

## Literatuur

1. Jemal A, Tiwari RC, Murray T, et al. Cancer statistics, 2004. *CA Cancer J Clin* 2004; 54: 8-29.
2. Jensen OM, Esteve J, Møller H, et al. Cancer in the European Community and its member states. *Eur J Cancer* 1990; 26: 1167-1256.
3. Schröder FH, Maas P van der, Beemsterboer P, et al. Evaluation of the digital rectal examination as a screening test for prostate cancer. Rotterdam section of the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1817-1823.
4. Schröder FH. Diagnosis, characterization and potential clinical relevance of prostate cancer detected at low PSA ranges. *Eur Urol* 2001; 39 Suppl 4: 49-53.
5. Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, et al. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. *J Urol* 1994; 151: 1283-1290.
6. Djavan B, Zlotta A, Remzi M, et al.: Optimal predictors of prostate cancer on repeat prostate biopsy: a prospective study of 1,051 men. *J Urol* 2000; 163: 1144-1148.
7. Murphy GP, Barren RJ, Erickson SJ, et al. Evaluation and comparison of two new prostate carcinoma markers. Free-prostate specific antigen and prostate specific membrane antigen. *Cancer* 1996; 78: 809-818.
8. Xu LL, Srikantan V, Sesterhenn IA, et al. Expression profile of an androgen regulated prostate specific homeobox gene NKX3.1 in primary prostate cancer. *J Urol* 2000; 163: 972-979.
9. Gu Z, Thomas G, Yamashiro J, et al. Prostate stem cell antigen (PSCA) expression increases with high gleason score, advanced stage and bone metastasis in prostate cancer. *Oncogene* 2000; 19: 1288-1296.
10. Sun Y, Lin J, Katz AE, et al. Human prostatic carcinoma oncogene PTI-1 is expressed in human tumor cell lines and prostate carcinoma patient blood samples. *Cancer Res* 1997; 57: 18-23.
11. Srikantan V, Zou Z, Petrovics G, et al. PCGEM1, a prostate-specific gene, is overexpressed in prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 12216-12221.
12. Oettgen P, Finger E, Sun Z, et al. PDEF, a novel prostate epithelium-specific Ets transcription factor, interacts with the androgen receptor and activates prostate-specific antigen gene expression. *J Biol Chem* 2000; 275: 1216-1225.
13. Lin B, Ferguson C, White JT, et al. Prostate-localized and androgen-regulated expression of the membrane-bound serine protease TMPRSS2. *Cancer Res* 1999; 59: 4180-4184.
14. Nelson PS, Gan L, Ferguson C, et al. Molecular cloning and characterization of prostase, an androgen-regulated serine protease with prostate-restricted expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 3114-3119.
15. Bussemakers MJ, Bokhoven A van, Verhaegh GW, et al. DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res* 1999; 59: 5975-5979.
16. Hessels D, Klein Gunnewiek JM, Oort I van, et al. DD3(PCA3)-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer. *Eur Urol* 2003; 44: 8-15.
17. Meng FJ, Shan A, Jin L, Young CY. The expression of a variant prostate-specific antigen in human prostate. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11: 305-309.
18. Meid FH, Gygi CM, Leisinger HJ, et al. The use of telomerase activity for the detection of prostatic cancer cells after prostatic massage. *J Urol* 2001; 165: 1802-1805.
19. Goessl C, Muller M, Heicappell R, et al. DNA-based detection of prostate cancer in urine after prostatic massage. *Urology* 2001; 58: 335-338.
20. Tinzl M, Marberger M, Horvath S, Chypre C. DD3<sup>PCA3</sup> RNA analysis in urine - A new perspective for detecting prostate cancer. *Eur Urol* 2004; 46: 182-187.
21. Fradet Y, Saad F, Aprikian A, et al. uPM3, a new molecular urine test for the detection of prostate cancer. *Urology* 2004; 64: 311-316.
22. Hessels D, Verhaegh GW, Schalken JA, Witjes JA. Applicability of biomarkers in the early diagnosis of prostate cancer. *Expert Rev Mol Diagn* 2004; 4: 513-526.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2005; 30: 37-41

## Meten tussen de regels door: kwaliteitsbewaking bij tumormarkerbepalingen

P.P.C.A. MENHEERE

Kwaliteitsbewaking van klinisch-chemische bepalingen moet aansluiten bij de dagelijkse praktijk. Dit betekent dat alle stappen binnen het totale proces moeten worden onderworpen aan kwaliteitsbewaking. Gerapporteerde resultaten moeten vergelijkbaar zijn met eerdere resultaten bij dezelfde patiënt, met resultaten in andere laboratoria en met beschrijvingen in de literatuur van groepen van patiënten met een-

zelfde aandoening. Pas dan kunnen patiënten veilig overeenkomstig (inter)nationaal aanvaarde protocollen behandeld worden.

Aspecten van de kwaliteitsbewaking van de preanalytische fase, de analytische fase en de postanalytische fase worden besproken.

### De preanalytische fase

Variaties in het preanalysetraject worden veelal voorkomen door het werken volgens vaste protocollen, waarin gedefinieerd wordt op welk tijdstip geprikt moet worden (nuchter, niet-nuchter, dag-nachtritme, enz.), waar het bloed moet worden afgenomen (veneus, arterieel, capillair, enz.), wat voor soort bloed-

---

Correspondentie: Dr.ir. P.P.C.A. Menheere, Academisch Ziekenhuis Maastricht, Afdeling Klinische Chemie/Endocrinologie, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht  
E-mail: menheere@klinchem.azm.nl

afname er moet geschieden (serum, EDTA, volbloed, enz), hoe het materiaal verwerkt en opgeslagen (koud afdraaien, 4 °C, -20 °C, enz.) moet worden en klaargemaakt moet worden voor de analyse. In de meeste laboratoria is hier sprake van een ja/nee-situatie: het monster voldoet aan alle voorwaarden en wordt derhalve in behandeling genomen, óf aan een van de voorwaarden is niet voldaan en de aanvraag wordt afgewezen. De variatie van het resultaat veroorzaakt door de meeste onderdelen van het preanalytisch proces is zeer gering. Bij sommige bepalingen worden in de literatuur evenwel essentiële waarborgen gevraagd, die niet altijd de volle aandacht van het laboratoriumpersoneel krijgen.

### De analytische fase

Bij de kwaliteitsbewaking van het analytische proces wordt altijd gedacht aan externe programma's (zoals dat van de sectie Endocrinologie van de Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoria (SKML)). Veelal wordt een dergelijk programma aangevuld met een intern kwaliteitsbewakingprogramma.

Een intern kwaliteitsbewakingsprogramma is een conditio sine qua non in het totale proces om van een aanvraag tot een verantwoorde uitslag te komen. Interne kwaliteitsbewaking heeft betrekking op de kwaliteit van de standaardreeks, of indien afwezig, van de 'adjuster'-procedures. Essentieel is ook het meenemen van controlemonsters. Deze moeten, als sprake is van niet-lineaire standaardcurves, zo gekozen worden dat concentraties liggen rondom belangrijke niveaus waarbij klinisch belangrijke beslissingen genomen worden. De controles moeten op dusdanige tijdstippen bepaald worden, dat eventuele drift detecteerbaar is. Ook moet worden gedacht aan de mogelijkheid om matrixeffecten (niet nader te omschrijven

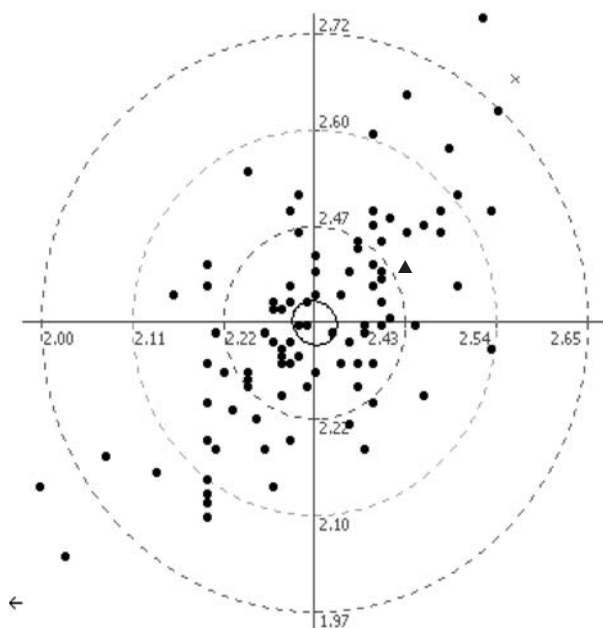
interacties tussen monster, reagentia, apparatuur en omgeving) te kunnen signaleren. Binnen de regio Limburg is gekozen voor 3 controlemonsters, die door de regio zelf worden gemaakt en die door ieder laboratorium bij elke reeks (in batchgewijze processen) of met een voldoende grote frequentie (in patiëntgeoriënteerde systemen) worden bepaald. Deze controles zijn gevriesdroogde sera, gemaakt van humane restsera (gecontroleerd op besmettelijkheid). Meestal wordt er naast deze sera ook nog een humaan niet-gevroogd monster meegenomen. Dit vergroot de mogelijkheid om bij veranderingen in kitsamenstelling matrixeffecten te kunnen detecteren. Een eventuele 'drift' kan in een zogenoemd Youden-plot worden vastgesteld (figuur 1). Zolang het driehoekje niet binnen het kwadrant rechtsonder of linksboven buiten de 2SD-grens komt, is er statistisch gesproken geen sprake van 'drift'. Ongeveer eens in de twee maanden worden de verkregen resultaten regionaal besproken. De gevonden gemiddelde concentraties van zowel totaal PSA als vrij PSA liggen heel dicht bij elkaar, alhoewel er wel een verschil zichtbaar is tussen de diverse bepalingmethoden. De intraregionale variatiecoëfficiënten rond de 5% zijn zeer acceptabel (figuur 2).

Naast een intern kwaliteitsprogramma moet er ook steeds een extern programma meelopen ter controle van de kwaliteit van een laboratorium. In Nederland is deelname aan het programma van de Sectie Endocrinologie van de SKML gebruikelijk. Deze sectie verzorgt ook de rondzendingen van de enquêtes voor de tumormerkstoffen in nauwe samenwerking met de Werkgroep Tumormarkers van de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde. Incidenteel maken laboratoria ook gebruik van het kwaliteitsbewakingsprogramma van de Deutsche Ringversuch of van het Engelse EQUAS.

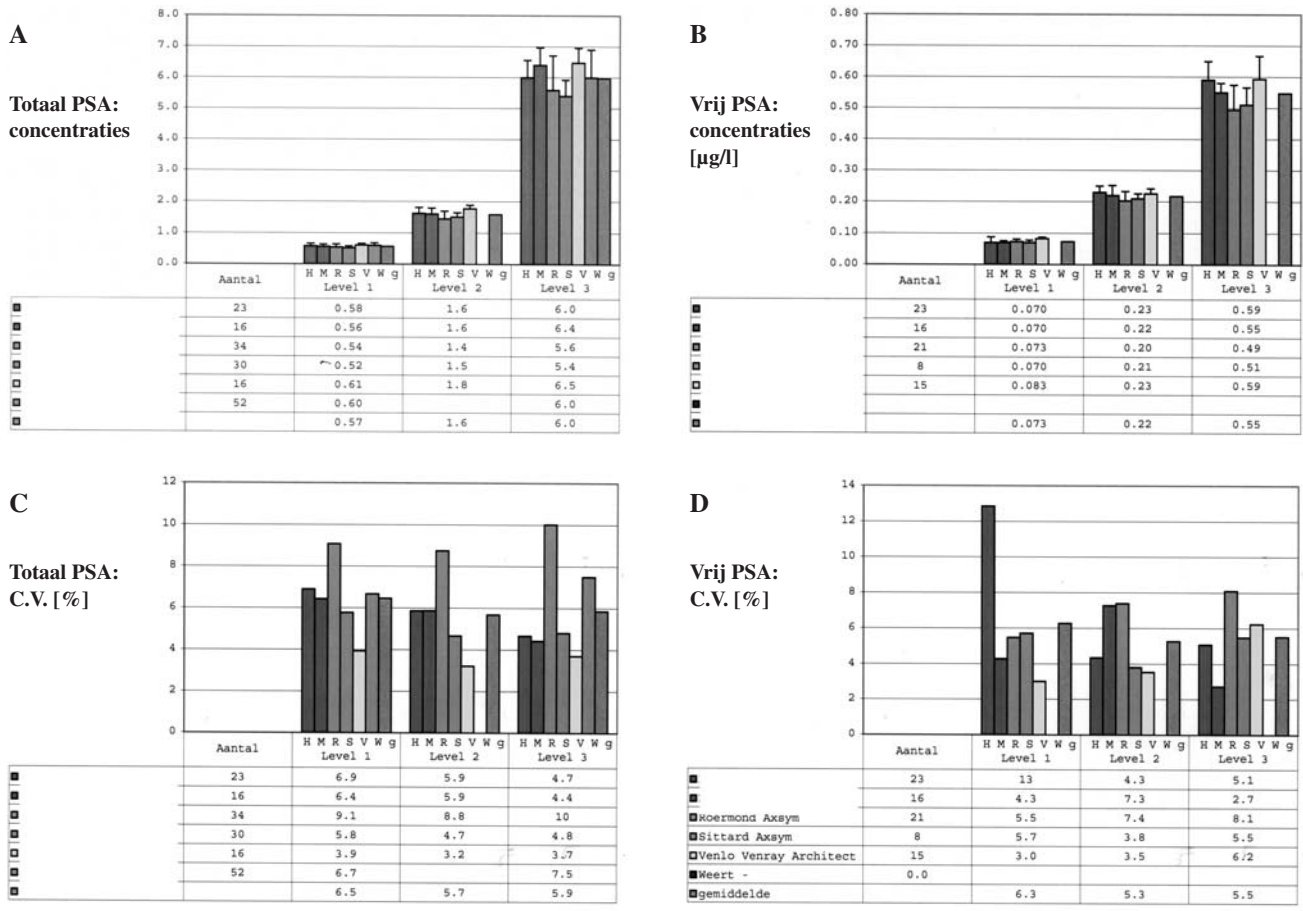
De externe kwaliteitsbewaking die georganiseerd wordt door de Sectie Endocrinologie bestaat uit 6 rondzendingen per jaar van 2 monsters voor endocrinologische bepalingen en 2 monsters voor tumormarkers. Ook hier betreft het gevriesdroogd, humaan, gespiked materiaal.

In figuur 3 is een voorbeeld gegeven van een uitdraai van dit programma. Landelijk zijn er omstreeks 125 deelnemers die PSA kunnen bepalen binnen een variatiecoëfficiënt van 10 tot 15%. De correlatiecoëfficiënt is alleszins acceptabel en duidt op met name verschillen in kalibratie. Er wordt steeds meer clustervorming gezien, doordat er minder bepalingmethoden zijn. Er zijn tot nu toe evenwel geen aanwijzingen dat het algemeen gebruik van dezelfde methode tot een lagere landelijke variatiecoëfficiënt zal leiden.

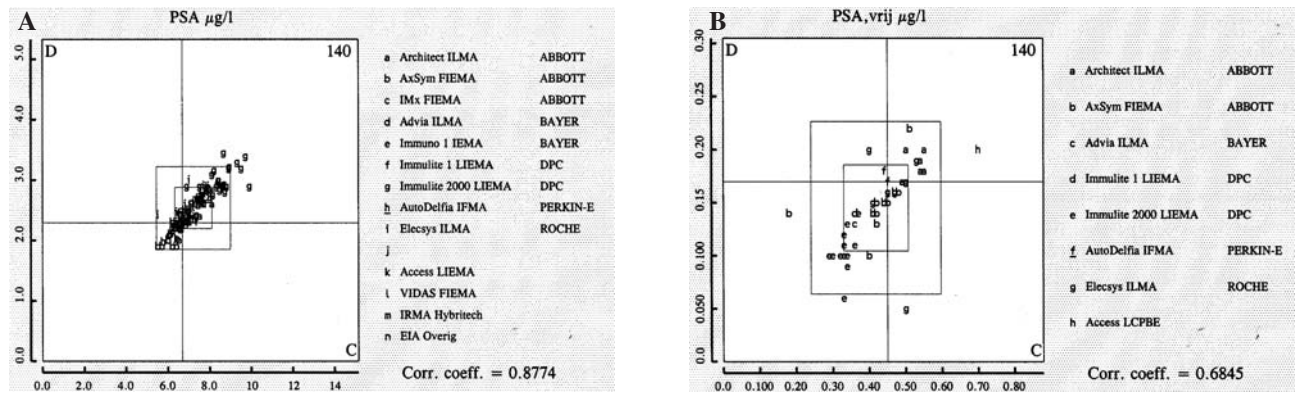
Naast deze landelijke enquête organiseert de sectie een apart programma ten behoeve van de laboratoria die meedoen aan de ERSPC-trial. Alleen de frequentie van de enquêtes verschilt van het reguliere programma. Aangezien hier wel één methode dominant aanwezig is, zou een lagere totale interlaboratoriumvariatiecoëfficiënt worden verwacht, maar de aanwijzingen daarvoor ontbreken.



**Figuur 1.** Youden-plot, waarbij op de X-as de concentratie vóór en op de Y-as de concentratie ná de reeks van omstreeks 70 monsters is uitgezet. Het driehoekje geeft de controle uit de laatste run weer. Het kruisje betreft een monster uit een meetserie die is afgekeurd.



**Figuur 2.** De kwaliteitscontrolesera van de regio Klinisch Chemici Limburg: A en B: absolute concentraties van respectievelijk totaal en vrij PSA; C en D: CV's van respectievelijk totaal en vrij PSA. Iedere staaf stelt een van de laboratoria van de regio voor.



**Figuur 3.** Resultaat van een enquête van de Sectie Endocrinologie van de SKML voor totaal PSA; A: Youden-plot totaal PSA; B: Youden-plot vrij PSA.

**De postanalytische fase**

Rest de laatste fase van het klinisch chemische proces: de postanalytische fase. Volgens de aanwijzing door minister Borst van het beroep van klinisch chemicus ex artikel 34 van de Wet BIG, is de klinisch chemicus verantwoordelijk voor de correcte interpretatie van de verkregen uitslagen. Toegespitst op de aanvragen van PSA betekent dit, dat hij/zij een essentiële taak heeft in het diagnostische gebruik van deze bepaling. Ook in het vervolgtraject kan hij/zij een cruciale bijdrage leveren. Daarbij gaat het veelal om de vraagstelling of er al dan niet een recidief is. Ook

behoort advisering ten aanzien van het interval tussen twee PSA-controles tot de taak van de klinisch chemicus. Kennis van zowel het analytische proces als het ziektebeloop is daarbij onmisbaar. Berekeningen moeten gemaakt worden op grond waarvan bijvoorbeeld een stijging van de PSA-concentraties wel of niet gezien kan worden als expressie van een recidief. Combinatie van de totaal-PSA-uitslagen met de uitslagen van vrij PSA (F/T-ratio) kan hierbij een wezenlijke bijdrage leveren. Kennis van de normale ontwikkeling van een tumor kan leiden tot de ontwikkeling van een model, dat bruikbaar is om meer

objectief verslag uit te brengen. De toepassing van grafische methoden daarbij is een van de mogelijkheden om de inzichtelijkheid te vergroten.

Binnen het AZM is een softwaremodule ontwikkeld (nog voordat er commerciële variaties beschikbaar waren), genaamd OBIS (oncologisch beslissingsondersteunend informatiesysteem), die de gebruiker in staat stelt om longitudinale gegevens van een patiënt grafisch uit te zetten, waarbij er tevens de mogelijkheid is om klinische data in de grafiek op te nemen. Ook kunnen parameters, zoals halfwaardetijd en verdubbelingstijd, berekend worden. OBIS blijkt in de praktijk van enorme betekenis te zijn bij de interpretatie van resultaten. Uitgangspunt bij de ontwikkeling van OBIS was, dat veel biologische processen, en daar horen tumoren bij, een voorspelbaar verloop hebben. Idealiter produceert een tumor een merkstof die totaal niet detecteerbaar is wanneer er geen tumor is. De concentratie van de merkstof is een functie van de grootte en/of de activiteit van de tumor. Indien alle cellen even snel en tegelijkertijd zouden groeien, moet er een rechte relatie zijn tussen de logaritme uit de concentratie van de tumormarker en de tijd. Evenzo zal deze rechtlijnige relatie zichtbaar zijn indien alle cellen van de tumor een gelijke gevoeligheid hebben voor anti-tumor-therapie. Het blijkt dat PSA een bijna ideale tumormerkstof is en dit maakt het gebruik van OBIS aantrekkelijk. Het programma kan gebruikt worden bij het inzetten van een bepaling om latere verdunningen te voorkomen, maar ook bij validatie en autorisatie. Systematische beoordeling van de uitslagen kan tot patroonherkenning leiden, hetgeen weer belangrijk is voor de beoordeling van therapeutische opties. Zo kunnen de onderstaande patronen gemakkelijk herkend worden.

- Bij groei van een tumor (recidief) is er meestal sprake van een exponentieel proces met een vaste verdubbelingstijd. Deze lijkt tussen patiënten opvallend constant.
- Bij therapie zal de tumormarkerconcentratie dalen. Indien alle cellen gelijktijdig beïnvloed worden volgt er een exponentiële daling met als gevolg een rechte lijn; ook hier lijken na operatieve therapie de aanvankelijke halveringstijden tussen patiënten opvallend constant te zijn.
- De stijging van de PSA-concentratie in de tijd kan middels een kleinste kwadratenmethode uitgerekend

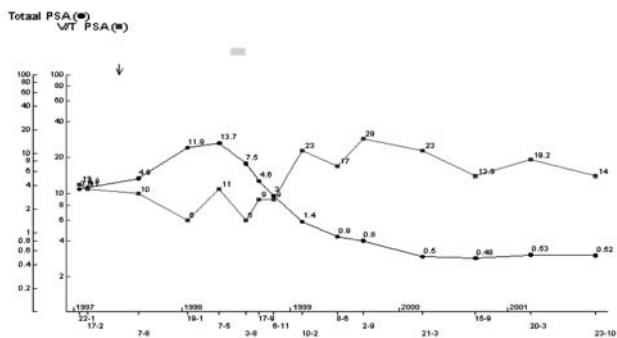
worden. Het moet mogelijk zijn om verschillende therapieën (bestraling, 'gamma knife', brachytherapie, chemotherapie) of verschillende therapeutische perioden met elkaar te vergelijken. De begrippen PSA-velocity en PSA-verdubbelingstijd krijgen daardoor een andere betekenis, omdat deze aldus berekend statistisch beter verantwoord zijn dan wanneer enkel berekend uit het verschil tussen twee opeenvolgende waarden.

- Het blijkt dat bij een recidief zonder dat er sprake is van therapie de concentratie van een nieuw monster zeer goed is te voorspellen op basis van de reeds berekende helling en de verlopen tijd sinds de laatste meting. Hiervan kan door de analisten gebruik gemaakt worden om een indicatie te krijgen of het nieuwe monster eventueel verdund ingezet moet worden. Ook bij het valideren van de nieuwe uitslagen kan hiervan gebruik worden gemaakt. Uiteraard is het dan nodig dat de autorisator gemakkelijk toegang heeft tot het (elektronische) dossier van de patiënten. In de praktijk blijkt OBIS een waardevol hulpmiddel te zijn. De analisten hoeven minder 're-runs' te draaien. De autorisator is in staat om de uitslagen in een oogopslag op een bevredigende manier grafisch te valideren. De klinisch chemicus kan op objectieve wijze tendensen eerder en beter duidelijk maken aan de klinici. Tenslotte versterkt het gebruik van OBIS het vertrouwen van de klinici in het laboratorium en dus ook de band tussen klinici en klinisch chemici.

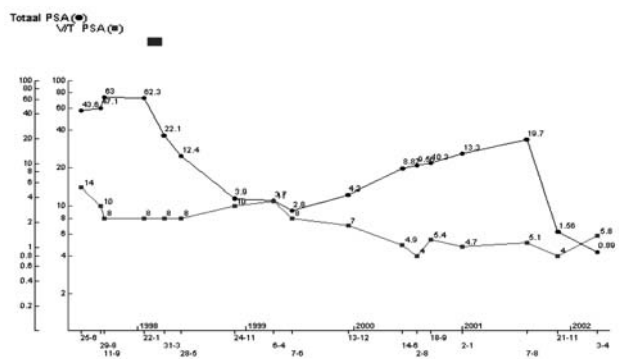
Als voorbeeld vermelden we ons onderzoek naar de waarde van de F/T-ratio in de follow-up van patiënten.

Nadere bestudering van meer dan 20.000 patiënten met meer dan 120.000 uitslagen, heeft geleid tot de volgende patronen in het gedrag van de F/T-ratio tijdens de follow-up.

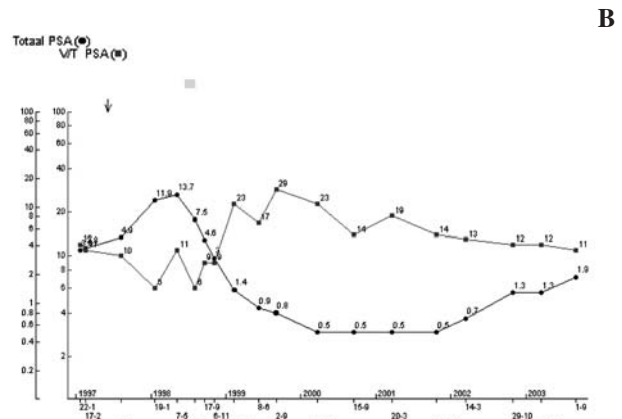
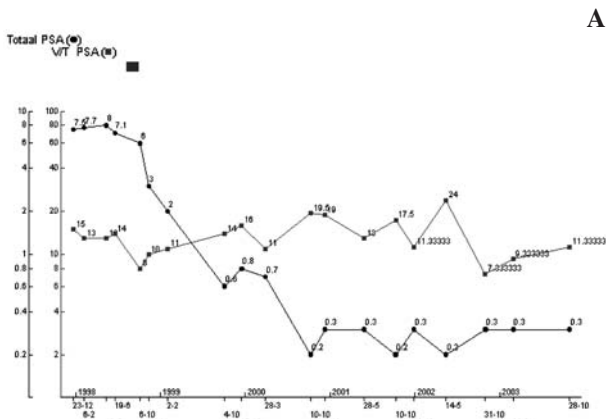
Figuur 4 laat een voorbeeld zien van een dalende PSA-concentratie na het geven van therapie (grijze balk). De F/T-ratio stijgt in eerste instantie, om vervolgens constant te blijven. Dit wordt geïdentificeerd als herstel van de integriteit van het membraan van de prostaat. In figuur 5 is na therapie (grijze balk) aanvankelijk ook een daling van totale PSA-concentratie, maar de concentraties blijven hoger dan in de vorige figuur en er volgt een duidelijke stijging. Bovendien is ook de F/T-ratio lager, er treedt nauwelijks een



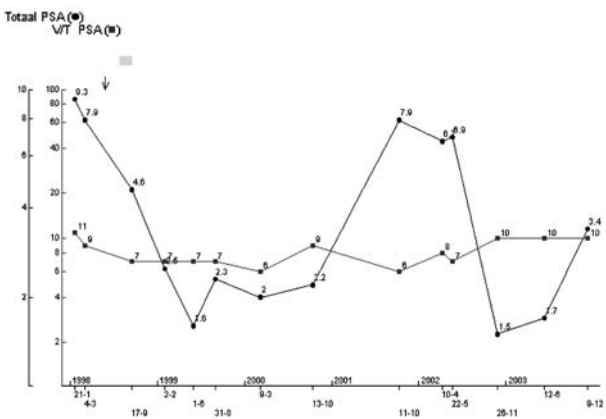
**Figuur 4.** Voorbeeld van een na therapie dalende PSA-concentratie met een stijgende F/T-ratio.



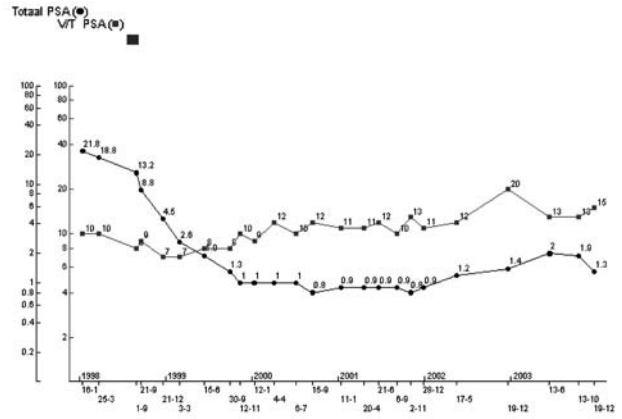
**Figuur 5.** Voorbeeld van een na therapie dalende PSA-concentratie met een dalende F/T-ratio.



**Figuur 6a en 6b.** Voorbeelden van patiënten, die een daling van totaal PSA laten zien, gepaard met een kortstondige scherpe daling van de F/T-ratio, gevolgd door een geleidelijke stijging. In beide gevallen lijkt er op het laatst toch een recidief te komen, maar daar zijn klinisch nog geen aanwijzingen voor.



**Figuur 7.** Na de therapie volgt een scherpe daling van het totaal PSA, maar de F/T-ratio blijft onveranderd.



**Figuur 8.** Voorbeeld van voortdurend dalende totaal PSA, gepaard met een langzaam stijgende F/T-ratio.

stijging op, maar er is juist een significante daling die parallel verloopt aan de stijging van het totaal PSA. De figuren 6 A en B laten patiënten zien, waarbij de F/T-ratio een scherpe daling laat zien onmiddellijk na het instellen van de therapie (grijze balken), gevolgd door een geleidelijke stijging. Het vermoeden bestaat dat dit een teken is van membraanherstel. Steeds treedt daarbij de stijging van de F/T-ratio op voordat de totale PSA daalt. De F/T-ratio lijkt een gevoeliger parameter te zijn om het herstel aan te kondigen.

In figuur 7 is er na de operatie een scherpe daling van het totaal PSA, terwijl de F/T-ratio onveranderd laag blijft. Heel snel zijn er twee recidieven, maar in de tussenperiodes is er geen verbetering van de F/T-ratio. In figuur 8 is er na de radiotherapie een voortdurend dalende totaal-PSA-concentratie, maar ook de F/T-ratio stijgt voortdurend en komt zelfs in een bereik, dat normaliter gezien wordt als horende bij benigne prostaatprocessen. De langzame stijging van totaal PSA van 0,9 naar 2,0 in 1½ jaar valt binnen de normale biologische fluctuaties en gaat niet gepaard met een

daling van de F/T-ratio. Er lijken dus geen aanwijzingen te zijn voor een recidief.

Nauwkeurige bestudering van deze grafieken en de vele honderden andere grafieken doet het vermoeden rijzen, dat de F/T-ratio een indicator is die eerder (3 tot 6 maanden) verandert dan de totaal PSA-concentratie. Of dit ook klinische betekenis heeft, is op dit moment onduidelijk. De sensitiviteit en specificiteit moeten worden vastgesteld en reële therapeutische mogelijkheden moeten worden gerealiseerd om dergelijke, ongetwijfeld kleine, recidieven te attaqueren. Concluderend kan gesteld worden, dat de preanalytische kwaliteitsbewaking wellicht te weinig aandacht krijgt. De analytische kwaliteitsbewaking is adequaat. Daarentegen kan de postanalytische kwaliteitsbewaking fors uitgebreid worden, waarbij voordeel gehaald kan worden door: meer contacten met de kliniek (therapie, vervolg) en individueel bekijken van uitslagen in relatie tot vroegere resultaten. Tussen de regels door zit nog heel veel ongebruikte informatie!