

19. Heineman MJ, Evers JHL, Massuger LFAG, Steegers EAP, Editors. *Obstetrie en gynaecologie, de voortplanting van de mens*. 34.4.5. Cervixcarcinoom, Elsevier gezondheidszorg, Maarsse 2007, 6^e druk.
20. Gadducci A, Tana R, Cosio S, Genazzani AR. The serum assay of tumour markers in the prognostic evaluation, treatment monitoring and follow-up of patients with cervical cancer: a review of the literature. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008; 66: 10-20.
21. Yedema CA, Verheijen RH, Kenemans P, Schijf CP, Borm GF, Segers MF, Thomas CM. Identification of patients with persistent trophoblastic disease by means of a normal human chorionic gonadotropin regression curve. *Am J Obstet Gynaecol* 1993; 168: 787-792.
22. Whitley RJ, Ain KB. Thyreoglobulin: a specific serum marker for the management of thyroid carcinoma. *Clin Lab Med* 2004; 24: 29-47.
23. Giovanella L, Crippa S, Cariani L. Serum calcitonin-negative medullary thyroid carcinoma: role of CgA and CEA as complementary markers. *Int J Biol Markers* 2008; 23: 129-131.
24. Machens A, Ukkat J, Hauptmann S, Dralle H. Abnormal carcinoembryonic antigen levels and medullary thyroid cancer progression: a multivariate analysis. *Arch Surg* 2007; 142: 289-293.
25. Groot JW de, Kema IP, Breukelman H, Veer E van der, Wiggers T, Plukker JT, et al. Biochemical markers in the follow-up of medullary thyroid cancer. *Thyroid*. 2006; 16: 1163-1170.

Summary

Keuren JFW, Thomas CMG, Bonfrère JMG, Sweep CGJ, Boonstra JG. Application of tumour markers in clinical practice. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2010; 35: 2-6.

Serum-tumour markers are molecules that are used frequently for diagnosis and treatment of malignancy. The present paper informs the reader about the use and limitations of common serum-tumour markers. We describe the use of serum-tumour markers for screening, diagnosis, staging and prognostic evaluation, detection of recurrence and treatment monitoring. Overall, the common serum-tumour markers are poorly sensitive and specific for screening in an asymptomatic population. The benefits of an improved prognosis by early detection should be weighted to the cost of substantial overdiagnosis and over-treatment. Serum-tumour markers often support the diagnostic process and give useful prognostic information. However, at present serum-tumour markers are above all applicable for treatment monitoring and detection of recurrence.

Key words: tumormarkers; screening; diagnosis; prognosis; therapy monitoring

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2010; 35: 6-13

Tumormarker HCG in de behandeling van zwangerschapsgerelateerde trofoblastziekten

C.M.G. THOMAS¹, L.F.A.G. MASSUGER² en F.C.G.J. SWEEP¹

De tumormarker HCG wordt op uitgebreide schaal ingezet bij de behandeling van zwangerschapsgerelateerde trofoblastziekten ('gestational trophoblastic disease', GTD). De daaronder vallende afwijkingen worden gekenmerkt door een abnormale proliferatie van trofoblastweefsel met een wisselende neiging tot spontane remissie, locale invasie en metastasering. Behandeling en begeleiding van behandeling van deze ziekten vindt plaats in afstemming met de Centrale Molareregistratie (CMR) en de Werkgroep Trofoblasttumoren (WTT). Na een korte samenvatting van de biochemie, functie en serumconcentraties van HCG volgt bespreking van de pathogenese, diagnostiek en epidemiologie van molazwangerschap, plaats en positie van de CMR en WTT voor behan-

deling van trofoblastziekten, de risicofactoren voor de kans op persisteren van de trofoblast en de indeling in laagrisicopatiënten (te behandelen met monochemotherapie) en hoogrisicopatiënten (die direct met multiagent (combinatie) chemotherapie worden behandeld). Enkele veelvuldig gestelde vragen worden besproken en afgesloten wordt met een overzicht van verricht onderzoek dat zich concentreert op het zoeken naar voorspellende factoren die vroegtijdig opsporen van persisterende trofoblastziekte mogelijk maken.

Trefwoorden: humaan choriongonadotrofine, mola-zwangerschap, persisterende trofoblastziekte, Centrale Molaregistratie

Afdeling Laboratoriumgeneeskunde¹ en Afdeling Obstetrie en Gynaecologie², Universitair Medisch Centrum St Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen

Correspondentie: dr C.M.G. Thomas, Universitair Medisch Centrum St Radboud, 530 LABGK, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen
E-mail: c.thomas@ace.umcn.nl

Op 6 november 2008 vond in Utrecht het door de Werkgroep Tumormarkers georganiseerde symposium Tumormarkers in de Gynaecologische Oncologie plaats. Een van de voordrachten ging in op de betekenis van de tumormarker humaan choriongonadotrofine (HCG) bij de behandeling van zwangerschapsgerelateerde trofoblasttumoren en het daaraan ten grondslag liggend onderzoek.

Na een korte samenvatting over de biochemie van HCG kwam de pathogenese, diagnostiek en epidemiologie van molazwangerschap aan bod. Vervolgens werd ingegaan op de functie van de Centrale Molaregistratie (CMR) en de positie van de Werkgroep Trofoblasttumoren (WTT), waarbij inzicht werd gegeven in de problematiek en behandeling van persisterende trofoblastziekte (PTD). Ter verduidelijking van doel en functie van de CMR werden enkele veelvuldig gestelde vragen beantwoord, waarbij ook de aanmeldingsprocedure van patiënten met een molazwangerschap aan bod kwam en argumenten werden aangevoerd om bloedmonsters voor bepaling van HCG bij molazwangerschap naar Nijmegen op te sturen. Afgesloten werd met een overzicht van verrichte klinische studies die zich nog steeds en vooral concentreren op het zoeken naar voorspellende factoren die vroegtijdig opsporen van persisterende trofoblastziekte mogelijk maken. Reeds lang geleden werd door ons een normogram ('regressiecurve') ontwikkeld voor het vervolgen van de ongestoord verlopende daling van HCG in serum na beëindiging ('evacuatie') van een molazwangerschap. Van recentere datum is de door ons ontwikkelde regressiecurve voor het opsporen van patiënten met laagrisico voor PTD die niet reageren op eerstelijns monochemotherapie met methotrexaat. Nadien is deze regressiecurve in een internationale samenwerking extern gevalideerd. Tenslotte hebben wij in het verleden ook nog gekeken naar het effect van een tweede curettage op het verloop van de regressie van HCG in het serum en naar de kans op terugkerende ziekte na normalisatie van de HCG-spiegel in serum bij patiënten die spontaan of na chemotherapeutische behandeling voor PTD in remissie gingen.

Biochemie van HCG

Reeds eerder werd in dit tijdschrift uitgebreid ingegaan op de nieuwe ontwikkelingen bij bepaling van HCG (1). Voor structuur en functie van HCG geldt dat dit hormoon samen met luteïniserend hormoon (LH), follikelstimulerend hormoon (FSH) en schildklierstimulerend hormoon (TSH) tot dezelfde familie van glycoproteïnen behoort. Al deze hormonen zijn opgebouwd uit twee proteïneketens die afzonderlijk geen intrinsieke biologische activiteit hebben. De α - en de β -subketen ('subeenheid', 'subunit') worden door ladingverschillen (non-covalent) bijeen gehouden. De α -subketen bestaat uit 92 aminozuren (AA) met vijf disulfidebruggen, en is vrijwel identiek voor de vier glycoproteïnen. De β -subketens hebben een grote mate van overeenkomst, waarbij de verschillen tussen de ketens bepalend zijn voor de biologische activiteit van het betreffende hormoon. De eerste 121 aminozuren van de β -ketens van LH (121 aminozuren) en HCG (145 aminozuren met zes disulfidebruggen) zijn vrijwel identiek, maar beide ketens verschillen in lengte. Het unieke, proline- en serinerijke 24 aminozuren tellende C-terminale peptide (CTP) is bepalend voor de biologische werking van het intacte HCG. De moleculaire massa (MW) van HCG is ongeveer 37500 Da, 14000 Da voor HCG α en 23500 Da voor HCG β . Ongeveer eenderde van de moleculaire massa bestaat uit koolhydraten die op acht plaatsen aan het HCG-molecuul zijn

gebonden. Twee stikstofgebonden ('N-linked') koolhydraatketens zijn gekoppeld aan asparagine (Asn) 52 en Asn78 van de HCG α -subeenheid, twee andere zijn gebonden aan Asn13 en Asn30 van de HCG- β -subketen, terwijl vier zuurstofgebonden ('O-linked') suikerzijketens gekoppeld zijn aan serine (Ser)121, Ser127, Ser132 en Ser138 van het CTP van HCG β (2, 3).

De HCG- α -subketens worden gecodeerd door een enkel gen op chromosoom 12q21.1-23, terwijl de HCG- β -subketens, samen met LH- β -subketens worden gecodeerd door zes, op chromosoom 19q13.3 geclusterde nonallele genen. Dit genencluster wordt aangeduid met CG β 1-CG β 9.

Algemeen wordt aangenomen dat de subeenheden van HCG geen biologische activiteit hebben, ofschoon HCG β in staat lijkt de groei van tumorcellen in vitro te bevorderen door het verhinderen van apoptose (4). Dit zou wellicht verklaren waarom expressie van vrije HCG- β -subeenheden vóórkomt bij agressieve vormen van kanker.

HCG heeft diverse moleculaire vormen en is daardoor zeer heterogeen. Naast biologisch actief intact HCG ('nonnicked HCG') komt 'nicked' (gekliefd, gekerfd) HCG (HCGn) voor in serum en urine, samen met allerlei gedissocieerde of gedegradeerde, biologisch inactieve, HCG-achtige moleculen. Nicked HCG (HCGn) heeft een enkele splitsing (een 'nick', klief) in de β -peptideketen tussen aminozuur 47 en 48 en soms tussen aminozuur 43 en 44 of aminozuur 44 en 45. Zowel de 'nonnicked' als de 'nicked' HCG-varianten verdubbelen elke 48 uur en stijgen vanaf het begin van de zwangerschap exponentieel naar maximumconcentraties die worden bereikt rond de tiende week na de laatste menstruatie. De hoeveelheid HCGn vertoont een grote interindividuele variatie. Zo werd in serummonsters uit het eerste trimester voor HCGn tussen 0 en 59% van het totale HCG aangetroffen (5).

Zowel 'nicked' als 'nonnicked' vrije β -subketens (HCG β n en HCG β) komen voor in serum en urine bij normale zwangerschap. De vrije β -concentraties in serum vertonen een zelfde patroon als intact HCG, met een piek rond de tiende week van de zwangerschap die minder dan 1% van het intacte HCG bedraagt en afneemt tot 0,5% van de HCG-concentratie in de negende maand van de zwangerschap (6).

In urine van zwangeren is de concentratie van vrije β -ketens met 9% tot 40% van de HCG-concentratie aanzienlijk hoger (6).

Hyperglycosyleerd HCG (HCGh) wordt gekenmerkt door extra lange zuurstofgebonden oligosaccharideketens en is de belangrijkste vorm van HCG tijdens de eerste weken van de zwangerschap en bij chorioncarcinoom (7). In de zwangerschap wordt HCGh reeds vóór de implantatie geproduceerd door fenotypische invasieve cytotrofoblastcellen en bereikt maximumwaarden rond week 5 à 6 van de zwangerschap. Naarmate de differentiatie van cytotrofoblastcellen naar syncytiotrofoblastcellen voortschrijdt, neemt de productie van HCGh af en neemt de door de syncytiotrofoblastcellen geproduceerde hoeveelheid HCG toe (8). In geval van chorioncarcinoom en bij agressieve vormen van trofoblasttumoren wordt voornamelijk HCGh geproduceerd dat afkomstig is uit invasieve trofoblastcellen (9).

Pathogenese, diagnostiek en epidemiologie van molazwangerschap

Indeling van zwangerschapsgerelateerde trofoblastziekte

Zwangerschapsgerelateerde trofoblastziekte ('gestational trophoblastic disease', GTD) is de verzamelnaam voor een aantal afwijkingen die worden gekenmerkt door een abnormale proliferatie van trofoblastweefsel met een wisselende neiging tot spontane remissie, locale invasie en metastasering. Hydatidiforme mola's (HM) (mola hydatidosa: mola, Latijn voor massa, hydatidosa = waterdragend) zijn in feite abnormaal gevormde placenta's met afwijkingen die zijn gerelateerd aan de villeuze trofoblast. Ofschoon complete en partiële HM geen maligniteiten zijn, kunnen zij toch neoplastisch veranderen. Tot de zwangerschapsgerelateerde trofoblastaire neoplasieën ('gestational trophoblastic neoplasia', GTN) behoren invasieve mola, choriocarcinoma, epitheliaal trofoblasttumor en 'placental site trophoblastic tumor' (PSTT) (10, 11). Al deze tumortypes kunnen metastaseren en zijn zonder behandeling in potentie lethaal. GTN ontwikkelt zich meestal na een molazwangerschap, maar kan na elk type zwangerschap ontstaan.

Incidentie van molazwangerschap

Van alle vormen van GTD hebben hydatidiforme molazwangerschappen de hoogste incidentie (12-14). Zij komen in ongeveer 1 op 1000 zwangerschappen voor alhoewel er geografische verschillen in incidentie zijn. Voor Europa, Oceanië en de Verenigde Staten zijn deze redelijk vergelijkbaar, met variaties van 66 tot 150 per 100.000 bevallingen, terwijl voor Azië incidentiecijfers van meer dan 200 HM per 100.000 zwangerschappen zijn gerapporteerd (12).

Diagnostiek van molazwangerschap

Complete en partiële HM worden sinds 1976 beschouwd als aparte entiteiten (15, 16). Beide verschillen met betrekking tot epidemiologie, klinische presentatie, histopathologie, genetica en het risico voor ontwikkeling van GTN (17). Door de detectie van molazwangerschap op een veel vroegere zwangerschapstermijn is de klinische presentatie van complete HM veranderd. In het verleden werd HM gediagnosticeerd in het tweede trimester van de zwangerschap. Patiënten presenteren zich vaak met vaginaal bloedverlies, anemie, een grotere uterus die niet overeenkomt met de amenorrhoeëduur ('positieve discongruentie'), prominente theca luteïne cysten, preëclampsie, hyperemesis gravidarum, hyperthyreoïdisme and pulmonaire trofoblastische emboli, gepaardgaand met aanzienlijk verhoogde HCG-spiegels (18-20). Tegenwoordig worden de meeste complete molazwangerschappen in het eerste trimester van de zwangerschap gediagnosticeerd waardoor de klassieke symptomen veel minder vaak aanwezig zijn op het moment van diagnose (21). De klinische presentatie van partiële HM is minder uitgesproken, vertoont minder klinische symptomen dan bij complete mola's en lijkt in het algemeen op een gemiste of incomplete abortus (17, 22). Ook zijn de HCG-spiegels voorafgaand aan evacuatie van de

partiële HM meestal lager dan bij vrouwen met een complete HM (17, 23). Complete molazwangerschap wordt meestal gediagnosticeerd door ultrageluid, aangezien deze mola's een karakteristiek vesiculair ultrasonografisch patroon laten zien in afwezigheid van een herkenbare foetus. Dit 'sneeuwstormeffect' is reeds echoscopisch waarneembaar zelfs voordat vaginale spotting of afscheiding van vesikels optreedt (17, 24). Het kan echter moeilijk zijn in een vroeg stadium een partiële HM te herkennen (24).

Genetica

Complete hydatidiforme mola's hebben meestal een diploïde karyotype (46, XX, soms 46, XY), ontstaan uit de reduplicatie van het haploïde genoom van de zaadcel in een lege eicel (enucleate oöcyt), of voortkomend uit de versmelting van twee spermatozoën in een lege eicel. In tegenstelling daarmee zijn partiële HM meestal triploïde (69, XXX of 69, XXY) als resultaat van de bevruchting van een normale eicel door één spermacel, gevolgd door reduplicatie van het haploïde paternale genoom, of tengevolge van een disperme bevruchting van een normale eicel (25, 26). Diploïde mola's zijn meestal androgenetisch, met twee identieke (homozygoot) of verschillende sets van paternale chromosomen (heterozygoot) (27, 28), terwijl zelden een biparentaal genoom wordt aangetroffen (23, 29). Triploïde mola's hebben een biparentale oorsprong, met één maternale set en twee paternale sets van chromosomen (17). Flowcytometrie is niet geschikt voor het aanbrengen van onderscheid tussen complete mola en hydropische abortus, aangezien beide meestal diploïde zijn. Recente studies hebben aangegeven dat immunohistochemische analyse voor expressie van een 'imprinted gene', p57kip, betrouwbaar complete mola's kan differentiëren, aangezien complete mola's meestal negatief zijn voor p57kip vanwege de afwezigheid van een maternaal allel (30).

Centrale Molaregistratie en Werkgroep Trofoblasttumoren voor behandeling van trofoblastziekte

Centrale Molaregistratie

De Centrale Molaregistratie (CMR) van de Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie (NVOG) werd eind 1977 door enkele gynaecologen van het toenmalige Academische Ziekenhuis Nijmegen (thans UMC St Radboud) opgericht met het doel meer inzicht te krijgen in de epidemiologie van molazwangerschap, een tot in de jaren '50 van de vorige eeuw in potentie lethale aandoening. Mede doordat ons laboratorium destijds als eerste in Nederland een immunochemische bepaling voor HCG in serum had ontwikkeld, ontstond direct al de mogelijkheid om naast het klinisch behandeladvies de bepaling van HCG als begeleider van de ingestelde therapie aan te kunnen bieden, wat bij mola-registrerende gynaecologen in een kennelijke behoefte voorzag. Daarbij werd (en wordt) follow-up ingesteld volgens het noodzakelijke strakke schema van wekelijkse serum-HCG-bepalingen om tijdig het persisteren van de trofoblast te kunnen detecteren. De gestandaardiseerde

Nijmeegse HCG-regressiecurve is daarbij een gevalideerde leidraad (figuur 1) (31). Zodra de HCG-concentratie is genormaliseerd, is maandelijks HCG-controle gedurende een half jaar voldoende.

Werkgroep Trofoblasttumoren

Een zeer verweven samenwerking vindt plaats met de al in 1971 onder auspiciën van de Kankerstichting KWF opgerichte Werkgroep Trofoblasttumoren (WTT). De WTT functioneert als registratiesysteem voor zwangerschapsgerelateerde trofoblastziekten en belegt drie- à viermaal per jaar een landelijke multidisciplinaire patiëntenbespreking waar het merendeel van de betrokken casus wordt besproken en behandeladviezen worden gegeven. Na erkenning door de NVOG in 1977 is de WTT thans een sectie binnen de koepel Oncologie van de NVOG. In een recente rapportage over de gearhiveerde gegevens van de WTT wordt gemeld dat in de periode 1971-2007 in totaal 477 vrouwen met een persisterende trofoblast na een molazwangerschap werden besproken waarvan er 4 overleden aan vitale bloedingen of te laat gegeven chemotherapie (32).

Risicofactoren

Enkele risicofactoren die de kans op persisteren van de trofoblast verhogen zijn leeftijd (hoger dan 40 jaar), positieve discongruentie van de uterus, een hoge initiële HCG-waarde, incomplete evacuatie van de mola (door middel van vacuümcurettagage onder echoscopisch zicht) en grote ovariumcysten (echoscopische diameter groter dan 6 cm). In Nederland treedt persisterende trofoblast op bij ongeveer 20 (circa 15%) van de 120-140 molazwangerschappen per jaar. Deze 20 vrouwen hebben verdere therapie nodig. Men kan persisterende trofoblast niet voorspellen op grond van histologische kenmerken, echter met als uitzondering dat een histologisch vastgesteld chorioncarcinoom ook als een persisterende trofoblast wordt beschouwd. De diagnose 'persisterende trofoblast' stelt men op basis van het concentratiebeloop van het HCG in serum (33), met als criterium een stijging in 2 opeenvolgende weken, óf plateauvorming gedurende 3 weken, óf nog niet genormaliseerde HCG-waarden 6 maanden na evacuatie. De Nederlandse richtlijn heeft aan deze FIGO-2000-criteria nog een extra criterium toegevoegd, namelijk dat tenminste één HCG-waarde buiten de 95^e percentiel van de gestandaardiseerde HCG-curve voor spontane regressie moet vallen, omdat bij 15% van de patiënten die een plateau of een stijging van het serum-HCG laten zien zonder overschrijding van de 95^e percentiellijn, er toch een spontane regressie optreedt (figuur 1) (31).

Risico-indeling

Patiënten met persisterende trofoblastziekten worden ingedeeld in een laagrisico- en een hoogrisicogroep. De laagrisicopatiënten kunnen met monochemotherapie (methotrexaat) worden behandeld, terwijl de hoogrisicopatiënten direct met multiagent (combinatie) chemotherapie worden behandeld (bestaande uit etoposide, methotrexaat, dactinomycine, cyclofosfamide en vincristine, EMACO) vanwege hun kans op

sneller optreden van chemotherapieresistentie van de tumor. Door de International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) is een prognostische score opgesteld voor het indelen van het risico van persisterende trofoblastziekte (FIGO-2000-criteria) (33, 34). De optelsom van 7 criteria (leeftijd, voorafgaande zwangerschap, tijdsinterval tussen einde zwangerschap en begin chemotherapie, serum-HCG in IU/l, diameter van de grootste afwijking, lokalisatie en aantal metastasen, resistentie voor eerdere chemotherapie) levert een score 'laag risico' (score <4), 'gemiddeld risico' (score 4-6) of 'hoog risico' (score ≥7) voor chemotherapie op. Afwijkend van FIGO wordt in Nederland een klinische prognostische stadiëring gehanteerd, waarbij slechts één criterium het risico bepaalt en waarmee een duidelijke indeling kan worden gemaakt welke patiënten mono- of multiagentchemotherapie nodig hebben. Laag risico geldt bij afwezigheid van metastasen of beperkt tot de longen, óf voorafgaand een molazwangerschap of miskraam, óf tijdsinterval ≤12 maanden tussen einde zwangerschap en begin chemotherapie.

Chemotherapie

De meeste persisterende trofoblastziekten na een molazwangerschap behoren tot de laagrisicogroep en deze patiënten worden behandeld met monochemotherapie in de vorm van het zeer effectieve methotrexaat. Een poliklinische kuur bestaat uit methotrexaat 1 mg/kg lichaamsgewicht en wordt intramusculair gegeven op dag 1, 3, 5 en 7. Dertig uur na elke methotrexaatinjectie wordt 15 mg folinezuur ingenomen en ter voorkoming van mucositis wordt mondspoeling aanbevolen. Na een week rust start de eventuele volgende kuur. Enkele dagen voorafgaand aan elke kuur wordt een HCG-bepaling uitgevoerd, terwijl ter voorkoming van onnodige ongerustheid moet worden vermeden de HCG-spiegels tijdens de methotrexaatkuur te bepalen, omdat de HCG-concentratie door weefselnecrose dan tijdelijk verhoogd kan zijn. Om de toxiciteit van methotrexaat op het beenmerg en de lever te beoordelen, worden voor elke kuur het bloedbeeld en de leverfuncties gecontroleerd. Van de patiënten met een persisterende trofoblast na een mola reageert 15-20% onvoldoende op methotrexaat, waarvan een beperkt aantal alsnog kan worden behandeld met dactinomycine. De overige patiënten vallen vanwege hun ontwikkelde chemotherapieresistentie in de groep met hoog risico. Hoog risico is ook aanwezig in geval van lever- of hersenmetastasen, een voorafgaande atermen zwangerschap, de reeds genoemde chemotherapieresistentie, of een tijdsinterval van meer dan 12 maanden tussen einde zwangerschap en begin chemotherapie. De hoogrisicogroep wordt behandeld met combinatiechemotherapie (EMACO) (35, 36). Voorafgaand aan de therapie wordt disseminatieonderzoek gedaan voor het opsporen van eventueel aanwezige metastasen. Met deze therapie van eerste keus komt ruim 99% van de patiënten in remissie.

De functie van de CMR is tegenwoordig uitgegroeid tot een kenniscentrum voor consultatie en behandeling van een relatief zeldzame aandoening die elke gynaecoloog gemiddeld slechts bij één patiënt per 2 à 3

jaar zal zien waardoor in het algemeen een te geringe expertise kan worden opgebouwd. Bundeling van de klinische en klinisch-chemische activiteiten binnen de CMR maken het, naast optimale begeleiding van de behandeling, bovendien mogelijk wetenschappelijk onderzoek uit te voeren ter verbetering van de diagnostiek en therapie van trofoblastziekten, waarop hierna wordt ingegaan.

Frequent gestelde vragen

Veelgestelde vragen door klinici en klinisch chemici hebben betrekking op de relatieve onbekendheid met de functie van de Centrale Molaregistratie Nederland en betreffen meestal het nut en de te volgen procedure van registratie. Ook bestaat er veel onduidelijkheid over de wenselijkheid het noodzakelijke strakke follow-upschema van wekelijks serum-HCG-bepalingen op te volgen om tijdig het ontstaan van persisterende trofoblast te kunnen detecteren, waarbij de gestandaardiseerde Nijmeegse HCG-regressiecurve een gevalideerde leidraad is (figuur 1) (31, 32, 37). Veel klinisch chemici verwoorden dit ongeveer als volgt: "Mijn gynaecoloog heeft een patiënte met een mola en vraagt mij de serummonsters voor bepaling van HCG op te sturen naar Nijmegen, maar HCG kan ik zelf ook bepalen, dus waarom zou ik ingaan op zijn/haar verzoek...?"

Vooropgesteld dat niets moet, kan zonder voorbehoud worden gesteld dat het NVOG-behandeladvies volledig stoelt op Nijmeegse HCG-uitslagen. Daarbij dient benadrukt te worden dat de reeds genoemde gestandaardiseerde Nijmeegse HCG-regressiecurve als gevalideerde leidraad enkel en alleen geldt voor de Nijmeegse HCG-getallen en uitsluitend ook als zodanig dient te worden gehanteerd. In vergelijking met andere HCG-bepalingen is het zonder meer duidelijk dat de Nijmeegse HCG-waarden sterk afwijkend zijn. Zo worden de Nijmeegse HCG-waarden uitgedrukt in nanogram per milliliter (ng/ml) en niet in de gebruikelijke Internationale Eenheden per liter (IU/l, E/l), terwijl de kruisreactiviteit van vrij HCG β 1000% is en voor intact HCG 100%. In tegenstelling daarmee wordt voor de meeste (HCG+HCG β)-bepalingen ongeveer equimolariteit tussen HCG- en HCG β -kruisreactiviteit nagestreefd en opgegeven (dat wil zeggen, 100% kruisreactie voor zowel HCG als HCG β). Dit belangrijke verschil in specificiteit tussen de Nijmeegse HCG-bepaling en de commercieel beschikbare bepalingen betekent dat omrekening van ng/ml naar IU/l of omgekeerd niet van toepassing kan zijn op basis van het gegeven dat 1 ng/ml (= 1 μ g/l) van de Vierde Internationale Standaard voor intact HCG (WHO 4th IS HCG 75/589) overeenkomt met 9,29 IU/l. Bijkomend is dat er grote onduidelijkheid bestaat over de sterk wisselende onderlinge verhouding van de diverse HCG-varianten die in het serummonster van deze patiënten aanwezig kunnen zijn en, afhankelijk van de specificiteit van de HCG-bepaling, beslissend zijn voor de uiteindelijke bepalingssuitslag. De door ons ontwikkelde RIA (polykloonaal HCG β -antiserum (konijn), ¹²⁵I-HCG β als tracer, HCG-huisstandaard) voor bepaling van HCG+HCG β vertoont zoals al genoemd een extreem hoge kruisreactie met

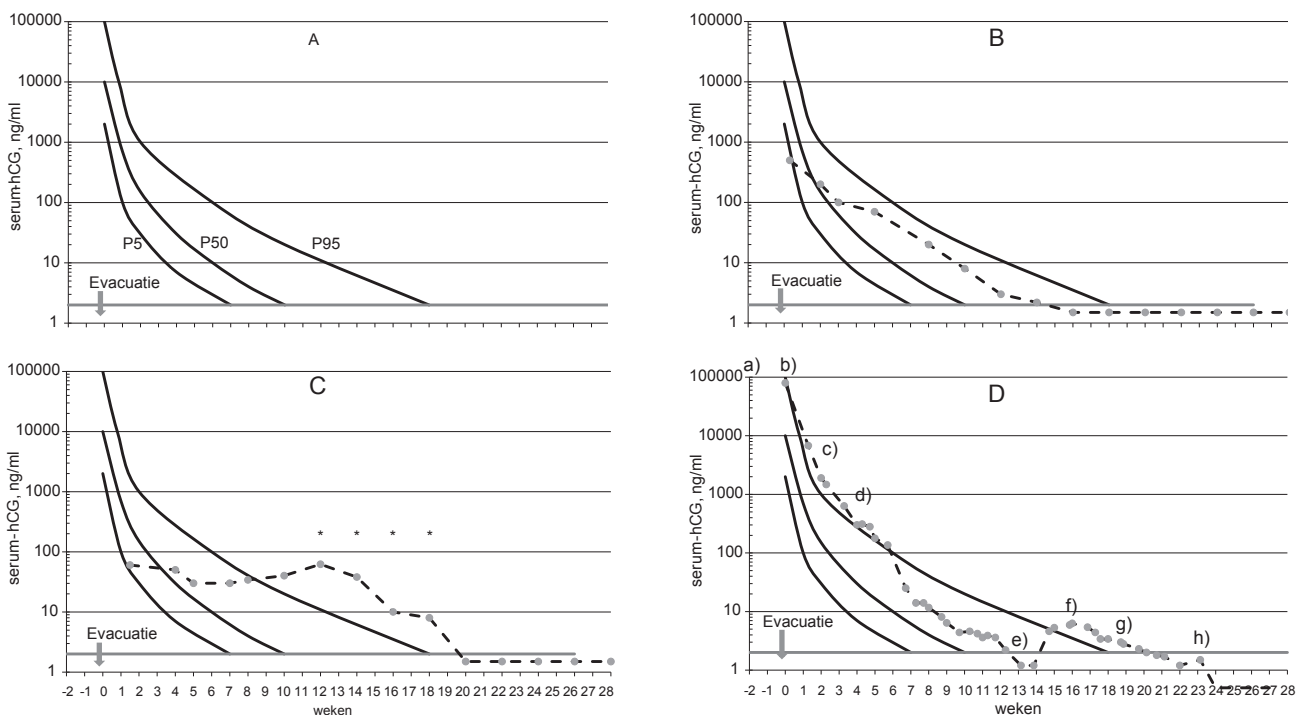
HCG β -subunit (1000%), maar ook sterk wisselende kruisreacties met andere HCG-varianten (o.a. 228% voor HCGn, 506% voor HCG β n, 887% voor HCG β cf t.o.v. 100% kruisreactie voor de WHO 4th IS 75/589 HCG). Dit sterk variërend palet van kruisreacties is een unieke 'finger print' voor de Nijmeegse HCG-bepaling en zou, indien al gewenst, vrijwel niet kunnen worden nagebootst in assay-platforms die zijn gebaseerd op andere antisera. Geconcludeerd kan dan ook worden dat het vrijwel onhaalbaar is met behulp van conversiefactoren meetresultaten afkomstig uit andere bepalingen enigszins betrouwbaar om te rekenen naar uitslagen van de Nijmeegse HCG-bepaling. Als alternatief zou voor elke bepaling een aparte regressiecorridor dienen te worden opgesteld hetgeen vanwege de lage incidentie onhaalbaar kan worden geacht.

Een verdere vraag in dit verband is dat de klinisch chemicus van de gynaecoloog heeft vernomen dat deze overweegt de betreffende patiënte bij de CMR de laten registreren, waarbij de klinisch chemicus zich afvraagt wat het nut van deze registratie is. Als antwoord wordt dan genoemd dat in Nijmegen met deze RIA al ongeveer 30 jaar lang HCG+HCG β in serum wordt bepaald voor de diagnostiek, behandeling en follow-up van trofoblasttumoren na (non)molazwangerschap. Na registratie kan de gynaecoloog bij de CMR terecht voor informatie en advies over de in te stellen behandeling. Veel behandelaars (gynaecologen en medisch oncologen) nemen deel aan de centrale WTT-patiëntenbespreking, waarbij de centrale bepaling van HCG zijn nut ruimschoots heeft bewezen. In de jaren voorafgaand aan het overleg was persisterende trofoblastziekte nog een lethale aandoening, maar dit is dankzij deze centrale aanpak aanzienlijk verbeterd. De basis voor dit centrale beleid (zoals weergegeven in de betreffende richtlijnen op www.oncoline.nl) is de reeds genoemde Nijmeegse spontane-HCG-regressiecurve die wordt toegepast. Mede vanwege de eenvoudige toegankelijkheid van dit normogram worden op de centrale patiëntenbespreking nogal eens casus gepresenteerd die uitgaan van deze curve met daarin een plot van niet-Nijmeegse HCG-uitslagen. Door deze foutieve combinatie wordt het normogram onbruikbaar voor het geven van een gericht behandeladvies omdat naast het ontbreken van kennis over de 'andere' HCG-uitslagen bij de behandelaars eveneens het vertrouwde referentiekader wegvalt. Bij herhaling komt het voor dat ondoelmatig ingesteld beleid vanwege deze foutieve combinatie in de commissievergadering (bijtijds) wordt gecorrigeerd en in overeenstemming gebracht met het beleid van de op de curve gebaseerde richtlijnen. Uiteraard is de patiënt niet gebaat bij foutieve toepassing van het normogram en het daaruit voortvloeiend ondoelmatig ingesteld beleid. Inmiddels zijn wij in ons onderzoek door deze centrale activiteiten aangekomen op het punt dat voor de (HCG+HCG β)-RIA-bepaling afkapwaarden kunnen worden gehanteerd die het mogelijk gaan maken in de centrale werkgroep beleidsbeslissingen te nemen voor het beperken van het aantal kuren eerstelijnschemotherapie en verantwoord over te stappen naar tweedelijnschemotherapie.

Onderzoek

Voor het verbeteren van de diagnostiek, prognose en behandeling van trofoblasttumoren heeft de onderzoeksgroep van de CMR de afgelopen 8 jaar wetenschappelijk onderzoek verricht. Uitgegaan werd van de patiëntgegevens, vermeld in de ontvangen enquêteformulieren en de verder verkregen schriftelijke klinische informatie van de geregistreerde patiënten. Daarnaast is gebruik gemaakt van de database voor de laboratoriumuitslagen van tumormarkerbepalingen die in ons laboratorium vanaf het begin (in 1978) van de bepaling van HCG is bijgehouden. Centraal studiethema is het zoeken naar voorspellende factoren die vroegtijdig opsporen van persisterende trofoblastziekte mogelijk maken (38-44). Ook is aandacht uitgegaan naar het ontwikkelen van een normogram ('regressiecurve') voor het vervolgen

van de ongestoord verlopende daling van HCG in serum na beëindiging ('evacuatie') van een molazwangerschap (31) en het effect op het ziektebeloop na de intrede van de echoscopie bij de diagnostiek van molazwangerschap (45). Ingegeven door het succes van de bovengenoemde 'regressiecurve' hebben wij een regressiecurve ontwikkeld voor het opsporen van patiënten met laagrisico voor PTD die niet reageren op eerstelijns monochemotherapie (methotrexaat) (46) en dit onderzoek in een internationale samenwerking extern gevalideerd (47). Tenslotte hebben wij gekeken naar het effect van een tweede curettage op het verloop van de regressie (48, 49) en naar de kans op terugkerende ziekte na normalisatie van de HCG-spiegel in serum bij patiënten die spontaan of na chemotherapeutische behandeling voor PTD in remissie gingen (50).



Figuur 1. A. De drie referentieregressiecurven P5, P50 en P95 van de serumconcentraties van HCG bepaald met de Nijmeegse (HCG+HCG β)-RIA. De gemeten serumconcentraties zijn uitgedrukt in ng/ml en semilogaritmisch uitgezet tegen de weken na evacuatie van de molazwangerschap. De afkapwaarde bij 2 ng/ml is in de figuur weergegeven.

B. Een voorbeeld van een serum-HCG-curve van een spontane regressie na een molazwangerschap; t=0 is het moment van evacuatie van de molazwangerschap.

C. Een voorbeeld van een serum-HCG-curve bij een persisterende trofoblast na een molazwangerschap. De evacuatie van de molazwangerschap heeft plaatsgevonden op t=0. De chemotherapiekuren met methotrexaat zijn aangeduid met *.

D. Deze casus is een illustratie van het foutieve gebruik van de opgestelde referentieregressiecurven P5, P50 en P95. De serum-HCG-curve van een 32-jarige vrouw werd daarbij als leidraad gebruikt voor de behandeling van een persisterende trofoblast na een molazwangerschap. De figuur geeft bij -2 weken de evacuatie van een complete mola aan (a), gevolgd door de start van chemotherapiekuren met methotrexaat in week 1 (b). In week 2 vond een tweede curettage plaats (c), die geen residueel molaweefsel opleverde. Wegens de trage daling van de HCG-spiegel werd methotrexaat gestopt en in week 4 gestart met polychemotherapie (EMACO) (d), waarop het serum-HCG goed daalde. In week 13 traden er echter complicaties (mucositis, pancytopenie, longembolieën met pleuravocht) op (e) en werd EMACO gestopt bij HCG-waarden van ongeveer 1 (eenheid niet opgegeven). Kort daarop volgde in week 16 (f) een stijging van het HCG naar ongeveer 6, waarbij een hysterectomie werd overwogen, maar waarvan werd afgezien omdat de serum-HCG-concentratie (in weken 19-23) (g) spontaan begon te dalen en normaliseerde. Daarna leek patiënte ziektevrij te zijn en te blijven (h).

In de bespreking van deze casus bleek dat de serum-HCG-concentraties werden gerapporteerd in Internationale Eenheden per liter (IU/l) en niet in de door ons gehanteerde ng/ml waarop ook de referentieregressiecurven P5, P50 en P95 zijn gebaseerd. Met het gegeven dat 1 ng/ml van het internationale referentiepreparaat voor HCG (WHO 1st IRP (4th IS) HCG) overeenkomt met 9,29 IU/l, kan dus worden geconcludeerd dat de gerapporteerde HCG-waarden tenminste een factor 10 te hoog werden ingetekend in het regressienormogram. Bovendien werd gerekend vanaf tijdstip -2 weken waarop de evacuatie had plaatsgevonden, terwijl dit formeel week 0 dient te zijn, hetgeen een onterechte verschuiving van 2 weken in het ziektebeloop ten opzichte van het regressienormogram veroorzaakt. Een derde misvatting is dat het normogram geschikt werd geacht voor het monitoren van chemotherapie, terwijl de enige toepassing van het normogram het vervolgen van de regressie van het serum-HCG na evacuatie van een molazwangerschap is. Geconcludeerd mag worden dat het normogram op een aantal punten onterecht is ingezet voor het maken van keuzen van de behandeling.

Literatuur

1. Thomas CMG. Nieuwe ontwikkelingen bij bepaling van HCG, een overzicht. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2005; 30: 8-16.
2. Cole LA. Immunoassay of human chorionic gonadotropin, its free subunits, and metabolites. *Clin Chem* 1997; 43: 2233-2243.
3. Stenman UH, Alfthan H, Hotakainen K. Human chorionic gonadotropin in cancer. *Clin Biochem* 2004; 37: 549-561.
4. Butler SA, Ikram MS, Mathieu S, Iles RK. The increase in bladder carcinoma cell population induced by the free beta subunit of human chorionic gonadotropin is a result of an anti-apoptosis effect and not cell proliferation. *Br J Cancer* 2000; 82: 1553-1556.
5. Cole LA, Seifer DB, Kardana A, Braunstein GD. Selecting human chorionic gonadotropin immunoassays: consideration of cross-reacting molecules in first-trimester pregnancy serum and urine. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 1580-1586.
6. Cole LA, Kardana A, Park S-Y, Braunstein GD. The deactivation of HCG by nicking and dissociation. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 704-713.
7. Cole LA, Shahabi S, Oz UA, Bahado-Singh RO, Mahoney MJ. Hyperglycosylated human chorionic gonadotropin (invasive trophoblast antigen) immunoassay: A new basis for gestational Down syndrome screening. *Clin Chem* 1999; 45: 2109-2119.
8. Cole LA, Khanlian SA, Sutton JM, Davies S, Stephens ND. Hyperglycosylated HCG (invasive trophoblast antigen, ITA) a key antigen for early pregnancy detection. *Clin Biochem* 2003; 36: 647-655.
9. Elliott MM, Kardana A, Lustbader JW, Cole LA. Carbohydrate and peptide structure of the alpha- and beta-subunits of human chorionic gonadotropin from normal and aberrant pregnancy and choriocarcinoma. *Endocrine* 1997; 7: 15-32.
10. Wells M. The pathology of gestational trophoblastic disease: recent advances. *Pathology* 2007; 39: 88-96.
11. Cheung AN. Pathology of gestational trophoblastic diseases. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003; 17: 849-868.
12. Smith HO. Gestational trophoblastic disease epidemiology and trends. *Clin Obstet Gynecol* 2003; 46: 541-556.
13. Altieri A, Francheschi S, Ferlay J, Smith J, La Vecchia C. Epidemiology and aetiology of gestational trophoblastic diseases. *Lancet Oncol* 2003; 4: 670-678.
14. Steigrad. Epidemiology of gestational trophoblastic diseases. *Best Pract Res Clin Obstet Gynecol* 2003; 17: 837-847.
15. Vassilakos P, Kajii T. Hydatidiform mole: two entities. *Lancet* 1976; 1: 259.
16. Stone M, Bagshawe KD. Hydatidiform mole: two entities. *Lancet* 1976; 1: 535-536.
17. Paradinas FJ, Browne P, Fisher RA, Foskett M, Bagshawe KD, Newlands E. A clinical, histopathological and flow cytometric study of 149 complete moles, 146 partial moles and 107 non-molar hydropic abortions. *Histopath* 1996; 28: 101-109.
18. Curry SL, Hammond CB, Tyrey L, Creasman WT, Parker RT. Hydatidiform mole: diagnosis, management and long-term followup of 347 patients. *Obstet Gynecol* 1975; 45: 1-8.
19. Beischer NA, Bettinger HF, Fortune DW, Pepperell R. Hydatidiform mole and its complications in the state of Victoria. *J Obstet Gynaecol Brit Commonw* 1970; 77: 263-276.
20. Berkowitz RS, Goldstein DP, DuBeshter B, Bernstein MR. Management of complete molar pregnancy. *J Reprod Med* 1987; 32: 634-638.
21. Mangili G, Garavaglia E, Cavoretto P, Gentile C, Scarfone G, Rabaiotti E. Clinical presentation of hydatidiform mole in northern Italy: has it changed in the last 20 years? *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198: 302.
22. Czernobilsky B, Barash A, Lancet M. Partial mole: a clinicopathologic study of 25 cases. *Obstet Gynecol* 1982; 59: 75-77.
23. Niemann I, Petersen LK, Hansen ES, Sunde L. Differences in current clinical features of diploid and triploid hydatidiform mole. *Br J Obstet Gynecol* 2007; 114: 1273-1277.
24. Soto-Wright V, Bernstein M, Goldstein DP, Berkowitz RS. The changing clinical presentation of complete molar pregnancy. *Obstet Gynecol* 1995; 86: 775-779.
25. Szulman AE, Surti U. The syndrome of hydatidiform mole. I. Cytogenetic and morphologic correlations. *Am J Obstet Gynecol* 1978; 131: 665-671.
26. Szulman AE, Surti U. The syndrome of hydatidiform mole. II. Morphologic evaluation of the complete and partial mole. *Am J Obstet Gynecol* 1978; 132: 20-27.
27. Kajii T, Ohama K. Androgenetic origin of hydatidiform mole. *Nature* 1977; 268: 633-634.
28. Ohama K, Kajii T, Okamoto E, Fukuda Y, Imaizumi K, Tsukara M, Kobayashi K, Hagiwara K. Dispermic origin of XY hydatidiform moles. *Nature* 1981; 292: 551-552.
29. Kovacs BW, Shahbahrani B, Tast DE, Curtin JP. Molecular genetic analysis of complete hydatidiform moles. *Cancer Genet Cytogenet* 1991; 54: 143-152.
30. Genest DR, Dorfman DM, Castrillon DH. Ploidy and imprinting in hydatidiform moles. Complementary use of flowcytometry and immunohistochemistry of the imprinted gene product p57Kip2 to assist molar classification. *J Reprod Med* 2002; 47: 342-346.
31. Yedema KA, Verheijen RH, Kenemans P, Schijf CP, Borm GF, Segers MF, Thomas CM. Identification of patients with persistent trophoblastic disease by means of a normal human chorionic gonadotropin regression curve. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 787-792.
32. Ten Kate-Booij MJ, Lok CAR, Verheijen RHM, Massuger LFAG, Van Trommel NE. Trofoblastziekten. *Ned Tijdschr Geneesk* 2008; 152: 2219-2224.
33. FIGO Oncology Committee. FIGO committee report. FIGO staging for gestational trophoblastic neoplasia 2000. *Int J Gynecol Obstet* 2002; 77: 285-287.
34. Kohorn EI, Goldstein DP, Hancock BW, Kim SJ, Lurain JR, Newlands E, Soper JT, Wong LC. Workshop Report: Combining the staging system of the International Federation of Gynecology and Obstetrics with the scoring system of the World Health Organization for Trophoblastic Neoplasia. Report of the Working Committee of the International Society for the Study of Trophoblastic Disease and the International Gynecologic Cancer Society. *Int J Gynecol Cancer*. 2000; 10: 84-88.
35. Newlands ES, Bagshawe KD, Begent RHJ, Rustin GJS, Holden L. Results with EMA/CO (etoposide, methotrexate, actinomycin D, cyclophosphamide, vincristine) regimen in high risk gestational trophoblastic tumours 1979 to 1989. *Brit J Obstet Gynaecol* 1991; 98: 550-557.
36. Kendall A, Gillmore R, Newlands E. Chemotherapy for trophoblastic disease: current standards. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002; 14: 33-38.
37. Richtlijn Molazwangerschap, www.nvog.nl; www.oncoline.nl
38. Van Trommel NE, Sweep FC, Schijf CP, Massuger LF, Thomas CM. Diagnosis of hydatidiform mole and persistent trophoblastic disease: diagnostic accuracy of total human chorionic gonadotropin (HCG), free HCG {alpha}- and {beta}-subunits, and their ratios. *Eur J Endocrinol* 2005; 153: 565-575.
39. Van Trommel NE, Massuger LF, Span PN, Sweep FC, Thomas CM. Early identification of treatment resistance in GTN. *Lancet Oncol* 2007; 8: 866-867.
40. Van Trommel NE, Ngo Duc H, Massuger LF, Schijf CP, Sweep CG, Thomas CM; Dutch Working Party on Trophoblastic Tumors. Early identification of persistent trophoblastic disease with serum HCG concentration ratios. *Int J Gynecol Cancer* 2008; 18: 318-323.

41. Duc HN, Van Trommel NE, Sweep FC, Massuger LF, Thomas CM. Clinical utility of hyperglycosylated HCG in serum taken before hydatidiform mole evacuation to predict persistent trophoblastic disease. *Int J Biol Markers* 2006; 21: 45-49.
42. Wielsma S, Kerkmeijer L, Bekkers R, Pyman J, Tan J, Quinn M. Persistent trophoblast disease following partial molar pregnancy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2006; 46: 119-123.
43. Kerkmeijer L, Wielsma S, Bekkers R, Pyman J, Tan J, Quinn M. Guidelines following hydatidiform mole: a reappraisal. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2006; 46: 112-118.
44. Van Trommel NE, Sweep FC, Ross HA, Massuger LF, Thomas CM. Comparison of human chorionic gonadotropin +beta and invasive trophoblast antigen disappearance rates in serum after evacuation of molar pregnancy. *Int J Mol Med* 2006; 18: 705-711.
45. Kerkmeijer LG, Massuger LF, Ten Kate-Booij MJ, Sweep FC, Thomas CM. Earlier diagnosis and serum human chorionic gonadotropin regression in complete hydatidiform moles. *Obstet Gynecol* 2009; 113: 326-331.
46. Van Trommel NE, Massuger LF, Schijf CP, ten Kate-Booij MJ, Sweep FC, Thomas CM. Early identification of resistance to first-line single-agent methotrexate in patients with persistent trophoblastic disease. *J Clin Oncol* 2006; 24: 52-58.
47. Kerkmeijer LG, Thomas CM, Harvey R, Sweep FC, Mitchell H, Massuger LF, Seckl MJ. External validation of serum HCG cutoff levels for prediction of resistance to single-agent chemotherapy in patients with persistent trophoblastic disease. *Br J Cancer* 2009; 100: 979-984.
48. Van Trommel NE, Massuger LF, Verheijen RH, Sweep FC, Thomas CM. The curative effect of a second curettage in persistent trophoblastic disease: a retrospective cohort survey. *Gynecol Oncol* 2005; 99: 6-13.
49. Van Trommel NE, Thomas CM, Massuger LF, Sweep FC. Second curettage in persistent trophoblastic disease (PTD): the need for univocal definition of PTD. *Gynecol Oncol* 2005; 99: 250-251.
50. Kerkmeijer LG, Wielsma S, Massuger LF, Sweep FC, Thomas CM. Recurrent gestational trophoblastic disease after HCG normalization following hydatidiform mole in The Netherlands. *Gynecol Oncol* 2007; 106: 142-146.

Summary

Thomas CMG, Massuger LFAG, Sweep FCGJ. Tumor marker HCG in the management of gestational trophoblastic disease. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2009; 35: 6-13.

The tumor marker HCG is extensively used in the treatment of pregnancy-related trophoblastic disease (gestational trophoblastic disease, GTD). The affiliate abnormalities are characterized by an abnormal proliferation of trophoblastic tissue with a varying tendency to spontaneous remission, local invasion and metastasis. Treatment and guidance of treatment of these diseases occurs in cooperation with the Central Mole Registry (CMR) and the Working Party on Trophoblastic Tumours (WTT). A brief summary of the biochemistry, function and serum concentrations of HCG is followed by discussing the pathogenesis, diagnosis and epidemiology of mole pregnancy, the location and position of CMR and WTT, the risk factors on the probability of persistent trophoblast and the classification of low risk patients (treated by single-agent chemotherapy) and high risk patients (directly treated with multi-agent (combination) chemotherapy). Some frequently asked questions are discussed and we conclude with an overview of conducted research focused on the search for predictive factors of early detection of persistent trophoblastic disease.

Keywords: human chorion gonadotropin; mole pregnancy; gestational trophoblastic disease; Central Mole Registry