

Artikelen

PSA-vergelijkbaarheid: standaardisatie of harmonisatie?

B.D. van ZELST en B.G. BLIJENBERG

Doel: Onderzoek naar de toepassing van de WHO-kalibratoren voor PSA (WHO 96/670 en WHO 96/668) in relatie tot nieuwe ontwikkelingen betreffende PSA-bepalingen.

Methoden: De gebruikte PSA-bepalingen zijn die van de Access, de Elecsys en de ACS:180. Er is gebruik gemaakt van 200 klinisch beschreven monsters (BPH en PCa).

Resultaten: Kalibratie volgens de fabrikant vergeleken met kalibratie met behulp van de WHO-kalibratoren gaf voor de bepaling van totaal PSA hellingen van 1,22; 0,92 en 1,04 voor respectievelijk de Access, Elecsys en ACS:180. Voor vrij PSA waren de waarden 1,28; 0,83 en 1,62. Meting van deze kalibratoren gecombineerd met de meting van de klinische monsters gaf aan dat de methoden equimolair voor PSA genoemd kunnen worden.

Conclusie: Wij vonden een goede vergelijkbaarheid voor vrij en totaal PSA. Echter, volledige uitwisselbaarheid van resultaten is anno 2002 nog niet mogelijk door ontbreken van referentiemethoden.

Trefwoorden : PSA, vrij PSA, WHO-kalibratie, equimolairiteit

Het gebruik van de bepaling van prostaat-specifiek antigeen (PSA) in bloed (serum/plasma) is heden ten dage niet meer weg te denken bij het opsporen en behandelen van patiënten met prostaatpathologie. De populariteit van PSA als tumormerkstof is dusdanig groot dat er inmiddels tientallen bepalingmethoden in omloop zijn, alle gebaseerd op de immunochemische detectie van de verschillende vormen waarin PSA in de bloedbaan kan voorkomen. Het is niet onze bedoeling om hier gedetailleerd de biochemie van PSA te beschrijven, maar in het algemeen kan gesteld worden dat het merendeel van PSA in de bloedbaan gecompliceerd is met α -1-antichymotrypsine (ACT), zo'n 70-90%. Het overige PSA wordt gedefinieerd als vrij PSA. PSA-ACT en vrij PSA samen

heten daarmee totaal PSA. De eerste onderzoeken in dezen zijn in 1991 gepubliceerd door Stenman (1) en Lilja (2).

Diverse studies hebben aangetoond dat vrij PSA en met name de ratio PSA, gedefinieerd als vrij PSA/totaal PSA een belangrijk hulpmiddel kan zijn bij het maken van onderscheid tussen prostaatcarcinoom (PCa) en benigne prostaathyperplasie (BPH). Een hoge ratio PSA wordt geassocieerd met BPH en een lage met PCa (3-5) vanwege het feit dat bij BPH, naar verhouding, de concentratie vrij PSA gemiddeld hoger is dan bij PCa.

Enkele recente publicaties (6, 7) laten zien dat er een aanmerkelijke variatie in resultaten kan bestaan tussen bepalingmethoden voor vrij en totaal PSA van verschillende fabrikanten. Deze variatie is niet alleen voor de laboratoriummedewerker een reden tot zorg. Meer nog wanneer er vanuit het perspectief van een clinicus gekeken wordt, is het wenselijk dat methoden ter bepaling van vrij en totaal PSA van verschillende fabrikanten tot een zelfde resultaat leiden (8). Eén van de oorzaken die zeker in het verleden een grote rol heeft gespeeld bij het ontstaan van deze variatie, is het feit dat diverse fabrikanten die een totaal-PSA-bepaling op de markt gebracht hadden, een niet-equimolaire bepaling voerden. Bij een niet-equimolaire meting wordt meestal de concentratie van het vrij PSA overgewaardeerd t.o.v. het gecompliceerde PSA, hetgeen tot een foutief verhoogd totaal PSA leidt en daarmee tevens een verkeerde ratio PSA oplevert (9). Het gevolg hiervan is dat er mogelijk een teveel aan prostaatbiopsieën wordt uitgevoerd met een negatieve uitslag omdat vooral BPH-patiënten een foutief verhoogde PSA zullen hebben bij een niet-equimolaire meting. Met de tegenwoordig gangbare systemen voor meting van totaal PSA lijkt de kwestie van equimolariteit nauwelijks meer een rol te spelen (6). Alle PSA-bepalingen die anno 2002 op de markt zijn van de verschillende toonaangevende fabrikanten kunnen equimolair genoemd worden volgens de informatie die door de fabrikanten verstrekt wordt.

Daarnaast zijn er nog verschillende andere factoren die een acceptabele vergelijkbaarheid tussen methoden kunnen beïnvloeden. Een belangrijke ontwikkeling in dezen is in 1992 door Stamey in gang gezet, te weten de standaardisatie van PSA. Wij hebben hierover al eerder in dit tijdschrift gerapporteerd (10).

Afdeling Klinische Chemie, Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum Rotterdam

Correspondentie: Dr. B.G. Blijenberg, Postbus 2040, 3000CA Rotterdam
e-mail: blijenberg@ckcl.azr.nl

Behalve het feit dat Stamey, zijnde een clinicus (sic), het belang inzage van verhoging van de vergelijkbaarheid van resultaten van PSA-metingen, zorgde hij ook voor een breed draagvlak voor het door hem geïnitieerde proces, door fabrikanten in de discussie te betrekken. Het eindresultaat is in 2000 gepubliceerd (11). De inspanningen van Stamey hebben er toe geleid dat er inmiddels een WHO-standaard beschikbaar is voor zowel de bepaling van totaal PSA (WHO 96/670) als die van vrij PSA (WHO 96/668). Implementatie van deze kalibratoren in de verschillende systemen voor de meting van PSA zou de verschillen tussen de diverse fabrikanten kunnen verkleinen. Voor totaal PSA is deze gedachte juist gebleken (12). Wij beschrijven hier een onderzoek naar de toepassing van genoemde WHO-kalibratoren voor zowel de bepaling van totaal PSA als die van vrij PSA van drie geautomatiseerde en recent op de markt verschenen immunoassaysystemen, de Access (van Beckman Coulter), de Elecsys (van Roche) en de ACS:180 (van Bayer). We wilden met dit onderzoek een tweetal zaken bekijken. In de eerste plaats was het de opzet om te zien of kalibratie van de verschillende PSA-bepalingen zoals door de fabrikant gedaan overeenkomt met kalibratie met behulp van WHO-standaarden. In relatie daarmee wilden wij tevens kijken naar de eventuele invloed op de waarden voor de PSA-ratio van de verschillende assays na herberekening met de WHO-kalibratoren. Ten tweede wilden we controleren of de door ons bestudeerde PSA-methoden inderdaad PSA equimolair meten, door gebruikmaking van twee klinische bestanden, te weten één met sera van patiënten met prostaatcarcinoom en één met BPH.

Materiaal en Methoden

Monsters

Er is gebruik gemaakt van 100 sera van patiënten met klinisch bewezen benigne prostaat hyperplasie (BPH) en 100 sera van patiënten met histologisch bewezen prostaatcarcinoom (PCa). De sera waren zó gekozen dat de PSA-concentratie (totaal PSA) tussen de 0 en 10 µg/l lag. Genoemde monsters waren restanten van sera die bewaard waren bij -80 °C. Deze sera waren 2-3 jaar oud, een periode die volgens literatuurgegevens voldoende kort was om er zeker van te zijn dat de oorspronkelijke waarden voor totaal PSA onveranderd waren gebleven. Of dit ook voor vrij PSA geldt kunnen wij niet zeggen omdat wij de oorspronkelijke waarden niet kennen. Dit is overigens niet van belang omdat wij alleen gekeken hebben naar de actuele waarden bij toepassing van de WHO-standaard in de vergelijking van de drie methodes.

Materialen

1. WHO-standaard 96/670

Na oplossen met aqua dest. bevat deze kalibrator 500 µg/l PSA: 450 µg/l PSA-ACT-complex en 50 µg/l vrij PSA. In totaal vijf verdunningen, liggend tussen PSA 0 en 10 µg/l, werden gemaakt met 1% bovine serumalbumine (BSA) in met fosfaat gebufferd fysiologisch zout (PBS). Het één en ander overeenkomstig een eerder beschreven procedure (13).

2. WHO-standaard 96/668

Na oplossen met aqua dest. bevat deze kalibrator 500 µg/l vrij PSA. Op dezelfde manier als beschreven voor WHO-standaard 96/668 werden hieruit vijf verdunningen, liggend tussen vrij PSA 0 en 5 µg/l, gemaakt met 1% bovine serumalbumine (BSA) in met fosfaat gebufferd fysiologisch zout (PBS). De WHO-standaarden zijn verkrijgbaar bij de National Institute for Biological Standards and Control, PO Box 1193, Potters Bar, Herts EN6 3QH, United Kingdom (11).

Methoden

De klinische monsters en kalibratoren zijn gemeten met behulp van onderstaande PSA-bepalingen.

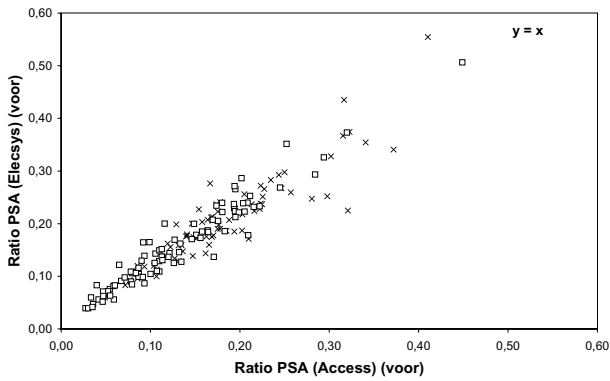
1. De ACS:180-fPSA-bepaling en de ACS:180-PSA-bepaling (Bayer Corporation, Tarrytown, NY, USA) zijn geautomatiseerde immunochemiluminometrische bepalingen, voor de bepaling van respectievelijk vrij PSA en totaal PSA, waarin volgens het sandwich-principe een polykonaal en een monokonaal antilichaam gebruikt worden. Het analytisch bereik voor beide bepalingen is chargenummer-afhankelijk en ligt bij ongeveer 20 µg/l voor de bepaling van vrij PSA en bij ongeveer 100 µg/l voor de bepaling van totaal PSA.
2. De Elecsys-Free-PSA-bepaling en de Elecsys-Total-PSA-bepaling (Roche GmbH, Mannheim, Duitsland) zijn geautomatiseerde electrochemiluminometrische bepalingen, voor de bepaling van respectievelijk vrij PSA en totaal PSA, waarin volgens het sandwich-principe twee monoklonale antilichamen gebruikt worden. Het analytisch bereik van de Elecsys Free PSA ligt bij 50 µg/l. Voor de Elecsys Total PSA ligt deze bij 100 µg/l.
3. De Access-Hybritech-free-PSA-bepaling en de Access-Hybritech-PSA-bepaling (Beckman Coulter Inc, Fullerton, CA, USA) zijn geautomatiseerde chemiluminometrische bepalingen, voor de bepaling van respectievelijk vrij PSA en totaal PSA, waarin volgens het sandwich-principe twee monoklonale antilichamen gebruikt worden. Het analytisch bereik van de Access Hybritech free PSA ligt bij 20 µg/l. Voor de Access Hybritech PSA ligt deze bij 150 µg/l.

Statistiek

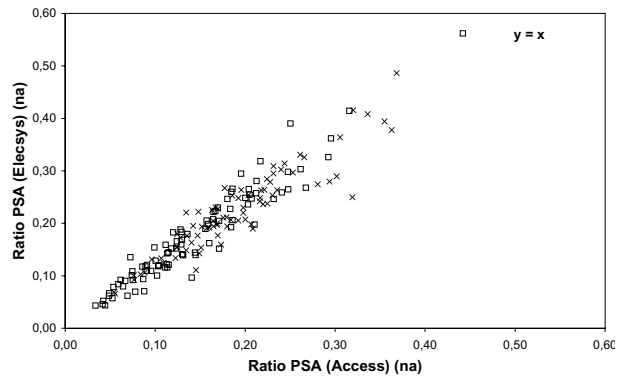
Voor de berekening van de regressielijnen werd gebruik gemaakt van de methode volgens Passing en Bablok (14).

Resultaten

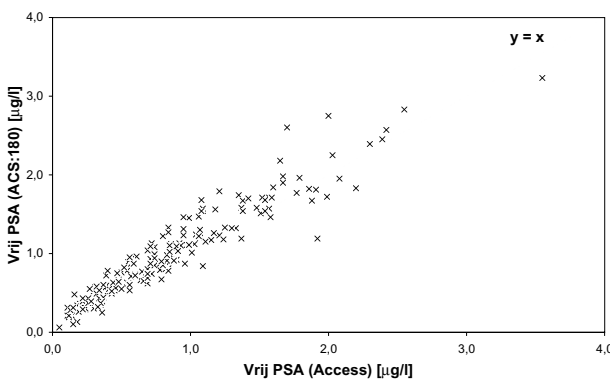
Alle PSA-bepalingen zijn gekalibreerd volgens voorschrift van de diverse fabrikanten. Vervolgens zijn beide WHO-standaarden als monster gemeten: WHO 96/670 en WHO 96/668 voor de bepaling van totaal PSA, en WHO 96/668 alleen voor de meting van het vrij PSA. Wanneer de theoretisch berekende waarden van de WHO-standaarden vergeleken worden met de gemeten waarden dan volgen daaruit een aantal ijklijnen. De vergelijkingen van deze ijklijnen staan vermeld in tabel 1. Hierna is van alle klinische monsters het vrij en totaal PSA gemeten met de drie methoden. De gevonden waarden werden omgerekend met be-



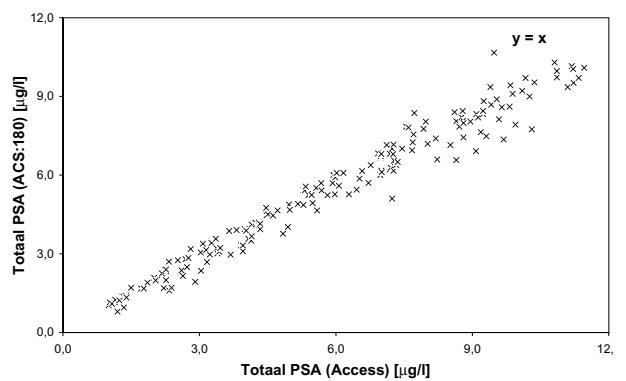
Figuur 1. De PSA-ratio gemeten met de Access en de Elecsys na kalibratie met de standaarden van de fabrikant (\square = PCa-monsters; \times = BPH-monsters). Regressielijn: $y(\text{Elecsys}) = 1,10(\text{Access}) + 0,01$.



Figuur 2. De PSA-ratio gemeten met de Access en de Elecsys na kalibratie met de WHO-standaarden. (\square = PCa-monsters; \times = BPH-monsters). Regressielijn: $y(\text{Elecsys}) = 1,22(\text{Access}) + 0,00$.



Figuur 3. De bepaling van vrij PSA met de ACS:180 in vergelijking met die met de Access.



Figuur 4. De bepaling van totaal PSA met de ACS:180 in vergelijking met die met de Access.

hulp van de gegevens vermeld in tabel 1. In de figuren 1 en 2 zijn de ratio's PSA uitgezet voor de Elecsys en de Access, voor en na omrekening met de WHO-kalibratoren. Voor de ACS:180 is de bovengenoemde rekenexcursitie niet uitgevoerd op grond van de grote afwijking van de helling gevonden bij meting van de WHO-kalibrator 96/668. Om toch een indruk te krijgen van de waarde van de ACS-metingen ten opzichte van de beide andere systemen zijn de vergelijkingen met de Access voor vrij en totaal PSA, zonder omrekening, weergegeven in de figuren 3 en 4. Een overzicht van alle vergelijkingen zonder herkalibratie is weergegeven in tabel 2. Hierbij is alleen bij de weergave van de helling het 95%-betrouwbaarheidsinterval weergegeven als zijnde de belangrijkste variatiebron bij de vergelijking. Dit in verband met de lay-out van de tabel.

Discussie

In ieder metrologisch systeem is het van het grootste belang om aandacht te schenken aan de juistheid en de precisie waarmee meetresultaten geboekt kunnen worden. Dit geldt daarmee ook voor de klinische chemie. Het één en ander heeft er in ons vakgebied toe geleid dat er in ieder geval in theoretische zin een goed uitgewerkt systeem ontwikkeld is voor het gebruik van referentiematerialen en -methoden (15). In

het algemeen heeft genoemd hiërarchisch methodesysteem ertoe bijgedragen dat voor een aantal routinegrootheden de onderlinge vergelijkbaarheid van bestaande, in het algemeen commerciële, methoden aanzienlijk verbeterd is, waardoor het mogelijk werd

Tabel 1. De vergelijkingen van de ijklijnen na meting van de WHO-standaarden met daarbij de variaties in helling en intercept (95% betrouwbaarheidsinterval)

Totaal PSA; WHO-Standaard 96/670

ACS:180 $y = 1,04 [1,02 - 1,06] x + 0,06 [0,03 - 0,12]$

Access $y = 1,22 [1,20 - 1,24] x + 0,01 [0,00 - 0,08]$

Elecsys $y = 0,92 [0,90 - 0,93] x + 0,01 [0,00 - 0,09]$

Totaal PSA; WHO-Standaard 96/668

ACS:180 $y = 1,07 [1,04 - 1,10] x + 0,02 [-0,08 - 0,07]$

Access $y = 1,27 [1,25 - 1,33] x - 0,08 [-0,24 - (-0,05)]$

Elecsys $y = 1,04 [1,02 - 1,05] x + 0,01 [-0,08 - 0,01]$

Vrij PSA; WHO-Standaard 96/668

ACS:180 $y = 1,62 [1,53 - 1,71] x - 0,09 [-0,49 - 0,05]$

Access $y = 1,28 [1,25 - 1,32] x - 0,08 [-0,24 - 0,00]$

Elecsys $y = 0,83 [0,80 - 0,86] x + 0,00 [-0,13 - 0,02]$

Tabel 2. Berekening van de regressielijnen volgens Bablok en Passing voor de klinische monsters (BPH + PCa) na calibratie met de standaarden van de fabrikanten; alleen voor de helling is het 95%-betrouwbaarheidsinterval weergegeven

	vrij PSA	totaal PSA	ratio PSA
Alle monsters			
Access (x) vs Elecsys (y)	$y = 1,03x + 0,07$ [0,98 - 1,08]	$y = 0,93x + 0,17$ [0,91 - 0,95]	$y = 1,10x + 0,01$ [1,05 - 1,15]
Elecsys (x) vs ACS:180 (y)	$y = 1,02x + 0,03$ [0,98 - 1,06]	$y = 0,99x - 0,01$ [0,96 - 1,02]	$y = 1,16x - 0,01$ [1,08 - 1,23]
Access (x) vs ACS:180 (y)	$y = 1,04x + 0,09$ [1,00 - 1,10]	$y = 0,90x + 0,17$ [0,88 - 0,92]	$y = 1,25x + 0,00$ [1,17 - 1,34]
Alleen de BPH-monsters			
Access (x) vs Elecsys (y)	$y = 1,02x + 0,06$ [0,93 - 1,11]	$y = 0,96x + 0,08$ [0,93 - 0,98]	$y = 1,10x + 0,01$ [1,01 - 1,21]
Elecsys (x) vs ACS:180 (y)	$y = 1,00x + 0,04$ [0,94 - 1,08]	$y = 0,96x + 0,01$ [0,93 - 1,00]	$y = 1,25x - 0,02$ [1,11 - 1,41]
Access (x) vs ACS:180 (y)	$y = 1,01x + 0,11$ [0,93 - 1,10]	$y = 0,90x + 0,07$ [0,87 - 0,93]	$y = 1,34x - 0,01$ [1,17 - 1,57]
Alleen de PCa-monsters			
Access (x) vs Elecsys (y)	$y = 1,07x + 0,04$ [1,01 - 1,13]	$y = 0,92x + 0,19$ [0,88 - 0,95]	$y = 1,12x + 0,01$ [1,06 - 1,18]
Elecsys (x) vs ACS:180 (y)	$y = 1,03x + 0,03$ [0,98 - 1,10]	$y = 1,01x - 0,02$ [0,98 - 1,06]	$y = 1,09x - 0,00$ [1,00 - 1,18]
Access (x) vs ACS:180 (y)	$y = 1,10x + 0,06$ [1,03 - 1,16]	$y = 0,90x + 0,20$ [0,86 - 0,92]	$y = 1,22x + 0,01$ [1,13 - 1,34]

dat resultaten van verschillende laboratoria beter vergelijkbaar werden.

Immunochemische analysemethoden vormen een aparte uitdaging in dit verband. Dit geldt ook voor de bepaling van PSA. Hoewel het hier niet de plaats is om uitvoerig in te gaan op de (on)mogelijkheden van deze, meestal volgens het sandwich-principe uitgevoerde bepaling, willen wij wel stellen dat verschillende ontwikkelingen in de jaren negentig van de vorige eeuw ertoe geleid hebben dat de abominabele vergelijkbaarheid van PSA-resultaten van rond 1990 (LWBA-enquêtes lieten toen een variatie zien van 30-60%) aanzienlijk verbeterd is en dat nu variatiecoëfficiënten van 15-20% gebruikelijk zijn in kwaliteitscontrole-enquêtes, zoals bijvoorbeeld die van de LWBA.

Behalve de in de inleiding genoemde onderzoeken van Lilja, Stenman en Stamey, dient hier ook het initiatief uitgegaan van de International Society for Developmental Biology and Medicine (ISOBM) vermeld te worden (16). Met dit initiatief, de karakterisering van alle bestaande antilichamen tegen PSA, is een belangrijke stap gezet in de richting van verbetering van bestaande en ontwikkeling van toekomstige bepalingmethoden voor PSA. Alle bovengenoemde ontwikkelingen zijn mede mogelijk gemaakt door ondersteuning vanuit de diagnostische industrie. Het is

dan ook niet verwonderlijk dat recentelijk ontwikkelde PSA-methoden of modificaties van bestaande, hierdoor beïnvloed zijn, al zijn niet alle productbeschrijvingen van deze methoden altijd even helder in dezen.

De kalibratiesystemen die fabrikanten in het algemeen gebruiken hebben alle een verschillende oorsprong. Eén kenmerk hebben deze systemen veelal gemeen: er wordt gebruik gemaakt van eigen kalibratoren, wel of niet traceerbaar naar de WHO-kalibratoren, en eigen referentiesystemen die vaak firmaspecifiek zijn. Op dit laatste aspect is met betrekking tot PSA één uitzondering bij vele fabrikanten, te weten toepassing van de Hybritech Tandem-R gezien de langdurige dominante positie van deze methode (17). Voor zover wij hebben kunnen nagaan maakt Roche gebruik van eigen standaarden die traceerbaar zijn naar de beide WHO-standaarden. Als referentiemethoden voor zowel vrij als totaal PSA worden de niet meer verkrijgbare Enzymun-methoden toegepast, die weer traceerbaar zijn naar de Hybritech Tandem-R. De Access-methoden (Hybritech, Beckman Coulter) zijn volledig herleidbaar naar de oorspronkelijke Hybritech-Tandem-R-methoden, zowel qua kalibratoren als qua referentiemethoden. De WHO-kalibratoren hebben hierbij geen rol gespeeld. Van Bayer is bij ons niet bekend, ondanks navragen, hoe en op welke ma-

nier de gebruikte kalibratoren te traceren zijn.

Wanneer we tabel 1 bekijken dan vallen enkele zaken op. In de eerste plaats betreft dit voor totaal PSA, de goed vergelijkbare regressielijnen bij toepassing van beide WHO-kalibratoren. Dit geldt voor alle systemen met slechts een geringe afwijking voor de Elecsys. Het een en ander suggereert equimolariteit voor deze methoden omdat beide kalibratoren essentieel van elkaar verschillen. Immers, WHO 96/670 bestaat voor 90% uit gecomplexeerd PSA en WHO 96/668 is 100% vrij PSA. Daarnaast zijn de onderlinge regressielijnen ook redelijk vergelijkbaar. Voor vrij PSA zijn de onderlinge verschillen veel groter: de uiterste hellingen, ACS:180 en Elecsys, liggen een factor 2 van elkaar verwijderd waarbij de helling gevonden bij de ACS:180 sterk van 1 afwijkt. Een verklaring hiervoor is moeilijk te geven. Mogelijk is de samenstelling van de standaardoplossing die wij gebruikt hebben van invloed waardoor de interactie antigeen-antilichaam verschilt in beide systemen, al geldt dit voor totaal PSA veel minder. Wij hebben in beide gevallen het verdunningssysteem gebruikt zoals dit oorspronkelijk door Stamey is toegepast bij de ontwikkeling van de Stanford 90:10 PSA Calibrator, nu geheten WHO 96/670. Bestudering van de figuren 1 en 2 geeft aan dat herkalibratie met de WHO-standaarden de waarden voor de ratio PSA weinig doet veranderen voor wat betreft de Access en Elecsys. Dit is niet verwonderlijk omdat de hellingen voor zowel vrij als totaal PSA vergelijkbaar zijn, bij meting van de beide WHO-standaarden, WHO 96/668 en WHO 96/670.

Bezien wij alle resultaten, zowel in de figuren als in de tabellen, dan kan men zich afvragen wat het resultaat is van alle tot nu toe verrichte inspanningen. Het is duidelijk dat de activiteiten van Stamey, en met hem vele anderen, geleid hebben tot een zekere harmonisatie van PSA-metingen. Onze bevindingen gecombineerd met uitkomsten uit kwaliteitsenquêteprogramma's laten echter zien dat juistheidsverschillen van 10-15% voor totaal PSA en 15-20% voor vrij PSA geaccepteerd dienen te worden. Ergo, verschillen die, naar onze mening, een klinische betekenis kunnen hebben.

Daarmee is de vraag relevant geworden wat de waarde is van standaardisering van PSA door middel van erkende referentiepreparaten. In het algemeen is het uiteraard winst wanneer de uitkomsten van verschillende methoden dichterbij elkaar komen te liggen. Dit geldt dus ook voor PSA. Echter, veel meer winst hoeven wij op korte termijn voor vrij en totaal PSA niet te verwachten. De eerste reden hiervoor is gelegen in het feit dat PSA-methoden commercieel beladen zijn, waardoor samenwerking maar beperkt mogelijk is tussen fabrikanten en het klinisch-chemische gebruikersveld, al dient erkend te worden dat er zeker het een en ander bereikt is in dezen (zie boven). Wat dit laatste betreft mogen wij ook wel bedenken dat er veel kennis verworven is, met en binnen firma's, bij de ontwikkeling en evaluatie van PSA-methoden.

De tweede reden is van meer inhoudelijke aard. De afkorting PSA staat voor gecomplexeerd en/of vrij PSA, zoals eerder uiteengezet. Ofwel, vluchtig geregeneerd, twee moleculaire vormen van PSA. Anno 2002 weten wij dat deze redenering te simplistisch is. Bekend is nu dat PSA met een aantal eiwitten een complex kan vormen zoals α 1-antichymotrypsine, α 2-macroglobuline (dat het molecuul PSA volledig inkapselt), protein C inhibitor, α 1-antitrypsine en inter- α trypsin-inhibitor (18, 19). Of, en zo ja in welke mate, deze eiwitten de bepaling van totaal PSA beïnvloeden is niet altijd bekend (16). Denkbaar is dat de verschillende antilichamen die fabrikanten gebruiken verschillend reageren, waardoor juistheidsverschillen kunnen ontstaan. Het α 2-macroglobuline, trouwens, speelt in de fysiologie van het PSA waarschijnlijk een aparte rol.

Voor vrij PSA geldt een ander verhaal. Tot ongeveer twee jaar geleden was vrij PSA gedefinieerd als die fractie van totaal PSA die niet gebonden was. Nu weten we dat vrij PSA een mengsel is van een aantal eiwitten, zijnde: 1) precursorvormen van PSA: (-1), (-2), (-4), (-5) en/of (-7) proPSA; 2) BPSA = BPH-geassocieerd PSA gekarakteriseerd door een interne peptidplitsing bij aminozuur 182 en/of 145; 3) iPSA = intact PSA: een PSA-vorm waarover nog weinig bekend is maar die zeker verschilt van de fracties 1 en 2.

Ook hier geldt dat nauwelijks bekend is welke de fysiologische rol is in het PSA-metabolisme, zo die er is, van welke PSA-vormen (20-24). Er is ook zeer weinig bekend in welke mate deze vormen reageren met de bij de verschillende methoden gebruikte antilichamen. Dit gevoegd bij de ongetwijfeld aanwezige verschillen in concentraties van de genoemde PSA-fracties in serum en daarmee ook in de door ons gebruikte sera, maakt in kwalitatieve zin duidelijk dat wij onze hoop op volledige vergelijkbaarheid met betrekking tot vrij en totaal PSA, vooralsnog moeten bijstellen.

Ondanks alle hiervoor genoemde onvolkomenheden, mag niet onvermeld blijven dat uit ons onderzoek ook blijkt dat de drie onderzochte systemen equimolair genoemd mogen worden. Wij wezen al op de resultaten met de beide WHO-kalibratoren. Eraan toegevoegd kan worden de vergelijkbaarheid van de verschillende regressielijnen die gevonden werden bij de beide klinische subgroepen, BPH en PCa (zie tabel). Voor de Access en de Elecsys zien we consistente lijnen voor de verschillende groepen, waar dit, wanneer de ACS:180 in de vergelijking betrokken is, iets minder het geval is. Dit wordt naar onze mening deels veroorzaakt door de grotere variatie in de bepaling van vrij PSA op de ACS:180 in onze handen, ca. 7% voor Access en Elecsys en ca. 13% voor de ACS:180, in het gebied vrij PSA <0,5 μ g/l. Deze afzonderlijke metingen hebben wij niet in ons artikel vermeld, gezien de aard ervan.

Terugkomend op het eerder genoemde hiërarchisch methodensysteem zal duidelijk zijn dat het manco met betrekking tot de standaardisatie van PSA is ge-

leggen in het ontbreken van een immunochemische referentiemethode, met de verwachting dat deze er voorlopig ook niet zal komen. Immers, in het laatste geval zullen de samenstelling van kalibrator en monster identiek moeten zijn en is er een keuze noodzakelijk met betrekking tot het antilichaam, respectievelijk de antilichamen. In het geval van PSA is het dus beter te spreken van harmonisatie dan van standaardisatie. Een term die recht doet aan de wens vanuit de kliniek om in ieder geval PSA-resultaten vergelijkbaar te doen zijn. Principeel gezien echter, dient standaardisatie het einddoel te zijn.

We kunnen somber eindigen met het citeren van één van de pioniers op het gebied van immunochemische analyse, zijnde Roger Ekins: "Standardization of immunoassays of heterogeneous samples is impossible" (25). Meer positief en pragmatisch in dezen zijn Semjonow et al.: "It is the responsibility of the laboratory practitioner to clarify the assay method used and provide precise information on the reference population used by the manufacturer" (7).

Literatuur

1. Stenman UH, Leinonen J, Alftan H, Rannikko S, Tuukkanen K, Alftan O. A complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 222-226.
2. Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen MT, Nilsson O, Pettersson K, Lovgren T. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin. *Clin Chem* 1991; 37: 1618-1625.
3. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, Brawer MK, Flanagan RC, Patel A, Richie JP, et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *JAMA* 1998; 279: 1542-1547.
4. Canghai PJ van, Nayer P de, Vischer L de, Sauvage P, Tombal P, Lorge F, Wese FX, et al. Free to total prostate-specific antigen (PSA) ratio improves the discrimination between prostate cancer and benign prostatic hyperplasia (BPH) in the diagnostic gray zone of 1.8 to 10 ng/mL total PSA. *Urology* 1996; 48: 67-70.
5. Lein M, Jung K, Elgeti U, Petras T, Stephan C, Brux B, Sinha P, et al. Comparison of the clinical validity of free prostate-specific antigen, alpha-1 antichymotrypsin-bound prostate-specific antigen and complexed prostate-specific antigen in prostate cancer diagnosis. *Eur Urol* 2001; 39: 57-64.
6. Patel D, White PAE, Ward MA. A comparison of six commercial assays for total and free prostate specific antigen (PSA): the predictive value of the ratio of free to total PSA. *BJU Int* 2000; 85: 686-689.
7. Semjonow A, De Angelis G, Oberpenning F, Schmid HP, Brandt B, Hertle L. The clinical impact of different assays for prostate specific antigen. *BJU Int* 2000; 86: 590-597.
8. Blijenberg BG, Yurdakul G, Zelst BD van, Bangma CH, Wildhagen MF, Schröder FH. Discordant performance of assays for free and total prostate-specific antigen in relation to the early detection of prostate cancer. *BJU Int* 2001; 88: 545-550.
9. Semjonow A, Oberpenning F, Brandt B, Zechel C, Brandau W, Hertle L. Impact of free prostate-specific antigen on discordant measurement results of assays for total prostate-specific antigen. *Urology* 1996; 48: 10-15.
10. Blijenberg BG, Zelst BD van, Schröder FH. Standaardisatie van de bepaling van PSA: stand van zaken anno 1997. *Ned Tijdschr Klin Chem* 1998; 23: 8-12.
11. Rafferty B, Rigsby P, Rose M, Stamey T, Gaines Das R. Reference reagents for prostate-specific antigen (PSA): establishment of the first international standards for free PSA and PSA (90:10). *Clin Chem* 2000; 46: 1310-1317.
12. Stamey TA, Chen Z, Prestigiacomo AF. Reference material for PSA: the IFCC standardization study. *Clin Biochem* 1998; 31: 475-481.
13. Blijenberg BG, Storm BN, Boeken Kruger AE, Schröder FH. On the standardization of total prostate-specific antigen: an exercise with two reference preparations. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 545-552.
14. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1: 307-310.
15. Büttner J. Reference methods as a basis for accurate measuring systems. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1991; 29: 223-235.
16. ISOBM TD-3 International workshop on monoclonal antibodies against prostate-specific antigen. *Tumour Biol* 1999; 20 (Suppl 1): 1-94.
17. Stenman UH. Immunoassay standardization: is it possible, who is responsible, who is capable? *Clin Chem* 2001; 47: 815-820.
18. Zhang WM, Finne P, Leinonen J, Vesalainen S, Nordling S, Stenman UH. Measurement of the complex between prostate-specific antigen and alpha-1-protease inhibitor in serum. *Clin Chem* 1999; 45: 814-821.
19. Becker C, Noldus J, Diamandis E, Lilja H. The role of molecular forms of prostate-specific antigen (PSA or hK3) and of human glandular kallikrein 2 (hK2) in the diagnosis and monitoring of prostate cancer and in extra-prostatic disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2001; 38: 357-399.
20. Mikolajczyk SD, Grauer LS, Millar LS, Hill TM, Kumar A, Rittenhouse HG, Wolfert RL, et al. A precursor form of PSA (pPSA) is a component of the free PSA in prostate cancer serum. *Urology* 1997; 50: 710-714.
21. Peter J, Unverzagt C, Krogh TN, Vorm O, Hoesel W. Identification of precursor forms of free prostate-specific antigen in serum of prostate cancer patients by immunosorption and mass spectrometry. *Cancer Res* 2001; 61: 957-962.
22. Mikolajczyk SD, Millar LS, Wang TJ, Rittenhouse HG, Wolfert RL, Marks LS, Song W, et al. "BPSA", a specific molecular form of free prostate-specific antigen, is found predominantly in the transition zone of patients with nodular benign prostatic hyperplasia. *Urology* 2000; 55: 41-45.
23. Wang TJ, Slawin KM, Rittenhouse HG, Millar LS, Mikolajczyk SD. Benign prostatic hyperplasia-associated prostate-specific antigen (BPSA) shows unique immunoreactivity with anti-PSA monoclonal antibodies. *Eur J Biochem* 2000; 267: 4040-4045.
24. Nurmikko P, Väisänen V, Piironen T, Lindgren S, Lilja H, Pettersson K. Production and characterization of novel anti-prostatic-specific antigen (PSA) monoclonal antibodies that do not detect internally cleaved Lys145-Lys146 inactive PSA. *Clin Chem* 2000; 46: 1610-1618.
25. Ekins R. Immunoassay standardization. *Scand J Clin Lab Invest* 1991; 51 (Suppl 205): 33-46.

Summary

PSA-comparability: standardization or harmonization? Zelst BD van, Blijenberg BG. Ned Tijdschr Klin Chem 2002; 27: 25-30.

Objective: Investigation of the application of WHO calibrators for PSA (WHO 96/670 and WHO 96/668) in relationship with new developments regarding PSA measurements.

Methods: The PSA assays used were those for Access, Elecsys and ACS:180. We used 200 clinically described samples (BPH and PCa).

Results: Comparing the manufacturer's calibration procedure

with the WHO calibrators, revealed for total PSA slopes of 1.22, 0.92 and 1.04 for Access, Elecsys and ACS:180 respectively. For free PSA we found 1.28, 0.83 and 1.62. Measurement of these calibrators in combination with the measurement of the clinical samples indicated that the methods for total PSA may be assumed equimolar.

Conclusion: We found a good comparability for free and total PSA. However, good interchangeability of results is still not possible, due to the lack of reference methods.

Key-words: PSA, free PSA, WHO calibration, equimolarity.