Klin. Biochem. Metab., 25 (46), 2017, No. 4, p. 162–166.

Harmonizace měření kostních markerů. Analytický minireview.

Friedecký B.[1,2], Vávrová J.[1]

[1]Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice, Hradec Králové
[2]SEKK s. r. o., Pardubice

SOUHRN
V předložené práci stručně referujeme o současném stavu analytických měření parathormonu, markerů kostního obratu (BTM) a o nastupující generaci moderních kostních markerů FGF 23 a sklerostinu. Těžištěm sdělení jsou informace o preanalytických a analytických procesech stanovení parathormonu (PTH), o referenčních intervalech BTM, silně závislých na metodě měření, na regionu, věku a pohlaví, a o dosud nedostatečné analytické úrovni měření FGF 23 a sklerostinu. Velkou limitací efektivity měření kostních markerů jsou nedostatečné znalosti jejich preanalytické fáze (stability a druhu vzorků), absence standardizace a referenčních systémů jejich analytických fází a z toho pak plynoucí rozpaky při klinické interpretaci výsledků měření. Hlavními problémy jsou existence dvou různých zcela nesrovnatelných generací metod měření PTH, závislost výsledků měření BTM na použité metodě, nutnost harmonizace jednotek měření u BTM a velmi nedostatečně rozvinutý stav analytických metod měření FGF 23 a sklerostinu.
Klíčová slova: PTH, BTM, FGF 23, sklerostin, stabilita, srovnatelnost, interpretace.

SUMMARY
Friedecký B., Vávrová J.: Harmonization of bone marker measurements. Analytical minireview.
Contribution deals with current key problems in measurement of some important bone markers. Namely is referred on the parathormon (PTH), bone turnover markers (BTM) and on the FGF-23 and sclerostin as markers of bone and mineral disorders in near future. Main problems are introduced. Stability, kind of samples, and choice of suitable method for routine analysis of field clinical laboratories in the case of PTH. Strong dependency of reference intervals for BTM on the used method. region, age, sex. Necessity of using the harmonized measurement units for S-CTx and S-P1NP results. Lack of modern, fast and comparable methodology for FGF-23 and sclerostine measurement.
Keywords: PTH, BTM, FGF-23, sclerostine, comparability, interpretation of laboratory results.

Parathyroidní hormon - PTH

Analytické metody měření PTH mají již řadu let zásadní nedostatky bránící dosažení srovnatelnosti výsledků. Jde o nestabilitu vzorků, závislost na typu vzorku, neprovedenou, i když řadu let ohlašovanou, standardizaci metod [1]. Almond a spol. demonstrovali tyto problémy rozsáhlou studií pěti metod (kitů) výrobců Beckman Coulter, Roche Diagnostics, DiaSorin, Siemens Advia, Siemens Immulite u souboru 98 pacientů [2]. Diference mezi výsledky byly 2,8násobné a tomu odpovídala nesouhlasná klinická klasifikace u 79 % pacientů, ačkoliv údaje výrobců o hodnotách referenčních intervalů, uvedené v dokumentaci výrobců, jsou velmi podobné. Rozpaky nad důsledky problematické kvality měření PTH jsou zřejmé i z klinické interpretace PTH v draftu nové verze klinického doporučení KDIGO-MBD z roku 2016 [3].

Přestože se od doby publikace prací [1,2] mnoho analytických aspektů měření PTH změnilo, až pětinásobné diference mezi výsledky metod přetrvávaly i v roce 2016 [4]. V recentní práci [5] jsou stručně shrnuty tři skupiny problémů měření PTH. Prvním je existence dvou odlišných metod. Jde o metody, měřící 1-84 PTH bez labilních fragmentů (1-84 PTH, 3. generace) a o metody, měřící „intact" PTH (2. generace) s interferencemi nestabilních fragmentů (zejména fragmentu 7-84). Výsledky metod jsou navzájem nesrovnatelné. Přesto se již několik let paralelně udržují na trhu i v používání rutinních laboratoří a jsou dokonce výrobci, produkující obě generace metod bez ohledu na jejich nesrovnatelnost. Druhým problémem je stabilita vzorku v době mezi jeho odběrem a analýzou a diference této stability u různých typů vzorků (séra a různých druhů plasmy). Třetím problémem je neprovedená standardizace měření a tvorby referenčního systému.

PTH lze považovat za demonstraci toho, jak u velmi důležitého biomarkeru může být jeho klinická interpretace výrazně ovlivněna všemi aspekty kvality - preanalytickými, analytickými i postanalytickými, tedy stabilitou vzorku, volbou metody a volbou referenčních a rozhodovacích limitů [6].

Standardizace měření a referenční systém měření, vyřešení volby vhodného vzorku a použití vhodné metody jsou podstatné priority pro další směr při měření PTH. Stabilita vzorku klesá v řadě EDTA plasma, heparin plasma, sérum. Oddělení plasmy od elementů je nutné provést podle různých pramenů do 8 až 24 hod. Skladování plazmy je nezbytné při 4°C [7]. Informací v dokumentaci výrobců je jako obvykle málo. Stabilita vzorků u 3. generace stanovení (1-84 PTH) je údajně po odběru vzorků vyšší, než u generace druhé (intaktní PTH). Plná krev, odebraná do gelových zkumavek bez EDTA, by měla být stabilní 24 hod v chladničce. Vzorky EDTA plasmy u 3. generace metody jsou údajně stabilní osm hodin při pokojové teplotě a dva dny při 4°C [8]. Stabilita byla recentně znovu ověřena jak pro měření druhou (intact PTH), tak i třetí (1-84 PTH) generací

metod. EDTA plasma je stabilnější než sérum. Nicméně v současnosti se preferuje vzorek séra z krve, odebrané do gelových zkumavek, skladovaný při 4°C a do čtyř hodin po odběru centrifugovaný. Tento postup umožňuje současné stanovení Ca, považované za zcela nezbytné pro klinická rozhodování [9].

I mezi kity různých výrobců stejné, třetí generace (DiaSorin Liaison a Roche Diagnostics), byly zaznamenány signifikantní diference. Ty byly dány různou úrovní pracovních kalibrátorů obou metod. Po rekalibraci obou metod s použitím referenčního materiálu WHO 1-84 PTH diference vymizely a výsledky se plně harmonizovaly, staly se zaměnitelnými a poskytly totožné referenční intervaly [10].

Souberbielle a spol. navrhli prozatímní zásady tvorby referenčních intervalů PTH a interpretace výsledků před standardizací měření [11], které by na základě současných poznatků mohly představovat kroky k harmonizaci:

- používání séra, ne plasmy přes její větší stabilitu, což umožní současné sledování Ca,
- skladování krve v chladničce, centrifugace a analýza do čtyř hodin,
- ranní vzorek po nočním lačnění,
- jedinci s normální koncentrací vitaminu D pro určení referenčních intervalů,
- jedinci s normální renální funkcí pro určení referenčních intervalů,
- zohlednění závislosti na metodě měření.

Data Tabulky 1 ukazují nevhodně malou četnost používání metod 3. generace PTH a také málo propracované způsoby externího hodnocení kvality. Program SEKK - Endokrinologie nerespektuje, že mezi hodnotami kitů třetí generace jsou systematické diference a hodnotí je bez rozlišení, program RfB při hodnocení zatím vůbec nerozlišoval mezi výsledky 2. a 3. generace.

Table 1: PTH in EQA programs

Program	Parameter	CV %	n
SEKK BM 2/2016	iPTH	26.5	85
	1-84 PTH	6.3	29
SEKK E 2016	iPTH	22	464
	1-84 PTH	21	31
RfB 2016	PTH all	25	400

Markery kostního obratu – BTM (bone turnover marker)

Společné stanovisko IOF (International Osteoporosis Foundation) a Pracovní skupiny IFCC (WG – Bone markers assays) považuje S-P1NP za marker osteoformace a S-CTx za marker osteoresorpce. O jiných laboratorních markerech zde není uvažováno. Diagnostický význam BTM je omezený [12-14]. Souvislost s četností fraktur je sice statisticky významná, nicméně oba BTM jsou významné zejména ke sledování farmakoterapie poruch osteoporózy.

Markery S-P1NP a S-CTX, sledované po šesti měsících terapie bisfosfonáty, mají vykázat snížení o ≥ 30 % vůči hodnotám před zahájením léčby [15]. U rozsáhlé studie terapie zolendronátem byl pozorován roční pokles od základní linie o 26 % u S-CTx a o 17 % u S-P1NP [16]. Doporučení IOF ke sledování adherence při terapii bisfosfonáty považuje za dostatečný limit pokles od základní linie po třech měsících používání o 38 % u S-P1NP a o 56 % u S-CTx [17]. Při sledování efektu terapie se standardně nepoužívá osteokalcinu a kostní ALP.

Již delší dobu je silně pociťována potřeba standardizace BTM, ale pokrok v ní je fakticky nevýznamný a převážně zůstává v rovině záměrů a projektů [18]. Recentní práce [19] navrhuje jako počáteční minimum harmonizace tvorbu referenčních intervalů pro geografické regiony a pro metody výrobců. K obecně platným referenčním intervalům je zatím daleko (nejsou referenční metody a referenční materiály). Jako počátek harmonizace je nově navrženo vyžadování harmonizovaných jednotek měření: ng/l pro S-CTX a µg/l pro S-P1NP.

Příkladem dobře doloženého nedostatku standardizace je porovnání výsledků diagnostických kitů IDS a Roche Diagnostics pro měření S-CTx. Systematické diference mezi výsledky nativních sér pacientů jsou signifikantní, existuje vysoký bias mezi metodami. Pracovní kalibrátory testovaných metod jsou navzájem nekomutabilní [20].

V Tabulce 2 uvádíme souhrn recentně publikovaných markerů kostní remodelace. Australské referenční intervaly harmonizované použitím kitů Roche Diagnostics S-CTx a S-P1NP s důslednou harmonizací jednotek měření [21], platné pro sérum i plasmu, vykazují dobrou shodu s o něco později publikovanými hodnotami rovněž australské skupiny mužů 70-89 let [22]. U obou studií volba diagnostických kitů Roche Diagnostics eliminovala nežádoucí vliv použitých metod na hodnoty měření. K podmínkám, zvyšujícím stupeň harmonizace omezením preanalytických vlivů, patří snížení příjmu jídla a respektování diurnálních rytmů ranním odběrem. Výsledky evropské studie u souboru zdravých premenopauzálních žen ukazují závislost hodnot na použité metodě (Roche Diagnostics vs. ELISA), větší u S-CTx, menší u S-P1NP (23). Ukázkou regionální studie referenčních intervalů S-CTx a S-P1NP u vybraného souboru (španělské premenopauzální ženy) je práce [24], kde je rovněž prokázaná závislost na použité metodě (Roche Diagnostics, IDS iSYS), více u S-CTX, méně u S-P1NP). Atypicky byla prostřednictvím dotazníku na síti Facebook získána data pro určení hodnot BTM soupravami firmy Roche Diagnostics u mladých žen (16 až 25 let) s hormonální antikoncepcí [25]. Referenční intervaly v práci [26] byly získané diagnostickými kity IDS iSYS a demonstrují nejen diference vůči výsledkům měření diagnostiky Roche, ale i vliv věku a s ním spojený pokles hodnot u mužů a jejich nárůst u žen.

FGF-23, kostní ALP, sklerostin představují parametry blízké budoucnosti diagnózy a sledování kostního, elektrolytového a renálního metabolismu. FGF-23, marker metabolismu fosfátů, má při svém značném klinickém významu doposud velmi nedostatečné analytické možnosti stanovení, omezené na manuální metody ELISA. Ty obvykle vyžadují několikahodinovou inkubaci a množství vynaložené manuální práce. FGF-

Table 2: Reference intervals of BTM. S-CTx in ng/l. S-P1NP in µg/l

Parameter	Manufacturer	Population	Reference interval	Ref.
S-CTx	Roche	Men 25 - 70 year	100 - 600	21
		Men > 70 year	100 - 750	
		Women premeno	150 - 800	
		Women meno	50 - 800	
S-P1NP	Roche	Men 25 - 70 year	15 - 80	
		Men> 70 year	15 - 115	
		Women premeno	15 - 70	
		Women meno	15 - 90	
S-CTx	Roche	Men 70 - 89 year	117 - 740	22
S-P1NP	Roche		18 - 129	
S-CTx	Roche	Healthy premeno women	111 - 791	23
	ELISA		177 - 862	
S-P1NP	Roche		17 - 83	
	ELISA		19 - 75	
S-CTx	Roche	Healthy premeno women Spain	137 - 484	24
	IDS iSYS		109 - 544	
S-P1NP	Roche		23 - 63	
	IDS iSYS		22 - 65	
S-CTx	Roche	Women 16 - 25 years	230 - 1000	
S-P1NP	Roche		29 - 131	25
S-CTx	IDS iSYS	Men	120 - 830	
		Men >70 year	50 - 850	
		Women premeno	50 - 670	
		Women meno	90 - 1050	
S-P1NP	IDS iSYS	Men	31 - 79	26
		Men> 70	16 - 68	
		Women premeno	19 - 75	
		Women meno	18 - 102	

23 lze stanovit jako dva analyty s rozdílným složením, koncentrací a patrně i klinickým významem:

- intaktní FGF-23
- C-terminální FGF-23

Je jen málo informací o analytické kvalitě (a stejně tak i o kvalitě preanalytické) a ani ty nejsou povzbudivé. Existuje jen několik validních studií. Přiměřeně jsou otestovány kity Kainos, Immunotopics a Millipore [27-30]. Kit Immunotopics může stanovit jak intaktní, tak i C-terminální FGF-23, ostatní jen intaktní FGF-23. Preciznost kolem CV% = 10 odpovídá obvyklým hodnotám u ELISA metod. Diference mezi kity jsou značné, harmonizace neexistuje, zaměnitelnost výsledků různých metod je nemožná, korelace mezi metodami neexistuje. Klinické závěry různých studií jsou závislé na použité metodě a nejsou navzájem zaměnitelné [31, 32]. Preference intaktního FGF-23 vůči C-terminálnímu štěpu je výrazná. U C-terminálního FGF-23 jsou klinické závěry méně informativní, než by bylo zapotřebí. K analýze je nutné používat plasmy (EDTA, heparin), sérum použitelné není. Rozhodným obratem cesty k harmonizaci výsledků měření, nezbytné pro jeho klinickou efektivitu by měla být chvíle, kdy se na trhu objeví automatizovaná chemiluminiscenční metoda DiaSorin Liaison k měření intaktního FGF-23. V současné době jsou data této metody dostupná v dokumentaci výrobce [32] (Tabulka 3). V době pořizování publikace byly i zcela recentní publikace o FGF-23 v různých klinických situacích stále ještě založeny na datech, získaných metodou ELISA, nejčastěji kity Immunotopic (intaktní FGF-23).

Table 3: DiaSorin Liaison FGF-23 basic analytical data, obtained by 3 lots in 2 laboratories

CV%	6.7
Recovery %	94 - 102
Dilution experiment	93 - 110

Kostní alkalická fosfatáza není doporučena jako standardní marker osteoformace, ale její klinický význam u hemodialyzovaných pacientů je v poslední době často zdůrazňován. Cavalier a spol. publikovali srovnání výsledků šesti různých kitů, používaných v rutinních laboratořích (Beckman Coulter Ostase IRMA, Beckman Coulter Ostase Access, IDS iSYS Ostase, IDS iSYS ELISA, DiaSorin Ostase, Quildel Micro Vue BAP) a získali šest souborů navzájem se lišících výsledků [33]. Chybí standardizace. Korelace mezi výsledky je sice dobrá

(r = 0,922 - 0,995), ale vzorek s cílovou hodnotou 10 µg/l měřenou metodou firmy Beckman Coulter Ostase Access se při měření ostatními pěti metodami pohyboval v intervalu 7,7 až 14,7 µg/l, u cílové hodnoty 20 µg/l byl stanoven interval 16,9 až 27,9 µg/l.

Analytická situace při měření sklerostinu je velmi podobná situaci u FGF-23. Značné diference jsou zjišťovány mezi výsledky manuálních ELISA metod Teco, Biomed a RD. Další značné diference jsou pozorované mezi výsledky v séru a plasmě, minimálně o 30 % [34-36]. Korelace mezi výsledky metod jsou nízké (r = 0,21 - 0,89). Není souhlas mezi metodami, není zaměnitelnost výsledků různých metod a jejich klinickými závěry ze studií, nejsou zřejmé obecné referenční intervaly [37]. I zde lze očekávat zavedení automatizované chemiluminiscenční metody stanovení za základ rozhodujícího pokroku.

Literatura

1. **Sturgeon, C. M., Sprague, S. M., Metcalfe, W.** Variation in parathyroid hormone immunoassay results - a critical governance issue in the management of chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2011, 26, p. 3440-3445.
2. **Almond, A., Ellis, A. R., Walker, S. W.** Current parathyroid hormone immunoassays do not adequately meet the needs of patients with chronic kidney disease. *Ann. Clin. Biochem.*, 2012, 49, p. 63-67
3. **KDIGO 2016.** Clinical practice guideline update on diagnosis, evaluation, prevention and treatment of CKD-MBD. Public review draft. 2016
4. **Sturgeon, C. M., Sprague, S., Almond, A., Cavalier, E., Fraser, W. D., Schimmich-Algeciras, A.** Perspective and priorities for improvement of parathyroid hormone measurement. *Clin. Chim. Acta*, 2016, 467, p. 42-47
5. **Cavalier, E., Delanaye, P., Nyssent, L., Souberbielle, J. C.** Problems with the PTH assays. *Ann. Endocrinol.*, 2015, 76(2), p. 128-33
6. **Cavalier, E., Plebani, M., Delanaye, P., Souiberbielle, J. C.** Considerations in parathyroid hormone testing. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2015, 53, p. 1913-1919.
7. **Hanon, E. A., Sturgeon, C. M., Lamb, E. J.** Sampling and storage conditions influencing the measurement of parathyroid hormone ion blood sample. a systematic review. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2013, 51, p. 1925-1941
8. **Cavalier, E., Carlisi, A., Bekaert, A. C., Rossele, O., Chappele, O. P., Delanaye, P.** New insights on the stability of the parathyroid hormone as assayed by an automated 3 generation PTH assay. *Clin. Chim. Acta*, 2012, 413, p. 353-354
9. **Schleck, M. L., Souberbielle, J. C., Delanaye, P., Plebani, M., Cavalier, E.** Parathormone stability in hemodialyzed patients and healthy subjects:Com Ostase Access parison on non-centrifuged EDTA and serum samples with second and third generation assays. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2017, 55(8), p. 1152-1159
10. **Cavalier, E., Delanaye, P., Lukas, P., Carlisi, A., Gadisseur, R., Souberbielle, 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, 52, p. 1137-1141
11. **Souberbielle, J. C., Brazier, F., Piketty, M. L., Cormier, C., Minisola, S., Cavalier, E.** How the reference values for serum parathyroid hormone are established? *J Endocrinol. Invest.*, 2016, 40(3), p. 241-256
12. **Vasikaran, S. D., Cooper, C., Eastell, R., Griesemacher, A., Morris, H. A., Trenti, T., Kanis, J. A.** International osteoporosis Foundation and International federation of clinical chemistry and laboratory medicine position on bone marker standards in osteoporosis. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2011, 49, p. 1271-1274
13. **Vasikaran, S. D., Cooper, C., Kanis, J. A.** Recommendations for bone marker standards in osteoporosis: What, Why and where to now. *Ann. Clin. Biochem.*, 2011, p. 491-492
14. **Chubb, S. A. P., Byrnes, E., Manning, L., Golledge, J., Ebeling, P. R., Flicker, L. Yeap, B. B., Vasikaran, S. D.** Bone turnover markers: Defining a Therapeutic target. *Clin. Biochem.*, 2016, 50(3), p. 162-163
15. **Bergmann, P., Body, J., Boonen, S., Boutsen, Y., Devodelaer, J.-P., Goemaere, S. et al.** Evidence based guidelines for the use of biochemical markers of bone turnover in the selection and monitoring of bisphosphonate treatment in osteoporosis:a consensus document of the Belgian Bone Club. *Int. J Clin. Pract.*, 2009, 63, p. 19-26
16. **Delmas, P., Munoz, F., Black, D. M., Cosman, F., Bronen, S., Watts, L. B. et al.** Effect of early zalendronic acid 5 mg on bone turnover markers and relation of PINP with fracture detection in fast menopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner. Res.*, 2009, Sep 24(9), p. 1544-1551
17. **Diez-Perez, A., Naylor, K. E., Abrahamsen, B., Agnusdei, D., Brandi, M. L., Cooper, C. et al.** International Osteoporosis Foundation and European Calcified Tissue Society Working Group. Recommendation for the screening of adherence to oral bisphosphonates. *Osteoporosis Int.*, 2017, 28(3), p. 767–774
18. **Bauer, B., Krege, J., Lane, N., Leary, E., Libanati, C., Miller, P. et al.** National bone health allianze bone turnover marker project: current practices and the need for US harmonization, standardization and common reference ranges. *Osteoporosis Int.*, 2012, 23, p. 2425-2433
19. **Morris, H. A., Eastell, R., Jorgensen, L. M., Cavalier, E., Vasikaran, S. D., Chubb, S. A. et al.** Clinical usefulness of bone marker concentration in osteoporosis. *Clin. Chim. Acta*, 2017, 467, p. 34-41
20. **Chubb, S. A., Mandelt, C. B., Vasikaran, S. D.** Comparison of results from commercial assays for plasma CTx:the need for harmonization. *Clin. Biochem.*, 2015, 48, p. 519-524
21. **Vasikaran, S. D., Chubb, S. A., Ebeling, P. D., Jenkins, N., Jones, G. R., Kostowicz, M. A. et al.** Harmonized australian reference intervals for serum P1NP and CTx in adults. *Clin. Biochem. Rev.*, 2014, 35, p. 237-242.
22. **Chubb, S. A., Byrnes, E., Manning, L., Beilby, J. P., Ebeling, P. R., Vasikaran, S. D. et al.** Reference intervals for bone turnover markers and their assiciation with incident hip fractures in older men“ The health in men study *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 2015, 100, p. 90-99
23. **Eastell, R., Garnero, P., Audebert, C., Cahall, D. L.** Reference intervals of bone turnover markers in healthy premenopausal women:Results from a cross-sectional european study. *Bone* 2012, 50, p. 1141-1147
24. **Guñabares, N., Filella, X., Monegal, A., Goméz-Vaquero, C., Bonet, M., Buquet, D.** Reference intervals for bone turnover markers in Spanish premenopausal women. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2016, 54, p. 293-303
25. **Callegari, E. R., Gorelik, A., Garland, S. M., Chiang, C. Y., Wark, J. D.** Bone turnover marker reference interval in young females. *Ann. Clin. Biochem.*, 2017, 54(4), p. 438-447

26. **Michelsen, J., Walaschofski, H., Friedrich, N., Spielhangen, C., Rettig, R., Itterman, T. et al.** Reference intervals for serum concentrations of three bone turnover markers for men and women. *Bone* 2013, 57, p. 399-404
27. **Deravaj, S., Duncan-Staley, O., Jialal, I.** Evaluation of a method for fibroblast growth factor 23. A novel biomarker of adverse outcomes in patients with renal disease. *Metab. Syndr. Relat. Disord.*, 2000, 8, p. 477-482
28. **Heijboer, A. C., Levitus, M., Vervloet, M. G., Lips, P., ter Vee, P. M., Dijstelbloem, H. M., Blankenstein, A.** Determination of fibroblast growth factor 23. *Ann. Clin. Biochem.*, 2009, 46, p. 338-340
29. **Bhargava, R., Brenchley, P., Mann, M., Hutchinson, A.** Comparison of two FGF-23 ELISA kits. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2015, 30, Suppl 3
30. **Smith, E. R., McMahon, L. P., Holt, S. G.** method-specific differences in plasma fibroblast growth factor 23 measurement using four commercial ELISAs. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2013, 51, p. 1971-1981
31. **Wesseling-Perry, K.** FGF 23:Is it ready for prime time? *Clin. Chem.*, 2011, 57, p. 1476-1477
32. Příbalová informace Liaison FGF 23 (REF 318700), CS – 200/007-061, 02 – 2016 – 08.
33. **Cavalier, E., Souberbielle, J. C., Gardisseur, R., Dubois, B., Krzesinski, J. M., Delanaye, P.** Inter-method variability in bone alkaline phosphatase measurement: clinical impact on the management of dialysis patients. *Clin. Biochem.*, 2014, 47, p. 1227-1230
34. **Costa, A. C., Cremers, S., Dvorzakowski, E., Lazaretti-Castro, M., Bilezinkian, J. P.** Comparison of two commercialy available ELISAs for circulating sclerostin. *Osteoporosis Int.*, 2014, 25, p. 1547-1554.
35. **Moyses, R. M., Jamal, S. A., Geaciolli, F. G., dosReis, L. M., Elias, R. M.** Can we compare serum sclerostin results obtained with different assays in hemodialysis patients? *Int. Urol. Nephrol.*, 2015, 47, p. 847-850.
36. **Piec, I., Washbourne, C., Tang, J., Fischer, E., Greaves, J., Johnson, J., Fraser, W. D.** How accurate is your sclerostin measurement? Comparison between three commercially available sclerostin ELISA kits. *Calcif. Tissue Int.*, 2016, p. 1-10
37. **Costa, A. C., Cremers, S., Bilezikian, J. P.** Sclerostin measurement in human disease:validity and current limitations. *Bone*, 2017, 96, p. 24-28

Do redakce došlo 30. 3. 2017

Adresa pro korespondenci
RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.
Střelničná 1680
182 00 Praha 8
e-mail: friedecky@sekk.cz