

PSA-Standardisierung: zwischen Labor und Klinik

Thomas Brinkmann, Maciej Kwiatkowski,
Franz Recker, Andreas Huber

Zusammenfassung

Äquimolarität und WHO-Standardisierung haben zu einer besseren Vergleichbarkeit von PSA-Ergebnissen unterschiedlicher Testverfahren beigetragen. Dennoch weichen Ergebnisse einzelner PSA-Assays weiterhin voneinander ab. Wird ein PSA-Testverfahren nach WHO-Norm kalibriert, muss ein neuer assayspezifischer Grenzwert bestimmt und klinisch validiert werden. Eine lückenlose Kommunikation zwischen Hersteller, Labor und Kliniker ist unerlässlich, um auf diesen neuen Grenzwert hinzuweisen. Der klinisch validierte PSA-Grenzwert z.B. für das WHO-standardisierte Access Hybritech-Verfahren liegt bei 3,1 ng/ml (was dem Cutoff von 4,0 ng/ml entspricht, der Cutoff des rekalierten Access-Assays ist 3,1 ng/ml).

Das ist unseres Wissens auch das erste Mal, dass ein PSA-Assay in zwei verschiedenen Kalibrierungen offeriert wird. Das bedeutet, dass ein Labor besonders bei der Anwendung des Hybritech-Assays nicht nur den Namen des Assays, sondern gleichzeitig auch die Kalibrierung angeben sollte. Dabei ist die Anpassung der genannten Grenzwerte (4,0 bzw. 3,1 ng/ml) unerlässlich. Diese Angaben sollte jeder Laborbefund enthalten, unabhängig vom Assay.

Hintergrund

Das prostataspezifische Antigen (PSA) ist der am häufigsten genutzte onkologische Tumormarker. Sein Einsatz zur Früherkennung des Prostatakarzinoms (PCa) hat zu einer deutlichen Verschiebung der Stadienbeurteilung vom fortgeschrittenen zum lokalisierten Karzinom in der Primärdiagnostik geführt. Zwar sind Ergebnisse der prospektiven randomisierten Studien bis ungefähr 2011 ausstehend; es bestehen jedoch deutliche Hinweise, dass eine PCa-Früherkennung lebensverlängernd ist. Das PSA hat ausserdem

(ebenfalls) einen Stellenwert als prognostischer Faktor erlangt. Neben den klassischen Therapien der kompletten Prostatektomie und Radiotherapie des lokalisierten PCa, wird es auch zur aktiven Beobachtung («active surveillance») bei kurativer Intention eingesetzt, so dass – kombiniert mit anderen Parametern – Therapieempfehlungen gegeben werden können. Nach primärer Therapie des lokalisierten Karzinoms in kurativer Intention wird PSA als Marker für den Therapieverlauf und das Erkennen eines Tumorrezidiv benutzt. Der klinische Nutzen des PSA in diesem Einsatzgebiet ist Gegenstand intensiver Studien und in ihren therapeutischen Konsequenzen noch nicht abschliessend beantwortet.

In der Entwicklung diagnostischer Methoden zur frühzeitigen Erkennung von Prostataerkrankungen spielte die Firma Hybritech Corporation (jetzt Beckman Coulter) eine Vorreiterrolle. Bereits 1986 wurde der Hybritech Tandem™ PSA-Assay («Total PSA») von der amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) als erstes Testverfahren zum Monitoring des Krankheitsverlaufes von Prostatakrebs genehmigt. 1994 folgte die FDA-Genehmigung zur Prostatakarzinomfrüherkennung und 1998 die FDA-Zulassung des Hybritech «Free PSA» als erstes Testverfahren zur Verbesserung der PCa-Früherkennung durch verbesserte Differenzierung zwischen benignen Prostataerkrankungen und Prostatakrebs durch Kombination des Gesamt-PSA-Wertes mit sogenannten «Free-to-total PSA Ratio», einem in Prozent ausgedrückten Quotienten, gebildet durch das Verhältnis des freien PSA zur Gesamt-PSA.

Seit nunmehr 20 bzw. zehn Jahren werden der Hybritech-Assay für Gesamt-PSA sowie Freies PSA nach einem internen Standard des Tandem-R-PSA kalibriert. Beide Assays, PSA und Freies PSA, sind jetzt auch als Chemilumineszenzmethoden auf einer vollautomatischen Immunoassay-Geräteplattform verfügbar.

Im Jahr 1986 wurde ein PSA-Grenzwert von 4,0 ng/ml postuliert und 1994 anhand einer multizentrischen prospektiven Studie an über 6374 Männern [1] mit dem Tandem-R PSA bestätigt. Man hat zunächst über eine sog. «PSA-Grauzone» zwischen 4,0 und 10,0 ng/ml gesprochen. Dieser Begriff ist heutzutage obsolet. Eine weiterführende PCa-Diagnostik (ultraschallgesteuerte Prostatabiopsie) sollte heutzutage spätestens bei einem Wert von 4,0 ng/ml erfolgen. Interessanterweise wurde der Cutoff von 4,0 ng/ml bisher einzig für den Hybritech PSA-Assay klinisch im Rahmen einer prospektiven Studie validiert. Da sich in verschiedenen Studien eine deutliche Korrelation zwischen tieferen PSA Werten und verbesserten Heilungsraten zeigte, ist heute eine Senkung des Cutoff-Wertes auf 3,0 oder sogar 2,5 ng/ml Gegenstand intensiver Diskussionen, da dadurch die Heilungsraten um 10 bzw. 15% verbessert werden sollten.

Entstehungsgeschichte des WHO-Standardmaterials

Semjonow et al. haben 1995 gezeigt, dass die Unterschiede zwischen allen kommerziell erhältlichen Assays in Deutschland aus einer gleichen Serumprobe bis hundert Prozent betragen können [2]. Aufgrund dieser signifikanten Unterschiede in den PSA-Messergebnissen unterschiedlicher nicht äquimolarer PSA-Assays wurde die Standardisierung des Messverfahrens gefordert. Dabei ist die äquimolare Erkennung von freien und komplexierten PSA-Formen von grosser Bedeutung für die Genauigkeit eines PSA-Tests, insbesondere um den Entscheidungsgrenzwert von 4,0 ng/ml herum. Eine ungenaue Bestimmung der PSA-Konzentration an diesem kritischen Punkt kann zu einem falsch-positiven bzw. falsch-negativen Ergebnis führen (Abb. 1).

Thomas Stamey, MD, Urologe an der Stanford University, schlug 1995 einen PSA-Standard vor, der sich aus einem

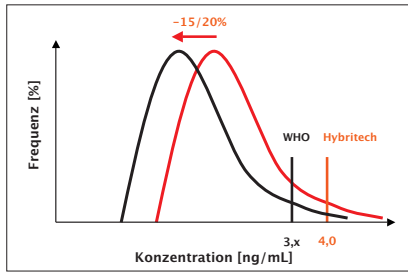


Abbildung 1. Äquimolare Erkennung von komplexierten und freien PSA-Formen in Blutproben: Ein nicht äquimolarer Test sollte zu einer Zunahme von falsch-positiven und falsch-negativen Ergebnissen führen.

90:10-Verhältnis aus komplexiertem und freiem PSA zusammensetzt, um die nicht äquimolare Reaktion mancher PSA-Methoden auszugleichen [3]. Dieses Präparat diente als Grundlage für den von der Weltgesundheitsorganisation WHO 1999 eingeführten PSA-Massenstandard WHO 96/670. Im Vergleich zum WHO-Standard 96/670 ergibt beispielsweise der interne Hybritech-Standard, der auf gereinigtem humanen PSA basiert, 16–20% höhere PSA-Resultate [4]. Daraus ergibt sich, dass auf dem Markt befindliche PSA-Testverfahren, die nach dem absoluten Massenwert des WHO 96/670-Standards rekali­briert wurden, deutlich niedrigere PSA-Werte im Vergleich zum Hybritech-Verfahren ergeben.

Laborergebnisse und Kliniker

Man kann die WHO-Standardisierung dahingehend missverstehen, dass «jetzt alle Methoden gleich sind». Trotz WHO-Kalibrierung bestehen aber weiterhin Unterschiede zwischen den PSA-Methoden, die sich aufgrund des jeweiligen Testaufbaus, beispielsweise in der Wahl der eingesetzten Antikörper ergeben können. Daher wurde bis heute statt einer wirklichen Standardisierung lediglich eine verbesserte Harmonisierung der Tests erreicht [5]. Ein Labor, das trotz WHO-Kalibration weiterhin einen Grenzwert von 4,0 ng/ml verwendet, läuft Gefahr, dass es zu einer Unterbewertung gemessener PSA-Werte und dadurch zur Protrahierung einer Diagnose kommen kann. Aufgrund des veränderten Sensitivitäts- und Spezifitätsprofils ergibt sich eine andere Interpretation der Messergebnisse (Abb. 2). Die WHO-Standardisierung allein ist somit kein Qualitätskriterium. Daher empfiehlt die «European Group on Tumour

Markers» (EGTM): «In jedem Laborbericht sollte das angewandte Testverfahren und ein für das Verfahren speziell ermittelter Referenzbereich benannt werden» [6].

WHO-Standardisierung für PSA und Freies PSA

In einigen europäischen Ländern wird bereits gefordert, dass Labore ausschließlich WHO-standardisierte PSA-Methoden einsetzen sollen. Beckman Coulter führt jetzt WHO-standardisierte Access Hybritech PSA- und Freies PSA-Assays. Labormedizinische Einrichtungen, die nach wie

vor bei der alten Hybritech-Standardisierung bleiben möchten, können die nach dem traditionellen Verfahren kalibrierten Immunassays weiterführen. Mit der Standardisierung (z.B. von Beckman Coulter) des Hybritech Gesamt-PSA und Freien PSA wird die Änderung der PSA-Werte durch die WHO-Standardisierung transparent. Auf Grundlage der oben genannten Studienergebnisse für Gesamt-PSA und Freies PSA errechnet sich ein neuer klinisch validierter PSA-Grenzwert unter Beibehaltung desselben Sensitivitäts- und Spezifitätsniveaus. Der empfohlene Grenzwert für das

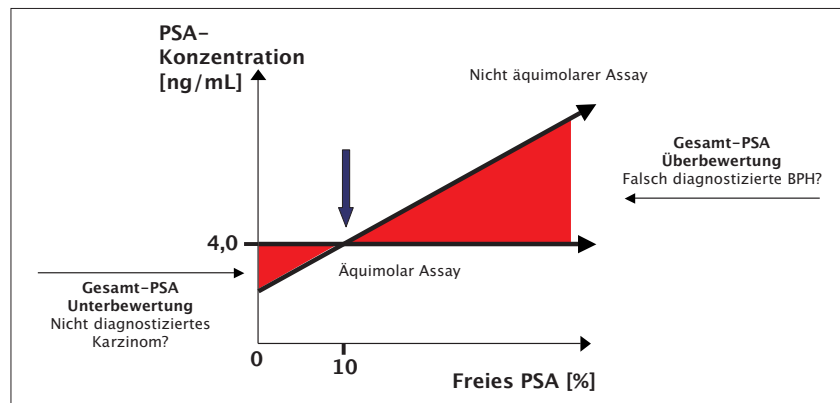


Abbildung 2. Graphische Darstellung des Einflusses unterschiedlicher PSA-Standardisierung, Definition des Cutoffs und die Interpretation von Messergebnissen (BPH = Benigne Prostatahyperplasie).

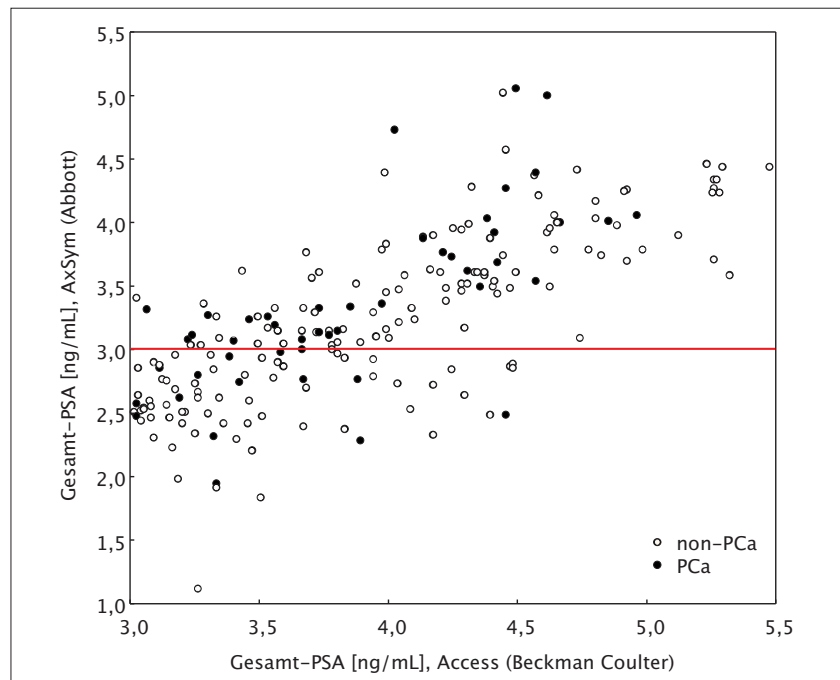


Abbildung 3. Die t-PSA-Werteverteilung bei den stanzbioptisch untersuchten Männern im Bereich PSA 3,0–5,5 ng/ml (Access) und korrespondierende AxSym-Werte. Unterhalb der roten Linie befinden sich die Messwerte der Männer, welche bei einem Schwellenwert von 3,0 ng/ml mit dem AxSym-Assay als «normal» bezeichnet worden wären (Bereich der «diagnostischen Diskrepanz»).

WHO-standardisierte Access Hybritech-Verfahren liegt bei 3,1 ng/ml. Der prozentuale Freie-PSA-Grenzwert von <25% für Access Hybritech bleibt von der WHO-Eichung unberührt, weil die Standardisierung für Gesamt-PSA und Freies PSA parallel verlaufen.

Bedeutung für die Klinik

Was bedeuten die genannten Unterschiede für den Patienten bzw. den Arzt in der täglichen Anwendung? Diese Frage beantworten die Ergebnisse einer mehrjährigen prospektiven Studie, die wir im Rahmen der ERSPC-Studie durchgeführt haben [7]. Es sollte untersucht werden, welche klinischen Auswirkungen die Verwendung von verschiedenen Bestimmungsverfahren auf ein PSA-basiertes Massenscreening für Prostatakarzinom (PCa) hat. Hierzu wurden 2543 Männer, die an einer prospektiven PCa-Screening-Studie teilgenommen haben (ERSPC-Studie), in die Studie eingeschlossen. Bei diesen Männern wurde das Gesamt-PSA (t-PSA) mit dem Access-Assay (Beckman Coulter) und parallel mit dem AxSym-Assay (Abbott) jeweils zu demselben Zeitpunkt über den Zeitraum von mehreren Jahren bestimmt. Insofern spiegelt dieses Studiendesign eine sehr realitätsnahe Situation wider.

Der verwendete AxSym-Assay war nach WHO-Standard kalibriert, als Cutoff wird vom Hersteller ein Wert von 4,0 ng/ml deklariert. Der verwendete Assay

war nach dem Hybritech-Standard mit einem Cutoff von 4,0 ng/ml kalibriert. Für die ERSPC-Studie wurde ein niedrigerer einheitlicher Schwellenwert von 3,0 mg/dl festgelegt.

Bei Patienten mit Accessmesswerten $\geq 3,0$ ng/ml Gesamt-PSA (Früherkennung, Access) wurde eine Prostatabiopsie durchgeführt.

16,4% (n = 417) aller untersuchten Männer hatten einen Messwert oberhalb des Cutoffs und wurden mittels einer TRUS-gesteuerten Prostatabiopsie untersucht. Davon hatten lediglich 296 Männer (11,6%) einen ebenfalls erhöhten Gesamt-PSA-Messwert mit dem AxSym-Assay. Folglich wären 126 Männer als «normal» betrachtet worden, wenn ausschliesslich der AxSym-Wert für die Entscheidung zur Biopsie verwendet worden wäre (Abb. 3). In der diskordanten Gruppe betrug die Entdeckungsrate des PCa 18,2% (n = 22) (Tab. 1).

Nur vier Männer zeigten eine entgegengesetzte analytische Situation, d.h. der Gesamt-PSA-Wert am AxSym war $\geq 3,0$ ng/ml, der des Access wurde mit $< 3,0$ ng/ml gemessen.

Schlussfolgernd zeigen diese Ergebnisse, dass mit einer zunehmenden Tendenz zur Senkung des PSA-Schwellenwertes für die Prostatabiopsie die Interassayvariationen zunehmend an Bedeutung gewinnen werden und nicht unterschätzt werden dürfen. Unsere Studie zeigt, dass diese Differenz bei ei-

nem Schwellenwert von 3,0 ng/ml Gesamt-PSA zu 30% mehr oder weniger Männern mit «verdächtigen» PSA-Wert führt, was umgerechnet 5% aller Männer in dieser Altersgruppe ergibt! Diese Erkenntnis ist wichtig für jeden praktizierenden Arzt, der seine Patienten in bezug auf PCa-Früherkennung und Risiko anhand gemessener PSA-Werte beraten will.

Eine Einigung auf einen gemeinsamen PSA-Standard würde diese Aufgabe vereinfachen. Die meisten Assays sind bereits anhand dieses Standards kalibriert.

PD Dr. Thomas Brinkmann
Beckman Coulter Eurocentre
22, rue Juste-Olivier
1260 Nyon

Dr. med. Maciej Kwiatkowski
Kantonsspital Aarau AG
Urologie
Tellstrasse
5001 Aarau

Prof. Dr. med. Franz Recker
Kantonsspital Aarau AG
Urologie
Tellstrasse
5001 Aarau

Prof. Dr. med. Andreas R. Huber
Kantonsspital Aarau AG
Zentrum für Labormedizin
Tellstrasse
5001 Aarau

Tabelle 1.

Entdeckungsrate und Inzidenz bei klinischem Einsatz der beiden untersuchten Assays am Schwellenwert zur Biopsie. Die Inzidenz (a) wurde bezogen auf die gesamte Studienpopulation (n = 2543).

	tPSA (ng/ml)			
	Access $\geq 3,0$ n = 418	AxSym $\geq 3,0$ n = 296	AxSym $\geq 3,0$; Access $> 3,0$ n = 4	AxSym $> 3,0$; Access $\geq 3,0$ n = 126
PCa				
Entdeckungsrate (%)	23,3	25,9	keine Biopsie	18,2
Inzidenz a (%)	3,8	3,0	keine Biopsie	0,8

Tabelle 2.

Konkordanztabelle der Vergleichsmessung PSA Access versus AxSym des ERSPC-Kollektivs. Für die Studie wurde für beide Assays ein Cutoff von 3,0 ng/ml festgelegt.

n = 2543	
	Access $< 3,0$ ng/ml
AxSym $< 3,0$ ng/ml	2122
AxSym $> 3,0$ ng/ml	4
	Access $> 3,0$ ng/ml
	121*
	296

* In der diskordanten Gruppe betrug die PCa-Entdeckungsrate nach Prostatabiopsie 18,2% (n = 22).

Literatur

- Catalona WJ, Hudson MA, Scardino PT, et al. Selection of optimal prostate specific antigen cutoffs for early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves. *J Urol.* 1994;152:2037–42.
- Semjonow A, Brandt B, Oberpenning F, Hertle L. [Different determination methods make interpretation of prostate-specific antigen more difficult]. *Urologe A.* 1995;34:303–15.
- Stamey TA, Teplow DB, Graves HC. Identity of PSA purified from seminal fluid by different methods: comparison by amino acid analysis and assigned extinction coefficients. *Prostate.* 1995;27:198–203.
- Link RE, Shariat SF, Nguyen CV, et al. Variation in prostate specific antigen results from 2 different assay platforms: clinical impact on 2304 patients undergoing prostate cancer screening. *J Urol.* 2004;171:2234–8.
- Blijenberg BG, Storm BN, Kruger AE, Schroder FH. On the standardization of total prostate-specific antigen: an exercise with two reference preparations. *Clin Chem Lab Med.* 1999;37:545–52.
- Semjonow A, Albrecht W, Bialk P et al. Tumour markers in prostate cancer: EGTM recommendations. *Anticancer Res* 1999;19:2799–801.
- Kwiatkowski M, Seiler D, Huber A, Recker F. Clinical implications for use of various PSA assays in prostate cancer early detection. *J Urol.* 2007;177:4 (Suppl.):533.

1. Das Prostata-spezifische Antigen (PSA) ist der häufigst genutzte onkologische Tumormarker. Welche Aussage zur Messung von PSA ist richtig?

- A ... hat zu einer Verschiebung der Stadienerkennung vom fortgeschrittenen zum lokalisierten Karzinom geführt.
- B ... kann nicht zur Beobachtung bei kurativer Intention eingesetzt werden.
- C ... die Messung ist nachgewiesenerweise mit Lebensverlängerung dank Früherkennung assoziiert.
- D ... hat keine prognostische Aussagekraft.
- E ... ist bislang von der FDA zur Früherkennung nicht zugelassen.

2. Welche Aussage zur PSA-Messung ist **nicht** korrekt?

- A Die WHO-Standardisierung (96/670) hat alle Unterschiede zwischen den verschiedenen Assays aufgehoben.
- B Der Standard ist äquimolar im Verhältnis komplexiertem zu freiem PSA von 80% zu 20%.
- C Jedes Labor sollte das Testverfahren und den Referenzwert für ihren Test angeben.
- D Der ideale Cut-off liegt bei 4,0 ng/ml.
- E Je tiefer der Cut-off, desto kleiner die Heilungsrate.

Die Antworten finden Sie im Internet unter www.sulm.ch/pipette.html.

1. L'antigène spécifique de la prostate (PSA) est le marqueur tumoral oncologique le plus utilisé. Laquelle des propositions ci-dessous sur le dosage du PSA est-elle correcte?

- A a provoqué un décalage du diagnostic du stade avancé au stade localisé.
- B ne peut pas être utilisé pour le suivi après interventions à visée curative.
- C le dosage est associé au prolongement de l'espérance de vie grâce au diagnostic précoce.
- D n'a aucune valeur pronostique.
- E n'est pour l'instant pas admis par la FDA pour le diagnostic précoce.

2. Laquelle des propositions ci-dessous sur le dosage du PSA n'est-elle **pas** correcte ?

- A la standardisation par l'OMS (96/670) a supprimé toutes les différences entre les différentes méthodes.
- B le standard est équimolaire dans le rapport PSA complexé et libre de 80% sur 20%.
- C chaque laboratoire doit indiquer sa méthode de dosage et sa valeur de référence.
- D le cutt-off idéal est de 4,0 ng/ml.
- E plus le cutt-off est bas, plus la proportion de guérison est faible.

Vous trouverez les réponses sur internet sous www.sulm.ch/pipette.html.