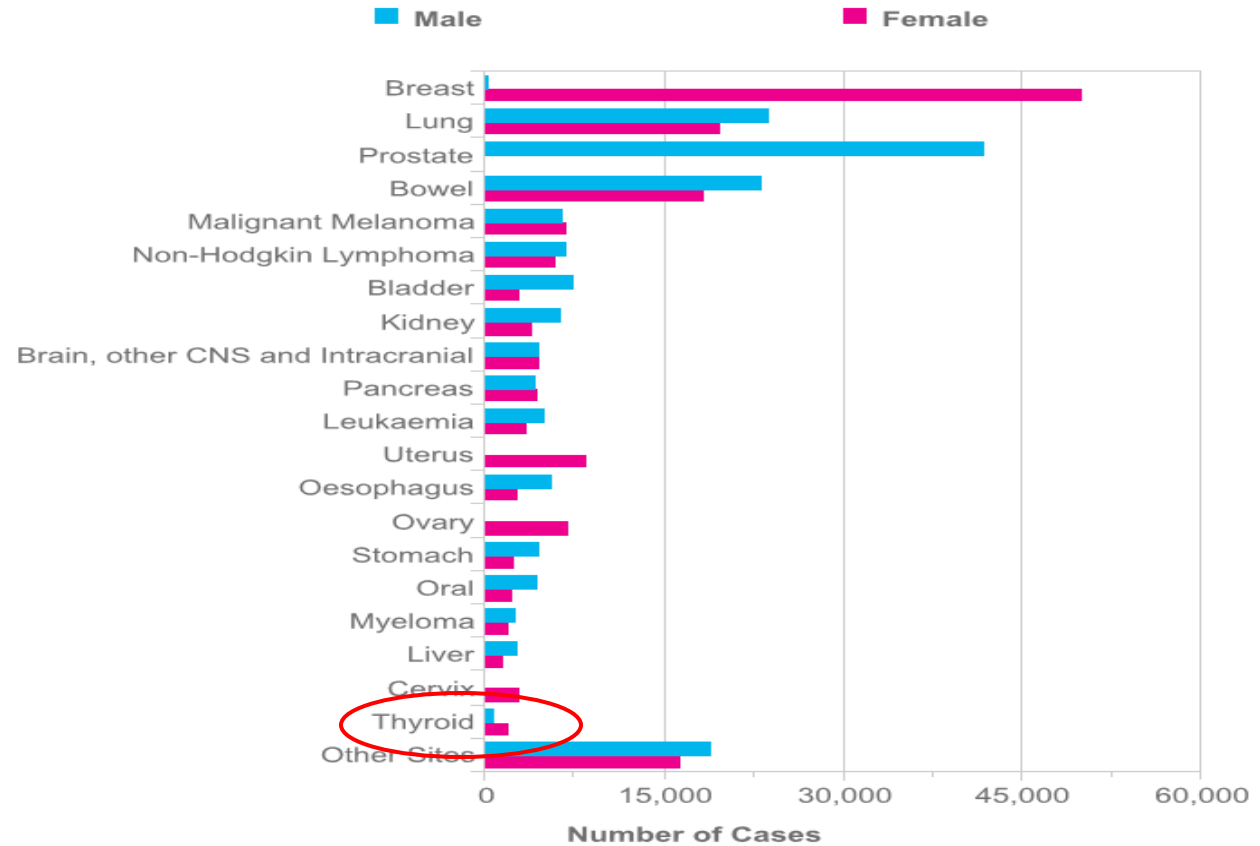


CAT
Critically Appraised Topic

**Thyroglobuline in de opvolging van
gedifferentieerd schildkliercarcinoom:
belang van de functionele sensitiviteit.**

Author: Niels Graindor
Supervisor: Sara Vijgen
Date: 03-04-2014

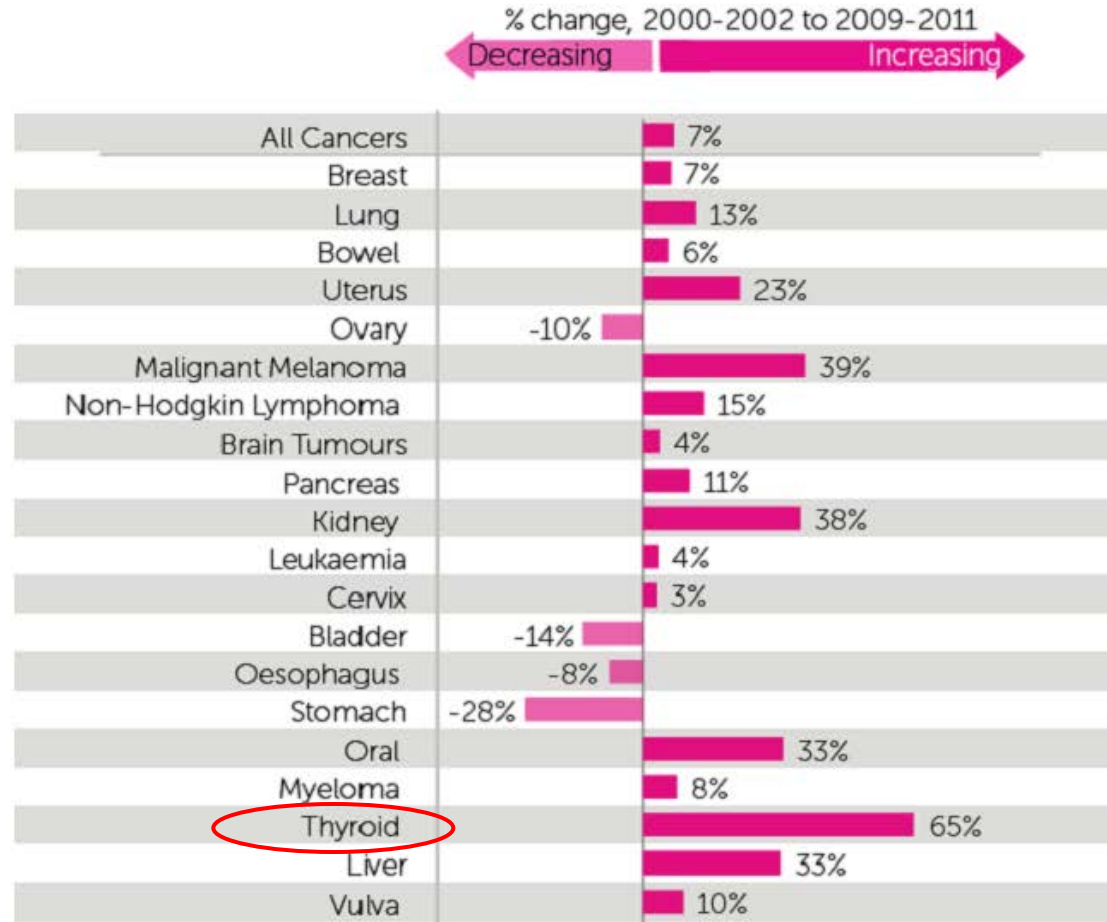
The 20 Most Common Cancers in 2011 Number of New Cases, UK



www.cancerresearchuk.org

The 20 Most Commonly Diagnosed Cancers: 2000-2002 and 2009-2011

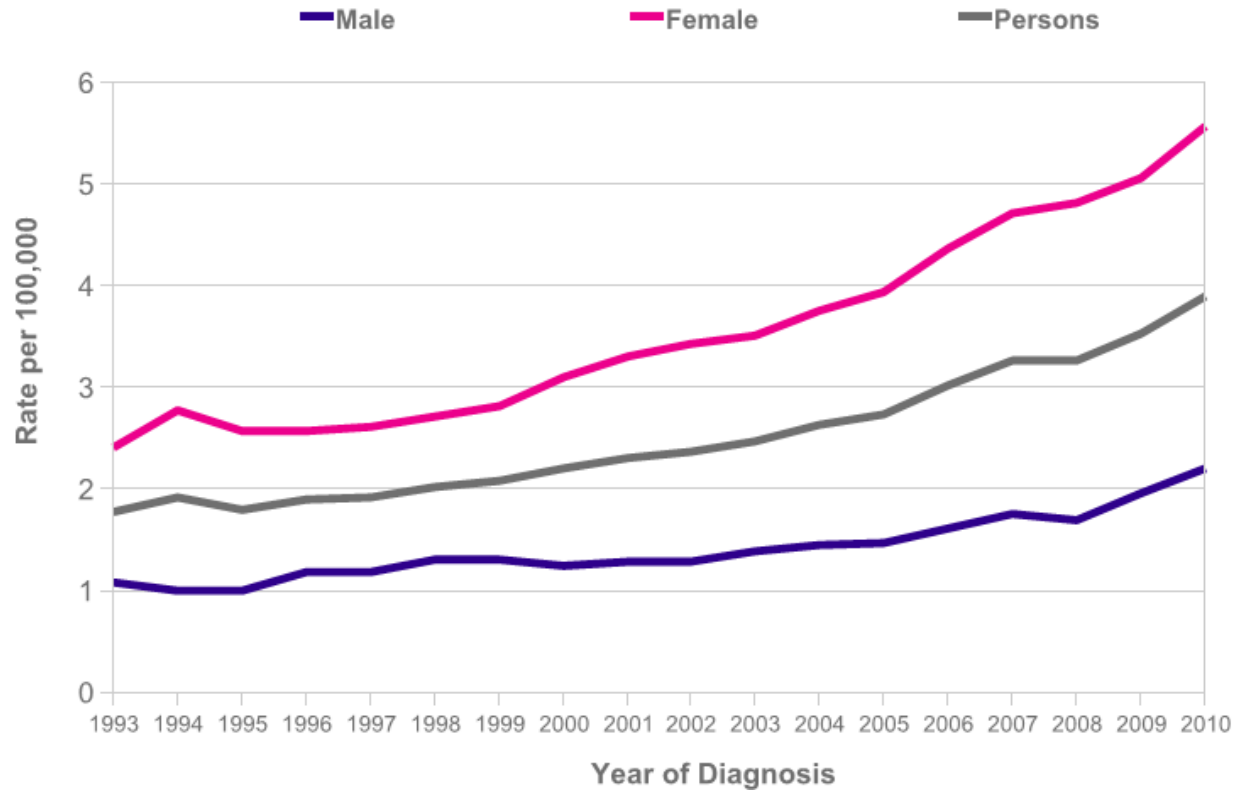
Percentage Change in European Age-Standardised Incidence Rates per 100,000 Population, Females, UK



www.cancerresearchuk.org

Thyroid Cancer (C73): 1993-2010

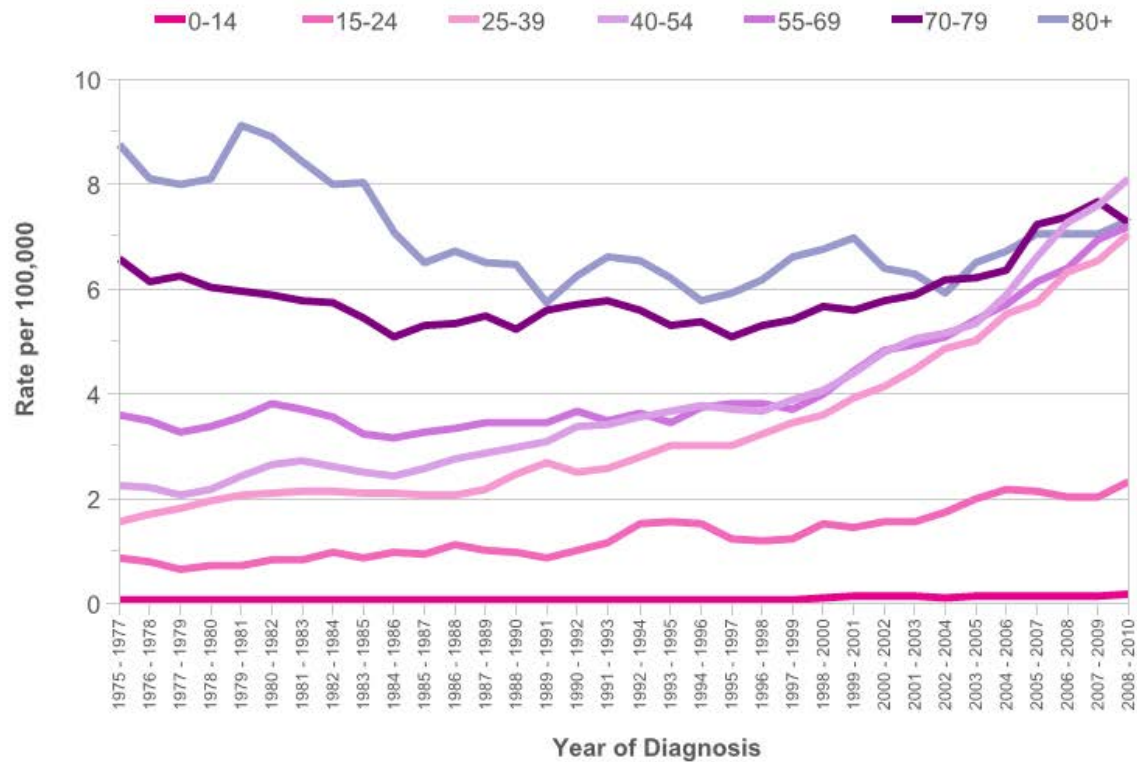
European Age-Standardised Incidence Rates per 100,000 Population, by Sex, UK



www.cancerresearchuk.org

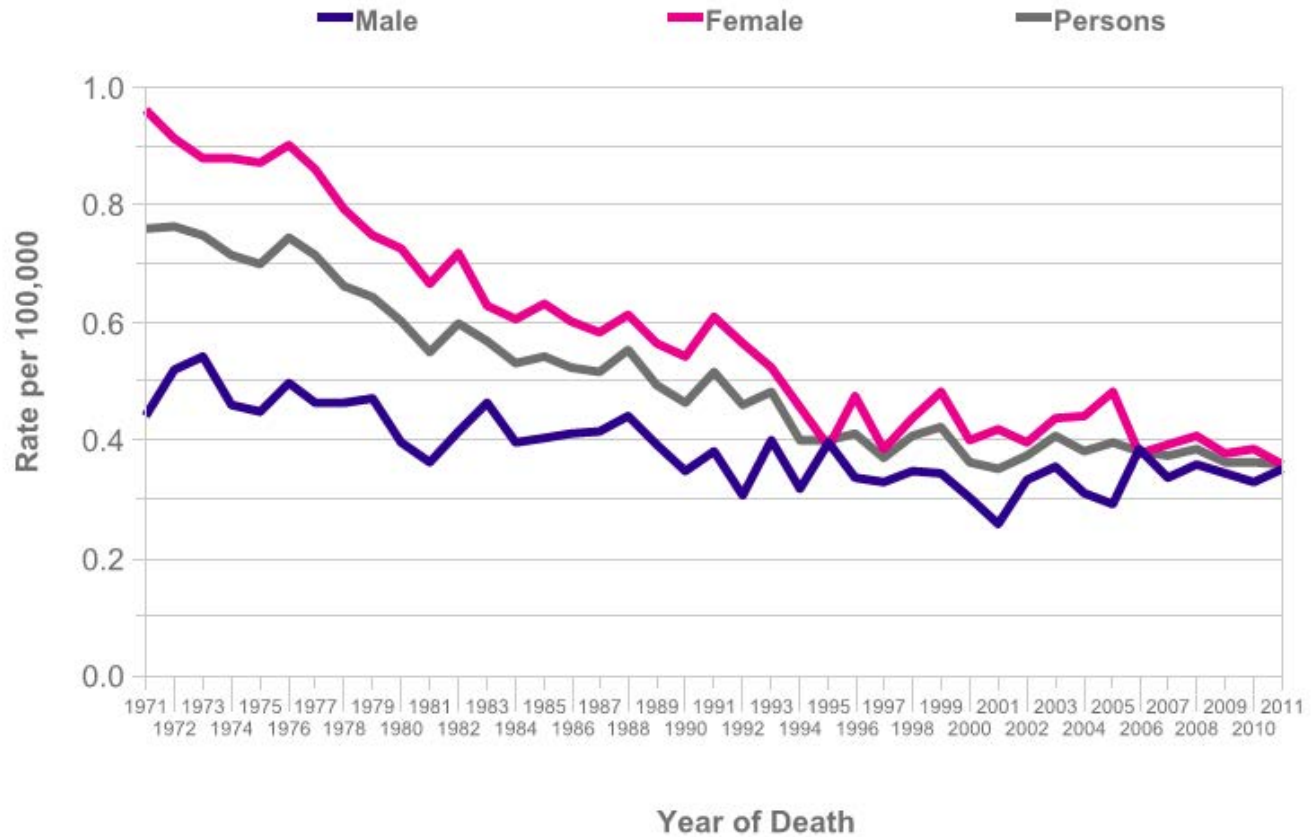
Thyroid Cancer (C73): 1975-2010

European Age-Standardised Incidence Rates per 100,000 Population, by Age, Females, Great Britain



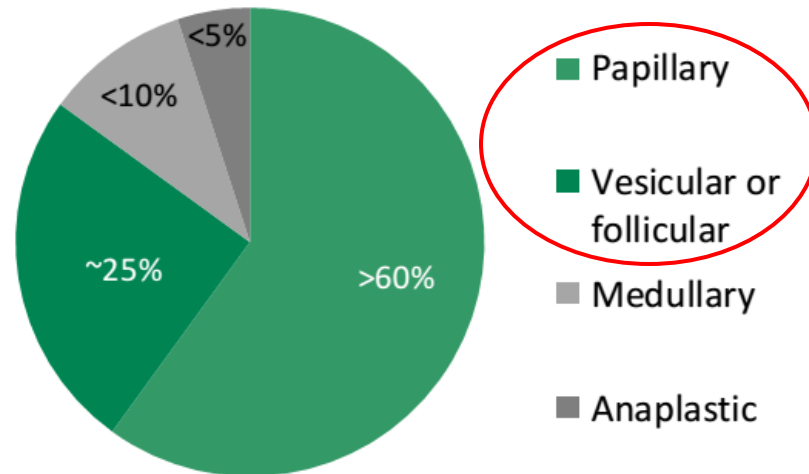
www.cancerresearchuk.org

Thyroid Cancer (C73): 1971-2011
European Age-Standardised Mortality Rates per 100,000 Population, UK



www.cancerresearchuk.org

- Gedifferentieerd schildkliercarcinoom (DTC) = papillair + folliculair
- Pijnloze zwelling
- Noduli (~ 5% maligne)
- Goede prognose (10 year survival > 90%)
- Verhoogd serum Tg en sterke opname van jodium
- Thyroïdectomie + ablatie met ^{131}I gevolgd door T4 substitutie



Diagnostiek

- Klinisch onderzoek
- Bloedname
 - T3, T4, TSH
 - Thyroglobuline
 - Serum Ca²⁺
 - Calcitonine (medullair schildklier carcinoom)
- Hals-echografie
- Schildklierscintigrafie
- FNAC (fijne naald aspiratie cytologie)

Thyroglobuline

- Glycoproteïne
- 660 kDa (2 identieke ketens van elk 330 kDa)
- Precursorproteïne voor synthese van T3 en T4
- Enkel geproduceerd door normale schildklierfollikelcellen en eventueel aanwezige gedifferentieerde schildklierkankercellen
- Hoeveelheid Tg is afhankelijk van:
 - Massa van schildklierweefsel
 - Schildklierbeschadiging
 - Mate van stimulatie van TSH receptor

Thyroglobuline

- Vnl. gebruikt als tumormarker in de follow-up van DTC
 - Schildklier specifiek
 - Beperkte weefseldistributie
 - Sterke correlatie tussen Tg en massa DTC
- Na thyroïdectomie en ablatie: Tg ondetecteerbaar of zeer laag
- Meetbaar Tg ($> 1 \mu\text{g/L}$) indicatief voor recidief DTC

Vragen

- Wat is de rol van Tg in de follow-up van een gedifferentieerd schildkliercarcinoom?
- Wat is de vereiste functionele sensitiviteit voor Tg-assays gebruikt in de follow-up van gedifferentieerd schildkliercarcinoom en welke andere kwaliteitseisen worden gesteld aan die assays?
- Is de bepaling van een basaal Tg onder levothyroxine-substitutie d.m.v. een meer sensitieve assay een alternatief voor een TSH gestimuleerde Tg bepaling?
- Is er een alternatief voor Tg in de follow-up van gedifferentieerd schildkliercarcinoom bij aanwezigheid van Tg-antistoffen.

Follow-up DTC

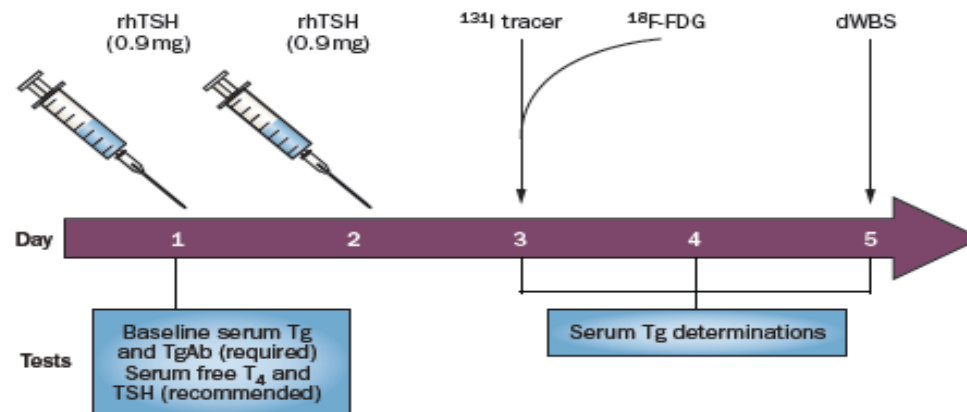
- Behandeling
 - Thyroïdectomie
 - Ablatie met radioactief jodium
 - T4 substitutie
- Lange termijn follow-up
 - Serum Tg (basaal (T4) + TSH gestimuleerd)
 - Hals-echo
 - Whole body scintigrafie met ^{131}I

TSH gestimuleerd Tg

- Recidief DTC soms zeer lage Tg levels die voor sommige assays niet detecteerbaar zijn.
- Dus onmeetbaar basaal Tg sluit recidief DTC niet uit.
- TSH stimuleert Tg productie in aanwezige tumorcellen.
- Verhoogde gevoeligheid voor opsporen recidief
- Gevoeliger dan basaal (T4) Tg:
 - 1 g schildklierweefsel: 1 $\mu\text{g/L}$ bij normaal TSH en 0,5 $\mu\text{g/L}$ bij laag TSH

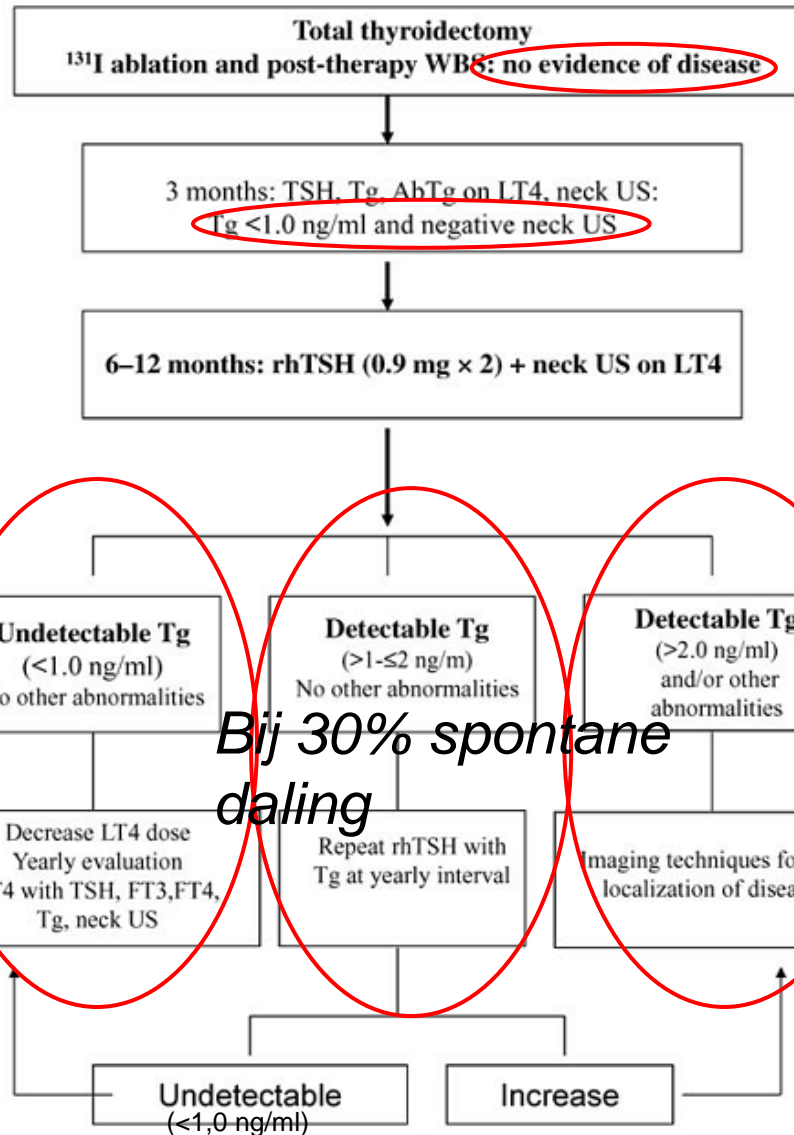
TSH gestimuleerd Tg

- rhTSH



- Stoppen T4 substitutie
- Cut-off
 - 1 µg/L voor basaal (T4) Tg
 - rhTSH gestimuleerd Tg:
 - > 2 µg/L
 - 1-2 µg/L grijze zone

Follow-up DTC

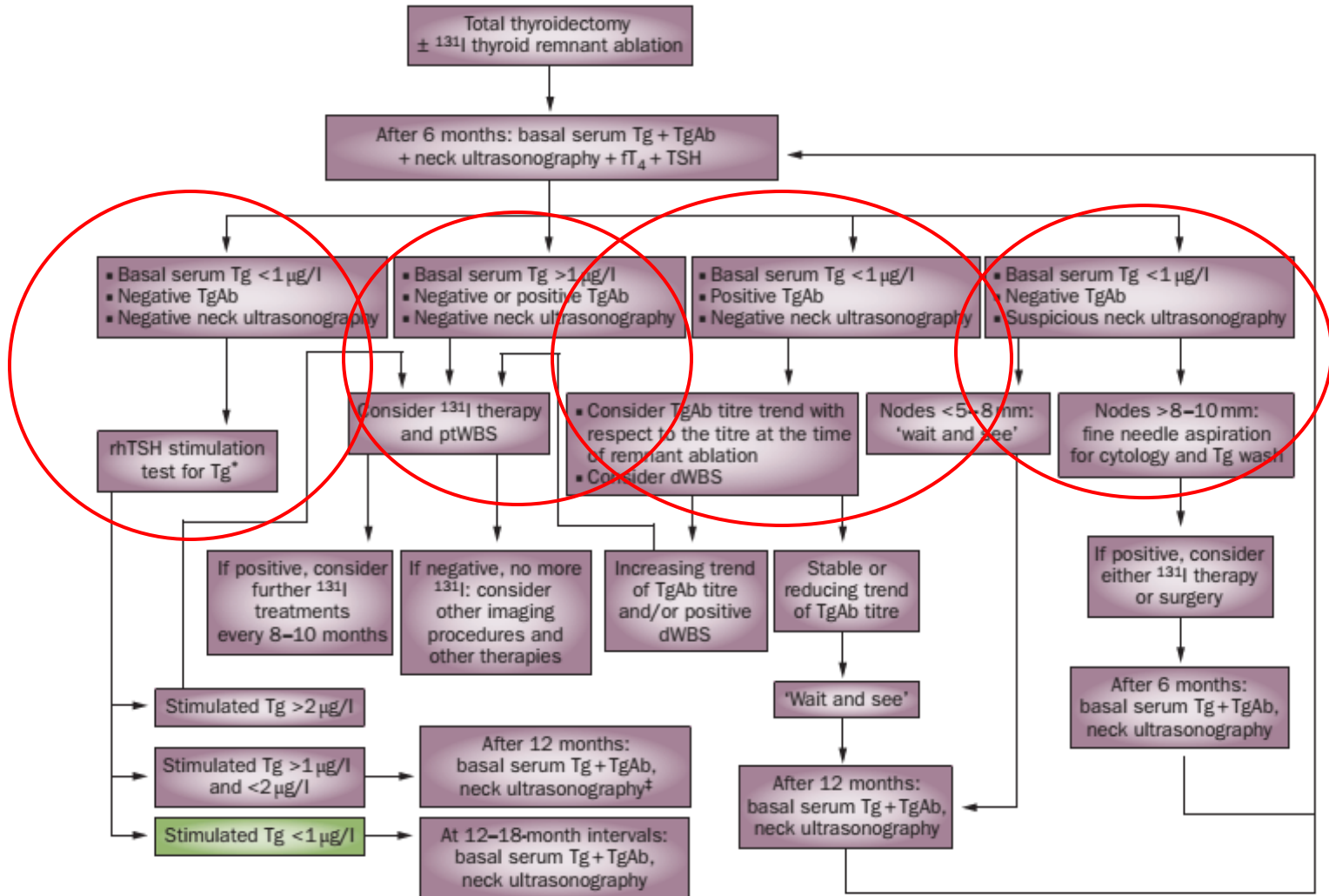


laag risico op recidief (<1%)

Bij 30% spontane daling

Risico recidief <50%

ESMO guidelines 2012



Elisei R. et al. 2012

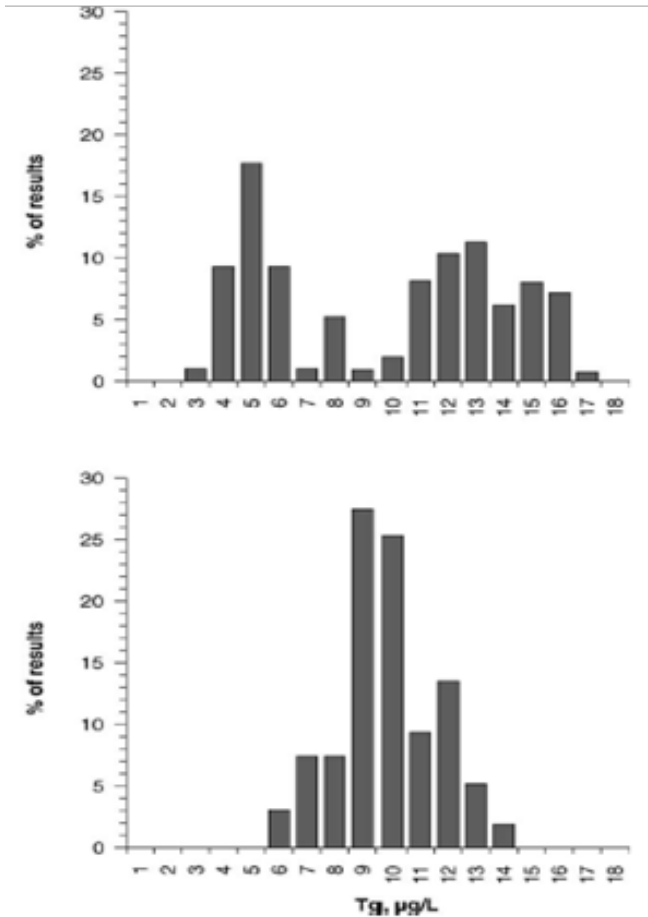
Vragen

- Wat is de rol van Tg in de follow-up van een gedifferentieerd schildkliercarcinoom?
- Wat is de vereiste functionele sensitiviteit voor Tg-assays gebruikt in de follow-up van gedifferentieerd schildkliercarcinoom en welke andere kwaliteitseisen worden gesteld aan die assays?
- Is de bepaling van een basaal Tg onder levothyroxine-substitutie d.m.v. een meer sensitieve assay een alternatief voor een TSH gestimuleerde Tg bepaling?
- Is er een alternatief voor Tg in de follow-up van gedifferentieerd schildkliercarcinoom bij aanwezigheid van Tg-antistoffen.

Problemen Tg-assays

- Bias (standaardisatie, epitooop-specificiteit)
- Inter-assay variabiliteit
- Lange termijn stabiliteit
- Detectie van lage Tg concentraties
- Interferentie door Tg antistoffen
- Tg isovormen

Standaardisatie



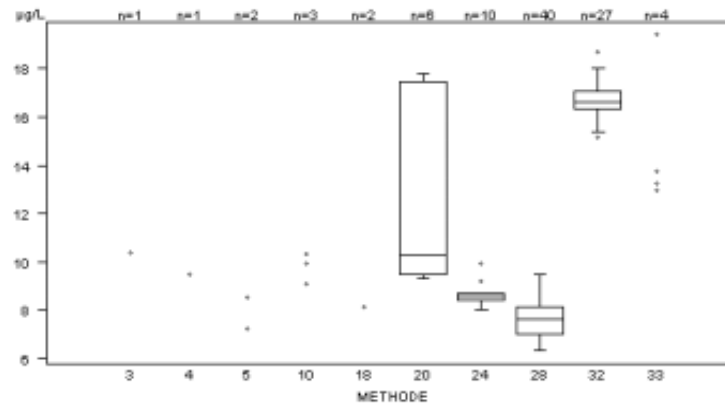
Zucchelli et al. (1996)

- Interlaboratorium variabiliteit:
 - 48% CV ($> 5 \mu\text{g/L}$)
 - 120% CV ($< 5 \mu\text{g/L}$)
- CRM-457 beperkte reductie van bias
- Nog grotere interlaboratorium variabiliteit in aanwezigheid van Tg-antistoffen

Inter-assay variabiliteit

THYROGLOBULIN - d (%) : 29.0	R/12493			
METHOD	Median µg/L	SD µg/L	CV %	N labs
003 Radioactive Tracer - Brahms	10.40			1
004 Radioactive Tracer - Cis bio Int/Schering	9.50			1
005 Radioactive Tracer Medipan	7.20 8.50			2
010 Radioactive Tracer - Radim (Zentech)	9.10 9.90 10.30			3
018 Non Isotopic - Brahms Kryptor	8.10 8.10			2
020 Non Isotopic - Coulter Access	10.25	5.91	57.6‡	6
024 Non Isotopic - DiaSorin Liaison	8.60	0.22	2.6	10
028 Non Isotopic - Siemens - Immulite	7.60	0.83	10.9	40
032 Roche - Elecsys/Mod E/Cobas e (1st gen.)	16.63	0.54	3.3	27
033 Roche - Elecsys/Mod E/Cobas e (2nd gen.)	12.95	13.25	13.74 19.40	4
Global results (all methods and all measuring systems)	8.60	6.30	73.2*	96

‡ 9.3 – 9.48 – 9.77 – 10.73 – 17.45 – 17.8



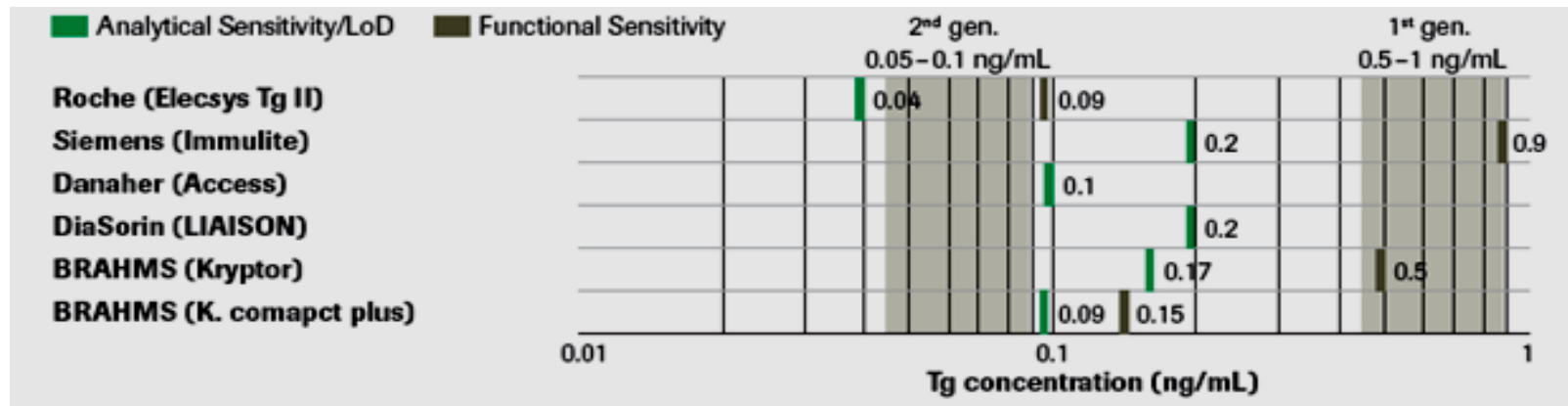
WIV eQC 2013/3
immunoassay R/12493

Intra-assay variabiliteit

	X ($\mu\text{g/L}$)	CV (%)
Radioactive-tracer Brahms	0,300	37,97
	2,80	13,39
	56,53	6,91
Roche cobas e411 Elecsys Tg II	0,300	4,88
	1,10	2,27
	8	1,62

Functionele sensitiviteit (FS)

- Detecteren van kleine hoeveelheden Tg
- Kleine veranderingen in Tg concentratie in follow-up van DTC kunnen opsporen
- De analytische performantie van de 1^{ste} generatie assays (FS 1 µg/L) is onvoldoende bij de klinische cut-off waarde van 1 µg/L

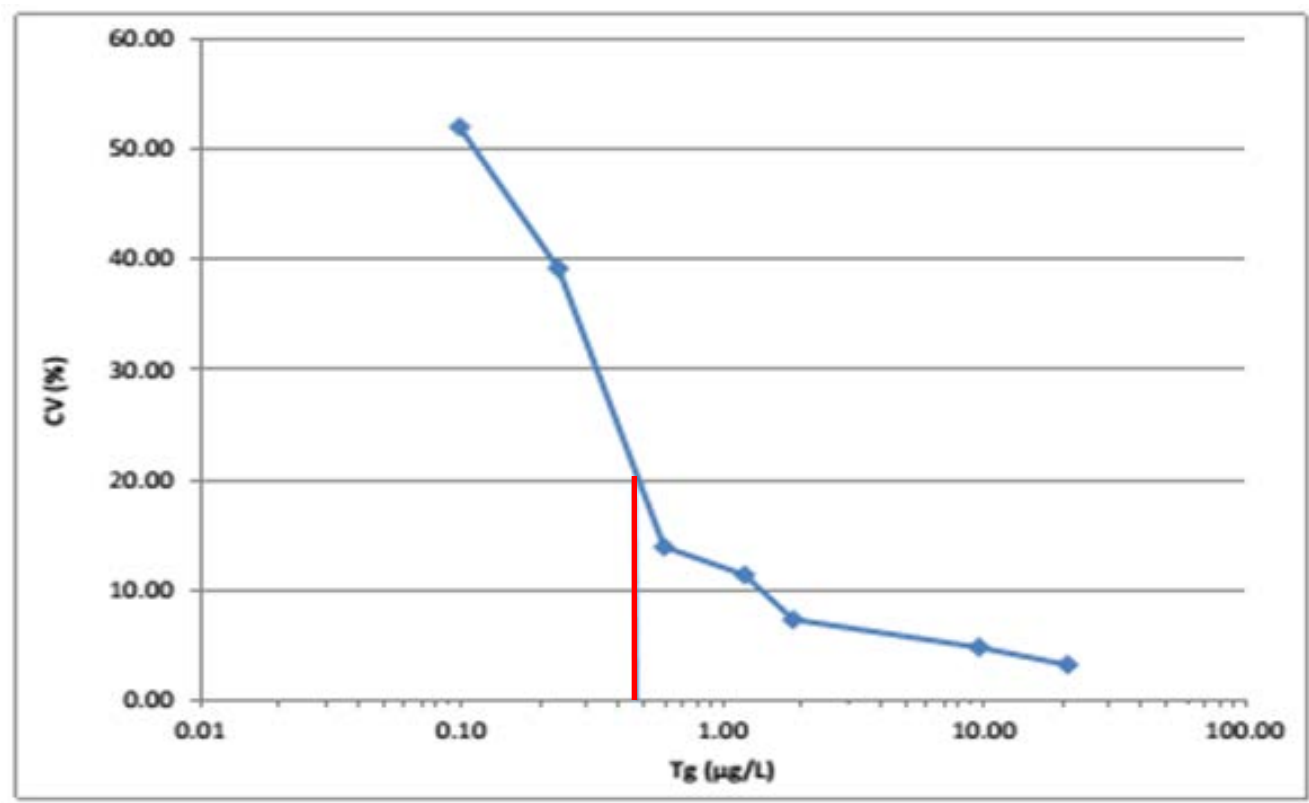


Functionele sensitiviteit

- Analytische gevoeligheid/LoD
 - Gemiddelde van nulkalibrator + 3SD
- Functionele sensitiviteit
 - “De laagste Tg concentratie die kan gemeten worden met een inter-run variabiliteit van kleiner dan 20% over een periode van 6 tot 12 maanden.”
 - Concentratie die overeenkomt met een CV van 20%
 - Lotwissel reagentia, herkalibratie, ...
 - Lagere Tg waarden kunnen dus niet met voldoende precisie gekwantificeerd worden, niettegenstaande ze technisch gezien wel meetbaar zijn.

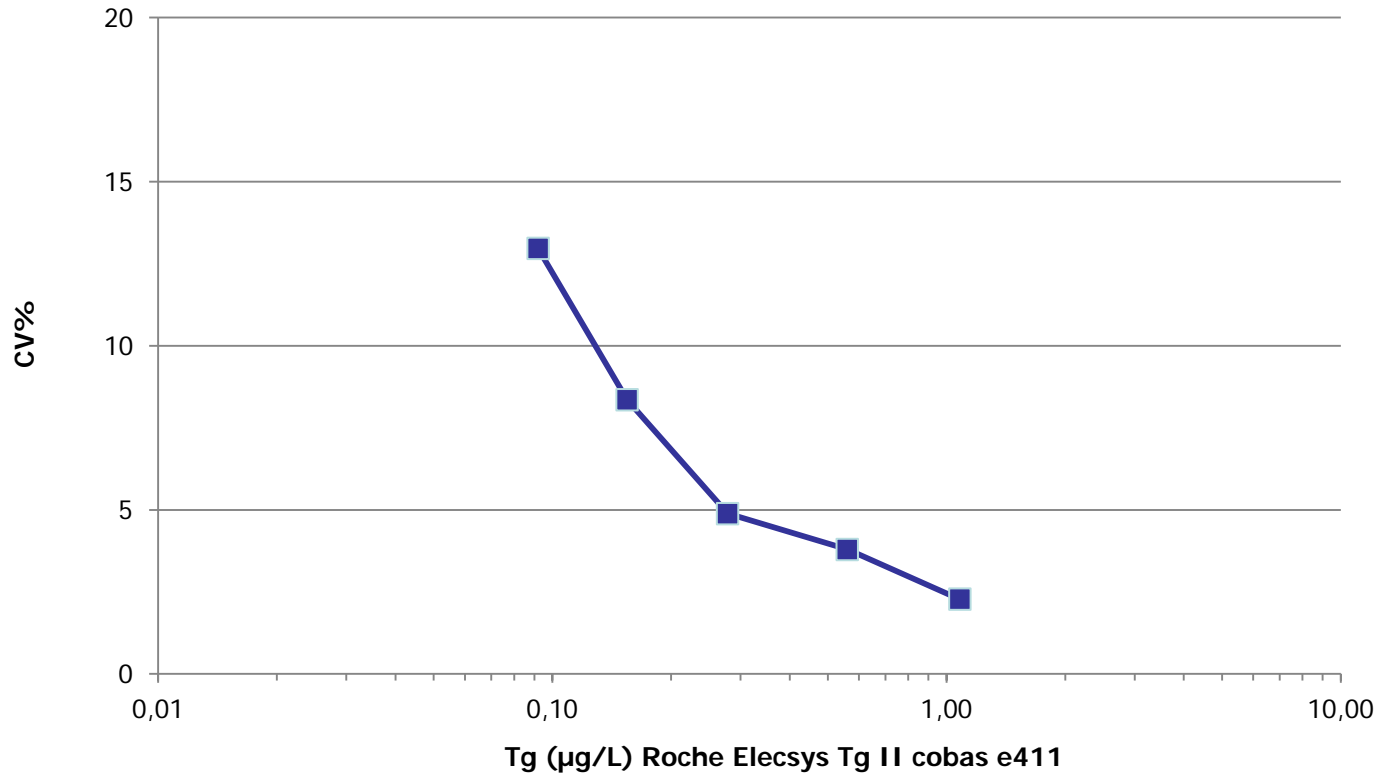
Functionele sensitiviteit

- Radioactive-tracer Brahms (FS 0.4-0.5 $\mu\text{g/L}$)



Functionele sensitiviteit

- Roche Elecsys Tg II (FS < 0,1 µg/L)



Tg-assay in follow-up DTC

- Cut-off: inter-assay variabiliteit ??
- I.p.v. van cut-off: monitoring van Tg bij een patiënt in eenzelfde centrum gebruik makende van eenzelfde Tg-assay
 - ➔ *Mogelijk dankzij nieuwe Tg-assays met een betere FS*
- Verandering van Tg-analysemethode met nodige voorzichtigheid en grote zorg voor continuïteit
- Methode moet ondergrens van het normale referentiegebied zeker kunnen bestrijken en FS moet daar nog onder liggen
 - ➔ *Indien ondergrens Tg in normale populatie 3 µg/L bedraagt dan moet FS minstens 1 µg/L bedragen*

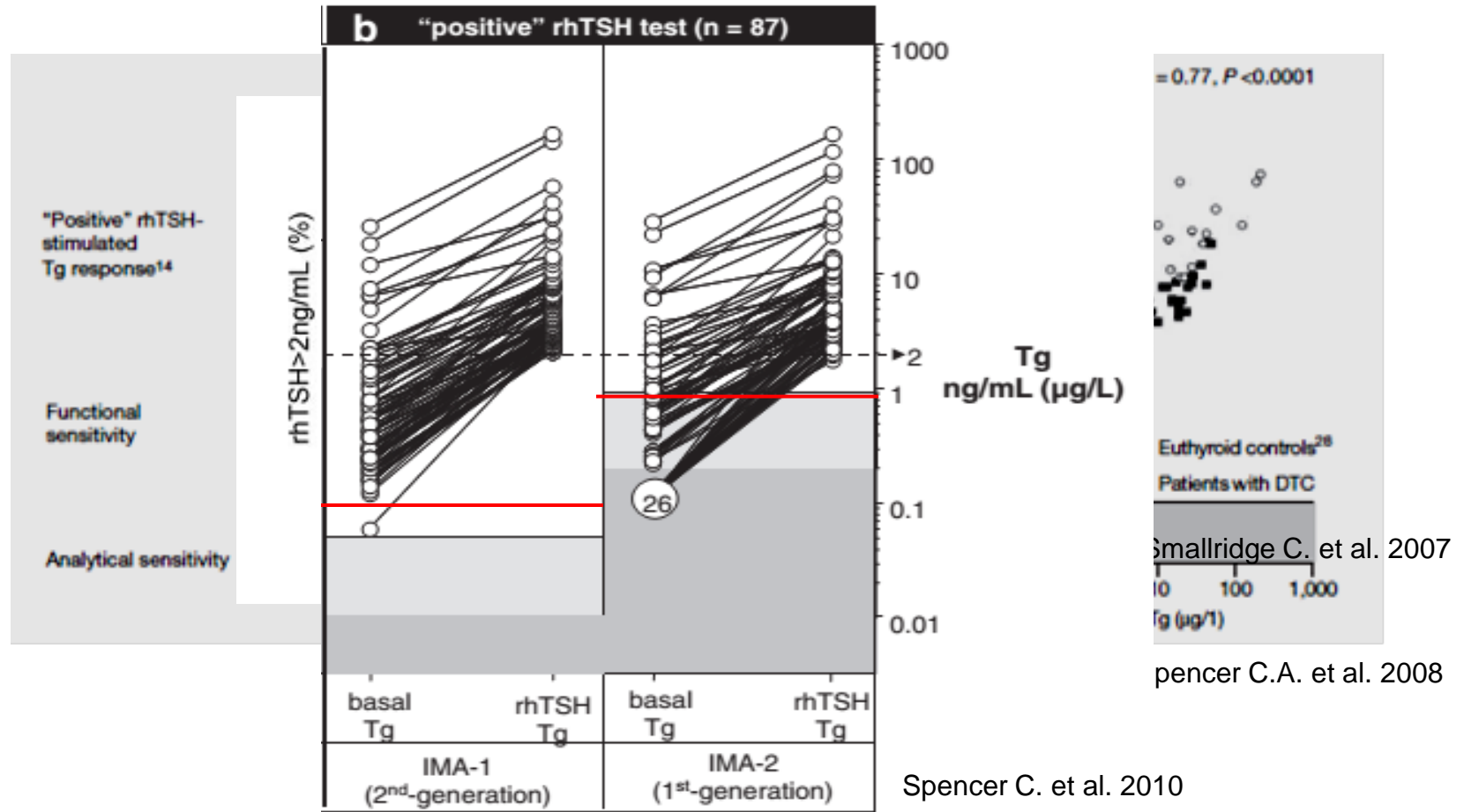
Vragen

- Wat is de rol van Tg in de follow-up van een gedifferentieerd schildkliercarcinoom?
- Wat is de vereiste functionele sensitiviteit voor Tg-assays gebruikt in de follow-up van gedifferentieerd schildkliercarcinoom en welke andere kwaliteitseisen worden gesteld aan die assays?
- Is de bepaling van een basaal Tg onder levothyroxine-substitutie d.m.v. een meer sensitieve assay een alternatief voor een TSH gestimuleerde Tg bepaling?
- Is er een alternatief voor Tg in de follow-up van gedifferentieerd schildkliercarcinoom bij aanwezigheid van Tg-antistoffen.

TSH gestimuleerd Tg

- Hogere diagnostische sensitiviteit voor opsporen recidief DTC i.v.m. basaal Tg (T4)
- Assays met slechtere FS ($\sim 1 \mu\text{g/L}$)
 - Basaal Tg $> 1 \mu\text{g/L}$
 - Basaal Tg $< 1 \mu\text{g/L}$
 - TSH gestimuleerd Tg $< 1 \mu\text{g/L}$
 - TSH gestimuleerd Tg $> 2 \mu\text{g/L}$
 - TSH gestimuleerd Tg > 1 en $< 2 \mu\text{g/L}$
- Ultrasensitieve Tg-assays (FS: $\sim 0.1 \mu\text{g/L}$)
 - TSH gestimuleerd Tg nog noodzakelijk ??

Basaal Tg vs. rhTSH gestimuleerd Tg



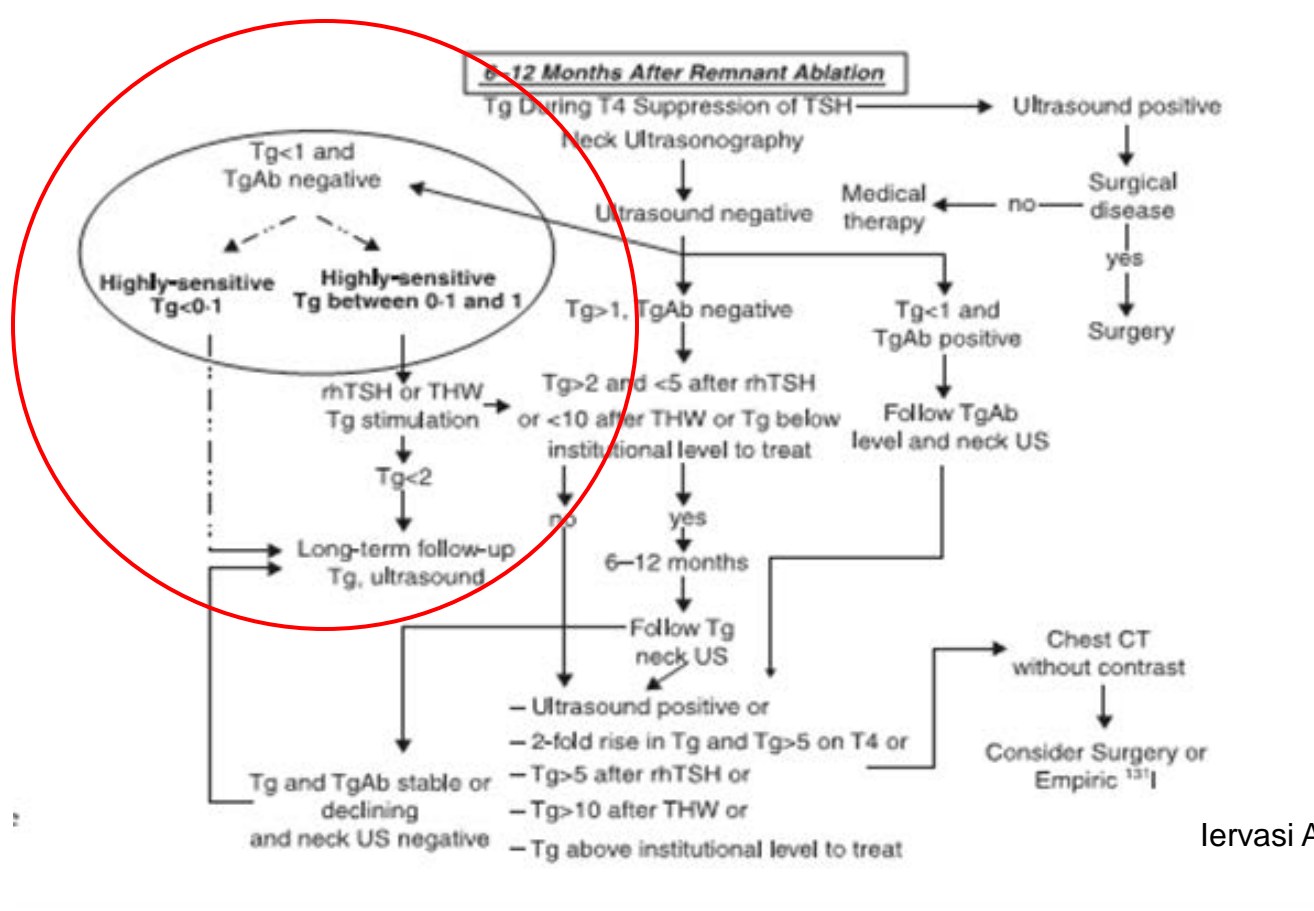
Ultrasensitieve Tg-assay

- Ultrasensitieve Tg-assay: hoge NPV en lage PPV
- Basaal Tg < FS van ultrasensitieve assay: geen TSH gestimuleerde Tg bepaling meer noodzakelijk
- Basaal Tg > FS van ultrasensitieve assay: TSH gestimuleerde Tg

Ultrasensitieve Tg-assay

- Groot aantal patiënten met “positief” Tg
- Bron van zeer lage Tg concentraties dikwijls moeilijk te verifiëren m.b.v. beeldvormend onderzoek
- Kleinere veranderingen in Tg concentratie opsporen
- Aanpassing cut-off waarde (Iervasi et al, 2007)

Follow-up m.b.v. ultrasensitieve Tg-assay



Iervasi A. et al. 2007

Vragen

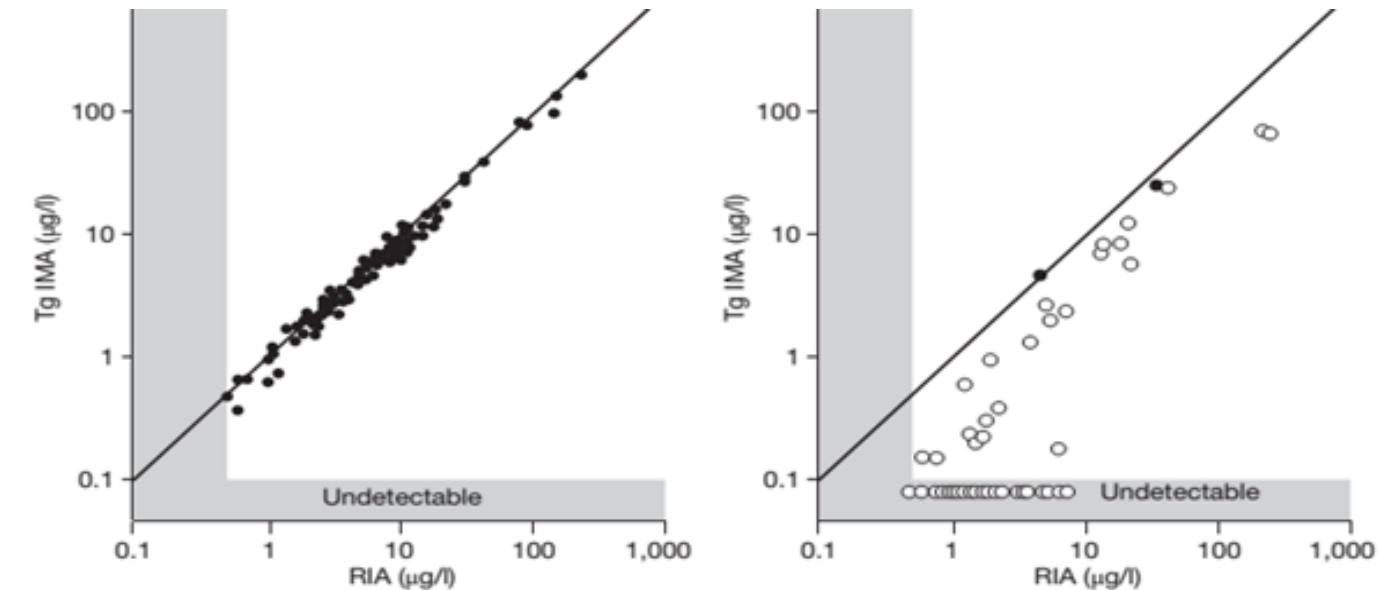
- Wat is de rol van Tg in de follow-up van een gedifferentieerd schildkliercarcinoom?
- Wat is de vereiste functionele sensitiviteit voor Tg-assays gebruikt in de follow-up van gedifferentieerd schildkliercarcinoom en welke andere kwaliteitseisen worden gesteld aan die assays?
- Is de bepaling van een basaal Tg onder levothyroxine-substitutie d.m.v. een meer sensitieve assay een alternatief voor een TSH gestimuleerde Tg bepaling?
- Is er een alternatief voor Tg in de follow-up van gedifferentieerd schildkliercarcinoom bij aanwezigheid van Tg-antistoffen.

Tg-antistof interferentie

- ~ 25% van de DTC patiënten
- Interferentie met Tg bepaling (vals verlaagd)
- Steeds ook Tg-antistoffen bepalen
- Geen enkele methode is vrij van interferentie door Tg-antistoffen
- RIA methoden minder gevoelig aan Tg-antistof interferentie i.v.m. IMA methoden

Tg-antistof interferentie

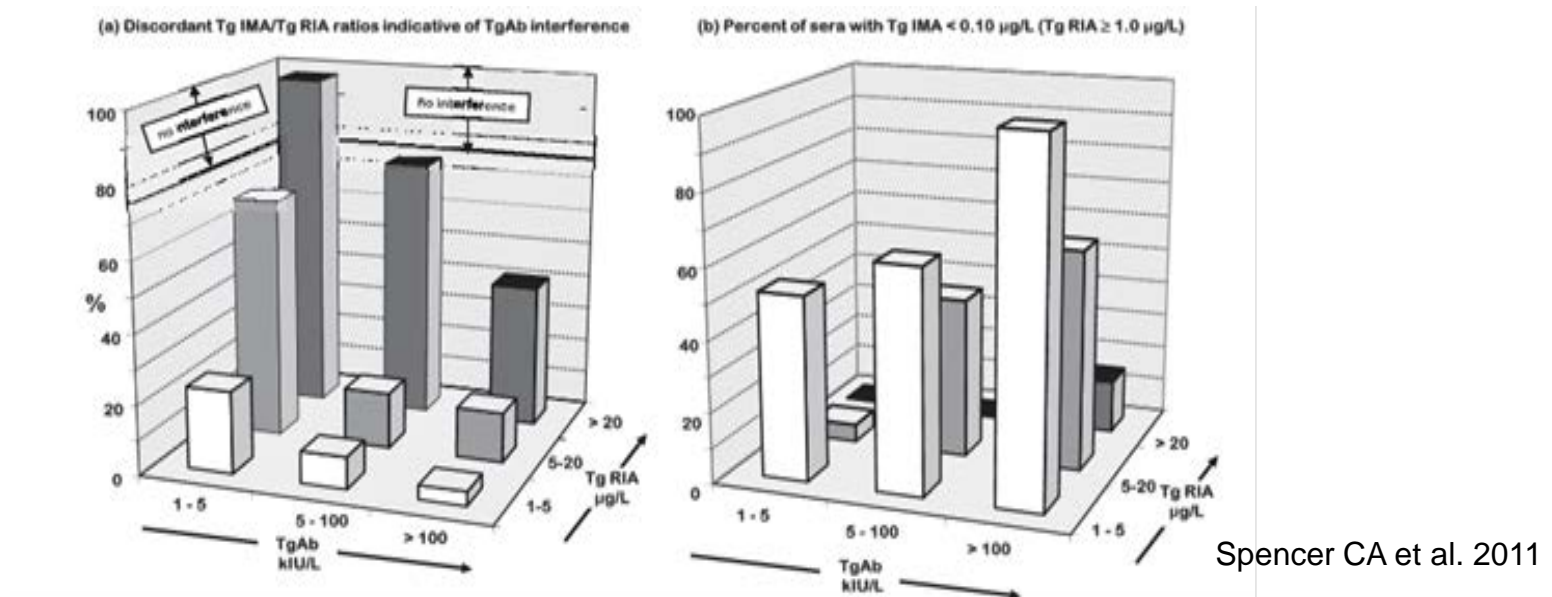
- IMA: vrij Tg (monoklonaal)
- RIA: vrij Tg + antistof-gebonden Tg (polyklonaal)
- Tg IMA/Tg RIA ratio



Spencer CA et al. 2008

Tg-antistof interferentie

- Concentratie Tg en Tg-antistoffen



- Epitooop-specificiteit van serum Tg-antistoffen en Tg-assay antistoffen voor de Tg-isovormen

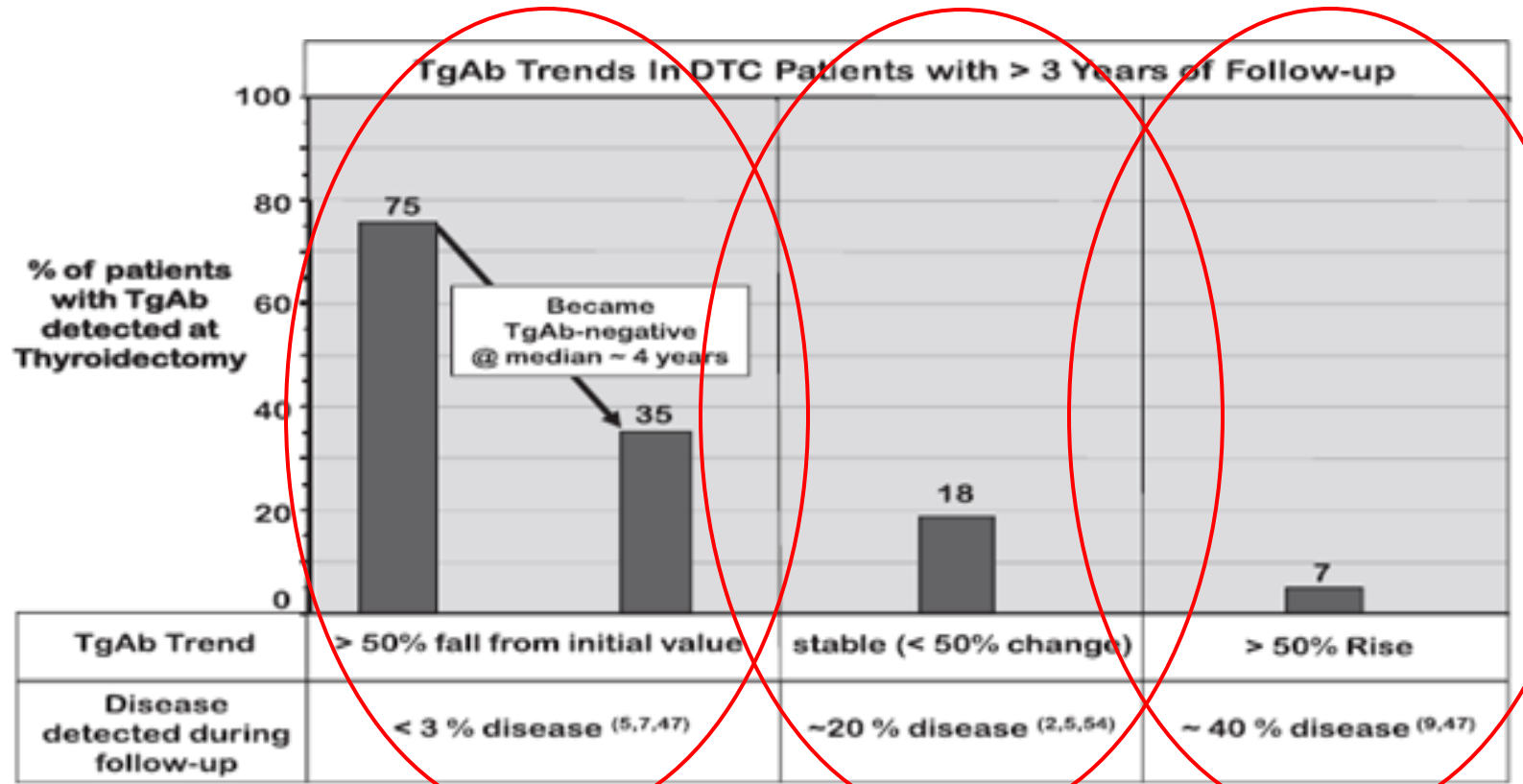
Tg recovery test

- Immunoassay vs. recovery test
- Recovery > 80%: afwezigheid Tg-antistoffen
- Nadelen
 - Interactie tussen exogeen Tg en Tg-antistoffen moet identiek zijn aan deze tussen endogeen Tg en Tg-antistoffen
 - Concentratie aan exogeen Tg ??
 - Tijd tussen toevoeging exogeen Tg en Tg bepaling

Tg-antistoffen

- Interferentie met Tg-assay
- Gevoelig aan veranderingen in de massa van Tg-secreterend schildklierweefsel
- Surrogaat tumormarker
- Kort na behandeling vs. follow-up
- Trend in Tg-antistoffen

Tg-antistoffen



Conclusie

- Merendeel laag risico op recidief
- Theoretisch goede tumormarker, maar:
 - Inter-assay variabiliteit
 - Tg-antistof interferentie
- Bepaling van Tg + Tg-antistoffen
- Tg-antistoffen: surrogaat tumormarker
- Basaal Tg < 0,1 µg/L: geen rhTSH gestimuleerd Tg
- Monitoring van Tg d.m.v. ultrasensitieve Tg-assay

To Do/Actions

- Validatie Roche Elecsys Tg II op Cobas e411
- Implementatie van nieuwe methode

Vragen