

**Informe del V Simpòsium Europeu sobre
El Laboratori Clínic i la Indústria del diagnòstic *in vitro*:
"Estandardització i Marcadors Tumorals"
Barcelona, 16 i 17 d'abril de 2009**

Xavier Filella
Servei de Bioquímica i Genètica Molecular
Hospital Clínic
Barcelona

Maria Àngels Bosch Ferrer
Consorci Laboratori Intercomarcal
Vilafranca del Penedès

Josep Lluís Bedini Chesa
Laboratori Core
Hospital Clínic
Barcelona

Jaume Miró Balaguer
Laboratori Clínic
Hospital de Viladecans
Viladecans

Introducció

Biennalment, l'Associació Catalana de Ciències del Laboratori Clínic (ACCLC) organitza un Simpòsium Europeu que, amb la denominació genèrica "El Laboratori Clínic i la Indústria del Diagnòstic *in vitro*", té per objectiu oferir una plataforma de diàleg sobre les diferents activitats del laboratori clínic, amb presència tant de professionals del laboratori clínic com de representants de la indústria del diagnòstic *in vitro*. La primera edició del simpòsium, celebrada l'any 2001, es va centrar en la certificació i acreditació dels laboratoris clínics en el marc legal constituït per les directives europees sobre el diagnòstic *in vitro*. En el segon simpòsium, organitzat l'any 2003, es va debatre sobre els valors de referència fisiològics en el marc de la normativa europea. La tercera edició del simpòsium, corresponent a l'any 2005, va estar dedicada a reflexionar sobre els beneficis qualitatius i organitzatius de l'automatització de la fase preanalítica. L'any 2007, la quarta edició del simpòsium va tractar sobre el present i el futur previsible de la informàtica aplicada al laboratori clínic.

Finalment, la cinquena edició del simpòsium, celebrada a Barcelona els dies 16 i 17 d'abril del 2009, va tractar sobre l'estandardització dels mètodes de mesura dels marcadors tumorals. Aquest simpòsium, que va tenir lloc a la seu de l'Institut d'Estudis Catalans, va seguir la modalitat de debat obert, amb participació tant dels ponents de les diferents taules rodones com de tots els assistents, segons el model establert en les convocatòries anteriors.

El principal objectiu del simpòsium va ser discutir sobre les mancances actuals i les perspectives de futur en l'estandardització en la mesura dels marcadors tumorals, fent una particular incidència en la repercussió sobre la utilitat clínica d'aquests biomarcadors. La reunió va comptar amb més d'un centenar de participants que van compartir les seves experiències i opinions sobre aquesta qüestió. El debat es va estructurar en quatre sessions encapçalades pels següents epígrafs:

- De la necessitat d'assolir l'estandardització dels marcadors tumorals: la problemàtica.
- La indústria davant l'estandardització dels marcadors tumorals: per què són tan diferents els nostres resultats?
- Els marcadors tumorals: per a què serveixen i per a què no.
- Com interpretar els resultats: valors de referència i límits de decisió dels marcadors tumorals.

El present informe ofereix les conclusions que de cada una d'aquestes taules van recollir els seus moderadors.

De la necessitat d'assolir l'estandardització dels marcadors tumorals: la problemàtica

En la taula, moderada per Maria Àngels Bosch Ferrer (Consorti Laboratori Intercomarcal, Vilafranca del Penedès), van participar com a ponents Montserrat Alsina Donadeu (CatLab, Centre d'Analítiques de Terrassa, Parc Logístic de Salut, Viladecavalls), Francesca Canalias Reverter (Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra), Roser Casamitjana Abella (Servei de Bioquímica i Genètica Molecular, Hospital Clínic, Barcelona), Rafael Molina Porto (Servei de Bioquímica i Genètica Molecular, Hospital Clínic, Barcelona), Josefina Mora Bruges (Servei de Bioquímica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona) i José Manuel Pena Ezquerro (Laboratori Clínic, Ciutat Sanitària i Universitària Vall d'Hebron, Barcelona). Els ponents van plantejar les dificultats d'intercanviabilitat dels valors de les concentracions dels marcadors tumorals en funció del mètode utilitzat en la seva mesura, apuntant com a causes la falta d'estàndards purs per a les diferents formes circulants, la falta de mètodes de referència i els diferents dissenys en les immunoanàlisis. Certament, es va reconèixer que l'existència de material de referència ha facilitat, per alguns biomarcadors, la intercanviabilitat entre els diferents sistemes analítics. És el cas de l'a-fetoproteïna (AFP), l'antigen carcinoembriogènic (CEA), la coriogonadotropina (HCG), l'antigen específic de la pròstata (PSA total) i la fracció lliure de l'antigen específic de la pròstata (PSA lliure). En canvi, en altres casos, especialment quan el component és una mucina, hi ha diferències importants en les concentracions mesurades a causa de la complexitat de les molècules utilitzades com a marcadors tumorals. És, per exemple, el cas de l'antigen CA 19.9, en què es mesuren concentracions molt diferents segons el mètode utilitzat. En aquest sentit, els ponents van remarcar la necessitat d'avançar en l'ús d'estàndards internacionals, posant com a exemple la Federació Internacional de Química Clínica (IFCC) que ha proposat estàndards

per a les diverses formes de coriogonadotropina (1). La gran variabilitat entre els resultats de la mesura dels marcadors tumorals, en funció del mètode emprat, és un greu obstacle per arribar a un consens sobre la interpretació del seu valor clínic, particularment en aquells casos en què hi ha diferències substancials en les concentracions mesurades. D'altra banda, la falta d'intercanviabilitat entre els valors obtinguts amb mètodes diferents fa impossible el seguiment dels malalts oncològics quan un laboratori canvia de sistema analític o quan les determinacions es fan en laboratoris que empen metodologies diferents.

Aquesta diversitat en les concentracions mesurades dels marcadors tumorals requereix la definició d'un estricte protocol per canviar de mètode. Els ponents van apuntar la necessitat de fer una nova estimació de l'interval dels valors de referència dels marcadors tumorals en aquells casos en què les concentracions mesurades no siguin intercanviables, tal com estableix la norma ISO 15189. Igualment, en aquest casos cal procedir a efectuar el seguiment dels malalts amb tots dos mètodes durant un període de sis mesos, amb l'objectiu d'establir la línia de base en els malalts en seguiment.

D'altra banda, finalment, es va demanar a la indústria del diagnòstic in vitro una major informació sobre les característiques dels sistemes analítics en la informació tècnica dels seus productes.

La indústria davant l'estandardització dels marcadors tumorals: per què són tan diferents els nostres resultats?

Els representants de la indústria del diagnòstic in vitro van fer les seves aportacions en aquesta taula, que moderada per Josep Lluís Bedini (Laboratori Core, Hospital Clínic, Barcelona), va debatre sobre el paper de la indústria davant l'estandardització de la mesura dels marcadors tumorals. Hi van participar Peter Bialk (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Suïssa), Jean Sebastien Blanchet (Beckman Coulter, Nyon, Suïssa), Paul Kenny (Olympus Olympus Europa, Munic, Alemanya), Rahul Patil (Abbott Científica, Chicago, Illinois, EUA) i Paul Sibley (Siemens Healthcare Diagnostics, Gwynedd, Regne Unit). Els ponents van coincidir en considerar que la complexitat de les molècules utilitzades com a marcadors tumorals dificulta la intercanviabilitat de resultats i en destacar també les aportacions de les societats científiques en aquest camp. Tot i així, van remarcar els esforços de la indústria de diagnòstic in vitro per avançar en l'estandardització dels mètodes usats en la mesura dels marcadors tumorals en les línies de disminuir els factors d'interferències i eliminar plataformes, encara que es va subratllar que sempre hi haurà diferències i es poc probable que tots els proveïdors utilitzin els mateixos anticossos. Probablement el saber com es reconeixen els diferents epitops en el mètode utilitzat ajudi a disminuir la variabilitat en el cas de les mucines. Els ponents també van coincidir en la necessitat de trobar nous biomarcadors.

Entre les causes que motiven la disparitat en les concentracions mesurades segons el sistema analític utilitzat es va citar la falta de material de referència, però també diferències en el temps d'incubació, els anticossos utilitzats o el

diferent efecte matriu en cada reactiu. La persistència de diferències en les concentracions de l'antigen específic de la pròstata, malgrat la introducció de la preparació internacional de referència de l'Organització Mundial de la Salut (WHO 96/670) va servir per ressaltar les diferències entre els diferents mètodes, malgrat utilitzar un mateix material de referència (2).

Els representants de les empreses presents van subratllar la seva disponibilitat per aportar als seus clients tota la informació que sol·licitin sobre els seus reactius i van coincidir en el seu interès per participar en avaluacions internacionals, avalades per societats científiques independents, amb l'objectiu d'efectuar estudis de correlació entre els distints mètodes comercials per mesurar la concentració dels marcadors tumorals. En aquest sentit, es va destacar el paper que ha tingut la Societat Internacional d'Oncologia i Biomarcadors (ISOBM), en col·laboració amb els grups de recerca i les diferents companyies, per organitzar, des de meitat dels anys 80 del segle passat, uns seminaris amb l'objectiu de caracteritzar els anticossos utilitzats en la mesura dels marcadors tumorals.

Els marcadors tumorals: per a què serveixen i per a què no

Aquesta taula, que va ser moderada per Xavier Filella (Servei de Bioquímica i Genètica Molecular, Hospital Clínic, Barcelona), va comptar amb la participació de Joan Alcover Garcia (Servei d'Urologia, Hospital Clínic, Barcelona), Catalina Falo Zamora (Servei d'Oncologia, Institut Català d'Oncologia, L'Hospitalet de Llobregat), Rafael Molina Porto (Servei de Bioquímica i Genètica Molecular, Hospital Clínic, Barcelona), Montserrat Muñoz Mateu (Servei d'Oncologia Mèdica, Hospital Clínic, Barcelona) i Jaume Trapé Pujol (Hospital Sant Joan de Déu, Manresa). En la taula, que plantejava un debat de fons sobre la utilitat clínica dels marcadors tumorals (3), van coincidir-hi professionals del laboratori juntament amb dues especialistes en oncologia (Falo i Muñoz) i un en urologia (Alcover). Aquest plantejament interdisciplinari va permetre obrir debat sobre dues qüestions que entrellacen la mesura i l'aplicació clínica dels marcadors tumorals. D'una banda, es va posar de manifest el desconeixement dels clínics sobre els canvis en les concentracions mesurades dels marcadors tumorals segons el mètode utilitzat. D'altra banda, es va debatre àmpliament sobre la utilitat dels marcadors tumorals, tant en el diagnòstic del càncer com del seguiment dels malalts oncològics amb la finalitat de detectar precoçment les recidives i de monitoritzar la resposta al tractament.

Es va comentar la falta de dades definitives que avalin l'ús de l'antigen específic de la pròstata en el diagnòstic del càncer de pròstata, encara que, segons es va dir, és un fet positiu que en els darrers anys s'hagi observat una migració dels casos diagnosticats cap a estadis més inicials. Igualment, es va fer esment de la recent publicació a *New England Journal of Medicine* dels resultats parcials del grup europeu i nord-americà sobre cribratge del càncer de pròstata. Mentre l'estudi europeu ha observat una certa disminució de la mortalitat en el grup sotmès a cribratge (4), l'estudi nord-americà no ha observat diferències entre tots dos grups (5). D'aquí, que Michael J. Barry titulés el seu editorial en aquesta mateixa revista amb un explícit "La

controvèrsia que refusa morir" (6).

Les diferències de criteri dels especialistes respecte a la utilitat de la mesura de marcadors tumorals en el seguiment de malaltes amb càncer de mama va ser motiu d'una àmplia discussió. Certament, les recomanacions són divergents entre les guies europees i nord-americanes. Així el Grup Europeu de Marcadors Tumorals (EGTM) recomana l'ús de la concentració de l'antigen carcinoembriogènic i de l'antigen CA 15-3, però en canvi la Societat Americana d'Oncologia Clínica (ASCO) tan sols recomana l'ús de la mesura de l'antigen CA 15-3 en el seguiment del càncer de mama avançat (7). Aquesta discrepància de criteri va servir per posar de manifest que l'aplicació clínica d'un marcador tumoral es relaciona no tan sols amb la seva sensibilitat i especificitat, sinó també amb la disponibilitat de tractaments efectius que permetin aprofitar amb benefici per al malalt el diagnòstic precoç d'una recidiva.

Com interpretar els resultats: valors de referència i límits de decisió dels marcadors tumorals

Aquesta taula, moderada per Xavier Fuentes Arderiu (Laboratori Clínic, Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat), va comptar amb la participació de Xavier Filella Pla (Servei de Bioquímica i Genètica Molecular, Hospital Clínic, Barcelona), Lluïsa Juan Pereira (Laboratori Clínic, Hospital Sant Joan de Déu, Martorell), Jaume Miró Balaguer (Laboratori Clínic, Hospital de Viladecans, Viladecans) i Josep Maria Queraltó Compañó (Servei de Bioquímica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona). El moderador va iniciar el debat introduint la qüestió de si un marcador tumoral és una magnitud bioquímica o una molècula, per tot seguit començar a valorar la incidència que les deficiències d'estandardització en la mesura dels marcadors tumorals tenen en l'establiment dels corresponents valors de referència i límits de decisió.

Els diferents ponents van coincidir en subratllar que no hi ha normatives específiques per definir els valors de referència d'un marcador tumoral que, generalment, d'altra banda, coincideix amb el límit de decisió utilitzat. Es va remarcar també la importància de reconsiderar els intervals de referència (valor metrològic) i els valors discriminants (valor semiològic) cada vegada que es fa un canvi de mètode a causa de les diferències en les concentracions mesurades que es poden observar.

Igualment, es va precisar que els valors de referència i el límit de decisió d'un marcador tumoral tenen una importància cabdal en el cas que aquest sigui utilitzat en el diagnòstic del càncer. En la resta de casos, l'establiment d'un interval de referència té l'interès de conèixer el comportament del marcador tumoral en malalties no canceroses i, per tant, poder estimar les causes que poden produir, en absència de recidiva, l'increment d'un marcador tumoral. Aquest coneixement és de vital importància per interpretar adequadament els marcadors tumorals en el seguiment dels malalts oncològics. De fet, quan el marcador tumoral s'usa amb aquesta finalitat la concentració de referència ve marcada pels propis resultats en les successives determinacions obtingudes al llarg del temps en cada malalt i no pel fet d'estar dins o fora de l'interval de

referència.

D'altra banda, es va comentar que el desenvolupament de la bioinformàtica i la proliferació de dades bioquímiques i clíniques que es poden utilitzar en el diagnòstic del càncer poden convergir, de manera que, en un proper futur, passem de considerar aïlladament un marcador tumoral a considerar el risc de càncer en base a un model de predicció estadístic que inclogui dades clíniques i bioquímiques.

Conclusions

Finalment, Jaume Miró Balaguer va presentar un resum dels debats desplegats al llarg del simpòsium, destacant entre d'altres aspectes, la necessitat que els responsables del laboratori clínic manifestin a la indústria la necessitat de procedir a l'estandardització dels mètodes de mesura, a més de l'adopció d'uns estàndards o calibradors internacionals, per tal que minvi la dispersió dels resultats en funció del sistema de mesura. Mentre això no es produeixi serà molt difícil l'establiment de valors discriminants i valors crítics fiables, que només poden obtenir-se a través d'estudis multicèntrics, i que podrien potenciar molt la utilitat clínica de la mesura d'aquestes magnituds biològiques.

Bibliografia

1. Bristow A, Berger P, Bidart JM, Birken S, Norman R, Stenman UH *et al.* on behalf of the IFCC Working Group on hCG establishment, value assignment, and characterization of new WHO reference. Reagents for six molecular forms of human chorionic gonadotropin. *Clin Chem* 2005;51:177–82.
2. Stephan C, Klaas M, Müller C, Schnorr D, Loening SA, Jung K. Interchangeability of measurements of total and free prostate-specific antigen in serum with 5 frequently used assay combinations: an update. *Clin Chem* 2006;52:59-64.
3. Filella X. Els marcadors tumorals: què són i per a què serveixen. *In vitro veritas* 2007;8, art. 100:<www.acclc.cat>.
4. Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ *et al.* Screening and prostate-cancer mortality in a randomized european study. *N Engl J Med* 2009;360:1320-8.
5. Andriole GL, Grubb RL, Buys SS *et al.* Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J Med* 2009;360:1310-9.
6. Barry MJ. Screening for prostate cancer — The controversy that refuses to die. *N Engl J Med* 2009;360:1351-4.

7. Secció oncològica de l'Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic. Guies de pràctica clínica: recomanacions respecte a la utilització dels marcadors tumorals. *In vitro veritas* 2007;8, art. 93:<www.acclc.cat/>.

Citació recomanada per a aquest document:

Filella X, Bosch MA, Bedini JL, Miró J. Informe del V Simpòsium Europeu sobre el laboratori clínic i la indústria del diagnòstic *in vitro*: "Estandardització i Marcadors Tumorals". *In vitro veritas* 2009;10, art. 110:<www.acclc.cat/>