

## Recomanació

Secció de Bioquímica Oncològica de l'Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic

### Estandardització i marcadors tumorals

Xavier Filella Pla<sup>1</sup>, Raül Rigo Bonnin<sup>2</sup>, Motserrat Alsina Donadeu<sup>3</sup>,  
Àngels Bosch Ferrer<sup>4</sup>, Lluïsa Juan Pereira<sup>5</sup>, Jaume Trapé Pujol<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Servei de Bioquímica i Genètica Molecular (CDB), Hospital Clínic de Barcelona

<sup>2</sup> Laboratori Clínic, Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat

<sup>3</sup> Laboratori d'Anàlisis Clíniques, CATLAB, Viladecavalls

<sup>4</sup> Consorci Laboratori Intercomarcal, Igualada

<sup>5</sup> Laboratori d'Urgències, CATLAB, Hospital Sant Joan de Deu de Martorell

<sup>6</sup> Servei de Bioquímica Clínica, Departament de Diagnòstic Biològic, Althia Xarxa Assistencial de Manresa

#### Estat de la qüestió

Els marcadors tumorals són un grup molt heterogeni de molècules, que generalment es troben en concentracions molt petites en el plasma dels individus sans (1, 2). La mesura de la seva concentració en el plasma, o en altres líquids biològics, ofereix informació d'utilitat clínica en els

malalts oncològics, particularment en el diagnòstic precoç d'una recidiva tumoral i en la monitorització d'un tractament, encara que també en alguns casos en el cribatge, diagnòstic i pronòstic del càncer (3, 4). No obstant això, la manca d'estandardització dels sistemes de mesura utilitzats avui en dia per mesurar les seves concentracions provoca una àmplia

variabilitat de resultats i, en definitiva, una falta d'intercanviabilitat de resultats. Aquesta és una de les principals limitacions per arribar a un consens sobre la interpretació del seu valor semiològic.

Aquesta mancança ve donada per la falta de materials i de sistemes de mesura de referència, així com per les diferències existents entre els distints sistemes de mesura utilitzats. Així, entre altres, cal esmentar: la falta de materials de referència internacionals; la multiplicitat en els tipus d'immunoanàlisis emprades (heterogènia, homogènia, competitiva, no competitiva); les diferències en l'anticòs utilitzat (policlonal o monoclonal); els distints epítops enfront als quals es dirigeix l'anticòs; el tipus de sistema de detecció utilitzat (fluorescent, electroquimioluminiscent, enzimàtic, radioactiu); les interferències analítiques inherents a cada un dels sistemes de mesura; les particularitats en l'efecte matriu en cada un dels sistemes de mesura; i les diferències en el temps d'incubació en cada un dels sistemes de mesura.

Tota aquesta problemàtica va ser plantejada al V Simpòsium Europeu sobre el Laboratori Clínic i la Indústria del diagnòstic in vitro (5), celebrat a Barcelona els dies 16 i 17 d'abril de 2009. Com a conseqüència de les discussions que es varen dur a terme i de les propostes plantejades a l'esmentat simpòsium, la Secció de Bioquímica Oncològica de l'Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic (ACCLC) ha realitzat una revisió sobre l'estandardització dels sistemes de mesura emprats per mesurar la concentració dels marcadors tumorals en diferents líquids biològics (principalment, en el plasma) i proposa una sèrie de recomanacions al respecte.

Aquestes diferències han de ser tingudes en compte quan un laboratori introdueix un canvi en el sistema de mesura utilitzat per mesurar la concentració d'un

determinat marcador tumoral, particularment a l'hora d'establir els valors de referència o valors discriminants d'aquestes magnituds biològiques i en la significació d'un canvi (interpretació dels resultats obtinguts al llarg del temps en un pacient concret). Igualment, cal tenir en compte que les diferències en les concentracions d'un marcador tumoral en relació al sistema de mesura poden limitar les conclusions d'un estudi al sistema de mesura que s'hi utilitza i, per tant, fer difícil o fins i tot impossible l'extrapolació d'aquestes conclusions a la resta de sistemes.

S'han realitzat múltiples esforços per afavorir l'harmonització dels sistemes de mesura que es fan servir per mesurar aquestes magnituds. Així, d'una banda, la Societat Internacional pels Marcadors Oncològics i Biologia Tumoral (International Society for Oncological Biomarkers and Tumor Biology, ISOBM) va posar en marxa des de meitat dels anys vuitanta uns tallers, anomenats ISOBM TD-Workshops (6), focalitzats en la caracterització dels anticossos utilitzats en la mesura de les concentracions dels marcadors tumorals. Més recentment, ha posat en marxa un Taller Clínic que es va iniciar en el congrés celebrat el setembre del 2010 a Munic, amb la coordinació del Dr. Rafael Molina Porto, de l'Hospital Clínic de Barcelona.

D'altra banda, disposem de materials de referència per alguns marcadors tumorals (7), com són el primer IRP 73/601 de l'Organització Mundial de la Salut (OMS) per a l'antigen carcinoembriogènic, el primer IS AFP de l'OMS (antigament anomenat primer IS 72/225) per l' $\alpha$ -fetoproteïna, el tercer IS 75/537, el quart IS 75/589 i el cinquè IS 07/364 de l'OMS per a la coriogonadotropina (HCG), el primer IRP 75/551 de l'OMS per a la cadena  $\beta$  de la coriogonadotropina, el CRM 457 de la Comunitat Europea per a la tiroglobulina, el segon IS 89/620 de

l'OMS (substitueix al primer IRP 70/234) per a la calcitonina, el primer RR 96/670 de l'OMS per l'antigen específic de la pròstata (PSA) i el primer 96/668 de l'OMS per l'antigen específic de la pròstata no unit a proteïna (PSA lliure). La disponibilitat i utilització de materials de referència internacionals ha permès millorar la intercanviabilitat de resultats entre els diferents sistemes de mesura. La recent estandardització dels sistemes que permeten mesurar la concentració de PSA i del PSA lliure (8), d'una banda, i la feina desplegada pel grup de treball de la Federació Internacional de Química Clínica i Ciències de Laboratori Clínic (IFCC) sobre l'HCG (9), de l'altra, han suposat un significatiu avenç en aquest sentit, que hauria d'impulsar actuacions similars en relació a la resta de sistemes de mesura emprats per mesurar la concentració dels diversos marcadors tumorals.

De fet, es poden observar diferències notables en les concentracions d'alguns marcadors tumorals, com en el cas dels de la concentració de l'antigen CA 19-9, l'antigen CA 125 i l'antigen CA 15-3, segons el sistema que s'utilitzi. Així, per exemple, La'ulu *et al.* (10), després de dur a terme estudis d'intercanviabilitat, aplicant la regressió no paramètrica de Passing-Bablok, entre cinc sistemes de mesura emprats per mesurar la concentració d'antigen CA 19-9, indiquen unes pendents que van de 1,00 a 2,06, amb coeficients de correlació entre 0,85 i 0,98. Diferències semblants han estat comunicades per Deinzer *et al.* (11) i també per Hotakainen *et al.* (12), grup que recomana l'ús de diferents valors discriminants en relació al sistema utilitzat en la mesura de la concentració de l'antigen CA 19-9. També s'observen importants diferències en les concentracions de l'antigen CA 15-3 amb diferents sistemes de mesura, tal i com reporten Slev

*et al.* (13) en un estudi que valora la intercanviabilitat de set sistemes de mesura automatitzats que mostra pendents que van de 0,50 a 1,48, amb coeficients de correlació entre 0,90 i 0,96. No molt diferents són els resultats que comuniquen Mongia *et al.* (14) que, després d'estudiar la intercanviabilitat de set sistemes emprats per mesurar la concentració de l'antigen CA 125, observen una pendent que oscil·la entre 0,88 i 1,19, encara que amb coeficients de correlació superiors a 0,95. La conclusió d'aquests estudis és que són necessaris esforços addicionals per avançar en l'estandardització dels sistemes emprats per mesurar la concentració dels marcadors tumorals i que el primer pas és la disponibilitat de materials de referència.

Malgrat tot, però, la disponibilitat d'un material de referència internacional no assegura la intercanviabilitat de resultats entre diferents sistemes de mesura, tal i com ha mostrat l'experiència amb la concentració de PSA. La introducció del material de referència de l'OMS RR 96/670 per a la concentració de PSA ha significat, certament, una millora en la intercanviabilitat dels resultats obtinguts amb sistemes diferents, però no, com expliquem tot seguit, la total intercanviabilitat. A mode d'exemple i per a la concentració de PSA, l'empresa Beckman Coulter ofereix actualment la possibilitat de calibrar el seu sistema Access® amb un calibrador preparat a partir del tradicional material de referència de l'empresa Hybritech® com amb un calibrador obtingut a partir del corresponent material de referència de l'OMS, indicant que en aquest cas el valor discriminant hauria de variar des del conegut 4 µg/L fins a 3,1 µg/L per tal de poder mantenir la mateixa sensibilitat i especificitat diagnòstica (15, 16). De manera semblant, segons assenyalen Stephan *et al.* (17), els sistemes de mesura que utilitzen

calibradors preparats a partir del material de referència de l'OMS donen unes concentracions de PSA més baixes en relació a les que s'obtenen amb els sistemes que no utilitzen aquests calibradors. Tanmateix, aquest mateix grup assenyala que hi ha sistemes de mesura que, malgrat emprar els calibradors preparats a partir del material de referència de l'OMS, mesuren concentracions de PSA molt semblants al sistema de mesura de la plataforma Access® usant els calibradors obtinguts a partir del material de referència d'Hybritech®. Per tant, l'harmonització promoguda per l'OMS millora l'estandardització dels sistemes per a la concentració de PSA, tot i que la intercanviabilitat en les concentracions mesurades no és absoluta, fet que pot ser degut a la influència d'altres factors com són el temps d'incubació, l'efecte matriu, o els anticossos utilitzats per cada fabricant, entre altres.

## Recomanacions

Els especialistes de les ciències de laboratori clínic i els diferents especialistes clínics que utilitzen la concentració dels marcadors tumorals en el diagnòstic i seguiment dels malalts oncològics han de conèixer aquesta manca d'intercanviabilitat de resultats entre els sistemes de mesura per poder interpretar adequadament el seu significat.

En relació a la insuficient intercanviabilitat de resultats existents en les concentracions dels marcadors tumorals mesurades amb els diferents sistemes creiem convenient fer les següents recomanacions:

### I. Laboratoris

1. Les deficiències en la intercanviabilitat entre les concentracions dels diferents marcadors tumorals

poden ser una font d'error en la seva interpretació clínica. Per aquest motiu, és recomanable complementar el resultat obtingut per a la concentració d'un marcador tumoral amb informació addicional referent al sistema de mesura que s'ha emprat.

2. El laboratori ha d'informar sobre qualsevol canvi que dugui a terme en el sistema de mesura, particularment quan això implica modificacions clínicament significatives en les concentracions mesurades d'un marcador tumoral.

3. Els valors de referència o els valors discriminants s'han d'ajustar en relació al sistema de mesura emprat.

4. La mesura de la concentració dels marcadors tumorals tenen un particular interès en el seguiment dels malalts oncològics amb l'objectiu de diagnosticar precoçment les recidives i de monitoritzar la resposta al tractament. Per aquest motiu, davant de qualsevol canvi en el sistema de mesura que impliqui canvis clínicament significatius en les concentracions d'un marcador tumoral, el laboratori haurà de:

- a) Processar la mostra anterior, quan aquesta mostra hagi estat conservada, amb el nou sistema de mesura, o mesurar la nova mostra no tan sols amb el nou sistema, sinó també mitjançant el sistema de mesura que es venia utilitzant abans del canvi.
- b) Demanar una nova mostra per establir la nova "línia de base" en cada malalt i confirmar o no el canvi en l'evolució de la concentració del marcador tumoral.

5. Els resultats publicats en la bibliografia s'han d'interpretar tenint en compte el sistema de mesura

utilitzat en l'estudi. Les conclusions poden ser aplicables únicament al sistema de mesura en qüestió.

## II. Societats científiques i indústria del diagnòstic *in vitro*

6. Les societats científiques haurien de promoure estudis d'intercanviabilitat de resultats entre els diferents sistemes de mesura existents en l'actualitat.

7. La indústria del diagnòstic *in vitro* hauria d'oferir en els seus prospectes més informació sobre les característiques del sistema de mesura, particularment pel que fa als materials de referència utilitzats i als epítops als quals van dirigits els anticossos emprats.

8. Les societats científiques i els professionals de les ciències de laboratori clínic hem d'exigir l'estandardització dels sistemes de mesura emprats per mesurar la concentració dels marcadors tumorals, per tal d'obtenir resultats intercanviables entre els diferents sistemes. Això no tan sols facilitaria la intercanviabilitat de resultats obtinguts amb diferents sistemes de mesura, sinó que permetria un millor aprofitament de la informació publicada i, en definitiva, la seva aplicació en benefici dels pacients.

## **Bibliografia**

- Ballesta AM, Molina R. Tumor markers: definition and classification. A: Ballesta AM, Torre GC, Bombardieri E, Gion M, Molina R, dir. Updating on tumors markers in tissues and in biological fluids. Turí: Edizioni Minerva Medica; 1993:75-88.
- Filella Pla X. Els marcadors tumorals: què són i per a què serveixen. *In vitro veritas* 2007;8 <<http://www.acclcat.com/continguts/ivv100.pdf>> (accés: 2012-04-04).
- Sturgeon C. Practice guidelines for tumor marker use in the clinic. *Clin Chem* 2002;48:1151-9.
- Secció oncològica de l'Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic. Guies de pràctica clínica: recomanacions respecte a la utilització dels marcadors tumorals. *In vitro veritas* 2007;8: <<http://www.acclcat.com/continguts/ivv093.pdf>> (accés: 2012-04-04).
- Filella Pla X, Bosch Ferrer A, Bedini Chesa JL, Miró Balagué J. Informe del V Simpòsium Europeu sobre el laboratori clínic i la indústria del diagnòstic *in vitro*: "Estandardització i marcadors tumorals". *In vitro veritas* 2009;9 <<http://www.acclcat.com/continguts/ivv110.pdf>> (accés: 2012-11-15).
- ISOBM TD-Workshops. <<http://www.isoim.org/antibody-workshops/workshops-home.html>>. (accés: 2012-4-4).
- WHO International Biological Reference Preparations. <<http://www.who.int/bloodproducts/catalogue/Bl ooMay2011.pdf>> (accés 2012-15-11).
- Stephan C, Kahrs AM, Klotzek S, Reiche J, Müller C, Lein M, Deber S, Millar K, Jung K. Toward metrological traceability in the determination of prostate-specific antigen (PSA): calibrating Beckman Coulter Hybritech Access PSA assays to WHO standards compared with the traditional Hybritech standards. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:623-9.
- Bristol A, Berger P, Bidart JM, Birken S, Norman R, Stenman UH, Sturgeon C on behalf of the IFCC Working Group on hCG. Establishment, value assignment, and characterization of new WHO reference reagents for six molecular forms of human chorionic gonadotropin. *Clin Chem* 2005; 51:1177-82.
- La'ulu SL, Roberts, WL. Performance characteristics of five automated CA 19-9 assays. *Am J Clin Pathol* 2007;127:436-40.
- Deinzer M, Faissner R, Metzger T, Kaminski WE, Löhr M, Neumaier M, Brinkmann T. Comparison of two different methods for CA19-9 antigen determination. *Clin Lab* 2010;56:319-25.
- Hotakainen K, Tanner P, Alftan H, Haglund C, Stenman UH. Comparison of three immunoassays for CA 19-9. *Clin Chim Acta* 2009;400:123-7.
- Slev PR, La'ulu SL, Roberts WL. Intermethod differences in results for total PSA, free PSA, and percentage of free PSA. *Am J Clin Pathol* 2008;129:952-8.

14. Mongia SK, Rawlins ML, Owen WE, Roberts, WL. Performance characteristics of seven automated CA 125 assays. *Am J Clin Pathol* 2006;125:921-7.
15. Jarrigue V. The need for a lower total PSA cut-off value with PSA assays calibrated to the new WHO standard. *Clinical Laboratory International April Clin Lab Int* 2007 <<http://www.clinonline.com/fileadmin/artimg/the-need-for-a-lower-total-psa-cut-off-value-with-psa-assays-calibrated-to-the-new-who-standard.pdf>> (accès: 2012-11-15).
16. Jansen FH, Roobol M, Bangma CH, van Schaik RH. Clinical impact of new prostate-specific antigen WHO standardization on biopsy rates and cancer detection. *Clin Chem* 2008;54:1999-2006.
17. Stephan C, Klaas M, Müller C, Schnorr D, Loening SA, Jung K. Interchangeability of measurements of total and free prostate-specific antigen in serum with 5 frequently used assay combinations: an update. *Clin Chem* 2006;52:59-64.