacientů s PTH nad URL a s deficiencí vitamínu D.

Doporučení KDIGO 2012 [3], jinak mezinárodně lékařskou veřejností široce akceptované, však zdůrazňuje především a explicitně variabilitu výsledků měření PTH v závislosti na použitých metodách (stejně tak přistupuje k měření 25-OH vitamínu D) a nezařazuje je do kontextu medicíny, založené na důkazech (EBM).

Tento přístup je odůvodněný a PTH je velmi kontroverzní analyt. Proto hodnoty rozhodovacích limitů, navržené v doporučení KDIGO 2009 jsou pro svou neurčitost, danou neúměrně vysokou variabilitou výsledků měření, překvapivé.

K informaci a shrnutí problémů sledování poruch a léčby poruch kostního metabolismu u pacientů s chronickou renální chorobou (CKD) lze doporučit recentní literární přehled zahrnující monitorování a vyhodnocování eGFR, P, Ca, PTH a vitamínu D [4].

Variabilita měření PTH

V současnosti mají laboratoře k dispozici pro stanovení PTH imunochemické metody 2. a 3. generace. Metody 2. generace jsou komerčně označovány jako „intact“ PTH, metody 3. generace jsou označovány jako „biointact“ PTH nebo také jako „1-84 PTH“. Metody 3.

generace se objevily v nabídce diagnostických souprav nedávno (až po roce 2012). V tomto okamžiku jsou na trhu promiskuitně obě generace a dokonce i výrobci nových kitů 3. generace zatím ponechávají ve svém portfoliu i metody generace druhé. Problém je v zásadní nesrovnatelnosti různých metod mezi sebou, a to většinou mezi generacemi, menší, ale významné, uvnitř nich.

Obr. 2 znázorňuje zásadní rozdíl mezi 2. a 3. generací stanovení PTH. Třetí generace diagnostických kitů používá reagenční záchytné protilátky, orientované na N-terminální epitop (1-4) PTH. Cílem je vyhnout se interferenci fragmentu 7-84, působícího velké problémy zejména při interpretaci výsledků u pacientů s chronickým renálním poškozením. Kity 2. generace využívají epitopů poblíž středu molekuly PTH, což nemožně redukovat vliv interferujícího fragmentu 7-84 na výsledek měření. Kontroverzní situaci interpretace PTH podle doporučení KDIGO 2009 ještě před objevením se 3. generace metod na trhu důkladně analyzuje práce Cavaliera a spol. [7].

Zpřístupnění kitů 3. generace spletitou situaci při interpretaci výsledků ještě zkomplikovalo. Proto je logické, že v poslední době velmi narůstá počet publikací, hodnotících vztahy mezi metodami 2. a 3. generace jak z hlediska analytického (kvantita výsledků), tak klinického (interpretace výsledků především u pacientů s renální chorobou).

Obě dostupné metody biointaktního PTH (Roche, DiaSorin) byly testovány již v roce 2012 [8]. Vykázaly sice dobrou úroveň korelace, ale také systematické deviace, zvyšující se s tím, jak roste koncentrace PTH ve vzorcích. Z následujících studií výsledků a interpretace 3. generace metod PTH je vhodné zmínit práce [9, 10]. Z těchto prací se dozvíme, že metody 2. generace poskytují vyšší výsledky. U pacientů s ESRD (konečnou fází renální choroby) průměrně o 60 %, u ostatních jedinců s chronickou renální chorobou v průměru o 18 % [9]. Výsledky 3. generace údajně korelují lépe s hodnotou BMD, než výsledky, dosažené metodami 2. generace. Porovnání 2. a 3. generace je však ztíženo i tím, že ani metody 2. generace nejsou mezi sebou dobře srovnatelné [10]. Například metody 2. generace Architekt (Abbott) a Advia (Siemens) poskytují výrazně vyšší výsledky, než Vitros a Beckman téže generace. U pacientů s chronickou renální chorobou je srovnatelnost ještě podstatně horší, než u ostatních. Hodnoty PTH, získané metodami 3. generace údajně lépe korelují s Ca, P, ALP, než výsledky, získané 2. generací metod.

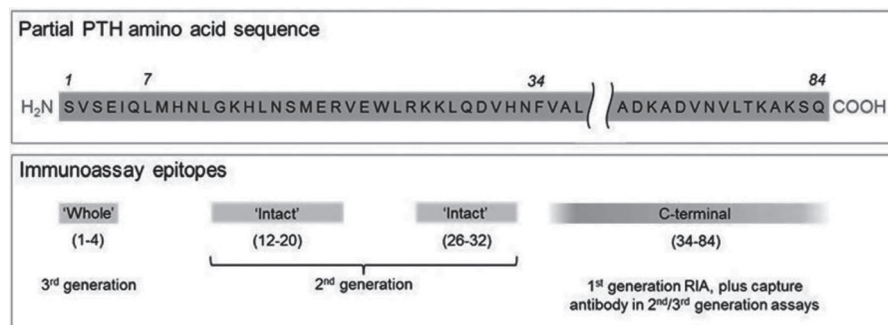


Fig. 2. Antibody epitopes of first-generation RIAs, second-generation („intact“) and third-generation („whole“) PTH immunoassays (reprinted from [15]).

KDIGO 2009 obecně doporučuje udržovat PTH u pacientů s chronickou renální chorobou v rozmezí 2 až 9 násobku URL, avšak hodnoty URL jsou velmi závislé na metodě použité k měření. Logicky vznikají problémy s klinickou interpretací u pacientů, které jsou obsahem řady recentních publikací.

Práce [11] ukazuje razantní změny interpretace a diagnostické klasifikace v důsledku změny metod 2. generace (Roche, Abbott, DiaSorin) za metody 3. generace PTH (Roche, DiaSorin).

U dialyzovaných pacientů a při použití kritérií KDIGO 2009 (cut off 2-9*URL) byla získaná významně odlišná klinická klasifikace pacientů. U 3. generace PTH bylo 23 – 27 % výsledků pod cut off, u 2. generace PTH 32 – 41 %. Nad cut off bylo u 3. generace 6 – 10 %, zatímco u generace druhé to bylo 16 – 19 %.

Rozsáhlá mezilaboratorní studie Eddingtona a spol. [12] pracovala s populací dialyzovaných pacientů a s deseti kity jak druhé, tak i třetí generace metod v 17 laboratořích. Hodnoty PTH jsou u pacientů na hemodialýze velmi odlišné jak číselně, tak i klinicky. Rozdílná diagnostická klasifikace byla zjištěna u 36 % pacientů při použití hodnot referenčních intervalů výrobců. Po adjustaci na vlastní referenční intervaly se tato hodnota zlepšila na 16 % neshodných klasifikací. 3. generace poskytla v průměru o 28 % nižší výsledky. Korelace je dobrá u nižších koncentrací, ale jak se tyto zvyšují, korelace se zhoršuje. Byla provedena korekce (matematická) s cílem dosažení harmonizace mezi účastníci se laboratořemi. Po ní bylo nutné překlasifikovat léčebný režim u 21 % pacientů.

Hodnoty PTH závisí na koncentraci 25-OH vitamínu D a jsou k dispozici odhady kvantifikující vztah mezi oběma analyty. Zde se nalézá v pracovních postupech výrobců řada nesrovnatelností u důležitých údajů. Například experimentálně stanovená hodnota horního referenčního limitu u kity Abbott Architect pro populaci dostatečně saturovanou vitamínem D (75 nmol/l a výše) byla 10 pmol/l, údaj výrobce o hodnotě URL však jen 7,2 pmol/l [6].

Malá studie PTH s použitím 2. a 3. generace diagnostických souprav u dialyzovaných pacientů

Byla provedena na pracovišti autorů s použitím pěti kitů. Tři patřily do 2. generace: Roche intact PTH, DiaSorin intact PTH, Siemens PTH, dva do generace třetí: Roche 1-84 PTH, DiaSorin 1-84 PTH.

Vyhodnoceno bylo 169 výsledků od 99 pacientů na hemodialýze, ze vzorků odebraných při pravidelných měsíčních kontrolách.

Procento výsledků v intervalu hodnot 2-9*URL kolísalo u různých metod v rozmezí 24 - 65 pmol/l, tedy v intervalu zpochybňujícím nejen klinickou srovnatelnost, ale i použitelnost.

Z obr. 3 zobrazujícího výsledky měření souboru uvedenými metodami lze vyčíst následující:

- 3. generace poskytuje nižší výsledky měření, než druhá

- diference mezi mediány hodnot 2. a 3. generace jsou téměř dvojnásobné
- i metody 2. i 3. generace, produkované různými výrobci vykazují mezi sebou systematické diference
- diference mezi 2. a 3. generací jsou tím vyšší, čím vyšší je koncentrace PTH ve vzorku.

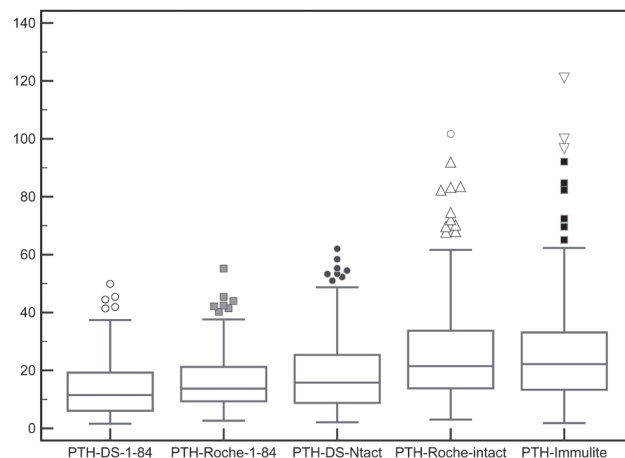


Fig. 3. PTH in 99 hemodialyzed patients – comparison between five assays

Harmonizace, standardizace, reference

Stanovení a klinická interpretace je pregnantním příkladem nezbytnosti standardizace a ukázkou silného omezení klinického významu nákladného vyšetření, pokud není standardizace provedena. Důvodem standardizace je (jako ve všech případech jiných analytů) dosažení srovnatelnosti výsledků a ustanovení relevantních referenčních intervalů a rozhodovacích mezí pro diagnózu a terapii pacientů.

Současná úroveň potřebné standardizace PTH je v samotném počátku. Nástroje budoucí standardizace však existují. Především je to nový mezinárodní standard PTH 95/646. Probíhá intenzivní vývoj referenčních metod, které budou nepochybně vytvořeny na bázi tandemové hmotnostní spektrometrie.

Strategii standardizace a její bezpodmínečnou potřebu zejména pro pacienty s renálními chorobami shrnula Sturgeonová a spol. [14]. Cavalier a spol. [15] ukázali v poslední době, že již samotné použití standardu IS 95/646 (v proteinové matici) po recalibraci rutinně používaných kitů 3. generace významně sníží diference mezi výsledky obou kitů jak u souboru pacientů bez chronické renální choroby, tak i u souborů dialyzovaných pacientů i u souborů pacientů s primárním hyperparathyroidismem.

Přehled současných možností a budoucích trendů stanovení PTH LC-MS/MS metodologií je souhrnně uveden v práci [16]

Pracovní skupina IFCC pro PTH

Její složení a úkoly, které řeší, naleznete na www.ifcc.org po vyhledání oddílu IFCC SD (Scientific division) a následně pododdílu WG-PTH (Pracovní skupina PTH).

- Jako dlouhodobý cíl si pracovní skupina stanovila:
- podrobné otestování referenčního materiálu IS 95/646
 - ustanovení referenční metody IFCC
 - vytvoření definice referenční populace
- Prozatímní harmonizační úsilí, do doby, než bude hotova standardizace stanovení, by mělo podle skupiny přednostně směřovat k vytvoření metodicky závislých rozhodovacích (akčních) limitů pro diagnostiku, klasifikaci a léčbu renálních pacientů. Stejný směr úsilí by měly sledovat i klinické laboratoře a zejména výrobci diagnostik.

Literatura

1. **Cundy, T., Grey, A., Read, I. R.** Calcium, phosphate and magnesium. In Marshall WJ, Bangert SK eds. Clinical biochemistry: molecular and clinical aspects. London 2nd Ed. Elsevier Sanders 2008).
2. **KDIGO 2009.** Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation, Prevention and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney International* 2009, 76, S1-S2
3. **KDIGO 2012.** Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney International supplements* 2013, 3
4. **Bruktorst, R.** Mineral and bone disorder in chronic kidney disease-critical appraisal of pharmacotherapy. *Internist (Berl)* 2014, 55: p. 334-339.
5. **Souberbille, J. C., Cavalier, E., Jean, G.** Interpretation on serum parathyroid hormone concentrations in dialysis patients: what do the KDIGO guidelines change for the clinical laboratory, *Clin. Chem. Lab. Med.* 2010, 48: p. 769-774.
6. **Deckers, M. H., De Jongh, R. T., Lips, R. T., Penninx, B. W., Milaneschi, Y., Smit, J. H. et al.** Prevalence of vitamin D deficiency and consequences for PTH reference values. *Clin. Chim. Acta* 2013, 15, 426: p. 451-455.
7. **Cavalier, E., Delanaye, P., Vracken, L., Bekaert, A. C., Carlisi, A., Chapelle, J. D.** Interpretation of serum PTH concentrations with different kits in dialysis patients according to the KDIGO guidelines: importance of the reference (normal) values. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2012, 27: p. 1950-1956
8. **Hecking, M., Kainz, A., Bielesz, B., Plitschke, M., Beilhack, G., Horl, W. M.** Clinical evaluation of two novel biointact PTH (1-84) assays in hemodialysis patients. *Clin. Biochem.* 2012. 45: p. 1645-1651.
9. **O'Flaherty, D., Sankaralingam, A., Scully, P., Menghat, P., Goldsmith, D., Hampson, G.** The relationship between intact PTH and biointact PTH (1-84) with bone and mineral metabolism in pre-dialysis chronic kidney disease (CKD). *Clin. Biochem.* 2013, 46: p. 1405-1409.
10. **Tan, K., Ong, L., Sethi, S. K., Savo, S.** Comparison of the Elecsys PTH (1-84) assay with four contemporary second generation intact PTH assays and association with other biomarkers in chronic kidney disease patients. *Clin. Biochem.* 2013, 46: p. 781-786
11. **Beko, G., Butz, H., Berta, K., Tisler, A., Olajos, F., Vasarhelyi, E., Pátocs, A.** Switching between parathyroid hormone (PTH) assays: the impact on the diagnosis of renal osteodystrophy. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013, 51: p. 1251-1256.
12. **Eddington, H., Hudson, J. F., Oliver, R. L., Fraser, W. D., Hutchison, A. J., Kaira, D. A.** Variability in parathyroid hormone confounds clinical practice in chronic kidney disease patients, *Ann. Clin. Biochem.* 2014, 51: p.228-236.
13. **Sturgeon, C. H., Sprague, S. H., Metcalfe, W.** Variation in parathyroid hormone immunoassay results - a clinical governance issue in the management of chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2011, 26: p. 3440-3445.
14. **Cavalier, E., Delanaye, P., Lukas, P., Cortisi, A., Gadsisseur, Souberbille, J. C.** Standardization of DiaSorin and Roche automated third generation PTH assays with a international standard: impact on clinical population. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2014, E pub
15. **Couchman, L., Taylor, D. R., Krastins, B., Lopez, M. F., Moniz, C. F.** LC-MS candidate reference methods for the harmonisation of parathyroid hormone (PTH) measurement: a review of recent development and future considerations. *Clin. Chem. Lab. Med.* March 2014, E pub

Podpořeno grantem MH CZ - DRO (UHHK, 00179906) a programem PRVOUK P37/11.

Do redakce došlo 25. 1. 2015

Adresa pro korespondenci
Ing. Jaroslava Vávrová, Ph.D.
ÚKBD
Fakultní nemocnice
Sokolská 581
500 12 Hradec Králové
e-mail: vavrovaj@lfhk.cuni.cz