

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

CLINICAL BOTTOM LINE

Thyroglobuline (Tg) is een schildklierspecifiek proteïne dat gebruikt wordt als tumormarker in de opvolging van patiënten met gedifferentieerde schildklierkanker na behandeling met minstens een totale thyroïdectomie, meestal gevolgd door een bijkomende behandeling met radioactief jodium. Thyroglobuline kan slechts geïnterpreteerd worden in afwezigheid van Tg-antistoffen, welke interfereren met de bepaling van Tg en bijgevolg moet samen met Tg ook een bepaling van Tg-antistoffen uitgevoerd worden. Tg-antistoffen kunnen echter wel gebruikt worden als een surrogaat-tumormarker in de follow-up van DTC, waarbij een stijgende of een de novo synthese van Tg-antistoffen in de follow-up van DTC indicatief is voor recidief. Daar met de vroegere Tg analysemethoden concentraties in de orde van 1 µg/L nauwkeurig konden worden gekwantificeerd, is met de nieuwere methoden met een betere functionele sensitiviteit een concentratie van 0.1 à 0.2 µg/L haalbaar. Door de hoge negatief predictieve waarde van een basale Tg bepaling met dergelijke assays kan het gebruik van rhTSH in de follow-up van DTC beperkt worden, met een kostenbesparing tot gevolg. Ondanks de technologische ontwikkelingen in de bepaling van Tg, blijft de reproduceerbaarheid en de interlaboratorium variabiliteit soms problematisch, zeker bij lage Tg waarden. Daarom is het aangeraden om patiënten met DTC op te volgen in eenzelfde centrum, gebruik makende van eenzelfde assay, waarbij de trend in Tg waarden belangrijker is dan één enkele Tg bepaling. Ultrasensitieve Tg-assays hebben hierbij het voordeel t.o.v. de conventionele assays dat zij een kleiner verschil in Tg waarden kunnen detecteren omwille van een betere precisie in het lage meetbereik.

CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

Thyroglobuline (Tg) is een groot glycoproteïne van 660 kDa dat uniek gesynthetiseerd wordt door schildklierfollikelcellen als een precursorproteïne voor de synthese van de schildklierhormonen triiodothyronine (T3) en tetraiodothyronine (T4). Het komt vrij in de bloedcirculatie als een bijproduct van normale schildklierhormoonsecretie. De Tg concentratie in het serum is de resultante van de massa van het (nog) aanwezige schildklierweefsel, eventuele schildklierbeschadiging (door inflammatie of trauma) en de mate van stimulatie van de TSH-receptor op de (nog) aanwezige schildklierfollikelcellen.

Schildklierkanker neemt wereldwijd toe en komt twee- tot driemaal meer voor bij vrouwen, maar blijft al bij al zeldzaam met een jaarlijkse incidentie van ongeveer 4/100.000 en met een doorgaans uitstekende prognose. In meer dan 90% van de patiënten gaat het om een weinig agressieve, traag groeiende, gedifferentieerde schildklierkanker (DTC), meestal van het papillaire type (80-90%), soms van het folliculaire type. Het spectrum van patiënten met schildkliercarcinoom is in de afgelopen jaren

veranderd, omdat veel carcinomen vroeger in hun ontwikkeling ontdekt worden. Hoe vroeger een dergelijk recidief ontdekt wordt, hoe beter de prognose. De meerderheid van de patiënten heeft tegenwoordig echter een laag risico op recidief. Aangezien recidieven nog vele jaren na behandeling kunnen optreden en substitutie-therapie met levothyroxine levenslang noodzakelijk is, is een lange termijn follow-up van patiënten aangewezen. Deze follow-up gebeurt dus best aan de hand van een protocol met een hoog negatief predictieve waarde om het aantal onnodige onderzoeken zoveel als mogelijk te reduceren. Daarnaast is het ook belangrijk om de weinige patiënten met recidief zo snel mogelijk te identificeren.

Thyroglobuline wordt klinisch voornamelijk gebruikt als tumormarker bij de opvolging van patiënten met DTC die behandeld werden met een totale thyroïdectomie, meestal gevolgd door ablatie met radioactief jodium (^{131}I), wat de uitroeiing van microscopisch of niet-reseceerbaar schildklierweefsel toelaat zodanig dat de diagnostische performantie van Tg als tumormarker verhoogd wordt. Aangezien Tg enkel geproduceerd wordt door normale schildkliercellen en door eventueel aanwezige gedifferentieerde schildklierkankercellen, zal een detecteerbaar Tg in serum na totale thyroïdectomie en ^{131}I -ablatie wijzen op restweefsel of op een recidief van een gedifferentieerd schildkliercarcinoom. Tg is echter minder bruikbaar in de opvolging van patiënten met DTC die slechts een gedeeltelijke thyroïdectomie ondergingen en is niet bruikbaar bij patiënten met een medullaire vorm van schildklierkanker. Na thyroïdectomie en ablatie wordt er gestart met T4 substitutie, met de bedoeling TSH te onderdrukken, aangezien dit een proliferatief effect heeft op resterend schildklierweefsel.

De follow-up van DTC gebeurt aan de hand van een bepaling van de Tg concentratie in serum gecombineerd met hals-echografie en totale lichaamsscintigrafie met diagnostische hoeveelheden ^{131}I . Tg bepaling tijdens levothyroxine-substitutie gebeurt een eerste keer ongeveer een drietal maanden na schildklierablatie. Ongeveer 9 tot 12 maanden na initiële therapie (thyroïdectomie, meestal gevolgd door ablatie) wordt er een TSH gestimuleerde Tg bepaling uitgevoerd. Deze gestimuleerde Tg bepaling kan uitgevoerd worden ofwel na toediening van recombinant humaan TSH ofwel na tijdelijk staken van schildklierhormoon-substitutie met oplopen van endogeen TSH. Bij laag-risico-patiënten met een laag basaal Tg ($< 1.0 \mu\text{g/L}$) en het ontbreken van een stijging (Tg $> 1.0 \mu\text{g/L}$) na TSH stimulatie, gecombineerd met afwezigheid van echografische afwijkingen in de hals, kan er besloten worden tot remissie en tot een laag risico op recidief. Dat is het geval bij het merendeel van de patiënten met DTC. Vervolgens volstaat jaarlijkse klinische opvolging met halspalpatie, hals-echografie en biochemische opvolging aan de hand van een basaal (niet TSH gestimuleerd) serum Tg gecombineerd met een bepaling van TSH.

Ondanks de cruciale rol van Tg in de follow-up van DTC, zijn er heel wat problemen verbonden aan de bepaling hiervan. Zo is er een grote mate van variabiliteit tussen de verschillende commerciële methoden, wat het gebruik noodzaakt van eenzelfde methode bij de lange termijn follow-up van patiënten met DTC. Ook is een goede lange termijn stabiliteit van de analyse vereist om deze follow-up te kunnen borgen. Verder bestaat er interferentie met de gebruikte Tg bepalingsmethode bij aanwezigheid van Tg-antistoffen in het serum van de patiënt, wat aanleiding kan geven tot een vals negatief resultaat. Bij ongeveer 20% van de patiënten met schildklierkanker zijn dergelijke antistoffen aantoonbaar. Daarom wordt aangeraden om, bij een bepaling van Tg, telkens ook een bepaling van Tg-antistoffen uit te voeren. Bovendien blijkt dat Tg-antistoffen niet altijd met alle methoden opgespoord kunnen worden, wat kan resulteren in een misclassificatie van de patiënt als zijnde in remissie (onmeetbaar Tg in combinatie met “negatieve” Tg-antistoffen). Aangezien de trend in Tg-antistof concentratie een weerspiegeling is van de verandering in de hoeveelheid schildklierweefsel, kunnen Tg-antistoffen gebruikt worden als een surrogaat-tumormarker in de follow-up van DTC. Hierbij is het wel van belang dat eenzelfde methode gebruikt wordt bij de opvolging gezien de

variabiliteit tussen de verschillende bepalingsmethodes voor Tg-antistoffen. Aangezien de Tg concentratie na behandeling van DTC, erg laag zou moeten zijn, is het van belang dat Tg-assays zeer kleine hoeveelheden Tg kunnen detecteren, alsook kleine veranderingen in Tg concentratie kunnen aantonen, wat een grote precisie vereist van de bepaling. Verder is er geen consensus over de te hanteren cut-off waarden voor Tg en de frequentie van Tg bepaling.

De afgelopen jaren zijn er ultrasensitieve Tg-assays op de markt gekomen met een functionele sensitiviteit in de buurt van 0.1 µg/L. Met dergelijke ultrasensitieve assays is een duidelijke correlatie aangetoond tussen serum Tg tijdens levothyroxine-substitutie, enerzijds, en TSH gestimuleerd Tg, anderzijds. Een aantal recente studies met gebruik van meer sensitieve assays suggereren dat, bij laag-risico-patiënten met een zeer laag ultrasensitief Tg onder levothyroxine-substitutie, het bepalen van een Tg na TSH stimulatie geen meerwaarde betekent. Aldus zou het diagnostisch gebruik van recombinant humaan TSH meer gericht kunnen gebeuren, met een verbeterde kosteneffectiviteitsverhouding tot gevolg.

Aangezien de functionele sensitiviteit van onze huidige Tg bepaling, wellicht niet voldoet, de bepaling momenteel nog vrij arbeidsintensief is en er gebruik gemaakt wordt van radioactief gelabelde substraten, zal het laboratorium mogelijks overschakelen op een geautomatiseerde, meer sensitieve Tg-assay. In deze CAT zal het belang worden onderzocht van dergelijke Tg-assays met een verbeterde functionele sensitiviteit in de follow-up van DTC, evenals de andere problemen die verbonden zijn met de bepaling van Tg.

QUESTION(S)

- 1) Wat is de rol van Tg in de follow-up van een gedifferentieerd schildkliercarcinoom?
- 2) 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?
- 3) 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?
- 4) Is er een alternatief voor Tg in de follow-up van gedifferentieerd schildkliercarcinoom bij aanwezigheid van Tg-antistoffen.

SEARCH TERMS

- 1) *MeSH Database (PubMed): MeSH term: "Thyroglobulin + thyroid carcinoma", "thyroglobulin antibodies + thyroid carcinoma" "differentiated thyroid cancer"*
- 2) *Pubmed (Medline; from 1966): "thyroglobulin and differentiated thyroid cancer", "thyroglobulin and functional sensitivity", "serum thyroglobulin measurement", "follow-up of differentiated thyroid cancer", "guidelines differentiated thyroid cancer", "thyroglobulin antibodies and differentiated thyroid cancer"*
- 3) *National Guideline Clearinghouse (<http://www.ngc.org/>), "Differentiated thyroid cancer", "Thyroglobulin"*
- 4) *Cochrane (<http://www.update-software.com/cochrane>), "Differentiated thyroid cancer", "Thyroglobulin"*
- 5) *UpToDate Online version C22.9 (2014)*

RELEVANT EVIDENCE/REFERENCES

- 1) Richtlijnen en aanbevelingen:
 1. ESMO (2012)
European Society for Medical Oncology. Thyroid cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. (Feb 2008; Update Jun 2012)

2. NGC (2009)
National Guidelines Clearinghouse. Revised American Thyroid Association Management Guidelines for Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. (Feb 2006; Update Nov 2009)
 3. IKNL (2007)
Integraal Kankercentrum Nederland. Schildklier carcinoom landelijke richtlijn versie 1.1 (Jun 2007)
 4. ETA (2006)
European Thyroid Association. European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium. (2006)
- 2) Systematic Reviews and Meta-analyses
5. Mazzaferri E.L., Robbins R.J., Spencer C.A., Braverman E., Pacini F., Wartofsky L., Haugen B.R., Sherman S.I., Cooper D.S., Braunstein G.D., Lee S., Davies T.F., Arafah B.M., Ladenson P.W. and Pinchera A., A Consensus Report of the Role of Serum Thyroglobulin as a Monitoring Method for Low-Risk Patients with Papillary Thyroid Carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:1433-1441.
 6. Eustatia-Rutten C.F.A., Smit J.W.A., Romijn J.A., Van der Kleij-Corssmit E.P.M., Pereira A.M., Stokkel M.P. and Kievit J., Diagnostic value of serum thyroglobulin measurements in the follow-up of differentiated thyroid carcinoma, a structured meta-analysis. *Clinical Endocrinology* 2004; 61: 61-74.
 7. Giovanella L., Treglia G., sadeghi R., Trimboli P., Ceriani L. and Verburg F.A., Unstimulated high-sensitive thyroglobulin in the follow-up of differentiated thyroid cancer patients: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; e-pub (early release).
 8. Webb R.C., Howard R.S., Stojadinovic A., Gaitonde D.Y., Wallace M.K., Jehanara A. and Burch H.B., The Utility of Serum Thyroglobulin Measurement at the time of Remnant Ablation for Predicting Disease Free Status in Patients with Differentiated Thyroid Cancer: a meta-analysis involving 3947 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(8):2754-2763.
- 3) Reviews
9. Elisei R. and Pinchera A., Advances in the follow-up of differentiated or medullary thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8(8):466-475.
 10. Garas G., Jarral O., Tolley N., Palazzo F., Athanasiou T. and Zacharakis E., Is there survival benefit from life-long follow-up after treatment for differentiated thyroid cancer. *Int J Surg* 2013; 11:116-121.
 11. Spencer C.A. and LoPresti J.S., Technology Insight: measuring thyroglobulin and thyroglobulin autoantibody in patients with differentiated thyroid cancer. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008;4(4): 223-233.
 12. Iervasi A., Iervasi G., Carpi A. and Zucchelli G.C., Serum thyroglobulin measurement: clinical background and main methodological aspects with clinical impact. *Biomed Pharmacother* 2006; 60:414-424.
 13. Zucchelli G., Iervasi A., Ferdeghini M. and Iervasi G., Serum thyroglobulin measurements in the follow-up of patients treated for differentiated thyroid cancer. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 53:482-489.
 14. Spencer C. and Fatemi S., Thyroglobulin antibody (TgAb) methods – Strengths, pitfalls and clinical utility for monitoring TgAb-positive patients with differentiated thyroid cancer. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2013; 27:701-712.
 15. Spencer C.A., Clinical Utility of Thyroglobulin Antibody (TgAb) Measurements for Patients with Differentiated Thyroid Cancers (DTC). *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011; 96(12):3615-3627.
- 4) Original Articles
16. Ievasi A., Iervasi G., Ferdeghini M., Solimeo C., Bottoni A., Rossi L., Colato C. and Zucchelli G.C., Clinical relevance of highly sensitive Tg assay in monitoring patients treated for differentiated thyroid cancer. *Clinical Endocrinology* 2007; 67:434-441.
 17. Schlumberger M., Hitzel A., Toubert M.E., Corone C., Troalen F., Schlageter M.H., Claustrat F., Koscielny L., Taieb D., Toubreau M., Bonichon F., Borson-Chazot F., Leenhardt L., Schwartz C., Dejax C., Brenot-Rossi I., Torlontano M., Tenenbaum F., Bardet S., Bussi re F., Girard J.J., Morel O., Schneegans O., Schlienger J.L., Prost A., So D., Archambeaud F., Richard M. and Benhamou E.,

- Comparison of Seven Serum Thyroglobulin Assays in the Follow-up of Papillary and Follicular Thyroid Cancer Patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(7):2487-2495.
18. Ievasi A., Iervasi G., Bottoni A., Boni G., Annicchiarico C., Di Cecco P. and Zucchelli G.C., Diagnostic performance of a new highly sensitive thyroglobulin immunoassay. *J. Endocrinol* 2004; 182:287-294.
 19. Brassard M., Borget I., Edet-Sanson A., Giraudet A.-L., Mundler O., Toubeau M., Bonichon F., Borson-Chazot F., Leenhardt L., Schwartz C., Dejax C., Brenot-Rossi I., Toubert M.-E., Torlantano M., Benhamou E., Schlumberger M. and THYRDIAG Working Group, Long-Term Follow-up of Patients with Papillary and Follicular Thyroid Cancer: A Prospective Study on 715 Patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(5):1352-1359.
 20. Smallridge R.C., Meek S.E., Morgan M.A., Gates G.S., Fox T.P., Grebe S. and Fatourechì V., Monitoring Thyroglobulin in a Sensitive Immunoassay Has Comparable Sensitivity to Recombinant Human TSH-Stimulated Thyroglobulin in Follow-Up of Thyroid Cancer Patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(1):82-87.
 21. Giovanella L., Highly sensitive thyroglobulin measurements in differentiated thyroid carcinoma management. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46:1067-1073.
 22. Spencer C., Fatemi S., Singer P., Nicoloff J. and LoPresti J., Serum Basal Thyroglobulin Measured by a Second-Generation Assay Correlates with the Recombinant Human Thyrotropin-Stimulated Thyroglobulin Response in Patients Treated for Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid* 2010; 20(6):587-595.
 23. Morgenthaler N.G., Froehlich J., Rendl J., Willnich M., Alonso F., Bergmann A. and Reiners C., Technical Evaluation of a New Immunoradiometric and a New Immunoluminometric Assay for Thyroglobulin. *Clinical Chemistry* 2002; 48(7):1077-1083.
 24. Zöphel K., Wunderlich G. and Smith B.R., Serum Thyroglobulin Measurements with a High Sensitivity Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Is There a Clinical Benefit in Patients with Differentiated Thyroid Carcinoma. *Thyroid* 2003; 13(9):861-865
 25. Schlumberger M., Borget I., Nascimento C., Brassard M. and Leboulleux S, Treatment and follow-up of low-risk patients with thyroid cancer. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2011; 7:625-628.
 26. Mazzaferri E.L., Will highly sensitive thyroglobulin assays change the management of thyroid cancer? *Clin Endocrinol* 2007; 67:321-323.
 27. Latrofa F., Ricci D., Montanelli L., Rocchi R., Piaggi P., Sisti E., Grasso L., Basolo F., Ugolini C., Pinchera A. and Vitti P., Thyroglobulin Autoantibodies in Patients with Papillary Thyroid Carcinoma: Comparison of Different Assays and Evaluation of Causes of Discrepancies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012; 97(11):3974-3982.
 28. Krahn J. and Dembinski T., Thyroglobulin and anti-thyroglobulin assays in thyroid cancer monitoring. *Clinical Biochemistry* 2009; 42:416-419.
 29. Spencer C., Petrovic I., and Fatemi S., Current Thyroglobulin Autoantibody (TgAb) Assays Often Fail to Detect Interfering TgAb that can Result in the Reporting of Falsely Low/Undetectable Serum Tg IMA Values for Patients with Differentiated Thyroid Cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011; 96(5):1283-1291.
 30. Crane M.S., Strachan M., Toft A.D. and Beckett G.J., Discordance in thyroglobulin measurements by radioimmunoassays and immunometric assay: a useful means of identifying thyroglobulin assay interference. *Annals of clinical Biochemistry* 2013; 50(5):421-432.
 31. Zucchelli G.C., Pilo A., Masini S., Prontera C. and Ferdeghini M., Large between-laboratory variability of thyroglobulin immunoassays: data collected in a collaborative study. *J. Clin. Ligand Assay*, 1996; 19:234-238.
 32. Spencer C.A., Thyroglobulin (Tg) measurement used to monitor patients with differentiated thyroid carcinomas (DTC). *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2007; 32:98-103.
- 5) Posters, “grey literature”, presentations
33. Elecsys® Tg II with improved sensitivity. *The Power to offer more for differentiated thyroid cancer (DTC) management.*

Wat is de rol van Tg in de follow-up van een gedifferentieerd schildkliercarcinoom?

Schildkliercarcinoom is een zeldzame aandoening met een incidentie van 1/100.000 per jaar bij mannen en 3/100.000 per jaar bij vrouwen.³ De prevalentie neemt echter geleidelijk aan toe omwille van de lange overleving van patiënten met schildkliercarcinoom, enerzijds door de relatief gunstige prognose en anderzijds omwille van de steeds ouder wordende bevolking in het algemeen. Van de verschillende vormen van schildkliercarcinoom zijn het papillaire en het folliculaire type (80-90%) het meest voorkomend in een verhouding van papillair/folliculair van 3:1. Zij worden aangeduid als een gedifferentieerd schildkliercarcinoom (“differentiated thyroid cancer”, DTC), waarbij er een onderscheid dient gemaakt te worden met de medullaire vormen die niet gedifferentieerd zijn. Het jodium-opnemend vermogen en de productie van thyroglobuline (Tg) zijn specifieke tumorkarakteristieken van een DTC, welke gebruikt worden in de follow-up. Er bestaat een grote diversiteit aan behandelingsprotocollen en gezien de gunstige prognose en de geringe incidentie is de bewijsvoering van de klinische effectiviteit van deze verschillende protocollen beperkt en veelal gebaseerd op observationele studies en retrospectieve analyses.

DTC presenteert zich als een schildkliernodus die via palpatie, maar ook dikwijls via echografie gedetecteerd wordt. Hoewel een schildkliernodus vaker voorkomt, is schildklierkanker relatief zeldzaam (max. 5% van alle schildkliernoduli). Bij iedere patiënt met een schildkliernodus is het zinvol een TSH te bepalen.^{2,3} Afwijkende waarden vereisen zeker verder onderzoek. Verder heeft fijne-naald- aspiratie-cytologie (FNAC), als een eerste (micro-)invasieve diagnostische test een centrale rol in de diagnostiek van DTC.

De primaire behandeling van DTC bestaat uit een totale thyroïdectomie, gevolgd door ¹³¹I ablatie (3700 MBq) om zowel het resterende maligne als benigne schildklierweefsel te verwijderen. De diagnostische performantie van serum Tg als tumormarker in de follow-up van DTC kan hierdoor verbeterd worden, aangezien Tg enkel geproduceerd wordt door normale schildklierfollikelcellen en door eventueel aanwezige gedifferentieerde schildklierkankercellen. Na behandeling wordt aanbevolen om een TSH waarde van < 0.1 mU/L na te streven d.m.v. levothyroxine-substitutie, aangezien TSH een proliferatief effect heeft op eventueel resterende schildkliertumorcellen en de patiënt door thyroïdectomie en ablatie hypothyroïd zal zijn.^{1,3} De hoge dosis ¹³¹I, toegediend tijdens ablatie, verhoogt ook de sensitiviteit van de totale lichaamsscintigrafie die enkele dagen na ablatie uitgevoerd wordt. DTC heeft echter een zeer goede prognose en het merendeel van de patiënten behoort tot een laag-risico-groep.³ Tot deze groep behoren patiënten van 20-45 jaar met een minimaal invasief folliculair of papillair carcinoom zonder aanwijzingen voor afstands- en/of lymfeklier metastasen op hals-echografie en op post-ablatiescan, uitgevoerd enkele dagen na ablatie met radioactief jodium. Bovendien dient het Tg-gehalte onder TSH suppressie met T4 na 3 maanden follow-up kleiner te zijn dan 1 µg/L met ontbreken van Tg-antistoffen. Bij deze laag-risico-patiënten wordt aanbevolen om na twee jaar TSH suppressieve therapie de dosis T4 te verminderen en een TSH waarde van ongeveer 1 mU/L na te streven.^{2,3}

Tot vrij recent was de diagnostische totale lichaamsscintigrafie na onttrekken van schildklierhormoon samen met de bepaling van Tg in serum de voornaamste pijler voor de eerste controle na thyroïdectomie en ablatie-therapie. Lange termijn follow-up bestond uit Tg bepaling onder TSH suppressietherapie vaak aangevuld met diagnostische totale lichaamsscintigrafie en Tg bepaling na onttrekking van levothyroxine met wisselende intervallen. Dat was ook het geval voor de subgroep van patiënten met schildkliercarcinoom met een relatief goede prognose en een kleine kans op recidief. Het spectrum van patiënten met DTC is echter in de afgelopen jaren veranderd aangezien veel

carcinomen vroeger in hun ontwikkeling ontdekt worden en aangezien de meerderheid van patiënten tot een laag-risico-populatie behoort. Lange termijn follow-up is toch aangewezen omdat recidieven nog vele jaren na initiële behandeling kunnen optreden. Over de optimale strategie voor follow-up van patiënten met DTC bestaat er weinig wetenschappelijke evidentie.

Serum Tg is zeer sensitief, zeker bij hoog TSH-gehalte, voor de detectie van recidieven en metastasen van DTC. De sensitiviteit van totale lichaamsscintigrafie met diagnostische hoeveelheden ^{131}I (74-370 MBq) voor de detectie van recidieven is eerder beperkt.³ De beste sensitiviteit voor detectie van recidieven en metastasen van DTC wordt bekomen door een combinatie van Tg bepaling en echografie van de hals-regio.^{1,2,3} Follow-up kan onderverdeeld worden in de vroege follow-up kort na ablatie-therapie en de lange termijn follow-up die afhankelijk is van het risico op recidief.

De overgrote meerderheid van recidieven en metastasen ontstaat in de eerste vijf jaar na behandeling en de korte termijn follow-up moet dus in staat zijn om deze zo vroeg mogelijk op te sporen. In de minderheid van de gevallen kunnen recidieven of metastasen van DTC zich ook nog ontwikkelen tijdens de lange termijn follow-up, zelfs meer dan 20 jaar na initiële therapie.

Twee tot drie maanden na de start van de initiële behandeling dient een Tg bepaling onder levothyroxine te gebeuren samen met een bepaling van FT4 en TSH ter evaluatie van de substitutie-therapie met levothyroxine. Na 9 tot 12 maanden kan bepaald worden of patiënt vrij is van ziekte aan de hand van klinisch onderzoek, hals-echografie, diagnostische totale lichaamsscintigrafie en bepaling van enerzijds basaal Tg (onder levothyroxine) en anderzijds TSH gestimuleerd Tg, zeker indien basaal Tg ondetecteerbaar is ($< 1 \mu\text{g/L}$).^{1,3,9} Deze bepaling van TSH gestimuleerd Tg kan worden uitgevoerd ofwel door toediening van recombinant humaan TSH op dag 1 en 2 en Tg bepaling op dag 5, ofwel door stopzetten van levothyroxine substitutie-therapie met oplopen van endogeen TSH. Op dat ogenblik zal meer dan 80% van de patiënten tot een laag-risico-populatie behoren en deze zullen zowel een basaal Tg-gehalte als een TSH gestimuleerd Tg-gehalte hebben van kleiner dan $1 \mu\text{g/L}$, in afwezigheid van Tg-antistoffen en in combinatie met een normale hals-echografie. Een diagnostische totale lichaamsscintigrafie heeft in dat geval weinig toegevoegde waarde. Die patiënten kunnen bijgevolg beschouwd worden als in remissie en het risico op herval in de volgende 10 jaar is zeer laag ($< 1.0\%$). Lange termijn follow-up in die populatie bestaat uit een jaarlijkse bepaling van basaal Tg, ter opsporing van recidief carcinoom, en een bepaling van vrij T4 en TSH, ter evaluatie van de substitutie-therapie met levothyroxine, samen met klinisch onderzoek en hals-echografie.^{1,3,9} Een tweede TSH gestimuleerde Tg bepaling wordt niet meer aangeraden in die groep van patiënten.³

Echter bij patiënten met een basaal Tg kleiner dan $1 \mu\text{g/L}$ en een TSH gestimuleerd Tg-gehalte tussen 1 en $2 \mu\text{g/L}$, wordt er wel aangeraden om de Tg bepaling na TSH stimulatie jaarlijks opnieuw uit te voeren, tot eventueel negativering van Tg ($< 1 \mu\text{g/L}$). Retrospectieve studies tonen aan dat, in de eerste 2 jaar na thyroïdectomie en ablatie met radioactief jodium, in meer dan 30% van de patiënten met verhoogde Tg waarden spontaan een geleidelijke daling tot zelfs normalisering van het Tg-gehalte optreedt zonder interventie.³ Vermoedelijk wordt het Tg nog geproduceerd door schildkliercellen die langzaam te gronde gaan door de ^{131}I -therapie. Een stijgende trend in Tg is mogelijks te wijten aan recidief en vereist steeds verder onderzoek.

Bij patiënten met evidentie voor een persisterend of recidiverend DTC op basis van hals-echografie en/of op basis van een detecteerbaar basaal Tg ($> 1 \mu\text{g/L}$) of TSH gestimuleerd Tg ($> 2 \mu\text{g/L}$), dient verder beeldvormend onderzoek (diagnostische totale lichaamsscintigrafie eventueel aangevuld met MRI, CT of FDG-PET) uitgevoerd te worden ter detectie en lokalisatie van eventueel aanwezig DTC.^{2,3} Op basis van die resultaten kan dan geopteerd worden voor ofwel chirurgische behandeling, ofwel nieuwe ablatie-therapie met radioactief jodium, of voor louter opvolging van de patiënt met Tg bepaling tijdens T4-substitutie en herhaalde Tg bepaling na TSH stimulatie, in combinatie met echografie van de hals en het eventueel herhalen van aanvullend beeldvormend onderzoek.

Bij die patiënten, die niet tot een laag-risico-populatie behoren, kan de basale Tg bepaling en hals-echo in de eerste twee jaar bijvoorbeeld om de 6 maanden uitgevoerd worden, met jaarlijks zowel een TSH gestimuleerde Tg bepaling als een diagnostische totale lichaamsscintigrafie na TSH stimulatie. Afhankelijk van de bevindingen kan in de loop van de tijd het controle interval worden vergroot. Bij een aantoonbare Tg concentratie wordt in minder dan 50% van de gevallen een recidief of metastasering van DTC gedetecteerd. De interpretatie van een aantoonbare Tg concentratie is sterk afhankelijk van de situatie van de patiënt, waarbij een onderscheid moet worden gemaakt tussen een periode kort na totale thyroïdectomie en ablatie vs. een situatie met aanvankelijk niet aantoonbaar Tg.

Ook patiënten met behandeld DTC bij wie Tg-antistoffen detecteerbaar zijn, behoren niet tot de laag-risico-groep en die vereisen bijgevolg ook een meer uitgebreide controle. Evenzo dient bij het ontstaan van Tg-antistoffen tijdens de follow-up zorgvuldig onderzoek te gebeuren naar een recidief DTC.^{3,14} Bij ongeveer 20% van de patiënten met DTC zijn dergelijke antistoffen aantoonbaar. In aanwezigheid van Tg-antistoffen bestaat er mogelijks interferentie met de gebruikte Tg analysemethode, wat aanleiding kan geven tot een vals negatief resultaat. Bijgevolg kan Tg dus niet gebruikt worden als tumormarker in de follow-up van DTC ter detectie van persisterend of recidiverend tumorweefsel bij patiënten met aantoonbare Tg-antistoffen. Daarom wordt aangeraden om bij een bepaling van Tg telkens ook een bepaling van Tg-antistoffen uit te voeren.^{1,2,3} Echter in de follow-up van patiënten met DTC en detecteerbare Tg-antistoffen kunnen deze Tg-antistoffen wel gebruikt worden als surrogaat-tumormarker. (zie ook vraag 4)

Conclusie: *Bij DTC patiënten, behandeld met totale thyroïdectomie gevolgd door ¹³¹I ablatie, met negatieve hals-echo, in combinatie met een ondetecteerbaar basaal serum Tg 3 maanden na behandeling, moet een TSH gestimuleerde Tg bepaling uitgevoerd worden 9-12 maanden na ablatie om afwezigheid van recidief of metastase te kunnen verifiëren. De laag-risico-patiënten met negatieve hals-echo en ondetecteerbaar TSH gestimuleerd Tg kunnen dan verder opgevolgd worden met een jaarlijkse bepaling van basaal serum Tg samen met een hals-echo. Bij patiënten die niet tot een laag-risico-populatie behoren is er echter geen eenduidig protocol voor de follow-up van DTC. Bepaling van serum Tg in de follow-up van DTC dient altijd gecombineerd te worden met een bepaling van Tg-antistoffen in het serum.*

Wat is de vereiste functionele sensitiviteit voor Tg-assays gebruikt in de follow-up van gedifferentieerd schildklier carcinoom en welke andere kwaliteitseisen worden gesteld aan die assays?

Ondanks de belangrijke rol van Tg in de follow-up van patiënten met gedifferentieerd schildklier carcinoom, zijn er drie grote problemen verbonden aan de bepaling van Tg.¹¹ Zo bestaat er een grote bias tussen de verschillende Tg-assays, enerzijds door een gebrekkige standaardisatie en anderzijds door een verschil in epitooop-specificiteit tussen de antistoffen gebruikt in de verschillende assays. Dit effect wordt nog versterkt door de heterogeniteit van Tg geproduceerd door schildklierkankercellen. Gezien het belang van Tg in de follow-up van DTC is een goede analytische gevoeligheid vereist bij zeer lage concentraties opdat persisterend of recidiverend tumorweefsel in een vroeg stadium zou kunnen worden opgespoord. Ook dient de analytische precisie van de Tg-assays voldoende goed te zijn, zodanig dat kleine verschillen in Tg waarden bij follow-up van DTC een weerspiegeling zijn van de klinische status van de patiënt en niet van de analytische variabiliteit van de methode. De meeste Tg-assays vertonen echter een slechte reproduceerbaarheid bij lage Tg concentraties. Ten slotte is er ook nog interferentie mogelijk van eventueel aanwezige Tg-antistoffen,

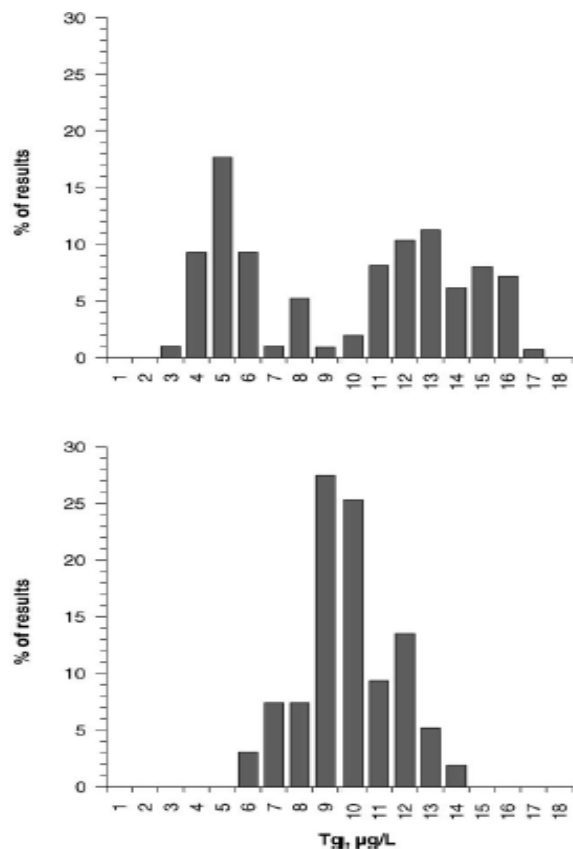
wat resulteert in vals verlaagde Tg waarden (cf. vraag 4). Daarom wordt aangeraden om gelijktijdig met de bepaling van Tg in serum ook een bepaling van Tg-antistoffen uit te voeren.^{1, 2, 3, 11}

Hoewel accurate, reproduceerbare Tg-assays met een goede sensitiviteit noodzakelijk zijn in de follow-up van DTC, is het ontwikkelen van een dergelijke test een grote uitdaging. De methode voor de bepaling van Tg is in de laatste decennia grondig veranderd. Traditionele competitieve radioimmunoassays (RIA) zijn vervangen door non-competitieve immunometrische assays (IMA). Bij die laatste kan er nog een onderscheid gemaakt worden tussen een immunoradiometrische assay (IRMA) en een immunochemiluminescente assay (ICMA). Hoewel immunometrische assays het voordeel hebben van een betere sensitiviteit, kleinere staalvolumes gebruiken, een kortere TAT hebben en meestal geautomatiseerd zijn, is er toch een groter risico op interferentie door Tg-antistoffen in vergelijking met de radioimmunoassays.¹¹

Resultaten van een externe kwaliteitscontrole (Zucchelli et al.³¹) tonen aan dat de interlaboratorium variabiliteit van Tg waarden in stalen zonder Tg-antistoffen erg hoog is, nl. 48% (interlaboratorium CV) voor stalen met een Tg concentratie van meer dan 5 µg/L (figuur 1).^{12, 31} Voor stalen met een Tg concentratie lager dan 5 µg/L bedroeg die interlaboratorium CV zelfs meer dan 80%. Het is te verwachten dat die CV nog hoger zal liggen in geval van aanwezigheid van Tg-antistoffen. Die grote variabiliteit is te verklaren door het feit dat Tg een groot eiwit is, (twee monomeren van elk 330 kDa) waarbij ongeveer 10% van de massa wordt ingenomen door koolhydraten met eindstandige, wisselende hoeveelheden siaalzuurgroepen. De grootte van het molecuul en de hoeveelheid koolhydraatketens maakt dat Tg vele bindingsplaatsen kent voor antistoffen gebruikt in de verschillende assays. De introductie van een internationale referentiestandaard (CRM-457) resulteerde in een reductie van de bias tussen de verschillende laboratoria, maar desondanks bleef er een belangrijke interlaboratorium variabiliteit in Tg waarden bestaan^{12, 13, 31} (Figuur 1).

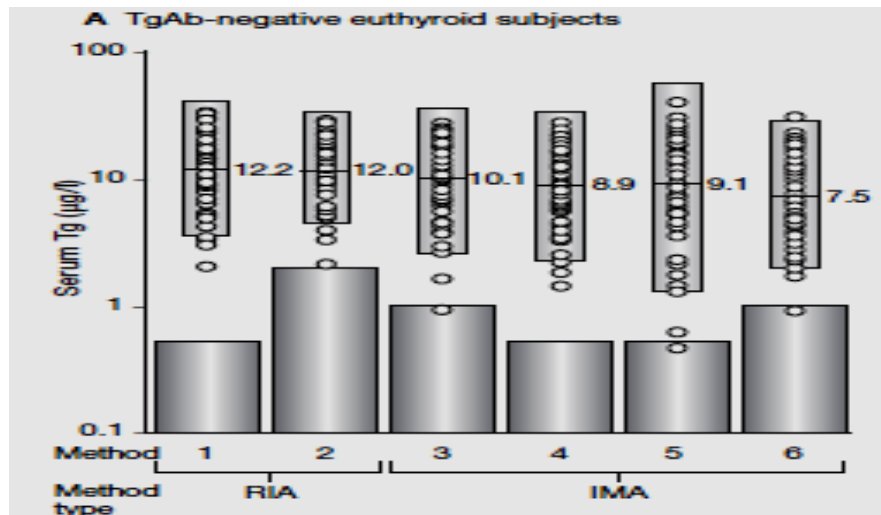
Figuur 2 toont Tg waarden van euthyroïde patiënten met negatieve Tg-antistoffen, bekomen met zes verschillende Tg-assays (2 RIA's en 4 IMA's) die gekalibreerd werden met CRM-457, waarbij er ongeveer 40% verschil is tussen de hoogst en de laagst bekomen gemiddelde Tg waarde bij de verschillende Tg-assays.¹¹ De gemiddelde inter-assay CV voor deze 6 methodes bedroeg 37%, wat meer dan het dubbele is van de biologische variabiliteit van Tg binnen één persoon (15%) bepaald bij euthyroïde controlepersonen.

Volgens Spencer et al.¹¹ is de inter-assay variabiliteit van Tg waarden bekomen met immunometrische assays groter dan die bekomen met competitieve radioimmunoassays. Dat verschil in variabiliteit zou kunnen te wijten zijn aan het feit dat radioimmunoassays gebruik maken van Tg-antistoffen met een



Figuur 1: resultaten van deelnemers aan externe kwaliteitscontrole van thyroglobuline. Boven: resultaten na gebruik van kit specifieke kalibratoren. Onder: resultaten na standaardisatie met CRM-457. Zucchelli et al.^{31, 12}

bredero epitooo-specificiteit in vergelijking met de IMA methoden, die gebruik maken van monoklonale antistoffen. Gezien de heterogeniteit van Tg geproduceerd door tumorcellen, kunnen door deze brede epitooo-specificiteit ook abnormale Tg isovormen bepaald worden. Monoklonale antistoffen gebruikt in de immunometrische assays hebben daarentegen een variabele specificiteit ten opzichte van de verschillende Tg epitopen.



Figuur 2: serum Tg waarden bekomen met 6 verschillende Tg-assays gekalibreerd met CRM-457 (2 RIA's en 4 IMA's) bij 68 euthyroïde patiënten met negatieve Tg-antistoffen. Bovenste balken geven gemiddelde weer samen met het 95% betrouwbaarheidsinterval. Onderste balken geven de functionele sensitiviteit van de gebruikte assay weer. C.A. Spencer et al.¹¹

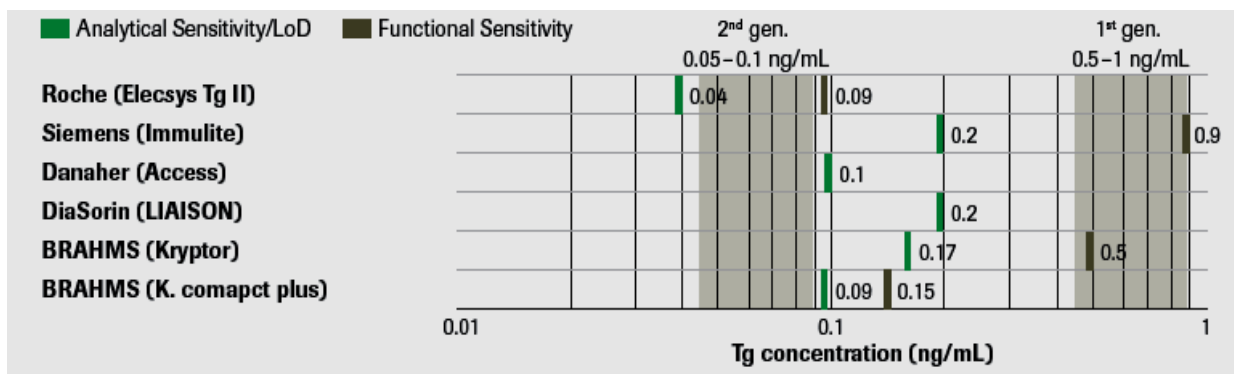
De bias tussen de verschillende assays heeft ook een invloed op de cut-off waarden die gebruikt worden in de follow-up van DTC.¹¹ Bij het vaststellen van die cut-offs werd er eigenlijk geen rekening gehouden met feit dat er een belangrijke bias bestaat tussen de verschillende Tg-assays. In plaats van gebruik te maken van vaste cut-off waarden, is het daarom misschien beter om de evolutie van Tg waarden bij patiënten met gedifferentieerd schildkliercarcinoom op te volgen, waarbij Tg-assays met een betere functionele sensitiviteit het voordeel hebben dat zij toelaten om kleinere verschillen bij lage Tg waarden te detecteren.¹¹ Verder is een goede lange termijn stabiliteit van de Tg-assay vereist voor langdurige follow-up van patiënten met DTC.³

Dat alles betekent dat patiënten met DTC best opgevolgd worden in eenzelfde centrum, gebruik makende van eenzelfde Tg-assay.^{1,2,3} Dat wil ook zeggen dat het veranderen van de Tg analysemethode tijdens de lange termijn monitoring van patiënten met DTC alleen kan worden gedaan met grote zorg voor continuïteit. In geval van verandering van Tg methode kan de laatste Tg waarde van een patiënt bepaald met de oude Tg-assay opnieuw gemeten worden met de nieuwe methode, in combinatie met een actuele Tg bepaling. Hierdoor wordt niet alleen de inter-run variabiliteit uitgeschakeld, maar is het ook mogelijk om per patiënt een nieuwe basiswaarde voor Tg te bekomen.^{3,11}

Follow-up protocols voor DTC moeten bovendien een hoge negatief en positief predictieve waarde hebben om enerzijds onnodig onderzoek zoveel mogelijk te vermijden en anderzijds om de minderheid van patiënten met een hoger risico op recidief te detecteren.¹¹ Om eventueel recidief en/of metastase van DTC in een zo vroeg mogelijk stadium te detecteren, is een gevoelige Tg bepaling nodig, met dus een lage detectielimiet. De analytische gevoeligheid en de precisie van de Tg bepaling bij lage Tg concentraties zijn dus van cruciaal belang in de follow-up van DTC. Ten aanzien van de vaststelling en de definitie van de detectielimiet bestaan verschillende zienswijzen. Fabrikanten van meetmethoden leiden de detectielimiet meestal af uit de spreiding van de nulstandaard gemeten binnen

één experiment. Dit geeft echter een vertekend beeld van de mogelijkheden van de meetmethode en is niet in overeenstemming met de realiteit.³ Beter is het om inzicht te krijgen in de spreiding van de resultaten van een Tg bepaling op langere termijn en in het lage concentratiegebied.³ De spreiding moet daarbij vastgesteld worden over een periode van maanden met inclusie van zoveel mogelijk relevante variaties van de meetmethode, bijvoorbeeld lotwissels van reagentia en eventuele herkalibraties.^{3, 11, 12, 13} Door de meetvariatie op verschillende concentratieniveaus te registreren, bekomt men een imprecisie-profiel waaruit de “functionele sensitiviteit” (FS) van de Tg meetmethode berekend kan worden. De functionele sensitiviteit wordt hierbij gedefinieerd als 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. Lagere Tg waarden kunnen dus niet met voldoende precisie gekwantificeerd worden, niettegenstaande ze technisch gezien wel detecteerbaar zijn.

Meetmethoden worden voortdurend verder ontwikkeld, vooral met betrekking tot lagere detectielimieten. Met de vroegere meetmethoden konden concentraties in de orde van 1 µg/L nauwkeurig worden gekwantificeerd.^{12, 13} Met de nieuwste ultrasensitieve technieken is een FS haalbaar van circa 0.1 à 0.2 µg/L (zie figuur 3).³² De FS van de huidige Tg-assay (Brahms) in Virga Jesse werd onderzocht en deze bedroeg 0.5 µg/L (Figuur 4).

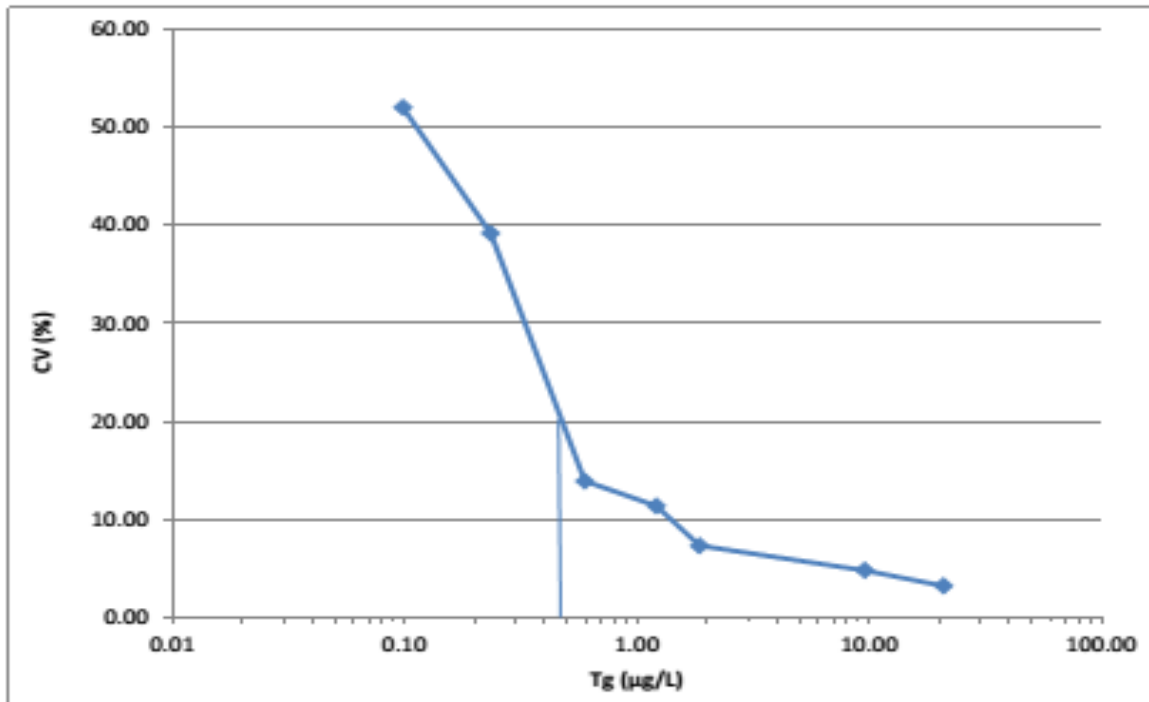


Figuur 3: analytische en functionele sensitiviteit van courant gebruikte Tg-assays. (analytische sensitiviteit gedefinieerd als gemiddelde van 20 metingen van de nulstandaard + 3SD).³³

Immunometrische assays hebben over het algemeen een betere FS dan de traditionele radioimmunoassays.¹¹ Dat is onder andere te wijten aan het gebruik van niet-competitieve i.p.v. competitieve technieken, een gebruik van tracers met een hogere specifieke activiteit (chemiluminescentie versus I¹²⁵), betere technieken om de gebonden fractie te scheiden van de ongebonden fractie en automatisatie van de analytische procedure.

Of een methode in staat is voldoende lage concentraties te meten, is moeilijk aan te geven gezien de methode-verschillen, maar gesteld kan worden dat een methode de ondergrens van het normale referentiegebied moet kunnen bestrijken en dat de FS daar nog onder moet liggen.³ Kan dat niet bereikt worden, dan is de methode “on gevoelig” in het lage gebied en zullen geringe Tg verhogingen gemist worden. De kans bestaat ook dat een Tg methode zo laag kan meten dat lokalisatie met behulp van beeldvormende technieken (nog) niet mogelijk is. Een methode die in staat is reproduceerbaar zeer lage Tg concentraties te meten is dus de beste methode.^{3, 11}

Algemeen kan gesteld worden dat enkel methodes met een groot verschil tussen de FS en de ondergrens van het Tg referentiegebied, bepaald bij euthyroïde controlepersonen, in staat zijn lage concentraties aan Tg te bepalen onder levothyroxine substitutie-therapie. Indien de ondergrens van serum Tg in een normale populatie 3 µg/L bedraagt moeten Tg-assays dus minstens een functionele sensitiviteit hebben van 1 µg/L.



Figuur 4: imprecisie-profiel van huidige Tg-assay (Brahms) bepaald bij zeven verschillende Tg concentraties over een periode van 3 maanden. FS werd bepaald door interpolatie bij een CV van 20%.

Conclusie: Ondanks de technologische ontwikkelingen in de bepaling van Tg, blijft de reproduceerbaarheid soms problematisch bij lage Tg waarden en zijn er ook nog steeds grote verschillen tussen de resultaten bekomen met verschillende technieken en bijgevolg ook tussen de resultaten bekomen in verschillende laboratoria en dat ondanks kalibratie met een internationale referentiestandaard (CRM-457). Al de tekortkomingen in analytische performantie beïnvloeden de klinische waarde van een Tg bepaling in de follow-up van DTC. Artsen moeten zich bewust zijn van het feit dat de Tg waarde afhankelijk is van de gebruikte test. Daarom is het ook aangeraden om patiënten met DTC op te volgen in eenzelfde centrum, gebruik makende van eenzelfde assay. Dus zowel analytische en klinische validatie als meerjaren ervaring opgedaan met een Tg analysemethode zijn van groot belang voor het succesvol interpreteren van Tg resultaten bij follow-up van patiënten met gedifferentieerd schildkliercarcinoom.

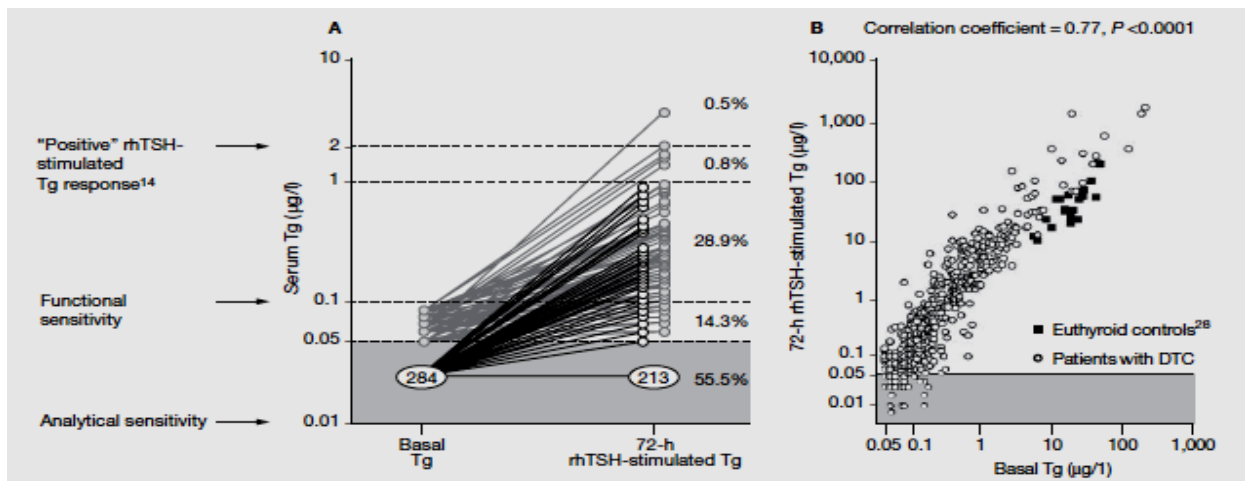
Is de bepaling van een basaal Tg onder levothyroxine-substitutie d.m.v. een meer sensitieve assay een alternatief voor een TSH gestimuleerde Tg bepaling?

De diagnostische gevoeligheid van Tg als tumormarker tijdens levothyroxine substitutie-therapie in de follow-up van DTC, ter opsporing van metastasen of recidief, is vrij hoog. Die gevoeligheid kan echter nog verbeterd worden door een Tg bepaling na TSH stimulatie uit te voeren. Eén gram schildklierweefsel correspondeert ongeveer met een serum-concentratie aan Tg van 1 µg/L bij normaal TSH en 0.5 µg/L bij gesupprimeerd TSH.³

Hoewel een ondetecteerbaar basaal Tg na totale thyroïdectomie en ablatie met radioactief jodium suggestief is voor afwezigheid van recidief en/of metastase, tonen verschillende studies aan dat sommige patiënten met een “ondetecteerbaar” basaal Tg (< 1 µg/L) toch een stijging in Tg waarden kunnen vertonen na TSH stimulatie.⁵ Daarom is het noodzakelijk om bij een Tg bepaling a.d.h.v. een conventionele Tg-assay (FS ~ 1 µg/L) in de follow-up van DTC patiënten steeds een TSH gestimuleerde Tg bepaling uit te voeren, waarbij patiënten met een Tg waarde na TSH stimulatie van meer dan 1-2 µg/L verder onderzoek vereisen. Gebruik makende van Tg-assays met een functionele sensitiviteit in de orde grootte van 1 µg/L zijn er drie mogelijkheden in Tg respons 72 uur na toediening van rhTSH.³² Een minderheid van de patiënten in de follow-up van DTC heeft een basale Tg waarde van groter dan 1 µg/L met een stijging van ongeveer een factor 10 na rhTSH stimulatie. Deze patiënten hebben een hoger risico (~ 45%) op persistent of recidiverend schildklier carcinoom. Het merendeel (~ 80%) van de patiënten met een “ondetecteerbaar” basaal Tg (< 1 µg/L), heeft nog steeds een Tg-gehalte kleiner dan 1 µg/L na TSH stimulatie, wat een laag risico op recidief betekent. De grote meerwaarde van rhTSH is echter voornamelijk gelegen in die groep van patiënten (~ 20%) die een “ondetecteerbaar” basaal Tg (< 1 µg/L) hebben, maar die toch een stijging in Tg waarden vertonen na TSH stimulatie (Tg > 1-2 µg/L). Ongeveer 10% van die patiënten hebben een persistent of recidiverend DTC.

“Ondetecteerbaar” is een kwalitatieve term en of een Tg al dan niet kwantificeerbaar is, hangt natuurlijk af van de FS van de gebruikte assay en van de gebruikte cut-off waarden.¹¹ Protocols en cut-off waarden gebruikt in de follow-up van DTC werden bekomen aan de hand van assays met een FS in de orde grootte van 1 µg/L. Dit heeft tot gevolg dat een basale Tg waarde < 1 µg/L, bekomen met een dergelijke assay met een minder goede functionele sensitiviteit van ongeveer 1 µg/L, na TSH stimulatie wel kan stijgen tot meer dan 2 µg/L.¹¹ Dus een basale Tg waarde bekomen met een Tg-assay met een minder goede functionele sensitiviteit is op zichzelf niet voldoende om de patiënt te classificeren als zijnde in remissie, en bijgevolg moet steeds een TSH gestimuleerde Tg bepaling uitgevoerd worden.⁵ De vraag is nu of basale Tg waarden bekomen met de nieuwere Tg-assays, met een betere FS (~ 0.1 µg/L), een TSH gestimuleerde Tg bepaling overbodig maken, aangezien er een goede correlatie bestaat tussen basale Tg waarden en rhTSH gestimuleerde Tg waarden bekomen met een “ultrasensitieve” assay.^{11, 22}

Uit figuur 5B is duidelijk af te leiden dat er inderdaad een sterke correlatie bestaat tussen basaal Tg en TSH gestimuleerd Tg en dat zowel in patiënten met DTC als in euthyroïde controlepersonen wanneer Tg gemeten wordt met behulp van een assay met een betere functionele sensitiviteit (~ 0.1 µg/L).¹¹ Ongeveer 99% van de patiënten met een basale Tg waarde van lager dan 0.1 µg/L, heeft een rhTSH gestimuleerde Tg waarde van kleiner dan 1 µg/L, waarbij iets meer dan de helft van de patiënten (55%) zelfs geen stijging in Tg waarde vertoont na TSH stimulatie. Ongeveer 1% van de patiënten met een “ondetecteerbaar” basaal Tg (< 0.1 µg/L) heeft een TSH gestimuleerde Tg waarde van meer dan 1 µg/L, waarvan slechts één patiënt een Tg waarde van meer dan 2 µg/L heeft (figuur 5A).¹¹



Figuur 5: relatie tussen basaal Tg en rhTSH gestimuleerd Tg in afwezigheid van Tg-antistoffen. (A) Basaal Tg vs. rhTSH gestimuleerd Tg in 384 patiënten in follow-up van DTC met een basaal Tg-gehalte van < 0.1 µg/L. (B) Relatie tussen basaal Tg en rhTSH gestimuleerd Tg in 300 patiënten met DTC en in 23 euthyroid controlepersonen.¹¹

In een prospectieve studie van Brassard et al.¹⁹ (figuur 6) werd de noodzaak aan TSH stimulatie bij de bepaling van Tg geëvalueerd bij gebruik van een Tg-assay met een betere functionele sensitiviteit. In deze studie werden 715 patiënten met DTC geïncludeerd en de gemiddelde follow-up was 6,2 jaar. Recidief schildkliercarcinoom werd gedetecteerd bij 32 patiënten. Aan de hand van receiver operating curves werden assay specifieke cut-off waarden bepaald voor zowel basaal Tg als voor TSH gestimuleerd Tg. Deze bedroegen respectievelijk 0.27 µg/L en 1.4 µg/L. De cut-off waarde van 0.27 µg/L had een diagnostische sensitiviteit van 72% en een diagnostische specificiteit van 86%. Negatief en positief predictieve waarde bedroegen bij deze cut-off respectievelijk 99% en 20%. De diagnostische sensitiviteit en specificiteit bij een cut-off van 1.4 µg/L na TSH gestimuleerde Tg bepaling bedroegen respectievelijk 78% en 90%. Negatief en positief predictieve waarde bedroegen bij deze cut-off respectievelijk 99% en 26%. De overgrote meerderheid van patiënten (84%) had een basale Tg waarde van lager dan 0.27 µg/L en uitvoering van een TSH gestimuleerde Tg bepaling bij deze patiënten zorgde niet voor een verhoging van de negatief predictieve waarde van de Tg bepaling, die in beide gevallen 99% bedroeg. In de andere 16% van de patiënten (basaal Tg > 0.27 µg/L) zorgde een TSH gestimuleerde Tg bepaling wel voor een beter onderscheid tussen patiënten met een al dan niet verhoogd risico op recidief en/of metastase van DTC, aangezien bij 32% van die patiënten, met een basaal Tg van > 0.27 µg/L en een TSH gestimuleerde Tg waarde van > 1.4 µg/L (n=69), een recidiverend of persisterend schildkliercarcinoom gediagnosticeerd werd. Daarentegen werd recidief en/of metastase van DTC slechts gerapporteerd in één patiënt met een TSH gestimuleerde Tg waarde van < 1.4 µg/L en een basaal Tg > 0.27 µg/L (n=48). De conclusie is dat een TSH gestimuleerde Tg bepaling achterwege gelaten kan worden bij patiënten met een basale Tg waarde kleiner dan 0.27 µg/L, maar dat die wel uitgevoerd dient te worden bij patiënten met een basale Tg waarde groter dan 0.27 µg/L.

Tg	Recurrence	No recurrence
Tg1		
>0.27 ng/ml	23	94
≤0.27 ng/ml	9	589
Tg2		
>1.4 ng/ml	25	70
≤1.4 ng/ml	7	613

Tg	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
Tg1				
Cutoff = 0.27 mg/ml	72%	86%	20%	99%
Tg2				
Cutoff = 1.4 mg/ml	78%	90%	26%	99%

Figuur 6: Brassard et al.¹⁹: sensitiviteit, specificiteit, NPV en PPV van basaal Tg (Tg 1) en rhTSH gestimuleerd Tg (Tg 2) bij diagnose van persisterend en/of recurrerend DTC.

De overgrote meerderheid van patiënten (84%) had een basale Tg waarde van lager dan 0.27 µg/L en uitvoering van een TSH gestimuleerde Tg bepaling bij deze patiënten zorgde niet voor een verhoging van de negatief predictieve waarde van de Tg bepaling, die in beide gevallen 99% bedroeg. In de andere 16% van de patiënten (basaal Tg > 0.27 µg/L) zorgde een TSH gestimuleerde Tg bepaling wel voor een beter onderscheid tussen patiënten met een al dan niet verhoogd risico op recidief en/of metastase van DTC, aangezien bij 32% van die patiënten, met een basaal Tg van > 0.27 µg/L en een TSH gestimuleerde Tg waarde van > 1.4 µg/L (n=69), een recidiverend of persisterend schildkliercarcinoom gediagnosticeerd werd. Daarentegen werd recidief en/of metastase van DTC slechts gerapporteerd in één patiënt met een TSH gestimuleerde Tg waarde van < 1.4 µg/L en een basaal Tg > 0.27 µg/L (n=48). De conclusie is dat een TSH gestimuleerde Tg bepaling achterwege gelaten kan worden bij patiënten met een basale Tg waarde kleiner dan 0.27 µg/L, maar dat die wel uitgevoerd dient te worden bij patiënten met een basale Tg waarde groter dan 0.27 µg/L.

Zowel basaal Tg als TSH gestimuleerd Tg liggen lager bij patiënten met recidief in de hals-regio in vergelijking met patiënten met recidief op afstand, wat waarschijnlijk te wijten is aan de kleinere hoeveelheid tumorweefsel bij recidief in de hals-regio. Dit blijkt ook uit het feit dat bij drie van de zes patiënten met bewezen recidief van DTC en een basaal Tg < 0.27 µg/L, met een TSH gestimuleerd Tg < 1.4 µg/L, een recidief schildkliercarcinoom werd gediagnosticeerd in de hals-regio.¹⁹ Dus zelfs lage concentraties aan Tg kunnen klinisch belangrijk zijn en nek-echografie dient steeds uitgevoerd te worden ongeacht de Tg waarde.

	Functional sensitivity (ng/ml)	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Tg1			
Kryptor	0.9	21	96
Immulite	0.9	40	96
Thyro	0.9	38	92
Advantage	0.9	35	94
	0.3	63	89
DYNOtest Tg Plus	0.9	19	97
	0.2	54	89
Access	0.9	35	95
	0.11	78	63
Iason	0.9	35	94
	0.02	81	42
Tg2			
Kryptor	0.9	68	91
Immulite	0.9	71	88
Thyro	0.9	76	81
Advantage	0.9	72	83
	0.3	91	67
DYNOtest Tg Plus	0.9	72	91
	0.2	81	81
Access	0.9	76	86
	0.11	92	44
Iason	0.9	73	87
	0.02	95	23

Figuur 7: Diagnostische sensitiviteit en specificiteit van zeven Tg-assays met een verschillende FS. Tg1 (basaal Tg) en Tg2 (TSH gestimuleerd Tg).¹⁷

Figuur 7 toont de FS van verschillende commerciële Tg-assays met hun respectievelijke diagnostische sensitiviteit en specificiteit.¹⁷ Hieruit blijkt dat de twee Tg-assays met de beste FS (Access 0.11 µg/L en e-Iason 0.02 µg/L) de hoogste diagnostische sensitiviteit hebben, respectievelijk 78% en 81%. Maar ondanks die hoogste diagnostische sensitiviteit hebben zij echter wel de laagste diagnostische specificiteit. Voor de Access assay bedroeg die 63% en voor de e-Iason assay was die 42%. Verder blijkt uit figuur 7 ook dat een TSH gestimuleerde Tg bepaling de sensitiviteit van alle assays verbetert, maar hier tegenover staat ook dat de specificiteit hierdoor vermindert. Deze daling is echter nog meer uitgesproken bij assays met een betere functionele sensitiviteit.

Daar met de conventionele Tg-assays met een minder goede FS het uitvoeren van een TSH gestimuleerde Tg bepaling nog steeds noodzakelijk is, geven Tg-assays met een betere functionele sensitiviteit echter meer betrouwbare basale Tg waarde. Indien een “vals negatief” resultaat gedefinieerd wordt als een basale Tg waarde kleiner dan de FS van de gebruikte assay met een stijging in Tg concentratie na TSH stimulatie tot 1 à 2 µg/L dan ligt het aantal “vals negatieve” waarden ongeveer tussen de 10 à 20% bij gebruik van een Tg-assay met een slechtere functionele sensitiviteit.^{2,4} Voldoende studies tonen echter aan dat dit aantal “vals negatieve” resultaten gevoelig kan verminderd worden gebruik makende van een assay met een betere functionele sensitiviteit.^{7,21}

In een studie van Iervasi et al.¹⁶ (Figuur 8) werd de klinische impact van een ultrasensitieve Tg-assay in de follow-up van DTC onderzocht in vergelijking met een conventionele Tg-assay (FS ~ 1 µg/L). Tg waarden werden bepaald bij 160 patiënten in follow-up van DTC en dit zowel tijdens levothyroxine substitutie-therapie als na TSH stimulatie. Gebruik makende van een assay met een slechtere functionele sensitiviteit werd er slechts bij twee patiënten (1%) een basale Tg waarde gevonden die groter was dan de FS (> 0.9 µg/L). De ultrasensitieve Tg-assay resulteerde in een basale Tg waarde groter dan de FS (> 0.1µg/L) bij 23 patiënten (14%). Een “ondetecteerbaar” basaal Tg (< 0.1 µg/L) d.m.v. de Access Tg-assay resulteerde steeds in TSH gestimuleerd Tg van < 2 µg/L (analytische sensitiviteit 100%). Een basaal Tg kleiner dan 0.9 µg/L met een conventionele Tg-assay (Immulite) resulteerde daarentegen niet altijd in een TSH gestimuleerde Tg waarde van < 2 µg/L (analytische sensitiviteit 17%). Een cut-off waarde van 1 µg/L zorgde echter bij beide assays voor een daling van de sensitiviteit en de NPV (Figuur 8).¹⁶ Sensitiviteit en NPV bij voorspellen van TSH

gestimuleerde Tg respons (> 1 à $2 \mu\text{g/L}$) stijgen bij gebruik van Tg-assays met een betere functionele sensitiviteit. Hierbij dient echter opgemerkt te worden dat deze wel dalen door een verlaging van de cut-off waarde. In tegenstelling tot een basaal Tg van meer dan $0.9 \mu\text{g/L}$ met de Immulite Tg-assay (specificiteit 100%), resulteerde een basaal Tg groter dan $0.1 \mu\text{g/L}$ met een ultrasensitieve Tg-assay (Access) (FS $> 0.1 \mu\text{g/L}$) niet altijd in TSH gestimuleerd Tg van $> 2 \mu\text{g/L}$ (specificiteit 90%; PPV 35%). Verlaging van cut-off waarde tot $1 \mu\text{g/L}$ zorgde echter voor een stijging in PPV en specificiteit.

	Cut-off	Sens	Spec	NPV	PPV
Tg Immulite (FS $0.9 \mu\text{g/L}$)	$1 \mu\text{g/L}$	6.5%	100%	82%	100%
	$2 \mu\text{g/L}$	17%	100%	94%	100%
Tg Access (FS $0.1 \mu\text{g/L}$)	$1 \mu\text{g/L}$	79%	94%	97%	65%
	$2 \mu\text{g/L}$	100%	90%	100%	35%

Figuur 8: analytische sensitiviteit, specificiteit, PPV en NPV van 2 Tg assays in follow-up van 160 DTC patiënten.¹⁶

In een recente meta-analyse van Giovanella et al.⁷ werd de diagnostische performantie van een ultrasensitieve basale Tg bepaling voor verschillende ultrasensitieve Tg-assays onderzocht bij het voorspellen van een TSH gestimuleerde Tg respons van groter dan 1 à $2 \mu\text{g/L}$ (figuur 9).⁷ Gepoolde data bekomen uit verschillende studies met de Access hsTg-assay resulteren in een sensitiviteit van 91% en een specificiteit van 87% voor een basale Tg waarde, gebruik makende van een cut-off waarde van $> 1 \mu\text{g/L}$ voor positiviteit van TSH gestimuleerd Tg, welke als referentie wordt genomen. Negatief predictieve (NPV) en positief predictieve (PPV) waarde bedragen in dit geval respectievelijk 97% en 70%. Indien een cut-off waarde van $> 2 \mu\text{g/L}$ wordt gebruikt voor positiviteit van TSH gestimuleerd Tg (referentie) dan bedragen sensitiviteit en specificiteit van een basale Tg waarde respectievelijk 97% en 77% (bijlage 2). In vergelijking met de cut-off van $1 \mu\text{g/L}$ is er een daling in de PPV tot 42% en een stijging in NPV tot 99%. Resultaten voor de e-iason hsTg-assay zijn vergelijkbaar met deze van de Access hsTg-assay.⁷

Deze data tonen aan dat de specificiteit en de PPV van een basale Tg, gemeten d.m.v. een ultrasensitieve assay, te laag is, bij het voorspellen van een TSH gestimuleerde Tg respons van groter dan 1 à $2 \mu\text{g/L}$, om een TSH gestimuleerde Tg bepaling volledig overbodig te maken in de follow-up van DTC. Aangezien echter zowel sensitiviteit als NPV van een basale Tg, gemeten met een assay met een betere functionele sensitiviteit ($0.1 \mu\text{g/L}$), in deze situatie zeer hoog zijn, kan een TSH gestimuleerde Tg bepaling eventueel wel geschrapt worden bij deze patiënten met een basaal Tg $< 0.1 \mu\text{g/L}$ bekomen d.m.v. een ultrasensitieve Tg-assay zonder aanwezigheid van Tg-antistoffen. Hierbij dient wel opgemerkt te worden dat zowel in deze meta-analyse als in verschillende andere studies TSH gestimuleerde Tg bepalingen gebruikt wordt als referentie voor de ziektestatus in de follow-up van DTC. Deze gestimuleerde Tg waarde komt echter niet altijd overeen met de DTC status van de patiënt en is eigenlijk maar een surrogaat voor de optimale referentie van lange termijn follow-up in combinatie met klinisch en beeldvormend onderzoek.

De PPV van Tg in de follow-up van DTC, gemeten d.m.v. dergelijke ultrasensitieve Tg-assays, kan echter verhoogd worden tot ongeveer 80% door het uitvoeren van verschillende Tg metingen in de tijd om zo de trend in Tg concentraties te monitoren. Tg-assays met een betere functionele sensitiviteit hebben het voordeel t.o.v. de conventionele Tg-assays dat zij een kleiner significant verschil kunnen detecteren door hun betere precisie in het lage meetbereik. Combinatie van hals-echo en Tg bepaling heeft de grootste diagnostische specificiteit en sensitiviteit voor het opsporen van metastase en/of recidief van DTC met een PPV van 96% en een NPV van 99.5%.²⁶

Assay	Author	Cases (n)	Sens	Spec	Accur	PPV	NPV
Access hsTg	Castagna et al.	215	83%	86%	85%	58%	95%
	Iervasi et al.	160	79%	94%	92%	65%	97%
	Nakabashi et al.	74	75%	95%	86%	92%	83%
	Rosario et al.	178	80%	82%	81%	42%	96%
	Spencer et al.	1029	96%	87%	89%	74%	98%
	Pooled data		91% (88%-94%)	87% (85%-89%)	88% (86%-90%)	70% (66%-74%)	97% (95%-98%)
Eiason hsTg	Castagna et al.	215	88%	86%	87%	61%	97%
	Zöphel et al.	14	100%	77%	79%	25%	100%
	Pooled data		88% (75%-96%)	85% (80%-90%)	86% (81%-90%)	58% (45%-71%)	97% (93%-99%)

Figuur 9: diagnostische performantie van basale Tg waarde (positief >0.1 µg/L) voor twee verschillende Tg-assays met de rhTSH gestimuleerde Tg bepaling als referentie (positief >1 µg/L).⁷

Het feit dat er in de afgelopen jaren Tg-assays op de markt gekomen zijn met een betere functionele sensitiviteit ($\pm 0.1 \mu\text{g/L}$), maakt dat patiënten, die een “ondetecteerbaar” basaal en/of TSH gestimuleerd Tg gehalte hadden in follow-up van DTC, bepaald met de vroegere Tg-assays, nu met ultrasensitieve Tg-assays een “detecteerbaar” basaal en/of gestimuleerd Tg-gehalte kunnen hebben in de orde van grootte van 0.1 à $1 \mu\text{g/L}$. Sommige klinici prefereren daarom de “klassieke” Tg-assays omdat het dikwijls moeilijk is om de bron van deze lage Tg waarden op te sporen d.m.v. additionele beeldvormende technieken. Andere zijn voorstander van een complete evaluatie van patiënten in follow-up van DTC met een detecteerbaar Tg onafhankelijk van de concentratie. Veranderingen van Tg concentratie in de tijd, bij levothyroxine substitutie-therapie of na TSH stimulatie hebben bovendien meer betekenis dan één enkele Tg bepaling. In tegenstelling tot de conventionele Tg-assays kunnen assays met een betere functionele sensitiviteit bijvoorbeeld een stijging in Tg van $0.2 \mu\text{g/L}$ naar $0.8 \mu\text{g/L}$ reveleren bij een patiënt en bij een andere patiënt een constante Tg concentratie van $0.8 \mu\text{g/L}$ bevestigen. Enkel bij de eerste patiënt is eventueel verder onderzoek vereist. Patiënten met een minimaal detecteerbare concentratie basaal Tg (0.1 - $1 \mu\text{g/L}$) vereisen eventueel een striktere evaluatie d.m.v. regelmatigere basale Tg bepalingen, zelfs zonder aanwijzingen voor recidief op hals-echo of op ander beeldvormend onderzoek. Een consequentie van het gebruik van ultrasensitieve Tg-assays is dus het relatief groot aantal “Tg-positieve” patiënten met een Tg-gehalte van $> 0.1 \mu\text{g/L}$. Dit impliceert dat de cut-off waarden van Tg in follow-up van DTC vanaf de welke verder onderzoek aangewezen is, dienen aangepast te worden bij gebruik van dergelijke ultrasensitieve assays. Iervasi et al. ontwikkelden een alternatief follow-up schema voor DTC bij gebruik van een ultrasensitieve Tg-assay (bijlage 4)¹⁶, waarbij er bij patiënten met een “ondetecteerbaar” basaal Tg ($< 0.1 \mu\text{g/L}$) geen rhTSH gestimuleerde Tg bepaling dient uitgevoerd te worden. Aldus zou het diagnostisch gebruik van rhTSH meer gericht gebruikt kunnen worden, met een verbeterde kosteneffectiviteitsverhouding tot gevolg.

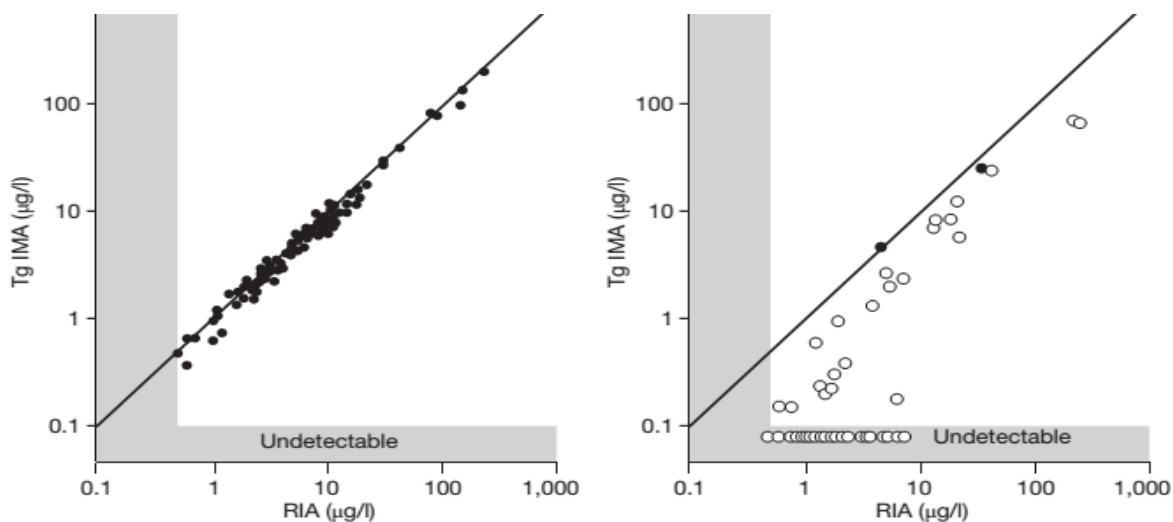
Conclusie: *Follow-up van DTC gebeurt best aan de hand van een protocol met een hoge negatief predictieve waarde om onnodige onderzoeken zoveel mogelijk te voorkomen. Daarnaast is het ook belangrijk om de weinige patiënten met recidief zo snel mogelijk te identificeren. Een basale Tg waarde bekomen met een assay met een betere functionele sensitiviteit heeft een zeer hoge NPV, maar een suboptimale PPV in de follow-up van DTC. Een TSH gestimuleerde Tg bepaling kan vermeden worden bij patiënten met een ondetecteerbaar basaal Tg ($< 0.1 \mu\text{g/L}$) en negatieve hals-echografie met afwezigheid van Tg-antistoffen. Een rhTSH gestimuleerde Tg bepaling dient daarentegen wel uitgevoerd te worden bij een basale Tg waarde $> 0.1 \mu\text{g/L}$ bekomen met een ultrasensitieve Tg-assay*

(FS 0.1 µg/L). In dat geval maakt de TSH gestimuleerde Tg bepaling het mogelijk om patiënten te identificeren met een stijging in Tg waarde tot meer dan 1 à 2 µg/L. Op die manier kan het gebruik van rhTSH beperkt worden, met een kostenbesparing tot gevolg. Monitoring van Tg onder levothyroxine substitutie-therapie heeft meer betekenis dan één enkele basale Tg bepaling. Ultrasensitieve Tg-assays hebben hierbij het voordeel dat zij een kleiner significant verschil kunnen detecteren dan de conventionele Tg-assay (FS 1 µg/L) omwille van een betere precisie in het lage meetbereik.

Is er een alternatief voor Tg in de follow-up van gedifferentieerd schildkliercarcinoom bij aanwezigheid van Tg-antistoffen.

Thyroglobuline antistoffen zijn bij ongeveer 25% van de DTC patiënten detecteerbaar bij diagnose of tijdens follow-up.¹¹ Deze Tg-antistoffen interfereren met de bepaling van Tg, wat kan leiden tot vals verlaagde of zelfs ondetecteerbare Tg waarden. Dit kan resulteren in een misclassificatie van de patiënt als zijnde in remissie (onmeetbaar Tg in combinatie met aanwezigheid van Tg-antistoffen). Daarom is het aangewezen om bij elke Tg bepaling een bepaling van Tg-antistoffen uit te voeren om zo het resultaat van Tg correct te kunnen interpreteren.^{2,3,4,14} De intensiteit van de Tg-antistof interferentie is zowel afhankelijk van de concentratie aan Tg en Tg-antistoffen, als van de gebruikte Tg-assay (RIA vs. IMA).¹⁴ Zo zijn radioimmunoassays (RIA) minder gevoelig voor interferentie door Tg-antistoffen in vergelijking met immunometrische assays (IMA), die zelfs bij zeer lage concentraties aan Tg-antistoffen resulteren in vals verlaagde Tg waarden. In tegenstelling tot radioimmunoassays, detecteren immunometrische assays alleen de vrije Tg, daar waar radioimmunoassays zowel vrij als aan Tg-antistof gebonden Tg meten. Wanneer Tg-antistoffen namelijk binden aan thyroglobuline, leidt dit tot een sterische hindering of maskering van de Tg epitopen die noodzakelijk zijn voor binding van de monoklonale antistoffen in een niet competitieve sandwich immunometrische assay.¹⁵ Ontwikkeling van monoklonale antistoffen met een Tg epitoopecificiteit die verschillend is van deze van Tg-antistoffen zorgde niet voor een eliminatie van Tg-antistof interferentie bij dergelijke immunometrische assays, gezien de heterogeniteit van Tg en de verschillen in Tg epitoopecificiteit van Tg-antistoffen bij DTC.¹⁵ RIA methoden maken daarentegen gebruik van polyklonale antistoffen gericht tegen verschillende Tg epitopen.¹⁴

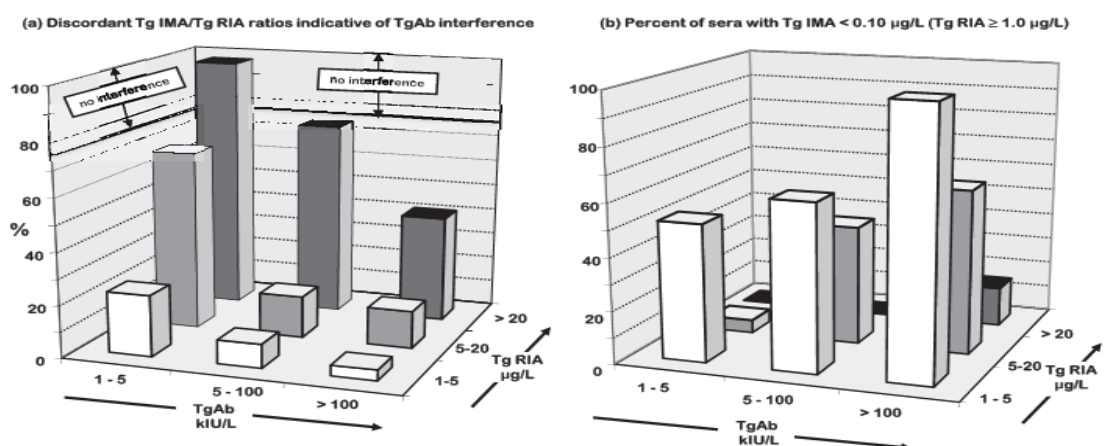
Verschillende studies tonen aan dat Tg-antistof interferentie in immunometrische assays steeds unidirectioneel is (onderschatting van Tg) en dat radioimmunoassays meer resistent zijn voor Tg-antistof interferentie, hoewel hierbij ook vaak vals verhoogde en in mindere mate zelfs vals verlaagde Tg waarden kunnen voorkomen, afhankelijk van de interactie tussen Tg en Tg-antistoffen in serum en de specificiteit van de gebruikte antistoffen in de radioimmunoassay.¹⁵ Zo hebben Tg-antistof positieve euthyroïde controlepersonen met intacte schildklier dikwijls zeer lage Tg waarden (< 2 µg/L) bepaald met een IMA in vergelijking met personen zonder Tg-antistoffen, die typisch Tg waarden hebben van > 2 µg/L. Ook patiënten met Graves hyperthyroïdie, die dikwijls Tg-antistoffen hebben, vertonen zeer lage Tg waarden bepaald met een IMA. Dit is echter in tegenstelling tot de klinisch meer aanvaardbare Tg waarden bekomen onder dezelfde omstandigheden met een RIA.¹¹ Dus Tg-antistof interferentie is te verwachten bij een discordantie tussen Tg waarden bekomen met een IMA vs. een RIA of bijgevolg bij een lage Tg IMA/Tg RIA ratio (Figuur 10). Aangezien een IMA hoofdzakelijk vrije Tg meet zal de interferentie van Tg-antistoffen het grootst zijn bij lage Tg concentraties wanneer al het aanwezige Tg gebonden is aan Tg-antistoffen. De interferentie is echter het laagst wanneer Tg in overmaat aanwezig is, omdat zo waarschijnlijk alle bindingsplaatsen van de Tg-antistoffen bezet zijn, waardoor er voldoende vrij Tg overblijft voor detectie door een IMA.¹¹



Figuur 10: correlatie tussen Tg waarden gemeten m.b.v. een RIA en een IMA in afwezigheid (links) en aanwezigheid (rechts) van Tg-antistoffen.¹¹

De intensiteit van de Tg-antistof interferentie is ook afhankelijk van de hoeveelheid Tg-antistoffen, hoewel hoge Tg-antistof concentraties niet noodzakelijk altijd interfereren met de bepaling van Tg (IMA) door hun eventuele beperkte specificiteit. Ook zeer lage Tg-antistof concentraties kunnen interfereren met sommige Tg analysemethoden (IMA), waarbij deze interferentie zelfs kan aanhouden na verhoging van de Tg concentratie.¹⁴ Naar analogie met de Tg-assays bestaat er ook voor Tg-antistoffen een grote inter-assay variabiliteit.¹⁴ Dit kan verklaren waarom er soms een discordantie is tussen een Tg gehalte bepaald met een RIA vs. een IMA in schijnbare afwezigheid van Tg-antistoffen. Uit figuur 11 blijkt dat het risico op Tg-antistof interferentie bij een IMA - en dus het rapporteren van vals verlaagde Tg waarden - het kleinst is bij een lage concentratie aan Tg-antistoffen in combinatie met een hoge Tg concentratie (RIA). Wanneer Tg-antistoffen hoog zijn en Tg (RIA) laag is, is er echter een grotere kans op interferentie (lage Tg IMA/Tg RIA ratio). Bijgevolg is er in deze situatie ook een groter risico op het rapporteren van vals verlaagde Tg waarden bepaald d.m.v. een IMA.¹⁴

De eventuele interferentie van Tg-antistoffen in een Tg-assay is dus afhankelijk van verschillende factoren zoals de gebruikte Tg-assay (RIA vs. IMA), de concentratie aan Tg en Tg-antistoffen en de Tg epitop-specificiteit van de zowel in het serum aanwezige als in de Tg-assay gebruikte Tg-antistoffen voor de verschillende Tg-isovormen die voorkomen bij DTC.¹⁵



Figuur 11: (a) Effect van de concentratie van Tg en Tg-antistoffen op de Tg IMA/Tg RIA ratio. (b) Percentage serumstalen met een Tg IMA < 0.10 µg/L afhankelijk van Tg (RIA) en Tg-antistof concentratie.¹⁴

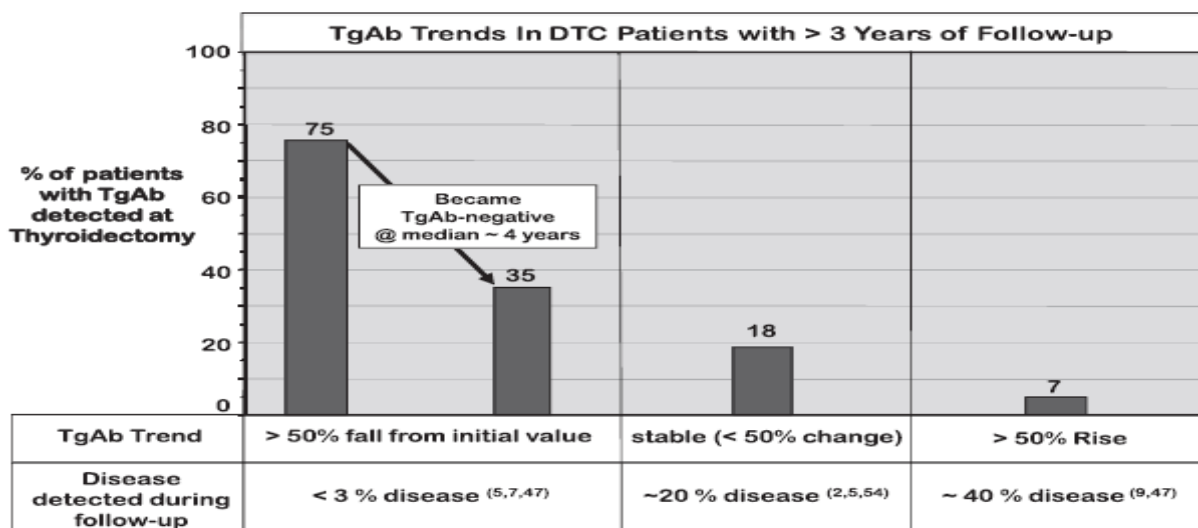
Helaas is er ook een grote variabiliteit in Tg-antistof concentraties tussen de verschillende Tg-antistof assays.¹⁵ Dit is onder meer te wijten aan een gebrekkige standaardisatie. Er bestaat echter wel een internationale referentiestandaard (IRP65/93), maar die is meer dan 50 jaar oud en werd bereid uitgaande van serum pools afkomstig van patiënten met auto-immuun thyreïditis.¹⁴ De bij die patiënten aanwezige Tg-antistoffen hebben echter een verschillende Tg epitoopecificiteit in vergelijking met de Tg-antistoffen, die aanwezig zijn bij DTC en die bovendien een zeer grote heterogeniteit vertonen. Aangezien niet elke Tg-antistof assay gestandaardiseerd is met deze internationale referentiestandaard en aangezien sommige methoden gebruik maken van hun eigen interne standaard ontstaat er een grote bias tussen de verschillende Tg-antistof assays, die nog versterkt wordt door de heterogeniteit in Tg epitoopecificiteit van de Tg-antistoffen. Bovendien hanteren de meeste Tg-antistof assays te hoge cut-off waarden die geoptimaliseerd zijn voor de diagnose van auto-immuun thyreïditis en niet voor het opsporen van Tg-antistof interferentie bij de bepaling van Tg.¹⁵ Het gebruik van dergelijke niet aangepaste cut-off waarde kan leiden tot een foutieve rapportering van de Tg-antistof status van een DTC patiënt en bijgevolg tot een verkeerde interpretatie van Tg (vals verlaagd). De variabiliteit tussen de verschillende Tg-antistof analysemethoden heeft dus ook een negatieve impact op gebruik van Tg als tumormarker in de follow-up van DTC.

Guidelines beklemtonen dat bij een Tg bepaling steeds de aanwezigheid van Tg-antistoffen dient uitgesloten te worden.^{2,3,4,14} Dit gebeurt best d.m.v. een bepaling van Tg-antistoffen a.d.h.v. een immunoassay en niet door het uitvoeren van een recovery test.^{11,14} Een recovery test bepaalt de concentratie van Tg voor en na toedienen van een gekende hoeveelheid Tg aan een aliquot van het te testen serum. Een recovery van meer dan 80% wijst meestal op een afwezigheid van interferentie door Tg-antistoffen. Opdat de interactie tussen toegevoegd Tg en aanwezige Tg-antistoffen identiek zou zijn aan deze tussen endogeen Tg en aanwezige Tg-antistoffen, moeten toegevoegd en endogeen Tg immunologisch identiek zijn.¹⁴ Bovendien mag de concentratie van toegevoegd Tg niet groter zijn dan de hoeveelheid aanwezig endogeen Tg. Ook moet er voldoende tijd zijn voor toegevoegd Tg om in evenwicht te treden met endogeen Tg voor binding aan beschikbare Tg-antistoffen vooraleer Tg bepaling kan uitgevoerd worden.¹⁴ Recovery-assays voldoen echter meestal niet aan deze drie criteria. Ten eerste kunnen er drie verschillende types Tg-antigen aanwezig zijn bij het uitvoeren van een recovery test, die allen kunnen verschillen in structuur en beschikbare epitopen voor binding aan Tg-antistoffen, nl.: exogeen (toegevoegd) Tg, normaal Tg gesecreteerd door eventueel aanwezig normaal residueel schildklierweefsel en abnormale Tg-isovormen geproduceerd door schildklierkankercellen. Ten tweede zal elke in overmaat toegevoegde Tg hoeveelheid t.o.v. het al aanwezige endogene Tg, resulteren in een saturatie van Tg-antistof bindingsplaatsen. Dit zorgt voor een overmaat aan vrij exogeen Tg wat bijgevolg leidt tot een vals verhoogde recovery.¹⁴ Ten slotte blijkt de tijd tussen toevoeging van exogeen Tg en de finale Tg meting van cruciaal belang te zijn. Zo blijkt uit een studie van Spencer et al.¹⁴ dat na toediening van een lage hoeveelheid exogeen Tg (~ 10 µg/L), gevolgd door een incubatietijd van 18 uur, de recovery met ongeveer 20% verminderde in vergelijking met een kortere incubatietijd, waarbij er onvoldoende tijd was voor het toegevoegde Tg om in evenwicht te treden met endogeen Tg voor binding aan de beschikbare Tg-antistoffen. Dus een te korte incubatietijd bij een recovery-assay zorgt voor een verhoogde fractie vrij exogeen Tg, wat leidt tot een overschatting van de recovery. Naast deze vermelde beperkingen van een recovery-assay voor het opsporen van Tg-antistof interferentie, is een recovery-assay ook niet in staat om de Tg waarde te corrigeren in geval van aanwezigheid van Tg-antistof interferentie.

Aangezien Tg-antistoffen interfereren met de bepaling van Tg en aangezien de concentratie aan Tg-antistoffen zeer gevoelig is aan veranderingen in de massa van Tg-secreterend schildklierweefsel,

kunnen Tg-antistoffen wel gebruikt worden als een surrogaat-tumormarker in de follow-up van DTC i.p.v. Tg.^{2,3,4,14,15} Er dient echter wel een onderscheid gemaakt te worden in het gehalte van Tg-antistoffen kort na behandeling van DTC en dit in de follow-up van DTC. Zo treedt er een tijdelijke stijging in Tg-antistoffen op, of is er zelfs een de novo synthese van Tg-antistoffen, bij ongeveer 40% van de DTC patiënten 6-8 weken na thyroïdectomie.¹⁴ Deze stijging is echter onafhankelijk van de preoperatieve Tg en/of Tg-antistof concentratie en is eerder gerelateerd aan de immuunrespons volgend op de acute vrijstelling van grote hoeveelheden Tg-antigen na thyroïdectomie.

Normaal gezien daalt het gehalte aan Tg-antistoffen in de eerste maanden en jaren volgend op behandeling van DTC, aangezien de massa van het resterende schildklierweefsel en dus ook de Tg concentratie dan quasi nihil dienen te zijn. De verandering in Tg-antistof concentratie tijdens follow-up van DTC heeft bijgevolg een grote prognostische waarde en de trend in Tg-antistoffen is meer betekenisvol dan één enkele bepaling van Tg-antistoffen.^{14,15} Gezien de variabiliteit tussen de verschillende Tg-antistof analysemethoden gebeurt de bepaling van Tg-antistoffen als een surrogaat-tumormarker best in eenzelfde centrum gebruik makende van eenzelfde Tg-antistof assay.^{14,15}



Figuur 12: trend in Tg-antistof concentratie in relatie tot het risico op persistent of recurrend schildkliercarcinoom tijdens de follow-up van DTC bij patiënten met detecteerbare Tg-antistoffen op ogenblik van behandeling.¹⁴

Patiënten wiens Tg-antistof concentraties in het eerste jaar na behandeling dalen tot minder dan 50% van de initiële waarde hebben een lager risico op herval in de daaropvolgende 5 jaar in vergelijking met patiënten wiens Tg-antistoffen met minder dan 50% van de initiële waarde dalen of bij wie er een stijging in Tg-antistoffen optreedt (Figuur 12).¹⁴ Gedurende lange termijn follow-up vertoont ongeveer 75% van de Tg-antistof positieve DTC patiënten een daling in Tg-antistoffen met meer dan 50% van de initiële waarde. Dergelijke patiënten hebben een lager risico op recurrend en/of persistent schildkliercarcinoom (< 3%) en dit ondanks het feit dat bij ongeveer slechts de helft van die patiënten Tg-antistoffen in de loop van de tijd negativeren (figuur 12).¹⁴ Hoewel de aanwezigheid van Tg-secreterend schildklierweefsel echter noodzakelijk is voor de continue productie van Tg-antistoffen, is het dikwijls moeilijk om, zeker wanneer lage concentraties Tg-antistoffen detecteerbaar blijven gedurende een langere periode, te achterhalen of de bron van een dergelijke continue Tg-productie een kleine hoeveelheid resterend schildklierweefsel is, of al dan niet een micro-metastase, omdat zelfs ablatie met radioactief jodium niet in staat is om al het resterende benigne en/of maligne schildklierweefsel te verwijderen en aangezien het maximale effect hiervan pas na verloop van tijd bereikt wordt. Het al dan niet verdwijnen van Tg-antistoffen als respons op behandeling is afhankelijk van de initiële concentratie van Tg-antistoffen, waarbij de kans op volledig negativeren van Tg-

antistoffen kleiner is naarmate de concentratie aan Tg-antistoffen groter is bij begin van behandeling.^{14,15}

Bij ongeveer 20% van de DTC patiënten met Tg-antistoffen is er slechts een beperkte daling in Tg-antistoffen waarneembaar (minder dan 50% van de initiële waarde) in het eerste jaar na thyroïdectomie, waarna de Tg-antistoftiter een plateauwaarde bereikt zonder dat er evidentie is voor recurrerend en/of persisterend tumorweefsel. Deze aanhoudend “hoge” Tg-antistoftiter is misschien te wijten continue Tg secretie door kleine hoeveelheden resterend maligne en/of benigne schildklierweefsel of door aanwezigheid van micrometastasen. Eventueel kan dit ook te wijten zijn aan lang levende antistof-producerende plasmacellen. Deze patiënten met een stabiele, maar significant verhoogde Tg-antistoftiter hebben ook een hoger risico op recidief van DTC (~ 20%) en vereisen dus een striktere follow-up in vergelijking met patiënten die een progressieve daling in Tg-antistoffen vertonen over verloop van tijd.

Bij ongeveer 10% van DTC patiënten met Tg-antistoffen is er een stijging tot zelfs een opnieuw verschijnen van Tg-antistoffen waarneembaar, wat zou kunnen wijzen op recidief. Hierbij dient er echter wel een onderscheid gemaakt te worden met een stijging of de novo synthese van Tg-antistoffen onmiddellijk na thyroïdectomie en ablatie, die dikwijls tijdelijk is en welke te wijten is aan een acute vrijstelling van Tg.

Conclusie: *Tg-antistoffen zijn aanwezig bij ongeveer 25% van de patiënten met DTC en zij interfereren met de bepaling van Tg. De mate van Tg-antistof interferentie bij de bepaling van Tg is afhankelijk van verschillende factoren zoals de gebruikte Tg-assay (RIA vs. IMA), de concentratie aan Tg en Tg-antistoffen en de Tg epitooop-specificiteit van de in serum aanwezige en in Tg-assay gebruikte Tg-antistoffen. Iedere bepaling van Tg moet daarom gecombineerd worden met een bepaling van Tg-antistoffen d.m.v. een immunoassay, om aanwezigheid van Tg-antistof interferentie uit te sluiten. Het uitvoeren van een recovery-assay voor opsporen van Tg-antistof interferentie heeft echter geen zin. Aangezien de Tg-antistof concentratie zeer gevoelig is aan veranderingen in hoeveelheid Tg-secreterend schildklierweefsel, kunnen Tg-antistoffen gebruikt worden als een surrogaat-tumormarker in de follow-up van DTC, waarbij een stijgende of een de novo synthese van Tg-antistoffen in de follow-up van DTC indicatief is voor recidief en waarbij een progressieve daling in Tg-antistoffen wijst op een succesvolle behandeling.*

TO DO/ACTIONS

- 1) Validatie Roche Elecsys Tg II op Cobas e411.
- 2) Implementatie van nieuwe methode met herevaluatie van Tg resultaten bij patiënten in follow-up van DTC na omschakeling van analysemethode.

ATTACHMENTS

Attachment 1

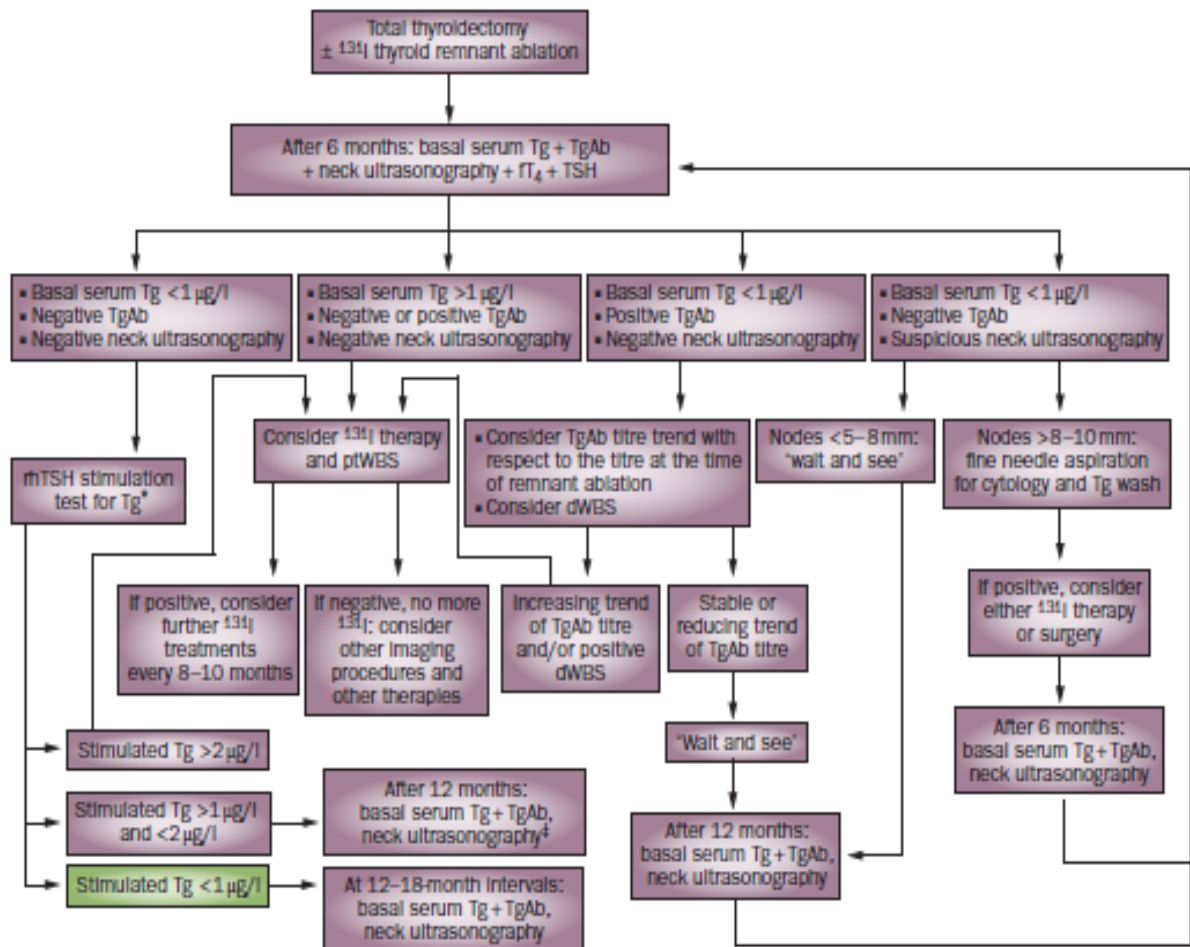


Figure 1 | Algorithm for the follow-up of patients with differentiated thyroid cancer, both papillary and follicular, following total thyroidectomy and radioiodine ablation of postsurgical thyroid remnant. The decision of whether to perform ¹³¹I ablation is made according to the indications of guidelines and consensus statements.^{6–10} Free T₄ and TSH levels should be measured at every follow-up appointment to monitor the efficacy of suppressive or replacement levothyroxine therapy. The condition defined as disease-free status is highlighted in green. *The rhTSH stimulation test can be avoided if the basal thyroglobulin level is <0.1–0.3 µg/l, measured with an ultrasensitive assay. †Another rhTSH stimulation test for thyroglobulin can be considered after 5 years. Abbreviations: dWBS, diagnostic whole-body scan; fT₄, free T₄; ¹³¹I, radioiodine; ptWBS, post-therapeutic whole-body scan; rhTSH, recombinant human TSH; Tg, thyroglobulin; TgAb, thyroglobulin antibodies.

Advances in the follow-up of differentiated or medullary thyroid cancer. R. Elisei and A. Pinchera, Nat. Rev. Endocrinol. 8, 466-475 (2012).⁹

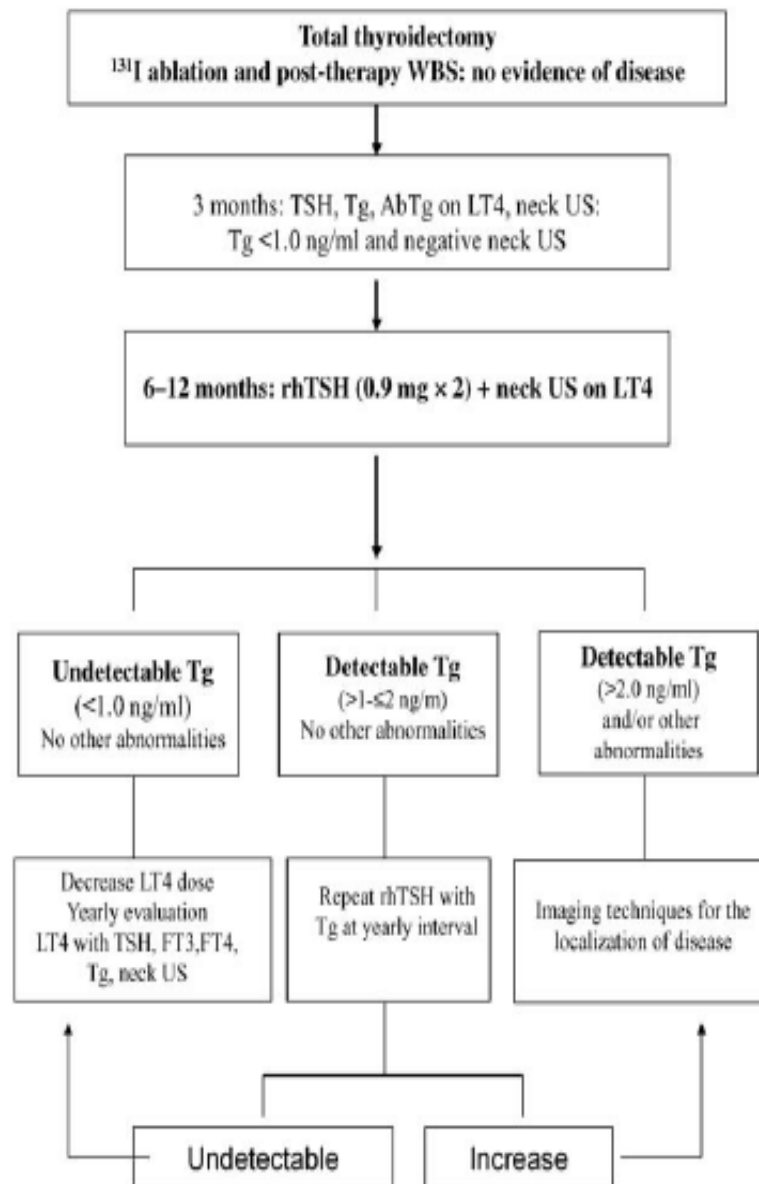
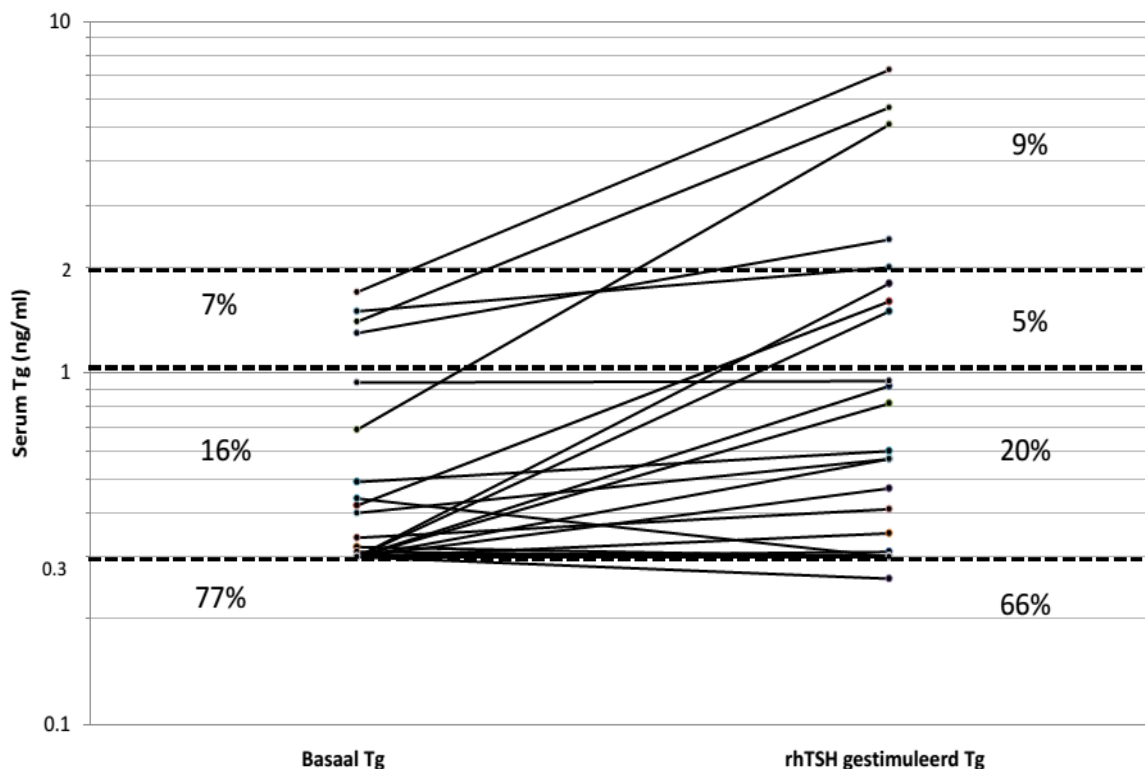


Figure 1 Diagnostic algorithm based on the measurement of both basal and rhTSH-stimulated serum thyroglobulin at the time of the first control post-initial treatment (6-12 months) in patients with differentiated thyroid carcinoma (DTC) [7, 8].

Thyroid cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. F. Pacini et al., *Annals of oncology* 23, vii 110 – vii 119 (2012).¹

Attachment 2



Relatie tussen basaal Tg en rhTSH Tg in afwezigheid van Tg-antistoffen bij 56 patiënten in de follow-up van DTC. (Jessa ziekenhuis).

Attachment 3

Assay	Author	Cases (n)	Sens	Spec	Accur	PPV	NPV
Access hsTg	<i>Iervasi et al.</i>	160	100%	90%	91%	35%	100%
	<i>Malandrino et al.</i>	425	92%	84%	85%	35%	99%
	<i>Schlumberger et al.</i>	831	94%	69%	71%	25%	99%
	<i>Smallridge et al.</i>	130	92%	74%	77%	44%	97%
	<i>Spencer et al.</i>	1029	99%	80%	84%	57%	100%
	Pooled data			97% (94%-98%)	77% (75%-79%)	80% (78%-82%)	42% (38%-45%)

Diagnostische performantie van basale Tg waarde (positief >0.1 µg/L) voor twee Access hsTg-assays met de rhTSH gestimuleerde Tg bepaling als referentie (positief >2 µg/L).⁷

