

Parathyroidní hormon PTH. Klíčové informace pro potřeby externího hodnocení kvality

B. Friedecký

PTH-parathyroidní hormon (parathormon) je proteohormon, složený z 84 aminokyselin s relativní molekulovou hmotností cca 9500. Reguluje homeostázu Ca a P, stimuluje tvorbu kalcitriolu v ledvinách.

Doporučení pro sledování renálně nemocných a velká metaanalytická studie z let 2009-2011

Souhrnné informace o klinickém významu měření PTH a o jeho souvislostech s metabolismem Ca, P, s renálními funkcemi a kostním metabolismem jsou uvedeny ve všech pracovních návodech výrobců a stojí za prostudování. Jako malý bonus uvádíme citaci jednoho široce akceptovaného nefrologického doporučení pro sledování a péči o chronicky renálně nemocné. (KDIGO clinical practice guideline. *Kidney International* 2009, 76, Suppl 113). Je to doporučení k průběžnému sledování PTH, P, Ca a kostních markerů u pacientů s chronickou renální chorobou a k hodnocení výsledků sledování.

Dále stojí za zvýšenou pozornost velmi široká a poměrně recentní metaanalytická studie z časopisu *JAMA*. Doba sledování byla v intervalu let 1948-2010, zpracováno bylo 8 380 citací, 47 kohortových studií, a výsledky od 328 000 pacientů. Výsledkem je velmi obtížně doložitelná, i když z logiky věci předvídatelná souvislost mezi PTH, Ca a rizikem kardi-ovaskulárních komplikací u pacientů s chronickým renálním poškozením. Nejlépe je prokazatelná souvislost u fosfátů v séru a PTH -18 % zvýšení rizika komplikací při zvýšení P o 0,32 mmol/l. Ostatní relace byly dost nejasné (Palmer S. C., Hayen A., Macaskill P. a spol. *JAMA* 2011, 16:1119-1127).

Sledování a terapie pacientů na hemodialýze a po transplantaci

Ještě v roce 2012 zůstává často nespécifikován a nediskutován ani u velkých kohortových studií vliv metod stanovení PTH na terapii fosfátového metabolismu u dialyzovaných pacientů s použitím tří obvyklých terapeutických postupů (vitamin D, fosfátové blokátory, cinacalcet). Jako terapeuticky žádoucí efekt byl formulován pokles iPTH na hod-

notu pod 32 pmol/l, aniž se přihlédlo k možným, závislostí na použitých metodách daným diferencím. (Frazao J. M., Braun J., Messo P. a spol. *BMC Nephrol* 2012, 3:13-76)

Velmi podobná výše uvedenému závěru je i dřívější kohortová studie dialyzovaných pacientů, léčených cinacalcetem i se stejnou uvedenou cílovou hodnotou poklesu PTH pod 32 pmol/l, opět bez ohledu na metodu a její případné problémy. (Lindberg J. S., Cullebon B., Wrong G. a spol. *Am Soc Nephrol* 2005, 16:800-807)

V další studii bylo po 10 letech sledování Ca, P, eGFR a PTH u pacientů po transplantaci ledvin pozorováno několik možností změn těchto markerů v čase. Snižování P bylo souběžně se snižováním eGFR a zvyšováním Ca. Zvyšování P a Ca současně doprovázelo zlepšení eGFR (MDRD). Při současném zvyšování Ca a snižování P se horšily renální funkce. O PTH nic tak explicitního v závěrech uvedené nebylo (Hiemstra T. F., Brown A. J., Chaudry A. N., Walsh M. *Am. J. Nephrol.* 2013, 37:339-345)

Problémy analytických měření a potřeba standardizace

V poslední době se konečně začíná intenzivně sledovat kvalita a srovnatelnost samotných metod stanovení PTH a brát v úvahu důsledky analytických problémů.

Literární přehled zcela recentního původu ukazuje, že zvýšení PTH je sice ukazatelem predispozice mortality pacientů na chronickou srdeční chorobu (CVD), ale výsledky v literatuře jsou nekonzistentní. Důvody nekonzistence (nabízí se nesrovnatelnost různých metod) nejsou však explicitně formulované (Huang C., Shapses S. A., Wang X. *Endocr Pract* 2013, 19:1-19).

Dále jde práci Correale M. (*Immunopharmacol Immunotoxicol* 2012, 34:5 41-57), konstatující, že vyšetření PTH je podle znění guidelines pro chronicky renálně poškozené pacienty nezbytné, avšak z hodnocení jeho výsledků plyne potřeba standardizace k překonání velkých laboratorních problémů. Další autoři velké přehledné práce (Zidehsarai M. D., Moe S. M. *Nephrology Carlton* 2009, 14:374-382) nejen konstatují fakt, že měření PTH a 25 hydroxyvitaminu D jsou silně závislá na použité metodě, ale že pro potřeby pacientů je nutnost standardizace značná a rozhodující.

Již dlouho je znám fakt, že při stanovení PTH interferuje svou křížovou reakcí nestabilní fragment PTH 7-84. Nestabilní fragment 7-84 zkresluje hodnoty i PTH, sledované u hemodialyzovaných pacientů v důsledku jiné rychlosti své glomerulární filtrace. Autoři (Brossard J. H., Lepage R., Cardinal H. a spol.

Clin Chem 2000, 46:697-703) tvrdí že ekvivalentní hodnota i PTH u zdravých jedinců je 1,6 násobek hodnoty u pacientů na hemodialýze.

Skutečná a konstruktivní kritičnost k analytickým nedostatkům stanovení PTH je však až dílem poslední doby (Sturgeon C. H., Sprague S. H., Metcalfe W., Nephrol. Dial. Transplant. 2011, 26:3440-3445)

Doporučení lékařských expertů požadují u pacientů s chronickou ledvinovou chorobou (CKD) pravidelná vyšetření PTH. Ta se sice vyznačují špatnou srovnatelností různých metod, spojenou s rizikem chybné diagnózy, avšak lékařská doporučení to nevedou v patrnosti. Metodické difference jsou patrně nejzávažnějším problémem stanovení PTH. Je zapotřebí standardizace měření. Základním krokem je odvozování hodnot pracovních kalibrátorů z mezinárodního standardu IS 95/646. Výhledově pak vytvoření referenčního postupu na bázi hmotnostní spektrometrie.

Doporučení lékařů neberou v úvahu velké rozdíly v metodách stanovení. Bylo testováno 6 kitů. (Almond A., Elis A. R., Walker S. W. Ann. Clin. Biochem. 2012, 49:63-67.) Rozdíl mezi hodnotami pacientů byl až 4,2 násobný. Udávané hodnoty referenčních intervalů těchto kitů se však lišily jen nepatrně, jak bude z níže uvedených dat ještě dostatečně zřejmé.

1-84 PTH vs intact PTH

V současné době se vedle sebe na trhu a postupně v klinických laboratořích objevují dva zásadně odlišné přístupy k stanovení PTH. Starší, již řadu let používané stanovení je obvykle označované jako „intact“ PTH a je řazeno do 2. generace metod. Nově se objevuje 3. generace metod, značená poněkud nešťastně jako 1-84 PTH nebo alternativně jako „biointact“ PTH. Zcela zásadním rozdílem je, že metody 1-84 TH (biointact) používají specifičtější reagenční protilátky, a proto by neměly být zatíženy křížovými reakcemi nestabilních fragmentů, zejména pak fragmentu 7-84 PTH. Výsledkem je předpokládaná vyšší analytická a následně i klinická specifita. V žádném případě se však nejedná o dva různé analyty, ale o dvě různé metody.

V momentě tvorby této informace bylo v literatuře nalezeno velmi omezené kvantum příslušných analytických informací. Srovnání 1-84 Elecsys s intact PTH Architect, Beckman Access, Siemens Advia, Vitros ukázalo jen veliké číselné difference u vzorků pacientů, čili nesrovnatelnost výsledků, přesto statisticky korelujících a získané informace jsou zcela prozatímní (Tan K., Ong L., Sethi S. K., Saco S. Clin. Biochem. 2013, 4, Epub).

Něco podobného lze říci i o druhé práci Gruson D., Lepoutre T., Ahn S. A. a spol. Clin. Biochem. 2013, 46:391-394.) Statisticky výsledky korelují, „bioaktivní (1-84) metoda poskytuje nižší výsledky (specifičtější stanovení), než paralelně hodnocená metoda „intact“ PTH, klinicky a prognosticky jsou však výsledky málo srovnatelné.

Základní informace o diagnostických soupravách-současný stav na trhu a v laboratořích účastníků programů EHK

Siemens Intact (2. generace) Immulite + Immulite 2000 (shodný návod)

Siemens Advia Centaur Intact PTH (2. generace) -poskytuje rozdílné hodnoty od Immulite

Beckman Immunotech intact (2. generace), metoda IRMA

Beckman Access intact (2. generace), rutinní varianta 30 minut, inoperativní varianta 15 minut

Abbott Architect intact PTH (2. generace)

Diasorin PTH 1-84 (bioaktiv), bez zkrřížené reakce s fragmentem 7-84. Na trhu je pouze tato nová metoda

Roche PTH intact (2. generace) s možností aplikace na Elecsys, Modular Cobas e411. e601, e602

Roche PTH STAT, intact (2. generace), verze se zkrácenou dobou reakce na polovinu, určená pro inoperativní stanovení

Roche 1-84 PTH (bioreaktivní) bez interference fragmentu 7-84. Na trhu a v užívání současně všechny uvedené varianty

V tomto okamžiku pouze firma DiaSorin údajně důsledně přešla na produkci a dodávky 1-84 PTH 3. generace. Ostatní firmy setrvávají u intaktního PTH (2. generace) a firma Roche má na trhu obě metody, aniž by její uživatelé schopni mezi nimi správně rozlišovat.

Referenční intervaly

Metoda	RI pmol/l
Siemens intact Immulite	1,7-9,2 plazma
	1,2-7,1 sérum
Siemens Advia Centaur intact	1,2-8,5 plazma
Roche intact	1,6-6,9
Roche STAT (intact)	1,6- 6,9
Roche 1-84 (bioactive)	1,6-6,0
Beckman IRMA	1,1-6,9
Abbott Architect intact	1,6-7,2
Beckman Access	1,3-9,3

Metoda	RI pmol/l
Diasorin 1-84 (bioactiv)	0,5-6,2 sérum
	0,4-6,05 plazma

Inoperativní hodnoty

Podle obecně uznávaných kritérií je pro úspěch operace nutný pokles PTH o $\geq 50\%$ v době 5-10 minut po resekcii příštítných tělísek.

Požadavky na kvalitu

Preciznost a systematické difference, odvozené z hodnot biologických variací (Viljonen A., Singh D. K., Tworney P. J., Farrington K. Chem. Lab. Med. 2008, 46: 1438-1442)

CV % max 6,0

b % max 12,0

RCV % 72,0

Hodnoty z databáze www.westgard.com (stav k 13. 4. 2013)

Preciznost CV % max 13,0

Bias b % max 8,8 %

D % max 30,2

Externí hodnocení kvality

SEKK

Funguje od roku 2008 v cyklu BM, od roku 2013 také v cyklu E2, společném s německým programem RfB

RfB

od roku 2011 v programu HP (Hormonbestimmung 2)

Reprodukovatelnost:

BM SEKK 2011-2013 24-37,4 %
uvnitř skupin však většinou pod 10 %

E21/13 SEKK 24,1 %
uvnitř skupin 7,5 (Advia) -21,4 (Dia Sorin)

RfB 2011-2013 24-35 %

Celková reprodukovatelnost vcelku odpovídá požadavkům, uveřejněným na www.westgard.com. Reprodukovatelnost uvnitř skupin však jen zřídka dosahuje požadované hodnoty 6 %.

Zatím není pozorován žádný významný posuv v reprodukovatelnosti vlivem nové metody 1-84 PTH (asi dáno malým počtem používání).

Drtivá většina účastníků využívá chemiluminiscenčních metod (HP 1/11 RfB 98 % a HP1/13 RfB aké 98 %)

Pokus o případné vyhodnocení podle použité metody (intaktní a 1-84 PTH zvlášť), provedený

v cyklu BM1/13 SEKK neuspěl na neinformovanosti účastníků, jejichž řazení do skupin bylo často chybné. Doufáme, že tato informační publikace zlepší orientaci laboratoří. Je však třeba pečlivě sledovat další vývoj v metodách, především další očekávané zařazování metod 1-84 PTH, sledovat firemní informace a také je aktivně vyžadovat.

Pracovní skupina IFCC pro parathyroidní hormon (www.ifcc.org) -plán činnosti

- Implementace referenčního materiálu IS 95/646 do rutinní metodologie
- Formulace referenčních skupin pro stanovení referenčních intervalů
- Referenční postup stanovení 1-84 PTH
- Optimalizace preanalytických procesů (plazma/sérum, stabilita vzorků)
- Kritičnost k soudobým rutinním metodám
- Standardizace zejména s přihlédnutím ke kritické skupině renálních pacientů

Zamýšlení nad standardizací a možnostmi EHK

Lze očekávat, že klinické laboratoře a výrobci budou vyžadovat, aby byla hodnocení PTH prováděna v ještě větší závislosti na metodě. Zatím byly výsledky hodnoceny v rámci metodických skupin, nyní lze očekávat ještě navíc požadavek na hodnocení i v rámci podskupin výrobců podle generace metody (intact PTH vs 1-84 PTH).

Protože je však nevyvratitelnou skutečností, že metody měření PTH jsou analyticky nedokonalé a že nezbytně vyžadují standardizaci, je fakticky výše uvedený požadavek v rozporu s potřebami medicíny a pacientů, protože stav analytické nedokonalosti pomáhá udržovat a sankcionovat. Na druhé straně nelze po dlouholetých zkušenostech očekávat žádný rychlý postup standardizace. Minimálním požadavkem na strategii a politiku výrobců by mělo být používání jediné metody stanovení, buď intaktní nebo 1-84. Zatím je situace taková, že většina firem používá starší stanovení, „intaktního“ PTH a firma DiaSorin (podle osobního sdělení) plně přešla na metodu měření „bioaktivního“ 1-84 PTH. Výroba a používání obou postupů by měla být realizována nanejvýš po předem určenou, nepřilíši dlouhou přechodnou dobu. Nelze jednoznačně klást obchodní zájmy před zájmy medicíny a pacientů.

Poděkování patří zaměstnancům firem, Abbott, Beckman Coulter, DiaSorin, Immunotech, Roche, Siemens za rychlé poskytnutí základních informací. Podrobnější informace, v textu použité, lze snadno vyhledat pomocí databáze Pubmed. Úplné názvy citací jsou u autora.