

Kronik Böbrek Hastalarında Paratiroid Hormon Ölçüm Sonuçlarına Etki Eden Faktörler

The Factors Affecting Parathyroid Hormone Measurement Results in Chronic Kidney Disease

Buket Kın Tekçe

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Bolu

ÖZET

Paratiroid hormon (PTH) paratiroid bezden sekrete edilen polipeptid yapıda bir hormondur. PTH serum kalsiyum ve fosfor dengesinin düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Kronik böbrek hastalığı (KBH) olan kişilerde böbrek fonksiyonlarındaki azalmaya bağlı olarak kalsiyum ve fosfor dengesi bozulur. Mineral dengesindeki bu bozulma PTH düzeyinde artışa yol açar. KBH' da PTH ve mineral dengesindeki bozuklukla giden geniş spektrumlu klinik patolojilere kronik böbrek hastalığının mineral ve kemik bozukluğu (KBH-MKB) adı verilir. KBH-MKB'nun takibinde paratiroid hormon kullanılır. Ancak yapılan çalışmalar PTH sonuçları arasında standardizasyonun olmadığını göstermiştir. PTH sonucunda farklılıklara yol açan nedenler arasında kullanılan metotların farklılığı, serumda bulunan PTH yıkım ürünleri, kişinin Vitamin D durumu, ısı, numune alma ve işlemeye yönelik faktörler sayılabilir. PTH ölçümlerinde sayılan bu faktörlerin standardize edilmesine ihtiyaç vardır. Ayrıca ölçüm yapılan yönteme özgü klinik karar limitlerinin belirlenmesi gerekmektedir. Bunlara ek olarak; PTH ölçüm sonuçları rapor edilirken ölçüm yapılan yöntem, numune alma ve işleme ile ilgili faktörler ve doğru bir referans aralık sonuç raporunda belirtilmelidir. Bu şekilde sonuçların yorumlanmasına ek katkı sağlanabilir. Bu yazıda kronik böbrek hastalarında paratiroid hormon ölçüm sonucunu hastanın kliniği haricinde etkileyecek faktörler irdelenmiş ve PTH ölçüm sonuçlarında değişkenliklere yol açabilecek faktörlerle ilgili güncel bilgi sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Paratiroid Hormon, Kronik Böbrek Hastalığı, Mineral Kemik Bozukluğu

ABSTRACT

Parathyroid hormone (PTH) is a polypeptide hormone produced and secreted by parathyroid glands, which plays a central role in calcium-phosphorus homeostasis. Calcium and phosphorus metabolism deteriorates in patients with chronic kidney disease (CKD) as a consequence of impairment in renal function. Deterioration in renal functions lead to an increase in serum PTH levels. Wide clinical spectrum pathologies of PTH and mineral metabolism disorders occurred in CKD is so called mineral and bone disorder of CKD (CKD-MBD). CKD-MBD is diagnosed and followed up by measurement of serum PTH. However, PTH assays are not been standardized. Causes of variations in PTH measurements include different methods, PTH derived products in serum, vitamin D level, heat, factors contributing sample obtaining and processing. Therefore, there is need for standardization of PTH measurements. Also assay-specific decision limits are required. The clinical laboratories must inform nephrologists of the actual assay method in use and report any change in methods, sample source, and handling specifications to facilitate an appropriate interpretation of biochemistry data. It clearly shows a large variability among PTH measurement kits and potential limits of this measure. Moreover, the report must indicate the correct reference values. This paper summarizes the current state regarding the PTH measurement in CKD.

Key words: Parathyroid Hormone, Chronic Kidney Disease, Mineral Bone Disorder

İletişim (Correspondence):

Yard. Doç Dr. Buket Kın Tekçe / Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Bolu
Tel: 03742534656(3065) / E-mail: btekce@yahoo.com

GİRİŞ

Paratiroid Hormon (PTH) paratiroid bezden sentezlenip dolaşıma salınan peptid yapıda bir hormondur (1). Başlıca etkisi serum kalsiyum homeostazisinin sağlanması ve kemiğin yeniden yapılanmasının düzenlenmesidir. Kronik böbrek hastalığı (KBH) olan kişilerde serum kalsiyum ve fosfor homeostazisinin bozulması sonucunda kronik böbrek hastalığının kemik ve mineral bozukluğu (KBH-MKB) başlığı altında toplanan klinik tablo kendini gösterir. Serum PTH düzeyleri; KBH-MKB' nun takibinde ve tedavisinin yönlendirilmesinde kullanılır (2). Ancak ne yazık ki PTH ölçüm yöntemleri arasında standardizasyonun olmaması başta olmak üzere birçok faktör bu analitin takip ve tedavideki etkinliğini azaltır (3-6). Bu yazının amacı özellikle KBH olan kişilerde PTH ölçümlerinde değişkenliğe yol açan ve literatüre geçen faktörleri ortaya koymaktır.

1- Paratiroid hormon nedir?

Paratiroid hormon paratiroid bezde öncelikle 115 aminoasitlik preproparatiroid hormon olarak sentezlenir (1). Hormonun "pre" ve "pro" kısmı golgi aygıtında yıkılır ve kalan 84 aminoasitlik kısmı sekretuar granüllerde sekrete edilmek üzere depolanır. Bu şekilde 1-84 aminoasit içeren biyolojik olarak aktif hormon "intakt PTH" olarak isimlendirilir. İntakt PTH' in bir kısmı hücre içinde yıkıma uğrayarak N terminal ve C terminal parçalara ayrılır. Paratiroid bezden çoğunlukla intakt PTH az miktar da N terminal ve C terminal parçalar sekrete edilir. (7).

Paratiroid hormon salınımını kontrol eden başlıca faktör serum iyonize kalsiyum konsantrasyonudur (8). Paratiroid bez üzerindeki kalsiyumu tanıyan reseptörler serum iyonize kalsiyum düzeyinin düşmesi ile uyarılmaktadır (9). Bu reseptörlerin uyarılması ile PTH sentezi ve sekresyonu artırılmakta aynı zamanda paratiroid hücre proliferasyonu uyarılmaktadır. PTH sekresyonunu üzerinde serum iyonize kalsiyumun düzeyinin yanısıra 1,25 dihidroksi vitamin D ve fosfat düzeyi de etkilidir. 1,25 dihidroksi vitamin D düzeylerindeki artış PTH sekresyonunu baskılayarak

fosfat düzeylerinde artış PTH sekresyonunu uyarıcı etki göstermektedir (10, 11).

PTH sekrete edildikten sonra böbrek ve kemikte bulunan reseptörleri aracılığı ile etkisini gösterir (1). PTH'ın böbrek üzerindeki etkilerinin ilki böbrekte D vitamininin aktif formu olan 1,25 dihidroksi vitamin D oluşumunu artırmasıdır (11). İkinci etkisi böbrekte distal kıvrımlı tubullerde kalsiyumun aktif reabsorbsiyonu artırmaktır. Üçüncü etkisi ise proksimal kıvrımlı tubullerden fosfatın reabsorbsiyonunu azaltmaktır (1). PTH' in kemik üzerindeki etkileri biraz daha komplekstir (12). PTH hem kemik yapımına hem de kemik yıkımına yol açabilir. Bu etkinin hangi yönde olacağını serum PTH konsantrasyonu ve PTH'a maruziyet süresi belirler. PTH' in kemik üzerindeki rezorbsiyon etkisini araştırmak amacıyla yapılan çalışmalarda osteoklastlar üzerinde PTH reseptörü gösterilememiştir. Kemikte PTH reseptörü osteoblastlar ve kemik iliği stromal hücreleri üzerinde gösterilmiştir. Kemikte PTH osteoblastlar üzerindeki reseptörlerine bağlandığı zaman osteoblastlar çeşitli sitokinler aracılığı ile osteoklastları etkiler. Bu etki sonucunda kemik yıkımı artar ve kemikten kalsiyum serbestleşir (13). PTH' in osteoblastları uarması ile aynı zamanda kemik yapım süreci başlar. PTH' in bu birbirine zıt 2 etkiyi nasıl gerçekleştirdiğini anlayabilmek için yapılan çalışmalarda PTH' in devamlı infüzyonunun kemik kaybına neden olurken; aralıklı PTH infüzyonunun kemik oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir. İşte bu yüzden PTH' in kemik üzerindeki bu çift yönlü metabolik etkisi "İki Ucu Keskin Kılıç"a benzetilmiştir(14).

Paratiroid bezden salınan biyolojik olarak aktif 1-84 aminoasitlik polipeptitin dolaşımdaki yarılanma ömrü 5 dakikadan azdır. PTH bilinen biyolojik etkilerini N terminal üçte birlik kısmı ile göstermektedir (1, 12). İntakt PTH dolaşımda başlıca karaciğer kupfer hücrelerinde (%60-70) ve böbrekte (%20-30) metabolize edilir. Bunun sonucunda N terminal (orta bölgeyi de içeren) parça ve C terminal parça dolaşıma salınır. Böylelikle dolaşımda intakt PTH haricinde N ve C

terminal parçalarda bulunur. Dolaşımda bunlar dışında birçok farklı PTH parçalarının bulunduğu gösterilmiştir (15, 16). Serumdaki C terminal parçaların yarılanma ömrü intakt PTH' a oranla 5-10 kat daha fazladır. Normal kişilerde ölçüm yöntemleri ile saptanan dolaşımdaki PTH moleküllerinin %80'i bu formlardır (17, 18). Böbrek hastalarında bu yıkım ürünlerinin böbrekten klirensi bozulduğundan dolaşımdaki oranı %95'lere ulaşır(19). C terminal parçalardan biri olan PTH 7-84 özellikle KBH' da artış gösteren bir formdur (20). Bu formun PTH etkilerini antagonize eden etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Sözü edilen tüm PTH parçaları günlük pratikte kullanılan farklı ölçüm yöntemleri ile farklı etkileşimler gösterirler.

2- Paratiroid hormon nasıl ölçülür?

İlk paratiroid hormon ölçüm yöntemi 1963 yılında Berson ve arkadaşları tarafından bulunmuş ve klinik kullanıma sunulmuştur (21). Radioimmünoassay ölçüm yönteminin kullanıldığı bu yöntemde, PTH' un C terminaline veya orta bölgesine yönelik tek antikor kullanılmaktaydı. Yukarıda bahsedilen serumda bulunan farklı C terminal fraksiyonlarla etkileşimden dolayı bu ölçüm ile elde edilen sonuçlar yeterli klinik fayda sağlayamamıştır (20). Bu sorunu çözebilmek amacıyla PTH' un iki farklı bölgesi için geliştirilmiş antikorların kullanıldığı ikinci jenerasyon ölçüm yöntemleri geliştirilmiştir (22). Bu antikorların biri PTH' un N terminal orta bölgesini tanıırken diğeri C terminal bölgesini tanımaktadır. Bu ölçüm yöntemiyle sadece biyolojik aktif olan 1-84 PTH molekülünün saptanması hedeflenmiş ve bu ölçüm yöntemleri "intakt PTH" olarak isimlendirilmiştir. Bu yöntemlerle serumda bulunan C terminal parçalarla etkileşim ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır. Bu jenerasyon ölçüm yöntemleri ile hem primer hiperparatiroidi hem de sekonder hiperparatiroidinin izlenmesinde klinik açıdan kullanışlı bilgiler elde edilmiştir (15). Buna karşılık bu ölçüm yöntemlerinin N terminal parçası kesilmiş PTH fraksiyonlarından (7-84 PTH gibi) etkilendiği gösterilmiştir (23). Bunun üzerine geliştirilen 3. Jenerasyon ölçüm yöntemlerinde kullanılan

antikorlardan biri özellikle PTHın ilk 4-6 aminoasitini hedeflemektedir (24). Bu yeni jenerasyon ölçüm yöntemleri "biointakt PTH" olarak isimlendirilmiştir ve PTH için daha spesifik olduğu düşünülmektedir. Teorik olarak bu ölçüm yöntemi ile klinik açıdan daha iyi sonuçların elde edilmesi beklenirken ne yazık ki yapılan çalışmalar 2. Jenerasyon ölçüm yöntemlerine bir üstünlüğü olduğunu gösterememiştir (2). Bu nedenle KBH-MKB'nun takibinde kullanılan uluslararası klavuzlar halen intakt paratiroid hormon ölçümünün kullanımını tavsiye etmektedir.

Hem intakt PTH hem de biointakt PTH ölçümünde kullanılan immüno metrik yöntemlerde molekülün farklı bölgelerine karşı geliştirilmiş farklı antikorlar kullanılmaktadır (25). PTH' a karşı yüksek afiniteli monoklonal antikor üretmek zordur. Her bir üretici tarafından üretilen antikorun PTH' a karşı olan afinitesi farklıdır. PTH ölçüm yöntemlerinin PTH için farklı duyarlılıkta antikor kullanıyor olması nedeniyle farklı yöntemler ile elde edilen sonuçlar bir diğerinden farklı olmaktadır. PTH ölçüm yöntemleri arasında % - 45' ten % 123'e varan bias olduğu gösterilmiştir (4). Bir diğer çalışmada ölçüm yöntemleri arasında 4.2 kata varan farklılıklar olduğu gösterilmiştir (5). Farklı PTH ölçüm yöntemleri ile elde edilen PTH sonuçları KBH-MKB olan kişilerin takibi ve tedavisinde tanışal bir karmaşaya yol açmaktadır. Bu açıdan PTH ölçümleri için uluslararası boyutta bir standardizasyonun sağlanması özellikle önem taşımaktadır (24).

3- Paratiroid hormon analizini etkileyen faktörler nelerdir?

a. Analiz öncesi değişkenlere bağlı faktörler

i. **PTH' un yarılanma ömrü:** PTH' un özellikle aktif formunun yarılanma ömrü çok kısadır (26). Bu nedenle örnek alındıktan sonra çok kısa bir süre içinde ölçüm gerçekleştirilmeli veya örnek dondurulmalıdır.

ii. **Örnek çeşidi:** Serum veya plazma tercih edilir. EDTA kullanılarak elde edilen plazma örneklerinde

PTH' un örnekteki stabilitesinin daha uzun olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur (27-29). Farklı bir çalışmada günümüzde kullanılan 6 ticari ölçüm yöntemi ile serum ve EDTA' lı örnekler karşılaştırılmıştır. PTH düzeyi bazı ölçüm yöntemlerinde plazmada yüksek bulunurken bazı ölçüm yöntemlerinde serumda yüksek bulunmuştur (30). Bu nedenle her bir laboratuvar ölçüm yaptığı örnek tipinin tüm hastalar için aynı olmasına özen göstermeli hatta mümkünse örnek tipi sonuçla birlikte rapor edilmelidir. Buna ek olarak kullanılan referans aralığının da hangi örnek çeşidi kullanılarak belirlendiği bilinmelidir.

iii. Kanın alındığı yerin etkisi: Venöz kan örnekleri genellikle antekübital bölgeden alınır. Ancak santral venöz kateteri olan diyaliz hastalarından örnekleme buradan yapılabilmektedir. Hemodiyaliz hastalarında santral venöz kateterden alınan kandaki PTH konsantrasyonunun antekübital bölgeden alınana göre %30 daha yüksek olduğu gösterilmiştir (31).

iv. Örnek alınma zamanının etkisi: PTH konsantrasyonunda kışın artma yazın ise azalma ortaya çıkmaktadır (32, 33). Bu farklılığın Vitamin D'nin mevsimsel değişimine bağlı olduğu düşünülmektedir (34). PTH üzerinde bulunulan enlem bölgesinin etkisi de vardır. Bunun haricinde PTH'ın diurnal varyasyonunun olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (35). Kanın tam olarak hangi saatte alınması gerektiği ile ilgili bir fikir birliği olmasa da 10:00 ile 16:00 saatleri arasında alınması tavsiye edilmektedir (36).

b. Analitik değişkenler: PTH' un dolaşımda birçok farklı fragman halinde bulunması ve PTH ölçümünde kullanılan yöntemlerin her birinin PTH' a karşı farklı duyarlılıkta antikörler içermesi ölçüm sonuçlarında farklılıklara yol açar. IFCC (The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) PTH ölçümlerinde standardizasyonu sağlamak amacıyla bir çalışma grubu oluşturmuştur (37). Bu grup tarafından PTH için uluslararası bir standardın yanısıra referans ölçüm prosedürü geliştirilmiştir. Buna ek olarak

dünya sağlık örgütü tarafından uluslararası bir standart geliştirilmiştir (38). Ancak henüz yaygın kullanıma ulaşmamıştır.

c. Postanalitik değişkenler: Bir analite ait sonucun hasta yararına kullanılabilmesi için o analite ait referans aralığının ve klinik karar limitlerinin iyi belirlenmesi gereklidir. PTH için kullanılan ticari kitlerin ölçüm sonuçları arasında büyük farklılıklar olduğu gösterilmesine rağmen üreticilerin önerdikleri referans aralıkları birbirine benzerdir (39). Yöntemler arasındaki farklılıklardan dolayı PTH için her üreticinin ve her laboratuvarın kendi referans aralığını belirlemesi özel bir öneme sahiptir. Ancak PTH referans aralığını belirlenirken bu hormonun düzeylerini etkilediği bilinen; vitamin D düzeyi, glomerular filtrasyon hızı, yaş, serum kalsiyum ve magnezyum düzeyi, ırk, vücut kitle indeksi gibi faktörleri göz önünde bulundurmaya gerektirir. Bu nedenle PTH referans aralık analizi yapmak zordur (30).

4- Paratiroid hormonunun KBH-MKB takip ve tedavisinde kullanımı

KBH olan kişilerde evre 3' e gelindiğinde böbreklerden fosfat atılımı bozulmaya ve fosfat birikmeye başlar. Daha sonraki süreçte böbreklerin kalsiyum reabsorpsiyonu da bozulur ve serum kalsiyumu düşmeye başlar. Serum fosforundaki artış ve kalsiyumdaki azalma PTH salgılanması üzerinde uyarıcı etki gösterir. KBH' da mineral homeostazisindeki bozulma ve PTH yüksekliği ile giden klinik tablo önceleri "Renal Osteodistrofi" olarak isimlendirilmekteydi. Ancak daha sonra ortaya çıkan klinik patolojinin sadece kemikle sınırlı olmadığı ortaya koyuldu. Bu nedenle kronik böbrek hastalarının mineral ve kemik bozukluğu olarak isimlendirildi. KBH-MKB geniş bir spektrumda karşımıza çıkabilmektedir. KBH-MKB sonucu kemik metabolizmasında karşımıza çıkan klinik spektrumun bir ucunda dinamik kemik hastalığı diğer ucunda ise yüksek döngülü kemik hastalığı yer almaktadır. Kemikte görülen her iki klinik patoloji de KBH olanlarda kırık riskinin artmasına yol açmaktadır (40). Ortaya çıkan patolojiler kemikle sınırlı kalmamakta kemik dışı dokularda

özellikle vasküler sistemde ortaya çıkan kalsifikasyonlar KBH olan kişilerde mortalite ve morbiditenin önemli sebeplerini oluşturmaktadır (41). Sayılan bu olumsuz klinik tablolardan KBH olanları koruyabilmek amacıyla PTH düzeyi ile takip yapılır (2). PTH' un hem yüksek değerlerde olması hem de düşük değerlerde olması bahsedilen olumsuz tablolara yol açabileceğinden, PTH düzeyini bahsi geçen klinik patolojilerin görülmeyeceği "orta düzey" de tutmak hedefdir. Uzun yıllar boyunca yapılan birçok çalışma KBH-MKB' nun takip ve tedavisinin yönlendirilmesinde PTH için ideal orta düzeyin ne olduğu sorusuna cevap aramıştır. 1987 yılında Nichols enstitüsü tarafından geliştirilen ikinci jenerasyon immünoimetrik yöntemin kullanıldığı Allegro kitine ait sonuçlarla KBH olan kişilerin kemik biyopsi sonuçları karşılaştırılmış KBH'nın her evresi için öngörülen sınır değerler belirlenmiştir. Bu çalışmaya ait sonuçlar K/DOQI (Kidney Disease Outcomes Quality Initiative)'nin 2003 klavuzunda yer almış ve uzun yıllar KBH-MKB' nun takip ve tedavisinin yönlendirilmesi amacıyla kullanılmıştır (42). Ancak geçen yıllar içinde yapılan birçok çalışma yaygın kullanılan ticari kitlerin, Nichols Allegro kiti ile uyumlu sonuçlar vermediğini göstermiştir (4, 5). Dahası günümüzde Nichols Allegro kiti artık üretilmemektedir. Bu bilgiler ışığında 2003 klavuzu ile belirlenen PTH aralıklarının KBH-MKB' nun takibi için geçerli olmayacağı düşüncesi ile 2009 yılında yeni bir klavuz yayınlanmıştır (2). Bu klavuzda yöntemler arasındaki farklılıklar gözönünde bulundurularak her sonucun kendi ölçüm yöntemi için belirlenmiş olan referans aralık üst sınırına göre değerlendirilmesi önerilmiştir. Bu klavuzda göre KBH-MKB'nun takibinde PTH'ın ölçüm yapılan yöntem için belirlenmiş referans aralık üst sınırının iki ile dokuz katı aralığında tutulması gerekmektedir. PTH referans aralığının belirlenmesindeki zorluklardan yukarıda bahsedilmiştir. Bu çerçevede üreticilerin bu referans aralıklarını sağlıklı bir biçimde belirleyip belirlemediği merak konusudur. Aslında en sağlıklı her laboratuvarın bu aralığı kendisinin

belirlemesidir. Ancak bu da iş gücü zaman kaybı ve ek maliyet getirmektedir. Ne yazık ki şu anda tek bir hasta için KBH-MKB' nun değerlendirilmesi gerektiğinde PTH' ın hangi düzeyde olması gerektiği konusunda genel olarak geçerli bir sınır değeri yoktur. Bu durum KBH-MKB takip ve tedavisinde tanısal bir karmaşaya neden olmaktadır(43).

SONUÇ

Paratiroid hormon ölçümleri; hem laboratuvar uzmanları hem de klinisyen hekimler için değerlendirmesi zor bir analittir. Çünkü PTH ölçüm sonucunu etkileyen hastanın kliniği haricinde birçok faktör vardır. Bunlar içinde serumda bulunan birçok PTH yıkım ürününün ölçüm yöntemleri ile etkileşmesi, mevcut ölçüm yöntemlerinin dünya çapında yaygın bir standardizasyonunun olmaması sayılabilir. Bunların ötesinde elde edilen sonuçların değerlendirileceği genel kabul gören bir referans aralığı olmadığı gibi KBH-MKB'nun değerlendirilmesinde PTH'ın hangi düzeyde tutulması gerektiği konusunda da bir fikir birliği yoktur. Ancak yine de herşeye rağmen günümüzde KBH-MKB' nun takibinde kullanımı klavuzlarca önerilen bir analittir. Bu nedenle özellikle diyaliz merkezi olan hastanelerin laboratuvarında ölçümünün yapılması bir gerekliliktir. Sonuç olarak KBH-MKB takibinde halen güncelliğini koruyan bu analitin sonuçlarını etkileyen faktörlerin bilinmesinin hasta yararına kullanımına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- 1.Murray TM, Rao LG, Divieti P, et al. Parathyroid hormone secretion and action: evidence for discrete receptors for the carboxyl-terminal region and related biological actions of carboxyl-terminal ligands. Endocrine reviews 2005;26:78-113.
- 2.Kidney Disease: Improving Global Outcomes CKD-MBDWG. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and

Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney international Supplement* 2009;S1-130.

3.Cantor T, Yang Z, Caraianni N, et al. Lack of comparability of intact parathyroid hormone measurements among commercial assays for end-stage renal disease patients: Implication for treatment decisions. *Clin Chem* 2006;52:1771-6.

4.Souberbielle JC, Boutten A, Carlier MC, et al. Inter-method variability in PTH measurement: implication for the care of CKD patients. *Kidney international* 2006;70:345-50.

5.Almond A, Ellis AR, Walker SW, et al. Current parathyroid hormone immunoassays do not adequately meet the needs of patients with chronic kidney disease. *Ann Clin Biochem* 2012;49:63-7.

6.Eddington H, Hudson JE, Oliver RL, et al. Variability in parathyroid hormone assays confounds clinical practice in chronic kidney disease patients. *Ann Clin Biochem* 2014;51:228-36.

7.Torres PU. The need for reliable serum parathyroid hormone measurements. *Kidney international* 2006;70:240-3.

8.Brown EM. Calcium receptor and regulation of parathyroid hormone secretion. *Reviews in endocrine & metabolic disorders* 2000;1:307-15.

9.Riccardi D, Brown EM. Physiology and pathophysiology of the calcium-sensing receptor in the kidney. *Am J Physiol-Renal* 2010;298:F485-F99.

10.Estepa JC, Aguilera-Tejero E, Lopez I, et al. Effect of phosphate on parathyroid hormone secretion in vivo. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 1999;14:1848-54.

11.Goltzman D, Hendy GN, White JH. Vitamin D and its receptor during late development. *Biochimica et biophysica acta* 2015;1849:171-80.

12.Hodsman AB, Bauer DC, Dempster DW, et al. Parathyroid hormone and teriparatide for the treatment of osteoporosis: a review of the evidence and suggested guidelines for its use. *Endocrine reviews* 2005;26:688-703.

13.Ma YFL, Cain RL, Halladay DL, et al. Catabolic effects of continuous human PTH (1-38) in vivo is associated with sustained stimulation of RANKL and inhibition of osteoprotegerin and gene-associated bone formation. *Endocrinology* 2001;142:4047-54.

14.Qin L, Raggatt LJ, Partridge NC. Parathyroid hormone: a double-edged sword for bone metabolism. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 2004;15:60-5.

15.Bringhurst FR. Circulating forms of parathyroid hormone: peeling back the onion. *Clinical chemistry* 2003;49:1973-5.

16.Lopez MF, Rezai T, Sarracino DA, et al. Selected reaction monitoring-mass spectrometric immunoassay responsive to parathyroid hormone and related variants. *Clinical chemistry* 2010;56:281-90.

17.D'Amour P, Brossard JH, Rousseau L, et al. Amino-terminal form of parathyroid hormone (PTH) with immunologic similarities to hPTH(1-84) is overproduced in primary and secondary hyperparathyroidism. *Clin Chem* 2003;49:2037-44.

18.D'Amour P, Rakel A, Brossard JH, et al. Acute regulation of circulating parathyroid hormone (PTH) molecular forms by calcium: utility of PTH fragments/PTH(1-84) ratios derived from three generations of PTH assays. *J Clin Endocr Metab* 2006;91:283-9.

19.D'Amour P, Brossard JH. Carboxyl-terminal parathyroid hormone fragments: role in parathyroid hormone physiopathology. *Curr Opin Nephrol Hy* 2005;14:330-6.

20.Lepage R, Roy L, Brossard JH, et al. A non-(1-84) circulating parathyroid hormone (PTH) fragment

interferes significantly with intact PTH commercial assay measurements in uremic samples. *Clinical chemistry* 1998;44:805-9.

21.Berson SA, Yalow RS, Aurbach GD, et al. Immunoassay of Bovine and Human Parathyroid Hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1963;49:613-7.

22.Gao P, D'Amour P. Evolution of the parathyroid hormone (PTH) assay--importance of circulating PTH immunoheterogeneity and of its regulation. *Clinical laboratory* 2005;51:21-9.

23.Zidehsarai MP, Moe SM. Review article: Chronic kidney disease-mineral bone disorder: Have we got the assays right? *Nephrology* 2009;14:374-82.

24.Souberbielle JC, Roth H, Fouque DP. Parathyroid hormone measurement in CKD. *Kidney international* 2010;77:93-100.

25.Cantor T, Yang Z, Caraianni N, et al. Lack of comparability of intact parathyroid hormone measurements among commercial assays for end-stage renal disease patients: implication for treatment decisions. *Clinical chemistry* 2006; 52: 1771-6.

26.MacGregor RR, Jilka RL, Hamilton JW. Formation and secretion of fragments of parathormone. Identification of cleavage sites. *The Journal of biological chemistry* 1986; 261: 1929-34.

27.Glendenning P, Laffer LLA, Weber HK, et al. Parathyroid hormone is more stable in EDTA plasma than in serum. *Clin Chem* 2002; 48: 766-7.

28.Teal TK, Reed M, Stevens PE, et al. Stability of parathyroid hormone ex vivo in haemodialysis patients. *Ann Clin Biochem* 2003; 40: 191-3.

29.English E, McFarlane I, Taylor KP, et al. The effect of potassium EDTA on the stability of parathyroid hormone in whole blood. *Ann Clin Biochem* 2007; 44: 297-9.

30.Joly D, Druke TB, Alberti C, et al. Variation in serum and plasma PTH levels in second-generation assays in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 2008; 51: 987-95.

31.Vulpio C, Bossola M, Speranza D, et al. Influence of blood sampling site on intact parathyroid hormone concentrations in hemodialysis patients. *Clinical chemistry* 2010; 56: 489-90.

32.Lips P, Hackeng WHL, Jongen MJM, et al. Seasonal-Variation in Serum Concentrations of Parathyroid-Hormone in Elderly People. *J Clin Endocr Metab* 1983; 57: 204-6.

33.Woitge HW, Knothe A, Witte K, et al. Circaannual rhythms and interactions of vitamin D metabolites, parathyroid hormone, and biochemical markers of skeletal homeostasis: a prospective study. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 2000; 15: 2443-50.

34.Guillemant J, Cabrol S, Allemandou A, et al. Vitamin D-dependent seasonal variation of PTH in growing male adolescents. *Bone* 1995; 17: 513-6.

35.Lobaugh B, Neelon FA, Oyama H, et al. Circadian rhythms for calcium, inorganic phosphorus, and parathyroid hormone in primary hyperparathyroidism: functional and practical considerations. *Surgery* 1989; 106: 1009-16; 16-7.

36.Logue FC, Fraser WD, Gallacher SJ, et al. The loss of circadian rhythm for intact parathyroid hormone and nephrogenous cyclic AMP in patients with primary hyperparathyroidism. *Clinical endocrinology* 1990; 32: 475-83.

37.Sturgeon CM, Sprague SM, Metcalfe W. Variation in parathyroid hormone immunoassay results--a critical governance issue in the management of chronic kidney disease. *Nephrology, dialysis, transplantation : official*

publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association 2011;26 : 3440-5.

38.Burns C, Moore M, Sturgeon C et al.WHO International Collaborative Study of the proposed 1st International Standard for Parathyroid Hormone 1-84, human, recombinant. 2009. [http://whqlibdoc.who.int/hq/2009/WHO BS 09.2115 eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2009/WHO_BS_09.2115_eng.pdf)

39.Souberbielle JC, Cavalier E, Jean G. Interpretation of serum parathyroid hormone concentrations in dialysis patients: what do the KDIGO guidelines change for the clinical laboratory? Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC 2010; 48: 769-74.

40.Gerakis A, Hadjidakis D, Kokkinakis E, et al. Correlation of bone mineral density with the histological findings of renal osteodystrophy in patients on hemodialysis. Journal of nephrology 2000; 13: 437-43.

41.Moe S, Drueke T, Cunningham J, et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). Kidney international 2006; 69: 1945-53.

42.National Kidney F. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation 2003; 42: 1-201.

43.Pontoriero G, Cozzolino M, Locatelli F, et al. CKD patients: the dilemma of serum PTH levels. Nephron Clinical practice 2010; 116: 263-8.