

# Úvodní studie měření FGF 23 metodou LIAISON FGF 23

Friedecký B.<sup>1</sup>, Vávrová J.<sup>1</sup>, Pavlíková L.<sup>1</sup>, Dusilová Sulková S.<sup>2</sup>, Palička V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ÚKBD, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

<sup>2</sup>Hemodialyzační středisko, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

## SOUHRN

**Cíl:** Stanovení diferencí výsledků měření intaktního FGF 23 v séru, EDTA plazmě a heparinové plazmě.

**Metoda:** Automatizovaná metoda LIAISON FGF 23 firmy DiaSorin. Vzorky jedinců bez chronické ledvinové choroby, pacientů na hemodialýze a pacientů po transplantaci ledvin.

**Výsledky:** Hodnoty FGF 23 v séru jsou v průměru 3x nižší, než v plazmě. Hodnoty FGF 23 v EDTA a heparinové plazmě jsou srovnatelné. Hodnoty fosfátů jsou srovnatelné v séru, EDTA a heparinové plazmě. Ve vzorcích EDTA plazmy nelze stanovit Ca fotometrickými metodami. Hodnoty FGF 23 u pacientů na hemodialýze jsou téměř vždy nad horní hranicí referenčního intervalu, často až o dva řády vyšší a pohybují se ve velmi širokém intervalu. U pacientů po transplantaci mělo téměř 50 % pacientů výsledky FGF 23 nad horní hranicí referenčního intervalu.

**Diskuse:** Alternativně lze použít ke stanovení FGF 23 metodou DiaSorin EDTA a heparinové plazmy. Při použití EDTA plazmy podle doporučení výrobce není možné současné stanovení Ca z jednoho vzorku, při použití heparinové plazmy by to možné bylo.

**Klíčová slova:** FGF 23, sérum, EDTA plazma, Li-heparinová plazma.

## SUMMARY

**Friedecký B., Vávrová J., Pavlíková L., Dusilová Sulková S., Palička V.: Initial study of FGF 23 measurement by LIAISON FGF 23 method**

**Objectives:** Differences in measurement of FGF 23 in serum, EDTA plasma and heparin plasma

**Method:** Fully automated measurement of intact FGF 23 by DiaSorin LIAISON FGF 23 method. The samples of serum, EDTA plasma and heparin plasma were used.

**Results:** Serum values of FGF 23 are ca 3 times lower than EDTA and heparin plasma. Values in EDTA and heparin plasma are comparable. Phosphate values are comparable in serum and both plasma samples, but Ca values cannot be determined by photometric method in EDTA plasma. In hemodialyzed patients are all results higher than upper reference limit, often on 2-3 times higher numerical order and in very wide range. Patients after transplantation had in approximately 50 % cases FGF 23 values above upper reference limit.

**Discussion:** There is possible to use for FGF 23 measurement alternatively EDTA or heparin plasma samples. Using of EDTA plasma samples, recommended by producer requires separately collected sample for Ca measurement.

**Keywords:** FGF 23, serum, EDTA plasma, heparin plasma.

## Úvod

Biologie a patofyziologie fibroblast růstového faktoru FGF 23 jsou předmětem intenzivního studia souvisejícího s jeho zásadním významem pro ledvinové funkce a pro kostní metabolismus [1]. Produkce FGF 23 v osteocytech a osteoblastech je podmíněna činností membránového proteinu KLOTHO. Cílovou oblastí osy klotho/FGF 23 jsou proximální ledvinové tubuly. Regulační účinky vlivem této osy jsou zprostředkovány inhibicí kalcitriolu, expresí Na/K kotransportérů, vlivem na hladiny PTH a fosfátů. Podrobně je pojednáno o biologii a patobiologii FGF 23 například v práci [2].

## Materiál a metoda

Ke studii byla použita nová metoda plně automatizovaného stanovení FGF 23 (fibroblast growth factor) chemiluminiscenční imunoanalýzou (CLIA) s využitím diagnostické soupravy LIAISON® FGF 23 firmy DiaSorin, recentně testovaná autory práce [3]. U pacien-

tů bez CKD (chronické ledvinové nemoci) a pacientů na hemodialýze byly paralelně analyzovány vzorky sér, EDTA plazmy a Li-heparinové plazmy. K hodnocení bylo použito výsledků souboru 20 pacientů bez CKD s hodnotami eGFR > 1 ml/s/1,73 m<sup>2</sup>, 115 pacientů na hemodialýze a 47 pacientů po transplantaci ledvin.

## Výsledky

Preciznost (reprodukovatelnost) měření byla stanovena analýzou kontrolních materiálů soupravy LIAISON® FGF 23 firmy DiaSorin. Byly zjištěny hodnoty CV % 5,8 % pro koncentrace kolem 240 ng/l a 6,7 % pro koncentrace kolem 550 ng/l. Souberbielle a spol. uvádějí hodnoty CV % v intervalu 4 - 6,1 % [3].

Výsledky jsou sumarizovány v tabulkách 1 až 3. Tabulka 1 ukazuje, že naměřené hodnoty v plazmě jsou několikanásobně vyšší než v séru a že výsledky v EDTA a heparinové plazmě (heparinát lithný) nejsou významně rozdílné. EDTA plazma, doporučovaná dodavatelem DiaSorin neumožní paralelní měření koncentrace

Ca fotometrickými metodami. Nevýznamné difference byly zaznamenány u Ca a P u séra a heparinové plazmy. Horní hranice referenčního intervalu v práci [3] byla stanovena na 93 ng/l.

Z údajů v tabulce 2 je zřejmé, že nebyly zjištěny významné difference mezi výsledky EDTA a heparinové plazmy při měření FGF 23 ani u pacientů bez chronické renální choroby (CKD), ani u pacientů na hemodialýze.

Tabulka 3 ukazuje difference velikosti jednoho až dvou řádů mezi hodnotami FGF 23 u pacientů na hemodialýze a také po transplantaci ledvin. Zatímco u pacientů na hemodialýze byl zjištěn pouze jeden výsledek (0,9 %) s hodnotou FGF 23 pod horní mez referenčního intervalu 93 ng/l, u pacientů po transplantaci jich bylo 55 %. Podrobnější klinické analýze této difference bude jistě vhodné v budoucnosti věnovat pozornost. V tabulce jsou uvedeny i hodnoty Ca a P, přičemž u pacientů na HD je podle očekávání pozorovatelný trend k hypokalcemii a hyperfosfatemii a u pacientů po transplantaci trend k normalizaci výsledků Ca a P.

## Diskuse

Problém metod ELISA pro měření FGF 23 spočívá zejména v jejich nesrovnatelnosti a taky v rozdílech mezi samotnými měřeními analyty, tedy v tom, zda se měří intaktní (biologicky aktivní) FGF 23 nebo c-terminální (biologicky neaktivní) FGF 23 [4,5]. Nesrovnatelnost

dat získaných různými metodami je příčinou velkých rozpaků a velmi omezené upotřebitelnosti v diagnostice a terapii. Poslední doporučení KDIGO – BMD z roku 2017 [6] zatím neuvádí žádné zásadní údaje o FGF 23, ale pouze okrajové zmínky o jeho použití v posouzení metabolismu P a Ca.

Základními laboratorními nástroji diagnózy a terapie CKD - BMD jsou měření Ca, P a PTH. Další doplňkové pak vitamin D, kalcitriol a až v blízké budoucnosti patrně i intaktní FGF 23. To předpokládá plně automatizovanou a harmonizovanou metodu a také volbu správného typu vzorku. Výrobce navržený vzorek EDTA plazma má problém s paralelním stanovením Ca. Z posledních deseti recentních prací, nalezených na Medline v roce 2017, devět používalo k měření séra, které se ukazuje v podstatě pro měření FGF jako materiál nevhodný, poskytující velmi nízké výsledky.

Zatímco metoda pro stanovení intaktního FGF 23 je již k dispozici díky systému DiaSorin Liaison, nad maticí vzorků k analýze mohou být ještě otázky. Sérum se nezdá být vhodné, protože jeho výsledky jsou s plazmou zcela neporovnatelné a z hlediska dlouhodobého skladování a stability je méně vhodné než plazma. EDTA plazma neumožní paralelní měření Ca. Heparinová plazma se nabízí jako možná alternativa, umožňující paralelní analýzu FGF 23, Ca, P a také PTH [7], což je výhodné z hlediska diagnostiky a terapie chronické ledvinové choroby (CKD) a poruch elektrolytů (MBD).

**Table 1:** Calcium, phosphates and FGF 23 in non CKD subjects in serum, EDTA and heparin plasma

		Mean ± 2 SD	2.5 - 97.5 percentile
EDTA plasma	FGF 23 (ng/l)	55 ± 27	33 - 81
	Ca (mmol/l)	***	***
	P <sub>inorg</sub> (mmol/l)	1.06 ± 0.16	0.8 - 1.43
Heparin plasma	FGF 23 (ng/l)	54 ± 27	32 - 82
	Ca (mmol/l)	2.38 ± 0.18	2.23 - 2.52
	P <sub>inorg</sub> (mmol/l)	1.08 ± 0.34	0.82 - 1.42
Serum	FGF 23 (ng/l)	18 ± 9	11 - 26
	Ca (mmol/l)	2.46 ± 0.26	2.15 - 2.56
	P <sub>inorg</sub> (mmol/l)	1.17 ± 0.4	0.82 - 1.57

\*\*\* not possible measurement

**Table 2:** Comparison of results of FGF 23 obtained by using EDTA and heparin plasma

Number of samples	36
Concentration interval	30-3900 ng/L
Regression equation	y (EDTA)= -1.73 + 1.078 x (heparin)
Correlation	r <sup>2</sup> = 0.998
Bland Altman (difference ± 95% CI)	+4.5% (-5.5 – 14.4 %)

**Table 3:** Typical values of FGF 23 in patients with chronic kidney diseases, obtained by DiaSorin Liaison automated measurement.

Group	number of subjects	Observed values of FGF23 (ng/l)	Calcium (mmol/l) Mean ± 2 SD	Phosphates (mmol/l) Mean ± 2 SD
Hemodialysis	115	50 / > 5000	2.14 ± 0.40	1.77 ± 0.90
After transplantation	47	34 / > 5000	2.47 ± 0.30	1.05 ± 0.53

## Závěr

Popsaná metoda měří intaktní FGF 23, vyznačuje se dobrou precizností. Zásadním problémem je harmonizace biologického materiálu. Z pohledu předpokládaného spektra vyšetření u pacientů s CKD-MBD se jeví vhodnější používání plazmy. Výrobce doporučuje EDTA plazmu, nám se jeví výhodnější možnost použití Li-heparinové plazmy. V literatuře jsme nenalezli důvod diferencí mezi sérem a plazmou.

## Literatura

1. **Lu, X., Hu, M. C.** Klotho/FGF 23 axis in chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Dis (Basel)*, 2017, 3, p. 15-23
2. **Courbebaise, N., Lanske, B.** Biology of fibroblast growth factor 23: From physiology to pathology. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2017, doi: 0.1101/csperspect.a031260.
3. **Souberbielle, J. C., Prié, D., Piketty, M. L., Rotherbuhler, A., Delanghe, P., Chanson, P., Cavalier, E.** Evaluation a fully automated assay for plasma intact FGF 23. *Calcif Tissue Int.*, doi:10.1007/s00223-017-0307-y)
4. **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

5. **Friedecký, B., Vávrová, J.** Harmonizace stanovení kostních markerů. Analytické minireview. *Klinická Biochemie a Metabolismus. Klin. Biochem. Metab.*, 25 (46), 2017, No. 4, p. 162-166
6. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the diagnosis, evaluation, prevention and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (MBD). *Kidney International supplements*, 2017, 7, p. 1-59.
7. **Schleck, M. L., Souberbille, J. C., Delanaye, P., Plebani, M., Cavalier, E.** Parathormon stability in hemodialyzed patients and healthy subjects: Comparison on centrifuged EDTA and serum samples with second and third generation assays. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2017, 55, p. 1152-1159.

*Střet zájmů: Autoři prohlašují, že nejsou ve střetu zájmů.*

*Podpořeno MZ ČR - RVO (FNHK, 00179906).*

Do redakce došlo 18. 10. 2017

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