

PSA en el Laboratorio

PSA in the Laboratory

Lic. Margarita Porta*

La necesidad de alcanzar altos estándares en salud a un costo razonable ha promovido, sobre todo en países desarrollados, la elaboración de guías prácticas que uniformizan tratamientos para que todo paciente pueda recibir la atención adecuada acorde a su patología. Dichas guías, fundamentadas en la Medicina Basada en la Evidencia, son revisadas y actualizadas periódicamente para poder cumplir con su objetivo, pese a lo cual cuentan con la desventaja de la rigidez que muchas veces atenta contra el juicio subjetivo propio de la *medicina* clínica. Cuando, en cambio, se trata del *laboratorio* clínico, el establecer guías de aplicación generalizada requiere mayores esfuerzos de organización, a pesar de tratarse de un ámbito más objetivo.¹

En los últimos 10 años, la medición de marcadores tumorales pasó del ámbito exclusivo de los especialistas a las plataformas de rutina de los laboratorios. Esto llevó a diferentes organizaciones internacionales, tanto de los Estados Unidos como de Europa, a preparar recomendaciones para el correcto empleo e interpretación de los mismos.

Los actuales criterios establecidos por distintas asociaciones en cuanto al uso del PSA se transcriben en la Tabla 1.

Tabla 1²

Recomendaciones sobre el uso del PSA	Asociaciones Internacionales						
	ACBI	ACS	AJCC	AUA	EAU	EGTM	NACB
1. Como screening de ca. prostático (con DRE)	NR	R(a)		R(a)		R(b)	
2. Como ayuda diagnóstica en ca. de próstata (con DRE)	R	R		R	R	R	R
3. Como factor pronóstico en ca. de próstata	NR	R	NR(c)				R
4. Para seguimiento posdiagnóstico	R	R			R		R(d)

Referencias: ACBI (Asoc. Bioq. Irlandesa), ACS (Asoc. Americana del Cáncer), AJCC (Junta Am. de Comités de Cáncer), AUA (Asoc. Am. de Urología), EAU (Asoc. Europea de Urología), EGTM (Grupo Europeo de Marcadores Tum.), NACB (Acad. Nacional de Bioq. Clínica).

R: recomendado, NR: no recomendado.

(a): Anualmente en hombres a partir de los 50 años y con por lo menos 10 años de expectativa de vida.

(b): A demanda.

(c): La determinación del estadio por el sistema TNM podría ser mejorada con el agregado del PSA y el score de Gleason. El incremento del PSA ya es igualmente de utilidad en pacientes TIC biopsiados y asintomáticos.

(d): Si hubiera terapias adicionales en caso de incremento del PSA.

* Diseño y Desarrollo, Programa Buenos Aires de Control de Calidad Externo- CEMIC, Buenos Aires, Argentina

Sin dudas, el PSA es el mejor de los marcadores tumorales disponible en la actualidad; continuos desarrollos en torno al mismo y sus variantes (libre, complejo, etc.) apuntan a seguir optimizando su poder diagnóstico.

Pero cuando hablamos del dosaje plasmático de PSA, necesariamente debemos abordar la problemática del laboratorio clínico y más específicamente lo que se refiere a la calidad de la determinación. En este terreno podemos identificar distintas etapas: preanalítica, analítica y posanalítica, aplicándose en cada una de ellas conceptos de Calidad y de Aseguramiento de la Calidad, dentro de un marco actualmente denominado como Calidad Total.

No nos dedicaremos aquí a la etapa preanalítica, en la que se contemplan desde aspectos administrativos de identificación correcta de la muestra hasta su apropiada recolección y conservación, sino que abordaremos las etapas analítica y posanalítica que incluyen los aspectos metodológicos en sí mismos, como también aquellos relacionados con la valoración de los resultados obtenidos por la metodología empleada.

ETAPAS ANALÍTICA Y POSANALÍTICA: CALIDAD DE ANÁLISIS CONTROLADA

La confiabilidad de los resultados de un laboratorio depende de la atención que éste dedica al control de calidad tanto interno (dentro del laboratorio) como externo (respecto de otros laboratorios).

I. Control de Calidad Interno o IQC (Internal Quality Control):

El Control de Calidad Interno apunta a la precisión con que es realizado un análisis. Este control se lleva a cabo por análisis repetido de las llamadas Muestras Control, que son adquiridas comercialmente o bien preparadas por el mismo laboratorio. Se busca que estas muestras se asemejen lo más posible a la de los pacientes, tanto en consistencia (acidez, matriz proteica, contenido de iones, densidad, etc.) como en concentración (en relación con el rango clínico medible: en general se trabaja en dos niveles, uno alto y otro bajo). El laboratorio realiza el análisis repetido de dichas muestras y obtiene un valor promedio $\pm 1SD$, $\pm 2SD$ y $\pm 3SD$, que representa los límites de tolerancia de esas muestras para una determinación dada (ej. PSA). Una vez fijados estos límites, las Muestras Control son analizadas con cada tanda de muestras de pacientes, verificándose que los resultados de dichos Controles cumplan con ciertas reglas. A modo de ejemplo diremos que algunas de estas Reglas, incluidas en el protocolo de *Westgard*, son: a) la regla denominada 2_{2SD} que no se cumple si 2 resultados consecutivos del control sobrepasan los 2 SD respecto del valor promedio, indicando la presencia de un error sistemático, b) la regla 4_{1SD} que no se cumple cuando 4 resultados consecutivos del control quedan a $+1SD$ o $-1SD$,

indicando la necesidad de revisar reactivos o la calibración del equipo. El cumplimiento de estas y otras reglas similares asegurarán la reproducibilidad de un determinado análisis dentro del laboratorio.

La reproducibilidad del resultado de un examen de laboratorio cobra especial importancia en el caso de los marcadores tumorales como el PSA, ya que determinaciones periódicas en un enfermo se utilizan para confeccionar una "curva de evolución" sobre la cual se tomarán decisiones terapéuticas.

II. Control de Calidad Externo o EQC (External Quality Control)

La Calidad Externa se refiere al comportamiento del laboratorio dentro de la población de laboratorios. Para evaluarla el laboratorio se inscribe como participante de lo que se denomina un Programa de Control de Calidad Externo ó EQAS (*External Quality Assessment Scheme*). De este modo, una misma muestra es repartida entre los laboratorios participantes; ésta es analizada y su resultado remitido al centro de cómputos del EQAS. Los resultados son clasificados de acuerdo con el tipo de equipo utilizado. Para cada tecnología se calcula la $Media_T \pm SD_T$, y se la compara con la distribución general de todos los resultados ($Media_G \pm SD_G$). Este proceso se repite a lo largo del año mediante el envío y análisis de diferentes muestras. Programas de este tipo permiten evaluar y comparar las distintas tecnologías disponibles en el mercado para cada test diagnóstico. También y simultáneamente, pero de modo confidencial, es evaluado el desempeño de cada laboratorio participante.

Grado de concordancia entre tecnologías

Los tests diagnósticos, tanto manuales como automatizados, para la medición de moléculas en plasma como el PSA, implican desarrollos tecnológicos complejos.

Varios son los factores que influyen en la armonización de resultados provenientes de tecnologías diferentes. Uno de ellos es la posibilidad de emplear Estándares de Referencia unificados, o sea, preparaciones únicas de referencia internacional, que constituyen algo semejante a lo que se conoce como "medidas patrón". Así desde 1999, la Organización Mundial de la Salud adoptó los primeros Estándares Internacionales para PSA Total y Libre. En la medida en que los fabricantes de equipos diagnósticos consideren estos estándares para la calibración, se podrá obtener una mejora en la comparabilidad de los resultados.

Otros factores a nivel tecnológico que también afectan la armonización de resultados son los diferentes tipos utilizados de: anticuerpos, señales (radiactividad,

color, quimioluminiscencia, etc.), etapas del test etc., que forman parte del diseño tecnológico. En el caso de los inmunoensayos (utilizados en el análisis de hormonas y marcadores tumorales) el principio primario radica en la reacción antígeno – anticuerpo donde la especie de interés (ej. PSA) actúa como antígeno que es reconocido por anticuerpos desarrollados artificialmente (ej anticuerpos monoclonales) en un medio *in vitro*. Así funciona la tecnología manual DPC IRMA, donde la reacción *in vitro* se realiza en un tubo recubierto por un anticuerpo contra PSA y la señal reveladora consiste en otro anticuerpo contra otro sector del antígeno PSA, pero marcado con radiactividad. Este tipo de diseño se denomina “sandwich” y si bien es el mismo que utiliza la técnica automatizada Elecsys, ésta se diferencia de la anterior en que el soporte ya no es un tubo sino partículas a las cuales el anticuerpo monoclonal está unido por un “puente” entre dos sustancias, una en la partícula (streptavidina) y otra en el anticuerpo (biotina). Otra diferencia es el tipo de señal reveladora que en la técnica Elecsys no es radiactiva sino de tipo electroquimioluminiscente generada mediante la unión de otro anticuerpo específico contra PSA, pero marcado con un complejo de rutenio que se activa al tener lugar una diferencia de potencial lumínico.

En teoría, si la especie a determinar es una, cualquier sistema diseñado para tal fin debiera ser equivalente. En la práctica, y más tratándose de muestras biológicas, según sean los componentes del diseño se obtendrán tecnologías que no necesariamente serán intercambiables entre sí. En la Figura 1 se muestran los resultados de una misma muestra obtenidos mediante diferentes tecnologías. Los datos fueron extraídos del Programa

Buenos Aires de Control de Calidad Externo en Análisis Clínicos (CEMIC) y corresponden a los resultados informados para una de las muestras de PSA, cuyo valor promedió los 12 ng/ml.

Cambio de tecnología

Por lo antes dicho, es buena práctica de laboratorio dejar asentado en el informe mismo, cualquier cambio de tecnología con respecto al test diagnóstico en cuestión. Es más, es aconsejable considerar un período de transición durante el cual figuren los resultados para la misma muestra obtenidos por ambas tecnologías, la nueva y la anterior.

Composición de la muestra

Las muestras de suero o plasma donde la especie a determinar puede estar libre o complejada, como el PSA, es a veces un factor de discrepancia entre tecnologías. Esto se debe a que las formas libres y complejadas aún de la misma especie, no tienen idéntica reacción con el anticuerpo utilizado por el equipo diagnóstico. Entonces, la proporción en que se presentan ambas formas deja de ser indiferente.

Para visualizar este aspecto se presenta a continuación un estudio realizado en el laboratorio del CEMIC, donde se tomaron alrededor de 90 muestras de pacientes a las que se les determinó PSA Total y Libre, simultáneamente por dos tecnologías diferentes. Se seleccionaron luego sólo aquellas muestras cuyos valores de PSA Total pertenecían al rango de 0 a 12 ng/ml (n=74) y se las dividió en 2 grupos: L/T <0,19 y >0,19.

En los Gráficos 1 y 2 se muestran los resultados obtenidos: muestras con iguales niveles de PSA Total pero diferente proporción de la forma libre, dan una respuesta distinta según la tecnología empleada.

La pendiente de la recta de correlación obtenida con el grupo de muestras con L/T >0,19 fue superior que cuando L/T <0,19, lo que indicaría una diferencia de afinidad entre ambas tecnologías por la forma libre. Esto queda expresado en el Gráfico 2, en el cual la recta de correlación para ambas tecnologías con L/T <0,19 que se muestra con una línea gruesa, tiene una pendiente diferente a la recta de correlación con L/T >0,19 que se muestra en trazo fino. En otras palabras, el grado de correlación entre las tecnologías Elecsys y Axym varía según la proporción de PSA libre que contiene la muestra. Este distinto comportamiento frente a la forma libre también fue comunicado por otros autores^{3,4} para otras tecnologías del mercado. Para minimizar este tipo de discrepancias, internacionalmente se buscó desarrollar patrones de referencia con niveles variables de PSA Total manteniendo L/T = 10%.⁵

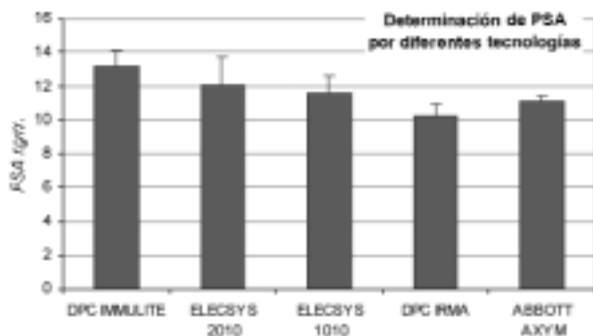


Figura 1. Determinación de PSA por diferentes tecnologías. Valores de PSA (Media+SD) obtenidos por distintas tecnologías cada una utilizada por más de 10 laboratorios, quienes a su vez procesaron la muestra en 4 oportunidades diferentes. Las tecnologías corresponden a métodos automatizados salvo el indicado como DPC IRMA. DPC IMMULITE se diferencia significativamente ($p < 0,05$) de DPC IRMA y de AXYM, no así de las tecnologías ELECSYS.

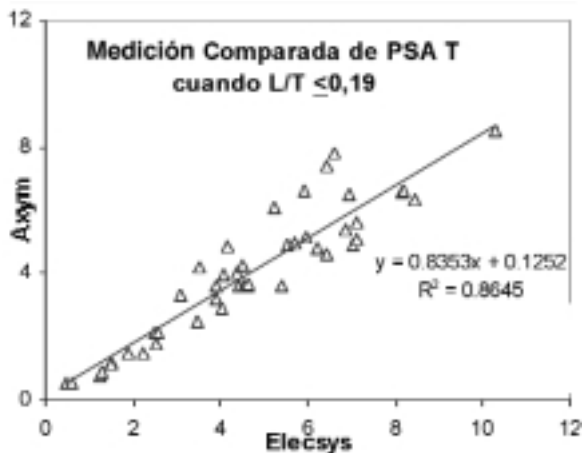


Gráfico 1

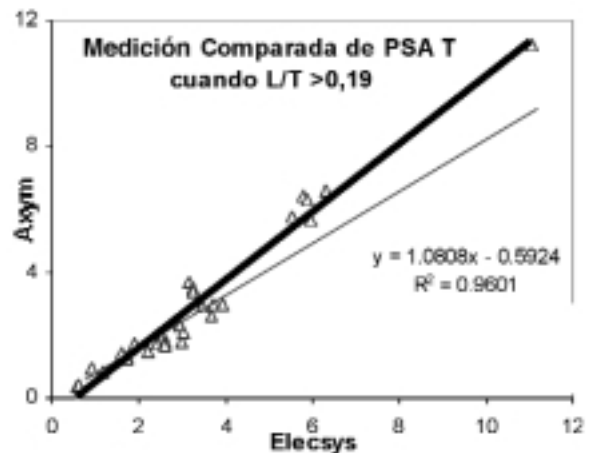


Gráfico 2

Figura 2. Medición Comparada de PSA Total cuando $L/T < 0,19$ y $L/T > 0,19$. En los ejes se representan los niveles de PSA Total en ng/mL. Se trazaron las rectas de correlación entre las tecnologías AXYM y ELECSYS 2010 para PSA $< 0,19$ y para PSA $> 0,19$. En el Gráfico 2 se agregó, en trazo fino, la recta de correlación del Gráfico 1.

CONCLUSIONES

Habría dos pilares sobre los cuales se asienta la confiabilidad de los resultados del laboratorio, ya sea del PSA o de cualquiera otra determinación: uno referido a la calidad de la metodología empleada y otro, a la calidad con que el laboratorio hace uso de esa metodología. A pesar de que el avance tecnológico alentado por la necesidad clínica apuntará seguramente a una mayor armonización de metodologías, esto no minimizará el importante rol del laboratorio en torno a la calidad última del resultado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sturgeon, C M.: Tumor markers in the laboratory: closing the guideline-practice gap. *Clin. Biochem.*; 34: 353-359, 2001.
2. Sturgeon, C M.: Practice Guidelines for Tumor Marker Use in the Clinic. *Clin. Chem.*; 48(8): 1151-1159, 2001.
3. Blasea AB, Sokoloff RL y Smith KM.: Five PSA Methods Compared by Assaying Samples with Defined PS Ratios. *Clin. Chem.*; 43: 843-845, 1997.
4. Fox MP, Reilly AA and Schneider E.: Effect of the Ratio of Free to Total Prostate-specific Antigen on Interassay Variability in Proficiency Test Samples. *Clin. Chem.*; 45 (8): 1181-1189, 1999.
5. Rafferty B, Rigsby P, Rose M, Stamey T y Gaines Das R.: Reference Reagents for Prostate-specific Antigen (PSA): Establishment of the First International Standards for Free PSA and PSA (90:10). *Clin. Chem.*; 46: 1310-1317, 2000.

Agradecimientos

A la Lic. Marta Torres (Programa Buenos Aires de Control de Calidad Externo-CEMIC) y al Bioq. Jorge Dadone (Laboratorio-CEMIC) por facilitarme el acceso a las bases de datos correspondientes.