

Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Christian G. Stief

**Freisetzungsmuster onkologischer Biomarker beim
Prostatakarzinom**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Frank Strittmatter
aus
Dachau
2009

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
Der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. Raphaela Waidelich

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Martin Dreyling
Prof. Dr. Rolf Harzmann

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 07.05.2009

Meinen Eltern

| | | |
|-----------|--|-----------|
| I | Einleitung und Fragestellung..... | 1 |
| I.1 | Epidemiologie des Prostatakarzinoms | 1 |
| I.2 | Einteilung des Prostatakarzinoms | 2 |
| I.2.1 | Stadieneinteilung des Prostatakarzinoms nach der TNM-Klassifikation..... | 2 |
| I.2.2 | Tumorgraduierung des Prostatakarzinoms..... | 4 |
| I.2.2.1 | WHO-Grading | 4 |
| I.2.2.2 | Grading nach Gleason | 4 |
| I.3 | Diagnostik des Prostatakarzinoms | 4 |
| I.3.1 | Digital-rektale Untersuchung | 5 |
| I.3.2 | Tumormarker und ihre klinische Anwendung | 6 |
| I.3.3 | Prostata-spezifisches Antigen (PSA) | 7 |
| I.4 | Andere onkologische Biomarker..... | 9 |
| I.4.1 | Alpha 1-Fetoprotein (AFP) | 10 |
| I.4.2 | Alkalische Phosphatase (AP) | 10 |
| I.4.3 | Cancer Antigen 125 (CA 125) | 11 |
| I.4.4 | Cancer Antigen 15-3 (CA 15-3)..... | 11 |
| I.4.5 | Carbohydrate Antigen 19-9 (CA 19-9) | 12 |
| I.4.6 | Cancer Antigen 72-4 (CA 72-4)..... | 12 |
| I.4.7 | Carcinoembryonales Antigen (CEA) | 13 |
| I.4.8 | CYFRA 21-1 | 13 |
| I.4.9 | Intaktes humanes Choriongonadotropin + β -Untereinheit (hCG+ β) | 14 |
| I.4.10 | Neuron-spezifische Enolase (NSE)..... | 15 |
| I.4.11 | Lactatdehydrogenase (LDH)..... | 15 |
| I.4.12 | C-reaktives Protein (CRP)..... | 16 |
| I.5 | Zielsetzung und Fragestellung | 17 |
| II | Material & Methodik..... | 19 |
| II.1 | Patientenkollektiv..... | 19 |
| II.1.1 | Gruppe der Patienten mit Benigner Prostatahyperplasie..... | 19 |
| II.1.2 | Gruppe der Patienten mit einem Prostatakarzinom..... | 20 |
| II.1.3 | Ausschlusskriterien | 21 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| II.1.4 | Serumproben | 22 |
| II.2 | Messmethodik | 22 |
| II.2.1 | Verwendete Messgrößen und Messverfahren | 22 |
| II.2.1.1 | Testprinzip zur Bestimmung von tPSA..... | 23 |
| II.2.1.2 | Testprinzip zur Bestimmung von fPSA, AFP, CA-125, CA 15-3, Ca 19-9, CA 72-4, CEA, CYFRA 21-1, hCG β und NSE..... | 24 |
| II.2.1.3 | Testprinzip cPSA-Bestimmung..... | 24 |
| II.2.1.4 | Testprinzip AP-Bestimmung..... | 25 |
| II.2.1.5 | Testprinzip LDH-Bestimmung..... | 25 |
| II.2.1.6 | Testprinzip CRP-Bestimmung | 26 |
| II.3 | Auswertungsmethodik..... | 26 |
| III | Ergebnisse | 28 |
| III.1 | Univariate Analyse..... | 28 |
| III.1.1 | Univariate Analyse einzelner Biomarker | 28 |
| III.1.2 | Univariate Analyse einzelner Biomarker in verschiedenen tPSA-Bereichen | 45 |
| III.1.3 | Univariate Analyse von tPSA, cPSA, f/tPSA, c/tPSA und Graduierung..... | 51 |
| III.1.4 | Korrelation von Biomarkern | 53 |
| III.2 | Multivariate Analyse mit Hilfe der logistischen Regression | 55 |
| IV | Diskussion | 60 |
| IV.1 | PSA-Screening ja oder nein? | 60 |
| IV.2 | Diskussion der Methodik | 62 |
| IV.2.1 | Diskussion des Patientenkollektivs und der Ausschlusskriterien | 62 |
| IV.2.2 | Diskussion der Messverfahren | 63 |
| IV.2.3 | Anforderungen an Biomarker und ihre diagnostischen Gütekriterien | 63 |
| IV.3 | Diskussion der Ergebnisse | 65 |
| IV.3.1 | Univariate Analyse..... | 65 |
| IV.3.1.1 | tPSA, cPSA, f/tPSA und c/tPSA im Gesamtkollektiv | 66 |
| IV.3.1.2 | tPSA, cPSA, f/tPSA und c/tPSA in verschiedenen Werte-Bereichen von tPSA | 69 |
| IV.3.1.3 | tPSA, cPSA, f/tPSA und c/tPSA in Bezug auf Tumorstadium und -graduierung..... | 71 |
| IV.3.1.4 | Andere Biomarker und ihr Verteilungsmuster | 72 |
| IV.3.2 | Multivariate Analyse | 79 |

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-----------|---|------------|
| IV.3.3 | Ausblick | 81 |
| IV.3.4 | Zusammenfassung..... | 84 |
| V | Literaturverzeichnis..... | 87 |
| VI | Anhang | 101 |
| VI.1 | Veröffentlichte Teilaspekte der Arbeit..... | 101 |
| VI.2 | Danksagung..... | 103 |
| VI.3 | Lebenslauf..... | 104 |

I Einleitung und Fragestellung

I.1 Epidemiologie des Prostatakarzinoms

Mit Ausnahme von bösartigen Hauterkrankungen ist das Prostatakarzinom (PC) der häufigste maligne Tumor des Mannes. Obwohl im Vergleich zu anderen Malignomen nur 10% der Betroffenen an ihrer Erkrankung sterben, ist das PC die zweithäufigste tumorbedingte Todesursache nach dem Bronchialkarzinom (Rinnab et al. 2005). Im Bereich der urologischen Tumore stellt das PC die häufigste tumorbedingte Todesursache dar.

Das Spektrum des PCs reicht von einem mikroskopisch gut differenzierten Karzinom, welches klinisch keine große Bedeutung besitzt, bis hin zu einem sehr aggressiven Karzinom mit großem invasivem und metastasierendem Potential.

Der Häufigkeitsgipfel des PCs liegt in der 7. bis 8. Lebensdekade und steigt von 20/100000 bei den 55-Jährigen auf 500/100000 bei den 85-Jährigen. Vor dem 40. Lebensjahr wird das PC praktisch klinisch nie diagnostiziert. Betrachtet man die in der Literatur angegebene Häufigkeit des PCs, so sieht man, dass die Inzidenz im Laufe der letzten Jahre kontinuierlich angestiegen ist. Im Jahre 2005 rechnete die „American Cancer Society“ in den USA mit 232090 neu diagnostizierten Tumor- und 30350 Todesfällen. Im Vergleich dazu waren es im Jahre 2004 noch 230.110 neue PC-Fälle mit einer angegebenen Mortalität von 29.500 (Jemal et al. 2005). Allein in Deutschland wurde im Jahr 2001 von über 20.000 Neuerkrankungen und ca. 11.000 Sterbefällen pro Jahr durch Parkin et al. berichtet (Parkin et al. 2001). Keuler und Altwein rechneten dagegen 2002 bereits mit 32.000 bis 38.000 Neuerkrankungen in Deutschland pro Jahr (Keuler and Altwein 2002), wobei mittlerweile von einer Anzahl von ca. 40.600 Neuerkrankungen pro Jahr ausgegangen werden muss (Rinnab et al. 2005). Eine sehr viel größere Anzahl an Prostatakarzinomen wird klinisch nicht auffällig, wie bei einer Autopsiestudie gezeigt werden konnte. Dort fand man bei 1/3 aller Männer unter 80 Jahren und bei 2/3 der Männer über 80 Jahren ein Karzinom (Dorr et al. 1993). Eine andere Autopsiestudie zeigte, dass bei Männern im Alter zwischen 20 und 40 Jahren bereits bei 29% und im Alter von 60 bis 70 Jahren bei 64% ein latentes PC vorlag (Sakr et al. 1994).

Der Grund für die zunehmende Inzidenz des PCs liegt einerseits sicherlich in der demographischen Veränderung der Alterspyramide in den westlichen Industrieländern, andererseits aber auch in der verbesserten Frühdiagnostik mit Hilfe des Prostata-spezifischen Antigens (PSA) (Farkas et al. 1998). So ist insbesondere die Detektion von

Prostatakarzinomen bei Männern unter 65 Jahren signifikant gestiegen (Rinnab et al. 2005). Richtet man sein Augenmerk auf die zunehmende Inzidenz in den letzten Jahren, so wird klar, dass das PC nicht nur ein großes medizinisches Problem, sondern auch eine nicht zu vernachlässigende soziale wie auch ökonomische Konsequenz mit sich führt.

Die Überlebensrate von Patienten mit PC ist vor allem von der Ausbreitung zum Zeitpunkt der Diagnose abhängig. Während die 10-Jahres-Überlebensrate bei Patienten mit einem auf die Prostata beschränkten Tumor noch 75% beträgt, fällt diese bei einer regionalen Ausbreitung auf 55% oder bei Metastasierung auf 15% ab (Kramer et al. 1993).

Das organbegrenzte Prostatakarzinom ist kurativ therapierbar. Die Behandlungsmöglichkeiten des organbegrenzten PCs sind operativ (radikale Prostatektomie) oder strahlentherapeutisch (perkutan oder interstitielle Radiatio). Die Prognose nach kurativer Therapie ist gut. Dagegen ist das PC im fortgeschrittenen Stadium meist nicht heilbar. Da das PC jedoch in der Regel erst in den fortgeschrittenen Stadien zu Beschwerden wie Obstruktion, Miktionsirritation und Knochenschmerzen führt, während lokal begrenzte Prostatakarzinome asymptomatisch bleiben, kommt Vorsorgeuntersuchungen zur Tumorfrüherkennung eine entscheidende Bedeutung zu. Trotz der steigenden Inzidenz und Mortalitätsrate nehmen mit ca. 10-15% immer noch zu wenige Männer an der seit 1974 gesetzlich verankerten Vorsorgeuntersuchung ab 45 Jahren teil.

I.2 Einteilung des Prostatakarzinoms

Entsprechend anderer Tumorentitäten spielt die makroskopische und mikroskopische Stadieneinteilung des PCs für die Behandlungsstrategie und die Prognose der Patienten eine wichtige Rolle. Hierfür kommen klinisch insbesondere die TNM-Klassifikation zur makroskopischen Stadieneinteilung sowie das Grading der WHO (World Health Organisation) und das Gleason-Grading zur mikroskopischen Tumorgraduierung zum Einsatz.

I.2.1 Stadieneinteilung des Prostatakarzinoms nach der TNM-Klassifikation

Eine Stadieneinteilung des PCs erfolgt in Deutschland nach dem 1997 von der UICC (Union Internationale Contre le Cancer) und dem AJCC (American Joint Committee on Cancer) erarbeiteten TNM-System in einer überarbeiteten Fassung von 2002 (s. Tab.1) (UICC 1997). Bei dieser Einteilung werden die Ausdehnung des Primärtumors (T= Tumor), der regionären Lymphknoten (N= Nodi lymphatici) und der Fernmetastasen (M= Metastasen) berücksichtigt. Es handelt sich hierbei zunächst um eine klinische Einteilung, die mit einem cTNM-Stadium (c= clinical) beschrieben wird. Diese Einteilung erfolgt durch die körperliche Untersuchung

mittels digital-rektaler Palpation, die transrektale Sonographie, Biopsieentnahme aus der Prostata und durch die Bildgebung (CT, MRT). Eine endgültige Stadieneinteilung erfolgt nach der genauen histopathologischen Untersuchung des Operationspräparates durch die Pathologie und kommt im pTNM-Stadium (p = pathological) zum Ausdruck.

| Definition der T- Kategorien (Primärtumor) | |
|---|--|
| TX | Primärtumor nicht bestimmbar |
| T0 | Kein Hinweis auf Primärtumor |
| T1 | Klinisch inapparenter Tumor, nicht palpabel oder durch bildgebende Verfahren nachweisbar |
| T1a | Inzidenteller Tumor: histologisch in 5% oder weniger des Resektionsgewebes nachweisbar |
| T1b | Inzidenteller Tumor: histologisch in mehr als 5% des Resektionsgewebes nachweisbar |
| T1c | Tumor identifiziert durch Nadelbiopsie bei z.B. erhöhtem PSA-Wert |
| T2 | Tumor beschränkt auf die Prostata |
| T2a | Tumor erfasst einen Seitenlappen mit weniger als 50% |
| T2b | Tumor erfasst einen Seitenlappen mit mehr als 50% |
| T2c | Tumor erfasst beide Seitenlappen |
| T3 | Tumor überschreitet die Prostatakapsel |
| T3a | Extrakapsulärer Tumor |
| T3b | Tumor infiltriert die Samenblase(n) |
| T4 | Tumor ist fixiert oder infiltriert benachbarte Strukturen |
| Definition der N-Kategorien (Lymphknotenstatus) | |
| NX | Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden |
| N0 | Kein Anhalt für regionäre Lymphknotenmetastasen |
| N1 | Regionärer Lymphknotenbefall |
| Definition der M-Kategorien (Metastasen) | |
| MX | Fernmetastasen können nicht beurteilt werden |
| M0 | Kein Anhalt für Fernmetastasen |
| M1 | Fernmetastasen |
| M1a | Extraregionärer Lymphknotenbefall |
| M1b | Knochenmetastasen |
| M1c | Andere Manifestation |

Tab. 1: TNM-Klassifikation des PCs (UICC 2002)

I.2.2 Tumorgraduierung des Prostatakarzinoms

Beim Grading des PCs kommt neben dem Grading nach der WHO zunehmend auch das Gleason-Grading zum Einsatz.

I.2.2.1 WHO-Grading

Das Grading des PCs wurde 1975 von Mostofi basierend auf den Erkenntnissen von Broders (1926) getroffen und 1980 von der WHO übernommen (s. Tab.2). Die Einteilung erfolgt hierbei gemäß der Differenzierung des Tumorgewebes in drei Tumorgrade, wobei Grad 1 gut differenziert, Grad 2 mäßig und Grad 3 schlecht differenziert bedeutet (Mostofi 1975; Mostofi 1980).

| WHO-Grading | |
|-------------|--|
| GX | Differenzierung kann nicht bestimmt werden |
| G1 | Gut differenziert |
| G2 | Mäßig differenziert |
| G3 | Schlecht differenziertes oder undifferenziertes Karzinom |

Tab. 2: WHO-Differenzierungsgrade des PCs nach UICC

I.2.2.2 Grading nach Gleason

Bei dem Grading nach Gleason (Gleason und Mellinger 1974, 2002) werden der strukturelle Karzinomaufbau, die glanduläre Differenzierung und die Beziehung von Drüsen der Prostata zum Stroma bewertet. Hier werden ein primäres und ein sekundäres Differenzierungsmuster unterschieden. Eine Differenzierung erfolgt in jeweils 5 Klassen, die anschließend miteinander addiert werden. So können sich Werte von $1+1=2$ bis $5+5=10$ ergeben. In Hinsicht auf die Prognose sind Prostatakarzinome mit einem Gleason- Score von ≥ 7 prognostisch signifikant ungünstiger als Prostatakarzinome mit einem Gleason- Score von < 7 . Prostatakarzinome mit einem Gleason- Score von 5-7 werden im Grading der WHO als Grad 2 zusammengefasst. Bei mäßig differenzierten Prostatakarzinomen hat demnach das Gleason-Grading eine differenziertere prognostische Aussagekraft (Jocham und Miller 2003). Das Grading- System nach Gleason ist in den USA am gängigsten und wird auch in Europa immer häufiger verwendet.

I.3 Diagnostik des Prostatakarzinoms

Zum Nachweis eines PCs bedient man sich heute in der Klinik mehrerer Untersuchungsverfahren, die sich zum Teil mit den Staginguntersuchungen überschneiden.

Den Goldstandard zur Detektion eines PCs stellen die Kombination aus digital-rektaler Untersuchung (DRU) und Bestimmung des Prostata-spezifischen Antigens (PSA) dar. Bei suspektem Tastbefund oder erhöhtem PSA-Wert über den vom Testverfahren abhängigen Richtwert ist eine transurethrale Sonographie mit gezielter Entnahme von Prostatagewebe zur Diagnosesicherung indiziert (Heidenreich et al. 2008). Zusätzlich kommt beim Staging noch die Knochenszintigraphie zum Einsatz. Diese Verfahren können durch Computertomographie (CT) und Kernspintomographie (MRT) ergänzt werden. Bei der Kernspintomographie spielt zunehmend die Endorektalspule eine bedeutende Rolle. Bei der Diagnostik des PCs unterscheiden sich die genannten Verfahren jedoch deutlich hinsichtlich ihrer Spezifität und Sensitivität. Um sowohl die Spezifität als auch die Sensitivität zu erhöhen, werden in der Klinik die einzelnen Untersuchungsverfahren daher miteinander kombiniert.

Wie eingangs erwähnt, ist das prinzipielle Problem beim PC, dass Beschwerden wie z.B. Miktionsirritationen erst in fortgeschrittenen Stadien auftreten und den Symptomen anderer Erkrankungen wie z.B. einer benignen Prostatahyperplasie (BPH) gleichen können. Da aber für die Prognose der Patienten ein therapeutisches Eingreifen in einem möglichst frühen Tumorstadium entscheidend ist, kommt den Untersuchungen zur Früherkennung des PCs eine besondere Rolle zu. Hier haben vor allem die digital-rektale Untersuchung und die Bestimmung des PSAs als Tumormarker einen besonderen Stellenwert und sollen daher im Folgenden dargestellt werden.

I.3.1 Digital-rektale Untersuchung

Die DRU sollte zur Früherkennung des PCs bei jeder körperlichen Untersuchung von Männern ab dem 45. Lebensjahr durchgeführt werden, da sie sowohl eine kostengünstige als auch eine relativ schnell durchzuführende Untersuchung darstellt. Dabei werden durch die tastenden Finger folgende Parameter beurteilt (Chodak et al. 1988):

- Gesamtgröße der Prostata
- Konsistenz
- Größe, Form und Lage einer eventuellen Induration innerhalb der Prostata
- Abgrenzbarkeit
- Symmetrie
- Verschieblichkeit der Rektumschleimhaut

In prospektiven Studien wurde eine Sensitivität der DRU mit 60-92% und eine Spezifität mit 48-89% angegeben (Jocham und Miller 2003). Ein Problem der DRU besteht darin, dass nur Prostatakarzinome aus der peripheren Zone (P-Zone) der Prostata palpiert werden können. Etwa 70% aller Prostatakarzinome befinden sich in dieser Zone und sind somit der DRU prinzipiell zugänglich. Etwa 20-30% der Karzinome sind in der Transitionalzone oder ventralen Zone anzufinden und können sich deswegen der DRU entziehen. Insbesondere kleine multifokale Läsionen mit aggressivem Potential werden häufig übersehen. Ebenso werden Kapselpenetrationen in über 70% der Fälle nicht entdeckt (Ebert et al. 1991). Studien haben ergeben, dass die alleinige PC-Findungsrate in einer Screeningpopulation durch die DRU bei 0,1-4% lag (Chodak 1989; Pedersen et al. 1990). Aufgrund der eingeschränkten Aussagekraft bezüglich der Ausdehnung und Kapselpenetration von Prostatakarzinomen sollte die DRU daher nicht als alleiniges Verfahren zur Früherkennung und vor allem zur Stadieneinteilung herangezogen werden. Obwohl sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität des PSAs höher ist, sollte trotzdem auf die DRU nicht verzichtet werden, da hierdurch auch PSA-negative Prostatakarzinome (10-15% der Fälle) entdeckt werden können.

I.3.2 Tumormarker und ihre klinische Anwendung

In der heutigen Zeit werden unter den sog. Tumormarkern oder auch onkologischen Biomarkern alle Substanzen zusammengefasst, die auf einen malignen Tumor hinweisen oder zu seiner Charakterisierung und zur Therapiesteuerung beitragen können. Bei den in dieser Arbeit gemessenen und diskutierten onkologischen Biomarkern handelt es sich um humorale Biomarker, die sich aus verschiedensten Bestandteilen zusammensetzen können. Dazu zählen Protein-, Lipid-, Glykolipid- und Kohlenhydratstrukturen mit differenzierbaren Epitopen, die in oder auf Tumorzellen oder in ihrer Umgebung gebildet werden. Sie werden als zirkulierende Antigene in Körperflüssigkeiten wie z. B. dem Serum gemessen. Eine grobe Einteilung der Antigene erfolgt in biosynthetisch abberrierende Vorstufen normaler Antigene, ontogenetisch alte, reaktivierte Antigene, hybridom-definierte Muzin-Substanzen und Zytokeratine (Lamerz und Stieber 2004). Der durch Gold und Freedman im Jahre 1965 beschriebene Test zur Bestimmung des Carcinoembryonalen Antigens bei Patienten mit nachgewiesenem Kolonkarzinom war der erste in der Geschichte der Tumormarkerbestimmung (Gold und Freedman 1965). Im klinischen Alltag finden die Tumormarker unterschiedlichen Einsatz. So werden die meisten onkologischen Biomarker zur Therapie- und Verlaufskontrolle sowie zur Prognoseeinschätzung eingesetzt. Tumormarker sind in der Regel nicht für Screeninguntersuchungen geeignet, da sie keine hundertprozentige Tumorspezifität und oft auch keine hundertprozentige Organspezifität besitzen. Eine

Ausnahme stellt derzeit das Prostata-spezifische Antigen dar, welches eine nahezu hundertprozentige Organspezifität aufweist und sich daher als Biomarker zur Früherkennung des PCs weltweit etabliert hat.

I.3.3 Prostata-spezifisches Antigen (PSA)

Das Prostata-spezifische Antigen wurde erstmals im Jahre 1973 von Li und Beling im Seminalplasma nachgewiesen, 1978 biochemisch durch Sensabaugh und Crim charakterisiert und 1979 von Wang aus dem Seminalplasma erfolgreich isoliert (Sensabaugh 1978; Wang et al. 2002). Es handelt sich um eine Glykoprotein-Serin-Protease mit einem Molekulargewicht von 30 bis 34 kDa, die aus einer einzelnen Polypeptidkette mit einem Kohlenhydratanteil von 7 Gewichtsprozent aufgebaut ist. Die physiologische Aufgabe von PSA besteht in einer Verflüssigung des Ejakulats (Henttu und Vihko 1994). Im Seminalplasma sind ca. 70% des PSAs frei und enzymatisch aktiv. Die restlichen 30% Prozent sind aufgrund der Aufspaltung ihrer Proteinstruktur inaktiv. Im Serum wird die proteolytische Wirkung von PSA durch die Bildung irreversibler Komplexe mit Proteaseinhibitoren inaktiviert. Hier finden sich als Proteaseinhibitoren alpha-1-Antichymotrypsin, alpha-2-Makroglobulin und andere Akute-Phase-Proteine (Lilja et al. 1991; Zhou et al. 1993). Der am häufigsten vorkommende Komplex mit alpha-1-Antichymotrypsin (ACT-PSA) besitzt ein Molekulargewicht von ca. 100 kDa. Durch den Inhibitor alpha-1-Antichymotrypsin werden 3 der insgesamt 5 Antikörperbindungsstellen maskiert. Aus diesem Grund bleibt nur ein Teil immunoreaktiv. Dieser Anteil entspricht etwa 60-95%.

Neben dieser komplexierten Form (cPSA) tritt auch freies PSA (fPSA) im Serum auf, welches dort im Gegensatz zum Seminalplasma jedoch proteolytisch inaktiv ist (Prestigiacomo und Stamey 1995; Zhang et al. 1995).

Signifikante Mengen von PSA werden fast ausschließlich von den Epithelzellen der Prostata gebildet. Deshalb kann von einer sehr großen Organspezifität ausgegangen werden. Eine geringe Menge wurde jedoch auch in den periurethralen Drüsen, den perianalen Drüsen, im Epithel der Mamma und im Endometrium des weiblichen Organismus identifiziert (Diamandis 1995).

Während im Seminalplasma Konzentrationen von 0,3–3 mg/ml nachgewiesen werden können, finden sich im Serum Konzentrationen, die mit 0,3-3 ng/ml um den Faktor 1000 niedriger sind. Nach Oesterling beträgt die Halbwertszeit von PSA im Serum 2-3 Tage (Oesterling 1991). Wird die Gewebsschranke zwischen Drüsenlumina und Gefäßsystem durch z.B. proliferatives Prostatawachstum durchbrochen, steigt der PSA-Wert im Serum über den

Normwert an. Aufgrund dieser Begebenheit besitzt das PSA trotz der hohen Organspezifität nur eine geringe Karzinomspezifität. So können nicht nur das PC, sondern auch eine benigne Prostatahyperplasie oder eine Prostatitis zu einer Erhöhung des PSA-Wertes im Serum führen. Darüber hinaus haben auch Manipulationen an der Prostata, wie sie z.B. durch die rektalen Untersuchungen, Zystoskopien, Koloskopien, transurethralen Biopsien, Laserungen, Ergometrien und Obstipation verursacht werden, erhöhte PSA-Werte zur Folge.

Die Expression von PSA steht unter genetischem Einfluss und wird von Testosteron/Dihydrotestosteron stimuliert, ein Umstand, der bei der Bestimmung von PSA und Interpretation der Werte ebenfalls berücksichtigt werden muss. So kann es bei Testosteronmangel, gleich welcher Ursache, Therapie mit LHRH-Analoga oder Antiandrogenen zu einer Verringerung der Serumkonzentration von PSA kommen. Diese Tatsache sollte auch im Rahmen der medikamentösen Behandlung einer BPH mit 5 α -Reduktasehemmern wie z.B. mit Finasterid (Proscar), welche die Umwandlung von Testosteron in Dihydrotestosteron hemmen, berücksichtigt werden. Bei der Therapie mit 5 α -Reduktasehemmern kommt es zu einem Abfall von PSA auf bis zu 50% (Chiu and Yong 2004).

Bei der Grenzwertinterpretation von PSA hat man sich weitgehend auf einen Cut-off-Wert von 4 ng/ml bei den meisten international angewandten Testverfahren geeinigt (Mettlin et al. 1991; Brawer et al. 1992; Catalona et al. 1993; Crawford et al. 1996), das heißt, dass Werte unter 4 ng/ml noch als „normal“ angesehen werden, während Werte über 4 ng/ml als Hinweis für ein eventuelles Karzinom gelten. Deswegen wird allgemein bei Werten >4 ng/ml zu einer Biopsieentnahme aus der Prostata geraten. Unabhängig davon schließen Werte unter 4 ng/ml das Vorhandensein eines PCs jedoch nicht aus. Bei einer alleinigen PSA-Bestimmung zum PC-Screening würde beispielsweise ein beträchtlicher Teil an pT2-Tumoren übersehen. Im Gegensatz dazu können Karzinome im Stadium T1c weder durch die DRU noch durch die TRUS diagnostiziert werden, da sie ausschließlich durch PSA-Erhöhung auffällig werden. Bei einem Trennwert von 4 ng/ml erreicht das PSA eine Sensitivität von 80-91% und eine Spezifität von 28-85%, (Brawer et al. 1998; Brawer et al. 2000; Chakrabarti et al. 2001).

Eine positive Korrelation besteht zwischen Tumorausbreitung und Höhe der PSA-Werte im Serum. Ein wichtiger Grenzwert liegt hier bei 10 ng/ml, bei dem sich nur noch ein Drittel der diagnostizierten Prostatakarzinome in einem organbegrenzten Stadium befinden (Kleer und Oesterling 1993). Geht man von einem Grenzwert von >50 ng/ml aus, sind bereits $\geq 93\%$ der Prostatakarzinome in einem organüberschreitenden Stadium. Zusätzlich korreliert der PSA-

Wert mit der Inzidenz von Lymphknotenmetastasen. Hier wird von einer Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen von Lymphknotenmetastasen von 1-8% bei PSA-Werten im Serum von <4 ng/ml, 5-12% bei Werten von 4-10 ng/ml, 18% bei Werten von 10-20 ng/ml, 25% bei Werten von 25-50 ng/ml und 52% bei PSA-Werten > 50 ng/ml berichtet (Jocham und Miller 2003).

Im Serum lassen sich neben dem Gesamt-PSA (tPSA) auch das komplexierte (cPSA) sowie das freie PSA (fPSA) durch verschiedenste Assays nachweisen. Ein gesonderter Nachweis dieser PSA-Fractionen hat in den letzten Jahren einen zunehmenden Stellenwert bei der Diagnose des PCs bekommen, da z.B. gezeigt werden konnte, dass insbesondere im Graubereich des tPSA von 4-10 ng/ml der Quotient fPSA/tPSA einen diagnostischen Vorteil aufweist (Thiel et al. 1996; Reiter et al. 1997). Die Bedeutung des cPSAs bei der Detektion eines PCs wird in der Literatur noch kontrovers diskutiert (Stenman et al. 1991; Jung et al. 2000; Tanguay et al. 2002). Wichtig bei der Interpretation der Werte ist, dass stets mit demselben Messverfahren gemessen wird. Dies gilt insbesondere für die Verlaufskontrolle, bei der PSA-Werte nach regelmäßigen Abständen beobachtet und somit mit Vorwerten verglichen werden. Für die einzelnen Messverfahren stehen international zahlreiche Testverfahren zu Verfügung mit teilweise unterschiedlichen Referenzbereichen. Aus diesem Grunde scheint eine Standardisierung der verschiedenen PSA-Assays sinnvoll (Semjonow et al. 1996; Kort et al. 2006).

I.4 Andere onkologische Biomarker

Wie bereits zuvor erwähnt, gibt es eine Vielzahl verschiedener onkologischer Biomarker, die derzeit in der klinischen Diagnostik zum Einsatz kommen. Unter anderem zählen dazu Marker wie das Alpha1-Fetoprotein, die Alkalische Phosphatase, Cancer Antigen 125, Cancer Antigen 15-3, Carbohydrate Antigen 19-9, Cancer Antigen 72-4, Carcinoembryonales Antigen, CYFRA 21-1, Intaktes humanes Choriongonadotropin + β -Untereinheit, Neuron-spezifische Enolase, Lactatdehydrogenase und CRP. Die meisten Biomarker lassen sich bei verschiedenen Tumorentitäten nachweisen und werden häufig in Kombination eingesetzt. Über den Nutzen eines Einsatzes der oben genannten Marker bei Patienten mit PC finden sich derzeit in der gängigen Literatur nur wenige Angaben. Bei manchen Markern wie z.B. dem CA 15-3 und der Alkalischen Phosphatase wird eine vermehrte Expression im Serum von Patienten mit PC diskutiert (Cooper 1991; Falsaperla et al. 2003). Bei anderen Markern wiederum liegen bislang keine Daten vor. Da in dieser Arbeit die einzelnen Marker in einem Kollektiv mit histologisch gesicherten Prostatakarzinomen und einem Vergleichskollektiv mit

benigner Prostatahyperplasie vermessen wurden, sollen sie im Folgenden kurz dargestellt werden.

I.4.1 Alpha1-Fetoprotein (AFP)

Beim AFP handelt es sich um ein Glykoprotein mit 70 kDa, welches in seiner chemischen Struktur dem Albumin ähnlich ist. Es wird primär im Dottersack, in nicht differenzierten Leberzellen sowie im fetalen Gastrointestinaltrakt gebildet (Taketa 1992). 70-95% der Patienten mit einem hepatozellulärem Karzinom weisen eine AFP-Erhöhung auf (Ramsey und Wu 1995). Bei nicht- seminomatösen Keimzelltumoren können mit fortschreitendem Stadium steigende AFP-Werte gemessen werden. Sowohl das später aufgeführte humane Choriongonadotropin als auch das AFP sind für die Abschätzung der Überlebensrate von Patienten mit fortgeschrittenen, nicht- seminomatösen Keimzelltumoren von großer Bedeutung (Klepp 1991; Sato et al. 1993; Sturgeon 2002). Beim Nachweis stark erhöhter AFP-Werte im Serum kann von einem primären Leberzellkarzinom ausgegangen werden. Im Gegensatz dazu weisen AFP-Werte von kleiner 350-400 IU/ml eher auf Lebermetastasen hin (Fateh-Moghadam und Stieber 1994). Moderate erhöhte AFP-Werte finden sich bei Patienten mit alkoholbedingter Leberzirrhose, akuter Virushepatitis sowie bei HbsAg-Trägern. Ein Grund dafür liegt darin, dass bei Regeneration der Leber die AFP-Werte ebenfalls ansteigen können (Fateh-Moghadam A 1994; Stuart et al. 1996). Findet man erhöhte AFP-Werte während der Schwangerschaft im mütterlichem Serum oder in der Amnionflüssigkeit, können diese auf eine Spina bifida, Anenzephalie, Ösophagusatresie und eine Mehrlingsschwangerschaft hinweisen (Bendon 1991; Wald et al. 1992; Brewer and Tank 1993; Canick und Saller 1993).

I.4.2 Alkalische Phosphatase (AP)

Die Alkalische Phosphatase umfasst eine Familie von nahezu ubiquitär vorkommenden Isoenzymen, welche eine große Vielfalt natürlicher und synthetischer Phosphatester bei einem alkalischen pH-Optimum von pH 9 bis 10 hydrolysieren. Die AP findet sich in praktisch allen Körperflüssigkeiten wie Serum, Urin, Galle und Lymphe. Besonders häufig ist die AP im Knochen (Osteoblasten), in der Leber, in den Kanälchen der Niere, in der Plazenta und in Leukozyten anzutreffen. Bei etwa 25% aller gesunden Personen kann auch eine intestinale Form der AP nachgewiesen werden. Die genaue physiologische Funktion der AP ist bisher nicht eindeutig geklärt. Bekannt ist, dass das Enzym beim Lipidtransport im Darm und bei der Kalzifizierung des Knochengewebes eine Rolle spielt. Der häufigste Grund für eine Erhöhung der AP sind hepatobiliäre Erkrankungen. So finden sich bei etwa 60% der Patienten mit

Erkrankungen der Leber oder der Gallenwege pathologische Werte. Ebenso finden sich Erhöhungen bei Erkrankungen der Knochen wie z.B. bei der Osteomalazie, Osteogenesis imperfecta, bei Vitamin-D Intoxikation und bei primären Knochentumoren. Auch bei sekundären Erkrankungen wie z.B. Skelettmastasen, Multiples Myelom, Akromegalie, Niereninsuffizienz, Hyperthyreodismus, ektopische Ossifikation, Sarkoidose, Knochentuberkulose und bei ausheilenden Frakturen kann die AP erhöht sein (Thomas 1998; Moss and Henderson 1999).

I.4.3 Cancer Antigen 125 (CA 125)

Das Cancer Antigen 125 ist ein 200 kDA schweres Glykoprotein und neben CA 19-9 der zweite Hybridom definierte Tumormarker (Davis et al. 1986). CA 125 lässt sich im fetalen Fruchtwasser sowie im fetalen Zölonepithel nachweisen. Betrachtet man Gewebe adulten Ursprungs, ist der Nachweis von CA 125 im Eileiterepithel, Endometrium, der Endozervix und u.a. vereinzelt auch in der Prostata möglich (Kabawat et al. 1983). Im Bereich der malignen Erkrankungen finden sich die höchsten Serumspiegel bei Patientinnen mit Ovarialtumoren (Bast et al. 1983; Kabawat et al. 1983; Klug et al. 1984). Darüber hinaus sind aber auch deutlich erhöhte Werte bei Malignomen im Bereich des Endometriums, der Brust und des Gastrointestinaltraktes zu erwarten. Ebenso kann es bei gutartigen Erkrankungen wie z.B. bei Niereninsuffizienz, Autoimmunerkrankungen, Pankreatitiden, Leberzirrhose, Hepatitis und anderen Erkrankungen, die mit einer Aszitesbildung einhergehen, zu einer Erhöhung des CA 125 kommen. Auch bei benignen gynäkologischen Erkrankungen wie z.B. Ovarialzysten, Endometriose und Uterus myomatosus sowie in der Frühphase der Schwangerschaft finden sich erhöhte Serumwerte.

I.4.4 Cancer Antigen 15-3 (CA 15-3)

Das Cancer Antigen CA 15-3 ist ein 300 kDa schweres Glykoprotein-Antigen der Milchfettkügelchen-Muzin-Familie. Obwohl CA 15-3 vor allem beim Mammakarzinom als sensitiver und spezifischer Marker gilt und vorwiegend zur Therapiekontrolle und Nachsorge empfohlen wird, kann er auch bei anderen Karzinomen, insbesondere bei Adenokarzinomen des Gastrointestinaltraktes, der Lunge, des Ovars, der Zervix, des Endometriums oder der Prostata vermehrt freigesetzt werden. Außerdem können mäßig erhöhte CA 15-3 Werte bei benignen Erkrankungen der Brust wie Mastopathien und Fibroadenomen, bei dialysepflichtiger Niereninsuffizienz, bei HIV-Infektionen, bei benignen Leber-, Pankreas-, Lungen-, und Rheumaerkrankungen sowie im dritten Trimenon der Gravidität vorgefunden (Stieber und Fateh-Moghadam 1993) werden .

I.4.5 Carbohydrate Antigen 19-9 (CA 19-9)

Das Carbohydrate Antigen 19-9 ist ein 36 kDA schweres Glykolipid, das einem Hapten der Lewis-a-Blutgruppenderminante entspricht. (Koprowski et al. 1979; Hansson and Zopf 1985). Etwa 3-7% der Bevölkerung besitzen die Blutgruppenkonstellation Lewis a-negativ/b-negativ, so dass hier kein Nachweis von CA 19-9 möglich ist. Dies sollte bei der Befundinterpretation berücksichtigt werden (Stieber und Fateh-Moghadam 1993).

CA 19-9 kommt im fetalen Epithel von Magen und Darm und Pankreas vor. In adultem Gewebe von Leber, Lunge und Pankreas lassen sich ebenfalls geringe Mengen nachweisen (Herlyn et al. 1982; Stieber P 1993). Mit einer Sensitivität von 70-87% können CA 19-9-Werte sowohl bei der Differentialdiagnose wie auch Verlaufskontrolle von Patienten mit Pankreaskarzinom helfen (Ritts et al. 1984; Farini et al. 1985; Safi et al. 1990). Werte über 10000 U/ml gehen fast immer mit Fernmetastasen einher (Stieber und Fateh-Moghadam 1993). Eine Früherkennung von Pankreaskarzinomen ist durch die Bestimmung von CA 19-9 nicht möglich (Steinberg et al. 1986; Fritsche und Gelder 1990; Steinberg 1990). Darüber hinaus wird CA 19-9 auch als Tumormarker bei hepatobiliären Karzinomen, Magenkarzinomen und kolorektalen Karzinomen eingesetzt (Stieber und Fateh-Moghadam 1993). Da CA 19-9 ausschließlich über die Leber ausgeschieden wird, kann eine Cholestase bereits bei geringem Ausmaß deutlich erhöhte CA 19-9-Werte im Serum hervorrufen. Bei einer Reihe von benignen Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes und der Leber sowie Mukoviszidose lassen sich ebenso erhöhte CA 19-9-Werte nachweisen (Farini et al. 1985; Safi et al. 1990).

I.4.6 Cancer Antigen 72-4 (CA 72-4)

Beim CA 72-4 handelt es sich um ein 400 kDa schweres Muzin ähnliches Glykoprotein TAG 72, das weder eine eindeutige Tumor- noch Organspezifität aufweist. TAG 72 wurde immunhistologisch auf verschiedenen Adenokarzinomen z.B. Mammakarzinom, Magen- und Kolonkarzinom sowie nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom nachgewiesen, ferner auf fetalem Gewebe wie Kolon, Magen und Ösophagus. Beim gesunden Erwachsenen gelingt in der Regel kein Nachweis (Colcher et al. 1981). Im Rahmen benigner Erkrankungen kann es jedoch ebenfalls zu erhöhten CA 72-4 Werten im Serum kommen. Hierzu zählen Erkrankungen wie die Pankreatitis, die Leberzirrhose, Lungenerkrankungen, rheumatische Erkrankungen, Erkrankungen aus dem Bereich der Gastroenterologie und der Gynäkologie wie z.B. benigne Ovarialerkrankungen, Ovarialzysten und Brustkrankungen. Im Vergleich zu anderen Tumormarkern besitzt

CA 72-4 eine auffallend hohe diagnostische Spezifität gegenüber benignen Erkrankungen (Heptner et al. 1989; Filella et al. 1991; Filella et al. 1992; Filella et al. 1994; Hasholzner et al. 1994; Guadagni et al. 1995).

I.4.7 Carcinoembryonales Antigen (CEA)

Beim CEA handelt es sich um ein monomeres Glykoprotein von ca. 180 kDA. Es besitzt einen variablen Kohlenhydratanteil von ca. 45-60%. Wie das Alpha1-Fetoprotein gehört das CEA zur Gruppe der carcinofoetalen Antigene, die während der Embryonal- und Fetalzeit produziert werden. Das CEA findet sich hauptsächlich im fetalen Gastrointestinaltrakt wie auch im fetalen Serum. Da nach der Geburt die Bildung von CEA reprimiert wird, liegen die Serumwerte beim Erwachsenen an der unteren Nachweisgrenze mit einem Referenzbereich < 3 ng/ml. Geringe Mengen von CEA werden durch Zellen des Gastrointestinaltraktes, des Pankreas und der Leber gebildet. Betrachtet man benigne Erkrankungen, so weisen 20-50% der Erkrankungen des Darms, des Pankreas, der Leber und der Lunge leicht bis mäßig erhöhte CEA-Werte im Serum auf (selten >10 ng/ml). Zu diesen gehören z.B. die Leberzirrhose, die chronische Hepatitis, die Pankreatitis, die Colitis ulcerosa, der Morbus Crohn und das Emphysem. Auch bei Rauchern lassen sich durch manche Assays dauerhaft erhöhte CEA-Werte von bis zu 10 ng/ml bestimmen. Bei den Karzinomen führen vor allem das kolorektale Karzinom, aber auch Bronchial-, Magen- und Ovarialkarzinome zu stark erhöhten CEA-Werten von >1000 ng/ml (Ballesta et al. 1995). Werte bis 1000 ng/ml wurden auch bei Pankreas-, Mamma- und Leberzellkarzinomen gemessen. Die Hauptindikationen der CEA-Messung liegen in der Therapiesteuerung und Verlaufskontrolle von kolorektalen- und Mammakarzinomen. Zu beachten ist, dass auch CEA-Konzentrationen innerhalb des Normbereichs von $\leq 3,0$ ng/ml das Vorhandensein einer Tumorerkrankung nicht sicher ausschließen (Stieber and Fateh-Moghadam 1993; Diamandis et al. 2002).

I.4.8 CYFRA 21-1

Bei Cytokeratinen handelt es sich um Strukturproteine epithelialer Intermediärfilamente. Bisher wurden 20 verschiedene Cytokeratin- Polypeptide katalogisiert, die in der Tumorpathologie aufgrund ihrer spezifischen Verteilungsmuster als Differenzierungsmarker sehr gut geeignet sind. CYFRA 21 -1, das synonym auch als Cytokeratin-19-Fragmente bezeichnet wird, ist mit 36 kDA das kleinste der verschiedenen Typen der Cytokeratin-Familie (Stieber et al. 1993). Der Normbereich wird mit ≤ 2 ng/ml angegeben. Physiologischerweise kommen Cytokeratin-19-Fragmente ubiquitär im menschlichen Körper vor mit hohen Konzentrationen insbesondere in Drüsenzellen des Lungengewebes. CYFRA

21-1 wird daher auch zur Differentialdiagnose von Lungenrundherden herangezogen. Serumwerte von > 30 ng/ml sprechen bei unklarem Lungenherd mit hoher Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines primären Bronchialkarzinoms. Neben der Diagnose und Verlaufskontrolle des nicht kleinzelligen Bronchialkarzinoms (Non Small Lung Cancer, NSCLC) stellt die Bestimmung von CYFRA 21-1 zur Verlaufsüberwachung des muskelinvasiven Blasenkarzinoms eine Hauptindikation dar (Hasholzner et al. 1993; Hasholzner U 1993; Stieber et al. 1993; Bodenmuller 1995). Hohe CYFRA 21-1 Spiegel im Serum korrelieren mit dem Tumorstadium und sind mit einer schlechteren Prognose verbunden (van der Gaast et al. 1994). Allerdings schließen normale oder nur leicht erhöhte Werte ein Karzinom nicht aus. Im Bezug auf benigne Lungenerkrankungen wie z.B. Pneumonien, Sarkoidosen, Tuberkulosen u.a., besitzt CYFRA 21-1 eine gute Spezifität (van Dalen 1993; Ebert et al. 1994). Darüber hinaus konnten bei fortgeschrittenen benignen Erkrankungen der Leber und Niereninsuffizienz bisher leicht erhöhte Werte bis zu 10 ng/ml gemessen werden

I.4.9 Intaktes humanes Choriongonadotropin + β -Untereinheit (hCG+ β)

Neben dem LH, dem FSH und dem TSH gehört auch das humane Choriongonadotropin (hCG) zur Familie der Glykoproteine. Dieses besteht aus 2 Untereinheiten, einer α - und einer β -Kette, welche zum intakten Hormon assoziiert sind. hCG besitzt ein Molekulargewicht von 38 kDa und wird physiologischerweise während der Schwangerschaft in der Plazenta produziert. Bei Männern liegt der Normwert ≤ 2 mIU/ml. Werte von > 10 mIU/ml sprechen für das Vorhandensein eines malignen Tumors. Eine Erhöhung von hCG-Werten findet man vor allem bei testikulären oder plazentären Chorionkarzinomen und der Blasenmole, zusätzlich jedoch auch bei Seminomen und nicht-seminomatösen Keimzelltumoren. Nicht-trophoblastische Tumoren wie das kolorektale Karzinom, das Magenkarzinom, das Pankreaskarzinom, das hepatozelluläre Karzinom, das Bronchialkarzinom, das Ovarialkarzinom, das Mammakarzinom und das Nierenzellkarzinom führen ebenfalls zu pathologisch erhöhten hCG-Werten, insbesondere der β -Untereinheit, die insgesamt jedoch deutlich niedriger sind, als bei trophoblastischen Tumoren (Marcillac et al. 1992). In der Regel führen benigne Erkrankungen zu keiner hCG-Erhöhung. Bei einer Niereninsuffizienz können allerdings aufgrund der verzögerten Ausscheidung und somit Elimination von hCG erhöhte Werte im Serum gemessen werden (Stieber und Fateh-Moghadam 1993; Diamandis et al. 2002).

I.4.10 Neuron-spezifische Enolase (NSE)

Die Neuronen-spezifische Enolase ist ein 100 kDa schweres Enzym mit glykolytischer Wirkung. Bei der NSE handelt es sich um ein Dimer, bestehend aus den nicht spezifischen Polypeptidketten $\alpha\gamma$ und $\gamma\gamma$. Die γ -Untereinheit finden sich vor allem in den Neuronen des Gehirns wie auch in den Neuronen des peripheren Nervensystem und in neuroendokrinen Geweben wie den so genannten APUD-Zellen, im Darm, in der Lunge und in endokrinen Organen wie Schilddrüse, Pankreas und Hypophyse (Lamerz 1998). Bei der NSE handelt es sich um keinen organ- und tumorspezifischen Marker. Werten von >100 ng/ml weisen jedoch auf das Vorhandensein von kleinzelligen Bronchialkarzinomen, neuroendokrinen Tumoren anderer Lokalisation und hepatozellulären Karzinomen hin (Ebert et al. 1994; Ebert et al. 1996; Lamerz 1998; Vinolas et al. 1998). Niedrige Werte finden sich auch bei Tumoren aus dem Gastrointestinaltrakt, bei ZNS-Tumoren, Tumoren aus dem Bereich der Gynäkologie, Seminomen und Nierenzellkarzinomen (Rasmussen T 1993; Lamerz 1998). Bei Kindern lässt sich die NSE besonders bei Neuroblastomen und dem Wilms-Tumor nachweisen (Lamerz 1998). Bei benignen Erkrankungen kommt es häufig im Zusammenhang mit gutartigen Lungenerkrankungen, Urämie, zerebralen Erkrankungen, insbesondere neurodestruktiven Prozessen mit gestörter Blut-Liquor-Schranke zu erhöhten NSE-Werten (Butterworth et al. 1996; Cunningham et al. 1996). Bei der Serumverarbeitung ist eine einwandfreie Handhabung der Proben notwendig, da Hämolyse und die Zerstörung von Thrombozyten ebenfalls zu falsch erhöhten NSE-Werten führen können (Stieber and Fateh-Moghadam 1993; Diamandis et al. 2002).

I.4.11 Lactatdehydrogenase (LDH)

Die Lactatdehydrogenase ist eine NAD^+ -Oxidoreduktase, welche die reversible Oxidierung von L-Lactat zu Pyruvat mittels NAD^+ als Wasserstoffakzeptor katalysiert. Das Enzym kommt in allen Körperzellen vor und zwar ausnahmslos im Zytoplasma der jeweiligen Zellen. Es besitzt ein Molekulargewicht von ca. 134 kDa und besteht aus vier Polypeptidketten von jeweils zwei unterschiedlichen Typen, dem H-Typ und dem M-Typ. Prinzipiell werden in Geweben mit hohem Sauerstoffbedarf vornehmlich Isoenzyme mit einem hohen Anteil an H-Untereinheiten und in Geweben mit hoher glykolytischer Aktivität Isoenzyme mit einem hohen Anteil an M-Untereinheiten gebildet. Die Gesamt-LDH, welche im Serum gemessen werden kann, besteht aus den Aktivitäten der 5 Isoenzyme LDH-1 bis LDH-5, die nach der Zusammensetzung ihrer Untereinheiten unterschieden werden. Da die LDH-Konzentration im Gewebe etwa das 500-fache der Plasma-LDH-Konzentration beträgt, können selbst

geringfügige Gewebsschäden einen erheblichen Anstieg der LDH-Aktivität im Serum bewirken. Aus diesem Grunde ist die Gesamt-LDH für den Nachweis bereits geringfügiger Gewebsschäden geeignet. Eine insgesamt hohe spezifische Enzymaktivität findet sich in der Leber, im Herzmuskel, in der Skelettmusculatur, den Nieren und den Erythrozyten. In der klinischen Routine wird die LDH zu Diagnostik bei einer Vielzahl von Erkrankungen wie z.B. Anämien, beim Herzinfarkt, bei Erkrankungen der Leber, Nieren und der Muskelzellen etc. herangezogen. Darüber hinaus wird die LDH auch als Tumormarker bei Hodgkin- und Non-Hodgkin-Lymphomen sowie dem ovariellen Dysgerminoms und anderen Malignomen eingesetzt (Thomas 1998; Moss und Henderson 1999).

I.4.12 C-reaktives Protein (CRP)

Beim C-reaktiven Protein handelt sich um ein in der Leber durch Hepatozyten synthetisiertes Akutphaseprotein mit einem Molekulargewicht von 118 kDa. Das CRP wird infolge der Ausschüttung entzündlicher Zytokine wie z.B. dem Interleukin-6 freigesetzt. Die Konzentration von CRP im Serum ist sowohl bei akuten als auch bei chronischen Entzündungsprozessen, wie etwa bei bakteriellen Infektionen erhöht. In der Regel kommt es zu einem raschen Anstieg innerhalb der ersten 12-24 Stunden, der unter Umständen Werte bis zum 2000-fachen des Normwertes ($< 0,5$ mg/dl) erreicht. Ein rapider Anstieg im Serum kann jedoch auch im Rahmen von Autoimmun- oder Immunkomplexerkrankungen, Traumata, Gewebnekrosen, Myokardinfarkt und Malignomen auftreten.

Die Höhe des CRP ist ein Indikator für die Menge bzw. die Aktivität der Entzündung und zeigt bei akuten Entzündungen oder Infektionen eine starke Korrelation zur Krankheitsintensität. Zu beachten ist jedoch auch, dass der Anstieg sehr unspezifisch ist und nur in Kombination mit Anamnese und zusätzlicher Diagnostik interpretiert werden sollte. Anhaltend hohe CRP-Werte weisen auf eine unwirksame Therapie hin. Niedrige CRP-Werte schließen eine Erkrankung jedoch nicht aus (Whicher 1998).

I.5 Zielsetzung und Fragestellung

Das PC stellt weltweit mit seiner seit einigen Jahren steigenden Inzidenz eine große medizinische wie auch ökonomische Herausforderung dar. Nach den aktuellen Leitlinien zahlreicher urologischer Verbände wie z.B. der European Association of Urology stellt die PSA-Bestimmung in Kombination mit der digital-rektalen Palpation momentan den Goldstandard zur Früherkennung des PCs dar (Heidenreich et al. 2008). Es ist bekannt, dass sowohl die digital-rektale Untersuchung wie auch das PSA in ihrer diagnostischen Spezifität und Sensitivität stark limitiert sind (Cooner et al. 2002; Jocham and Miller 2003). Zwar hat das PSA durch seine große Organspezifität Marker wie die Prostata-spezifische saure Phosphatase weitgehend abgelöst. Es stellt jedoch keinen reinen Tumormarker dar. Ein optimaler Tumormarker sollte eine nahezu hundertprozentige Sensitivität und hundertprozentige Spezifität für das jeweilige Malignom besitzen und zwischen Erkrankten und Gesunden bzw. Patienten mit anderen Erkrankungen des betroffenen Organs diskriminieren. Im Falle des Prostata-spezifischen Antigens besteht das Problem zu geringen Spezifität darin, dass viele Patienten fälschlicherweise mit der Diagnose PC konfrontiert und biopsiert werden. Hebt man dagegen den Grenzwert zugunsten der Spezifität an, sinkt die Sensitivität, was wiederum dazu führt, dass zu viele Patienten mit einem PC übersehen werden. So gibt es ein ständiges Bestreben die diagnostische Sensitivität und Spezifität bei der Detektion des PCs zu erhöhen. Neben der kombinierten Anwendung von digital-rektaler Untersuchung und der Bestimmung von tPSA kommt der Ratio von fPSA/tPSA hierbei bereits eine gewisse Rolle zu. Das cPSA zeigte in unterschiedlichen Studien, wenn auch nicht in allen, dass es eine Alternative zu tPSA darstellen könnte.

In diesem Sinn war es Ziel der folgenden Arbeit:

- den diagnostischen Nutzen von tPSA, fPSA/tPSA, cPSA und cPSA/tPSA anhand eines Patientenkollektivs der Urologischen Klinik der LMU München zu untersuchen und mit der aktuellen Literatur zu vergleichen.
- anhand dieses Patientenkollektivs den diagnostischen Vorteil von cPSA und cPSA/tPSA gegenüber tPSA und fPSA/tPSA zu beurteilen.
- das Verteilungsmuster anderer onkologischer Biomarker, die bei unterschiedlichen Tumorentitäten im klinischen Alltag eingesetzt werden, bei Patienten mit PC oder

benigner Prostatahyperplasie zu untersuchen und im Hinblick auf einen eventuellen Nutzen bei der Detektion des PCs zu evaluieren.

- durch eine Kombination mehrerer Marker einen eventuellen Vorteil bei der Detektion des PCs herauszustellen.

II Material & Methodik

II.1 Patientenkollektiv

Die Entnahme der Serumproben für das in dieser Arbeit beobachtete Patientenkollektiv erfolgte in einem Zeitraum von 1986 bis 2002. Die klinischen Daten der einzelnen Patienten aus dem Gesamtkollektiv wurden retrospektiv anhand von Akten aus der Urologischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München und aus archivierten Akten aus dem Zentralarchiv der Ludwig-Maximilians-Universität München erfasst und ausgewertet.

Das Patientenkollektiv umfasste insgesamt 442 männliche kaukasische Probanden. Das mittlere Alter des gesamten Patientenkollektivs lag bei $65,9 \pm 9,7$ Jahren (MW \pm SD), mit einem Altersbereich von 26-92 Jahren. Alle Patienten, deren Daten in dieser Arbeit bearbeitet und ausgewertet wurden, waren in der Urologischen Klinik der LMU München in Behandlung. Ihre Serumproben wurden in der Klinischen Chemie der LMU München in gefrorenem Zustand aufbewahrt, vermessen und ausgewertet. Wie bereits erwähnt, wurde das Gesamtkollektiv in zwei verschiedene Gruppen unterteilt.

| Diagnose | Anzahl | Alter |
|----------------------------------|--------|------------------------|
| | | Median (Altersbereich) |
| Benigne Hyperplasie der Prostata | 311 | 66 (26-89) |
| PC | 131 | 66 (47-92) |
| Gesamtkollektiv | 442 | 66 (26-92) |

Tab. 3: Aufteilung des Patientenkollektivs nach BPH, PC und Gesamtkollektiv

II.1.1 Gruppe der Patienten mit Benigner Prostatahyperplasie

Die Gruppe der Patienten mit einer benignen Hyperplasie der Prostata umfasste insgesamt 311 Patienten mit einem mittleren Alter von $65,8 \pm 10,2$ Jahren (MW \pm SD) und einem Altersbereich von 26-89 Jahren. Diese Gruppe von Patienten diente als Vergleichskollektiv. Ausnahmslos alle Patienten aus diesem Vergleichskollektiv hatten eine gutartige Vergrößerung der Prostata. Dabei wurde die Diagnose benigne Prostatahyperplasie mit Hilfe verschiedener Kriterien gestellt. Neben einem PSA-Wert $< 4\text{ng/ml}$ erfolgte die Diagnose mittels digital-rektaler Untersuchung, wobei eine gut begrenzte, indolente Vergrößerung der Prostata sowie eine glatte Oberfläche ohne knotige oder sonstig suspekta Struktur als Benignitätskriterien gewertet wurden. Die Klinik einer obstruktiven Miktionssymptomatik

und die Auswertung einer Uroflowmetrie wurden ebenso bei der Befundung berücksichtigt. Weiterhin diente die transrektale-Sonographie als diagnostisches Mittel. Organbegrenzung und die Abwesenheit von echoarmen Arealen als Hinweis für ein PC waren dabei entscheidend. Bei suspektem Tastbefund und/oder Erhöhung des PSA-Wertes von $\geq 4,0$ ng/ml wurde zur weiteren Abklärung eine Stanzbiopsie der Prostata durchgeführt. Die histologische Aufarbeitung der Biopsie- und gegebenenfalls Operationspräparate erfolgte durch die Kollegen aus der Pathologie.

II.1.2 Gruppe der Patienten mit einem Prostatakarzinom

Insgesamt hatten 131 Patienten ein histologisch gesichertes PC. Wie zuvor erwähnt, erfolgte die histologische Sicherung durch Stanzbiopsieentnahme aus der Prostata und im Falle einer anschließenden Operation anhand des Prostatapräparates nach radikaler Prostatektomie. Die Entnahme der Serumproben erfolgte vor Durchführung einer weiterführenden Therapie. Das mittlere Alter lag in dieser Gruppe bei $66,3 \pm 8,4$ Jahren (MW \pm SD) mit einem Altersbereich von 47-92 Jahren. Im Kollektiv der PC-Gruppe befanden sich insgesamt 11 Patienten (8,4%) in einem T1-Stadium, 51 (39,7%) in einem T2-Stadium, 29 (22,1%) in einem T3-Stadium und 9 (6,9%) in einem T4-Stadium. Bei insgesamt drei Patienten (2,3%) konnte der Primärtumor mit TX nicht beurteilt werden. Bei 20 Patienten (15,3%) fand sich der Nachweis von regionären Lymphknotenmetastasen. Bei 18 Patienten (13,7%) konnten Fernmetastasen nachgewiesen werden. Bei insgesamt 99 Patienten (75,6%) aus dem Kollektiv der PC-Gruppe konnte anhand der Datenlage das Grading bestimmt werden. Hiernach können die Patienten wie folgt unterteilt werden: 6 Patienten (4,6%) hatten ein G1, 64 Patienten (48,6%) ein G2 und die restlichen 29 Patienten (22,1%) ein G3- Stadium. Einen Überblick über die TNM-Stadien und das Grading der Patienten in der PC-Gruppe bieten Tabelle 4 und 5.

Im Weiteren wurden aus den Krankenakten die jeweiligen Gleason-Scores ermittelt. In insgesamt 52 Fällen (39%) wurde ein Gleason-Score angegeben. Demnach hatten jeweils 2 Patienten (1,5%) einen Gleason-Score von 2 bzw. 4, 6 Patienten (4,6%) einen Gleason von 5, jeweils 15 Patienten (11,5%) ein Gleason von 6 bzw. 7, 3 Patienten (2,3%) einen Score von 8, 6 Patienten eine Score von 9 und die restlichen Patienten einen Gleason-Score von 10.

| 442 Patienten insgesamt (100%) | 131 PC (29,6%) n (%) | 311 BPH (70,4%) |
|-----------------------------------|-------------------------|-----------------|
| T1- Stadium | 11 (8,4%) | – |
| T2-Stadium | 51 (39,7%) | – |
| T3-Stadium | 29 (22,1%) | – |
| T4-Stadium | 9 (6,9%) | – |
| N-Stadium | 20 (15,3%) | – |
| M-Stadium | 18 (13,7%) | – |

Tab. 4: Aufschlüsselung des Patientenkollektivs mit PC nach TNM-Stadium

| 442 Patienten insgesamt (100%) | 131 PC (29,6%) insgesamt, davon 99 PC (75,6%) mit Grading n (%) | 311 BPH (70,4%) |
|-----------------------------------|--|-----------------|
| Grading 1 | 6 (4,6%) | – |
| Grading 2 | 64 (48,6%) | – |
| Grading 3 | 29 (22,1%) | – |

Tab. 5: Aufschlüsselung des Patientenkollektivs mit PC nach Grading-Einteilung

II.1.3 Ausschlusskriterien

Bei der retrospektiven Bearbeitung des Patientenkollektivs wurden folgende Ausschlusskriterien berücksichtigt:

- Bereits therapierte Prostatakarzinome.
- Nachweis anderer Malignome.
- Vorliegen anderer Erkrankungen, die mit einer Erhöhung eines oder mehrerer Messparameter einhergehen können.
- Vorausgegangene Untersuchungen, die mit einer Erhöhung eines oder mehrerer Messparameter einhergehen können.

II.1.4 Serumproben

Der Nachweis der einzelnen Messparameter erfolgte ausschließlich in derselben Serumprobe des jeweiligen Patienten. Die Blutentnahme erfolgte dabei vor diagnostischen bzw. therapeutischen Interventionen wie z.B. einer digital-rektalen Untersuchung, einer transrektalen Ultraschalluntersuchung oder einer transrektalen Resektion bzw. radikalen Prostatektomie der Patienten. Anamnestisch wurde eine zusätzliche Manipulation wie z.B. durch eine Koloskopie oder Rektoskopie soweit wie möglich in einem Zeitraum von ca. 3-4 Wochen im Vorfeld der Probengewinnung ausgeschlossen.

Für die Entnahme der Serumproben wurden Standard-Probeentnahmeröhrchen (S-Monovette 10 ml, Sarstedt, Deutschland) verwendet. Nach Entnahme der Proben wurden diese umgehend im Labor der Klinischen Chemie der LMU München bei 1600 x g für 15 Minuten und 4° Celsius zentrifugiert und anschließend innerhalb von maximal drei Stunden nach Entnahme bei -80°C bis zur Messung gelagert. Ein Auftauen und erneutes Einfrieren der Serumproben hat nicht stattgefunden. Zur Vorbereitung auf die Messungen wurden die Proben auf Raumtemperatur aufgetaut.

II.2 Messmethodik

II.2.1 Verwendete Messgrößen und Messverfahren

Für die Vermessung der im Einleitungsteil beschriebenen onkologischen Biomarker im Gesamtkollektiv wurden folgende Testverfahren eingesetzt:

- **tPSA, fPSA, AFP, CA 125, CA 15-3, CA 19-9, CA 72-4, CEA, CYFRA 21-1, hCG β , NSE:** diese Marker wurden anhand eines Immunoassays der Firma Roche (ECLIA; Roche Diagnostics GMBH, Mannheim, Deutschland) vermessen.
- **cPSA:** die Werte wurden mit einem Immunoassay der Firma Bayer (Bayer ADVIA Centaur cPSA-Assay, Bayer Health Care AG, Leverkusen Deutschland) vermessen.
- **PSA-Ratios:** das Verhältnis von fPSA/tPSA sowie cPSA/tPSA wurden aus den zuvor gemessenen Werten für fPSA, cPSA und tPSA errechnet.
- **AP:** die Werte wurden mit Hilfe eines kinetischen Farbtests (OSR6103, Olympus AU 5400; Olympus Europa GmbH, Hamburg, Deutschland) vermessen.

- **CRP:** die Werte wurden anhand eines Immunturbidimetrischen Tests (OSR6147, Olympus AU 5400; Olympus Europa GmbH) vermessen.
- **LDH:** die Werte wurden mit Hilfe eines kinetischen UV-Tests (OSR6128, Olympus AU 5400; Olympus Europa GmbH) vermessen.

| Marker | Prinzip | System | Hersteller |
|-------------|---------------|-----------------|------------|
| tPSA | | | |
| fPSA | | | |
| AFP | | | |
| CA 125 | | | |
| CA 15-3 | | | |
| CA 19-9 | ECLIA | Elecsys | Roche |
| CA 72-4 | | | |
| CEA | | | |
| CYFRA 21-1 | | | |
| hCG β | | | |
| NSE | | | |
| cPSA | EIA | ADVIA Centaur | Bayer |
| AP | IFCC-Methode | | |
| LDH | | | |
| CRP | Turbidimetrie | OLYMPUS AU 5400 | Olympus |

Tab. 6: Übersicht über die vermessenen Parameter mit Angaben zu Messprinzip, System und Hersteller

II.2.1.1 Testprinzip zur Bestimmung von tPSA

Die Bestimmung von tPSA in den Serumproben erfolgte an einem Immunoassay Analysegerät der Firma Roche (Elecsys 1010; Roche Diagnostics GmbH).

In einem ersten Schritt wurden hierfür 20 μ l der jeweiligen Serumprobe mit einem biotinyliertem monoklonalem PSA-spezifischen Antikörper und mit einem Ruthenium-Komplex-markierten monoklonalen PSA-spezifischen Antikörper inkubiert. Durch die Reaktion der drei Bestandteile bildet sich ein Sandwichkomplex aus. Im folgenden zweiten Schritt erfolgte eine weitere Inkubation mit Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln, durch die der Sandwichkomplex über eine Biotin-Streptavidin Wechselwirkung an die Festphase gebunden wird. Das Reaktionsgemisch wurde im Folgenden in eine Messzelle überführt, in

der die Mikropartikel durch magnetische Wirkung an der Oberfläche der Elektrode fixiert werden. Mit Hilfe von ProCell wurden die überschüssigen, ungebundenen Substanzen entfernt. Anschließend wurde durch Anlegen einer Spannung eine Chemilumineszenzemission induziert und mit einem Photomultiplier gemessen. Die TPSA-Konzentration wurde letztendlich anhand einer Kalibrationskurve ermittelt.

II.2.1.2 Testprinzip zur Bestimmung von fPSA, AFP, CA-125, CA 15-3, Ca 19-9, CA 72-4, CEA, CYFRA 21-1, hCG β und NSE

Die Messung des fPSA und der anderen oben aufgeführten Messparameter im Serum des Patientenkollektivs erfolgte analog zum Messverfahren für tPSA mit Hilfe eines Immunoassays von Roche unter Verwendung der jeweils spezifischen monoklonalen Antikörper (vgl. II.1.2.1.) Der Unterschied in der Messung der einzelnen Parameter liegt in der Menge der benötigten Serumprobe. Bei AFP, CA 19-9, CEA und hCG β werden anstatt von 20 μ l nur 10 μ l Probenmaterial benötigt. Zur Bestimmung von CA 72-4 braucht man 30 Mikroliter Serum.

II.2.1.3 Testprinzip cPSA-Bestimmung

Vergleichbar mit dem Testverfahren zur Bestimmung von tPSA (vgl. II.1.2.1.), wird bei der Bestimmung von komplexiertem PSA ein Sandwich-Immunoassay verwendet. Zuerst wird das freie PSA in der Probe daran gehindert, mit den Gesamt-PSA-Antikörpern zu reagieren. Um dies zu erreichen, wird die Serumprobe des Patientenkollektivs mit einem für freies PSA spezifischen monoklonalen Antikörper der Maus inkubiert. Das freie PSA wird somit blockiert und ist im ADVIA Centaur cPSA-Test nicht mehr reaktiv. Erst dann kann das in der Serumprobe vorhandene cPSA gemessen werden. Der ADVIA Centaur cPSA-Test ein an zwei Stellen ansetzender Sandwich-Immunoassay, der mit direkter Chemilumineszenz arbeitet und bei dem zwei Antikörper mit konstanter Menge verwendet werden. Beim ersten Antikörper handelt es sich um einen mit Acridiniumester markierten polyklonalen Anti-PSA-Antikörper der Ziege. Der zweite Antikörper, der in der Solid-Phase zum Einsatz kommt, ist ein monoklonaler Anti-PSA-Antikörper der Maus. Dieser ist paramagnetisch an kovalenten Partikeln gebunden. Das ADVIA Centaur cPSA-Test-System führt automatisch die folgenden Schritte durch:

- Vorlegen von 35 μ l Probe und 10 μ l Vorbehandlungs-Reagenz in eine Küvette und Inkubation der Mischung für 2,5 Minuten bei 37 °C
- Vorlegen von 250 μ l Solid Phase und 100 μ l Lite-Reagenz und Inkubation der Reagenzien für 7,5 Minuten bei 37 °C

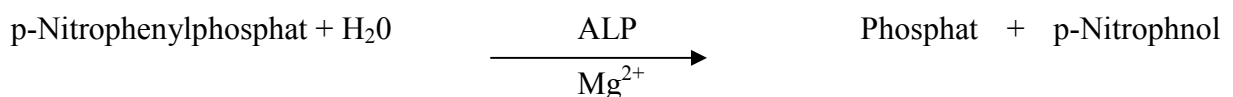
- Trennung, Aspiration und Reinigung der Küvetten mit entionisiertem Wasser
- Vorlegen von jeweils 300 µl Reagenz A (Säure) und Reagenz B (Base) zur Auslösung der Chemilumineszenz-Reaktion
- Ausdruck der Ergebnisse entsprechend der ausgewählten Option

Zwischen der cPSA-Menge in der Patientenprobe und den vom System gemessenen relativen Lichteinheiten (RLU) besteht ein direkt proportionales Verhältnis.

II.2.1.4 Testprinzip AP-Bestimmung

Bei der Bestimmung der Alkalischen Phosphatase handelt es sich um einen kinetischen Farbttest zur quantitativen Bestimmung der AP. Wie die Messung von LDH erfolgt auch die der AP nach der IFCC-Methode am Olympus AU 5400 der Firma Olympus. Hier wird die Aktivität der alkalischen Phosphatase durch Messung der Umwandlungsrate von p-Nitrophenyl-phosphat (pNPP) zu p-Nitrophenol (pNP) in Anwesenheit von Magnesiumionen und Diethanolamin als Phosphatakzeptor mit pH 9,8 bestimmt. Die Rate des Anstiegs der Absorptionsfähigkeit aufgrund der Bildung von pNP wird bei 410/480 nm gemessen, Sie ist zur AP-Aktivität der Probe direkt proportional.

Reaktionsprinzip:



II.2.1.5 Testprinzip LDH-Bestimmung

Im Gegensatz zur AP-Bestimmung handelt es sich bei der Messung der Lactadehydrogenase um einen kinetischen UV-Test zur quantitativen Bestimmung. LDH katalysiert die Oxidierung von Lactat zu Pyruvat bei gleichzeitiger Reduktion von NAD^+ zu NADH . Der NADH -Anstieg wird bei 340 nm gemessen und ist zur Enzymaktivität der Probe direkt proportional.

Reaktionsprinzip:



II.2.1.6 Testprinzip CRP-Bestimmung

Bei der Bestimmung von C-reaktivem Protein im menschlichen Serum wird ein immunturbidimetrischer Test herangezogen. Auch hier wurde zur Vermessung der Olympus AU 5400 verwendet. Das Testprinzip besteht darin, dass beim Mischen einer Probe mit R1-Puffer und R2-Antiserum menschliches CRP spezifisch mit Antihuman-CRP-Antikörpern reagiert und unlösliche Aggregate bildet. Die Absorption dieser Aggregate ist zur CRP-Konzentration in der Probe proportional.

II.3 Auswertungsmethodik

Bei allen Patienten wurden die Serummarker tPSA, fPSA, cPSA, AP, AFP, CA 125, CA 15-3, CA 19-9, CA 72-4, CEA, CYFRA 21-1, HCGB, NSE, LDH und CRP vermessen. Für jeden Parameter wurden der Median, der Mittelwert, die Standardabweichung sowie die 25.-, 75.- und 95.- Perzentile bestimmt und zwar sowohl in der Gruppe der Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie (n=311) als auch bei den Patienten mit einem PC (n=131). Anhand von Dot-Plots wurde die Verteilung der einzelnen Messparameter graphisch dargestellt, wodurch Unterschiede im Verteilungsmuster der Marker zwischen den beiden Gruppen verdeutlicht wurden. Weiterhin wurden die Korrelationen der einzelnen Marker untereinander innerhalb einer Gruppe anhand des Spearmanschen Korrelationskoeffizienten (r) ermittelt.

Um die diagnostische Aussagekraft der Biomarker zur Diskriminierung zwischen Patienten mit BPH und Patienten mit PC zu beurteilen, wurden für jeden Marker folgende Kenngrößen berechnet. Einerseits die diagnostische Sensitivität, welche das Verhältnis der richtig Test-Positiven zu allen Erkrankten darstellt und andererseits die diagnostische Spezifität, welche wiederum den Anteil der richtig Test-Negativen an allen Gesunden zum Ausdruck bringt. Beim Vergleich der Sensitivitäten verschiedener Tumormarker miteinander sollte von einem nach internationaler Vereinbarung festgelegten oberen Schwellenwert (Cut-off) von 95% für die Spezifität ausgegangen werden (Lamerz und Stieber 2004). Die Darstellung des Zusammenhangs zwischen Sensitivität und Spezifität erfolgt üblicherweise durch die sog. RECEIVER OPERATING CHARACTERISTIC (ROC) CURVE. Die ROC-Kurve resultiert aus der Betrachtung mehrerer Paare von Sensitivität und Spezifität, die sich durch Variation des Schwellenwertes ergeben. Die Kurve läuft in einem Quadrat, welches durch die Spezifität auf der Abszisse (Wertebereich 100% bis 0%) und die Sensitivität auf der Ordinate (Wertebereich 0% bis 100%) begrenzt wird. Man geht davon aus, dass ein Test oder ein

Messverfahren dann gut diskriminiert, wenn die ROC-Kurve entlang der linken oberen Seite des Quadrates verläuft, d.h. eine hohe Sensitivität bei hoher Spezifität aufweist. Ein Messverfahren, welches ungenügend diskriminiert, verläuft als Winkelhalbierende durch das Quadrat.

Zusätzlich wurde die AREA UNDER THE CURVE (AUC) mit 95%-Konfidenzintervall berechnet. AUC ist ein Maß für die globale Leistungsfähigkeit eines diagnostischen Tests. Sie ist definiert als die Fläche, welche von der ROC-Kurve und der x-Achse eingeschlossen wird. Sie kann allgemein als Integral einer Funktion ermittelt werden. Die Fläche entspricht der Wahrscheinlichkeit, dass ein (zufällig ausgewählter) Erkrankter ein höheres Testergebnis aufweist als ein (zufällig ausgewählter) Gesunder. Eine Fläche von 0,5 bedeutet somit, dass keinerlei Unterscheidung zwischen den Gruppen möglich ist, d.h. der Marker besitzt eine ungenügende Diskriminierungsfähigkeit. Weicht die AUC signifikant von 0,5 ab, besteht ein signifikant unterschiedliches Verteilungsmuster in beiden Kollektiven zueinander (Hanley und McNeil 1982; Zweig und Campbell 1993).

Die Berechnung der p-Values erfolgte durch den Rangsummentest nach Wilcoxon. Das Signifikanzniveau betrug $p < 0,05$.

Die multivariate Analyse erfolgte mit Hilfe des Modells der logistischen Regression (Hosmer and Lemeshow 2000). Die multivariate Analyse mittels logistischer Regression stellt ein statistisches Rechenverfahren dar, welches versucht, eine abhängige dichotome Variable, in diesem Fall die An- oder Abwesenheit eines PCs, aus einer oder mehreren unabhängigen Variablen zu schätzen. Die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines Karzinoms ergibt sich aus einer logistisch transformierten Linearkombination der Einflussgrößen. In einem ersten Schritt wurden die einzelnen Daten der ausgewählten Biomarker transformiert, - und zwar zunächst normiert und dann zur Basis 2 logarithmiert. In einem zweiten Schritt wurden mit Hilfe der logistischen Regression die Koeffizienten der abhängigen Variablen berechnet. Für die daraus errechneten Scores konnten letztendlich die jeweiligen ROCs, AUCs, deren Standardabweichungen und die zugehörigen Konfidenzintervalle berechnet werden.

Alle Berechnungen wurden mit einer SAS Software (SAS V9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC) durchgeführt.

III Ergebnisse

III.1 Univariate Analyse

III.1.1 Univariate Analyse einzelner Biomarker

Anhand der Dot-Plot-Graphen auf den Seiten 29-44 erkennt man die Verteilung der untersuchten Biomarker in der BPH-Gruppe (Blau) im Vergleich zur PC-Gruppe (Rot). Bei der Untersuchung des PSAs zeigte sich, dass in der PC-Gruppe signifikant höhere Werte von tPSA, cPSA sowie der Ratio von cPSA/tPSA vorliegen als in der BPH-Gruppe (vgl. S. 29-32). Unter den anderen Biomarkern war nur für das CEA eine signifikant höhere Verteilung bei Patienten mit PC zu verzeichnen (vgl. S 39). Im Gegensatz dazu waren die Ratio von fPSA/tPSA und die Biomarker CA 125, CA 19-9 und CRP bei Patienten mit PC signifikant niedriger als in der BPH-Gruppe (vgl. S 34, 37 und Seite 44). In den Tabellen unterhalb der Dot-Plot-Graphen sind neben der jeweiligen Anzahl der untersuchten Patienten, der Median und der Verteilungsbereich (Range) des jeweiligen Markers sowie die 25.-, 75.- und die 95.- Perzentile zum Vergleich beider Kollektive aufgelistet. Zusätzlich werden die ROC-Kurven mit ihrer jeweiligen AUC für das gesamte Kollektiv sowie für jedes einzelne Tumorstadium (T1-T4) abgebildet. In der dazugehörigen Tabelle sind neben den Sensitivitäten bei einer 95%-igen Spezifität gegenüber Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie, die sich daraus ergebenden Cut-off-Werte, die jeweiligen AUCs, deren Standardabweichungen, sowie die 95%-Konfidenzintervalle der AUCs angegeben. Auch im Vergleich der einzelnen T-Stadien fanden sich signifikante Unterschiede im Verteilungsmuster. Die Biomarker tPSA, cPSA und die Ratio cPSA/tPSA waren in den Stadien T1-T3 im Kollektiv mit PC signifikant höher als in der Gruppe mit BPH. Die Ratio fPSA/tPSA war dagegen in diesen Stadien in der Gruppe mit PC signifikant niedriger (vgl. S.30). Im Stadium T4 fand sich nur für cPSA/tPSA ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen, wobei wiederum höhere Werte in der PC-Gruppe vorlagen. Eine signifikant höhere Verteilung in der PC-Gruppe fand sich auch bei AFP im T1-Stadium, bei CEA im T4-Stadium, bei NSE im T3-Stadium (vgl. S. 33, 39 und 42). Im Gegensatz dazu waren die Biomarker CA 125 im T1- und T2-Stadium, CA 19-9, CYFRA 21-1 und β HCG im T2-Stadium und CRP im T1-T3-Stadium in der Gruppe mit einer benignen Prostatahyperplasie signifikant höher verteilt als in der Gruppe mit PC (vgl. S. 35, 37, 40, 41, 42 und 44). Bei der Verteilung AP, CA15-3, CA72-4 und LDH fand sich keinerlei Unterschied zwischen den Gruppen.

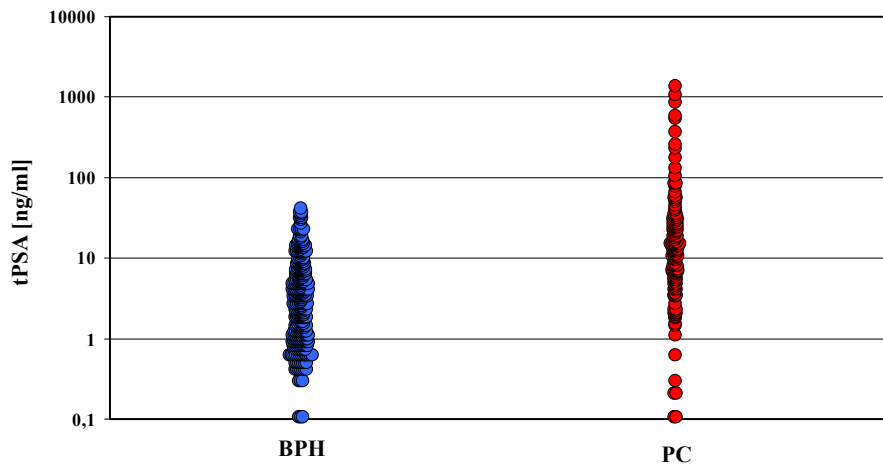


Abb. 1: Verteilung von tPSA

| Diagnose | N | Median | Range | 25.Perzentile | 75.Perzentile | 95.Perzentile |
|----------|-----|--------|----------|---------------|---------------|---------------|
| BPH | 311 | 3,2 | 0,1-39,1 | 1,1 | 7,2 | 18,6 |
| PC | 131 | 13,7 | 0,1-1347 | 5,5 | 28,7 | 250 |

Tab. 7: Werteverteilung von tPSA mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

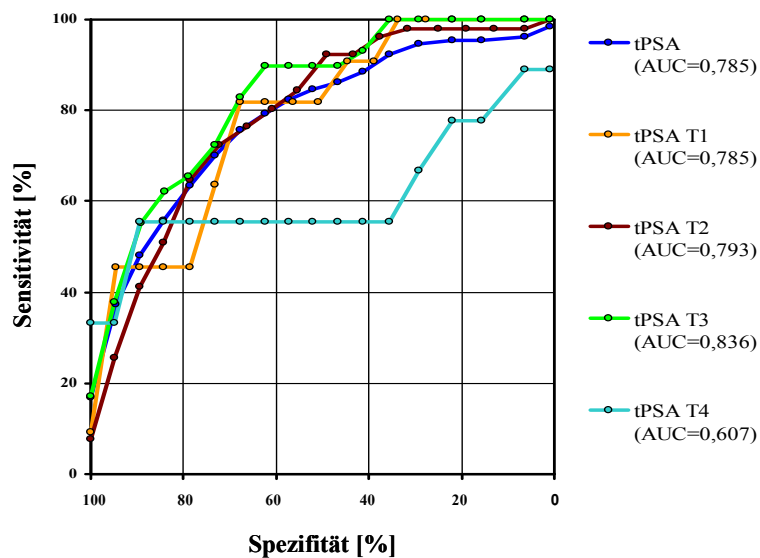


Abb. 2: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|---------|-----|-----|------------|--------------|-------|-------|-------------|----------|
| tPSA | 131 | 311 | 19,2 ng/ml | 35,1% | 0,785 | 0,026 | 0,736-0,834 | <0,00001 |
| tPSA T1 | 11 | - | - | 27,3% | 0,785 | 0,068 | 0,652-0,917 | 0,00002 |
| tPSA T2 | 51 | - | - | 25,5% | 0,793 | 0,032 | 0,730-0,856 | <0,00001 |
| tPSA T3 | 29 | - | - | 37,9% | 0,836 | 0,036 | 0,763-0,908 | <0,00001 |
| tPSA T4 | 9 | - | - | 33,3% | 0,607 | 0,144 | 0,324-0,890 | 0,45883 |

Tab. 8: Sensitivität für tPSA bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

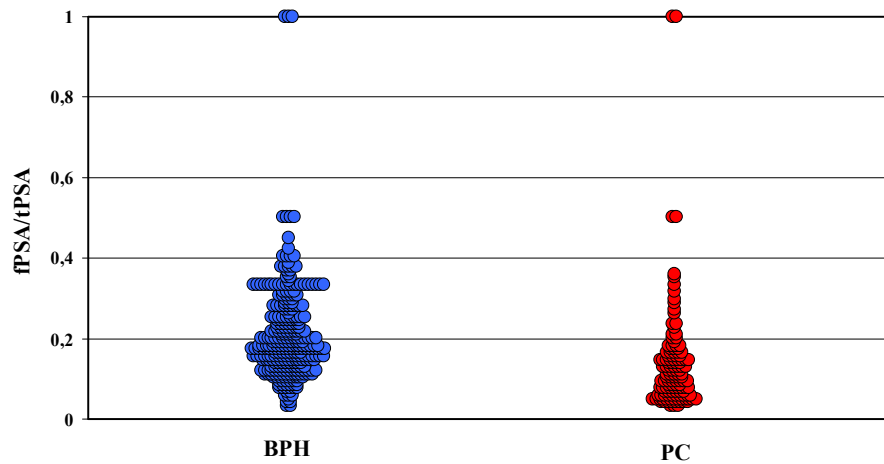


Abb. 5: Verteilung von fPSA/tPSA

| Diagnose | N | Median | Range | 25. Perzentile | 75. Perzentile | 95. Perzentile |
|----------|-----|--------|--------|----------------|----------------|----------------|
| BPH | 311 | 0,18 | 0,02-1 | 0,13 | 0,25 | 0,38 |
| PC | 131 | 0,10 | 0,03-1 | 0,06 | 0,15 | 0,33 |

Tab. 11: Werteverteilung von fPSA/tPSA mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

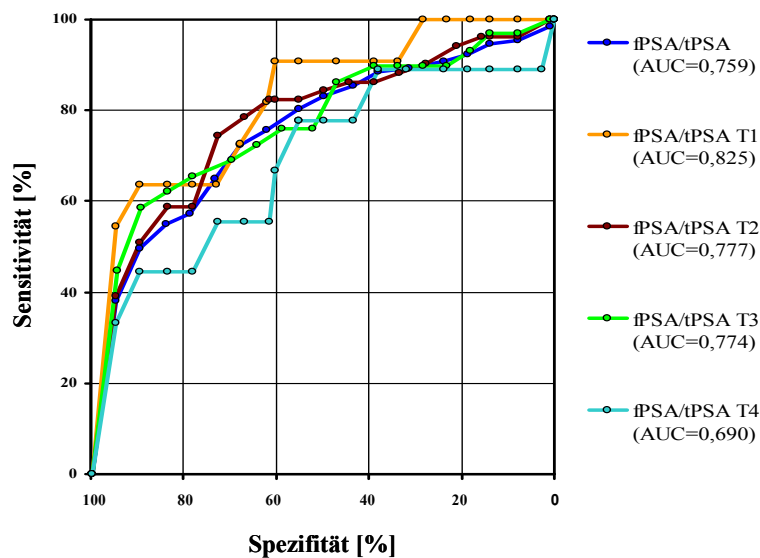


Abb. 6: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-------------|-----|-----|---------|--------------|-------|-------|-------------|----------|
| fPSA/tPSA | 131 | 311 | 0,077 | 37% | 0,759 | 0,027 | 0,760-0,811 | <0,00001 |
| fPSA/tPSAT1 | 11 | - | - | 45% | 0,825 | 0,066 | 0,696-0,954 | <0,00001 |
| fPSA/tPSAT2 | 51 | - | - | 39,2% | 0,777 | 0,039 | 0,701-0,853 | <0,00001 |
| fPSA/tPSAT3 | 29 | - | - | 37,9% | 0,774 | 0,053 | 0,670-0,878 | <0,00001 |
| fPSA/tPSAT4 | 9 | - | - | 33,3% | 0,690 | 0,105 | 0,484-0,895 | - |

Tab.12: Sensitivität für fPSA/tPSA bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

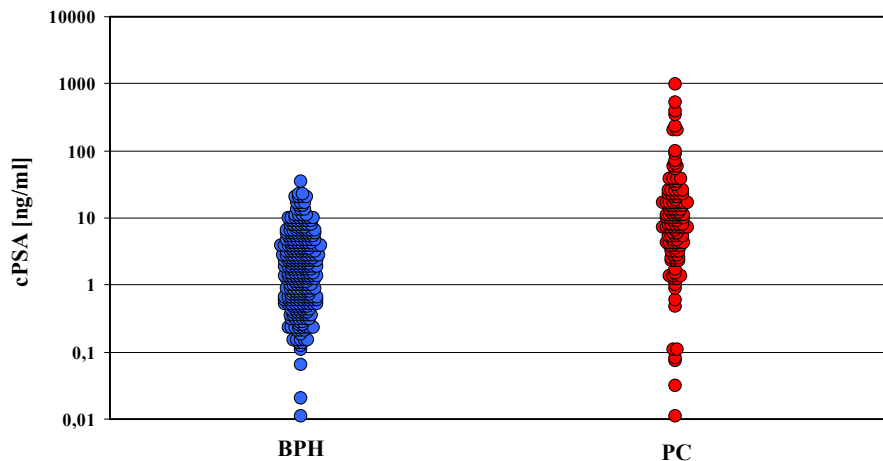


Abb. 3: Verteilung von cPSA

| Diagnose | N | Median | Range | 25. Perzentile | 75. Perzentile | 95. Perzentile |
|----------|-----|--------|----------|----------------|----------------|----------------|
| BPH | 311 | 1,7 | 0,01-32 | 0,6 | 4,48 | 10,9 |
| PC | 131 | 9,02 | 0,01-989 | 3,77 | 19,2 | 191 |

Tab. 9: Werteverteilung von cPSA mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

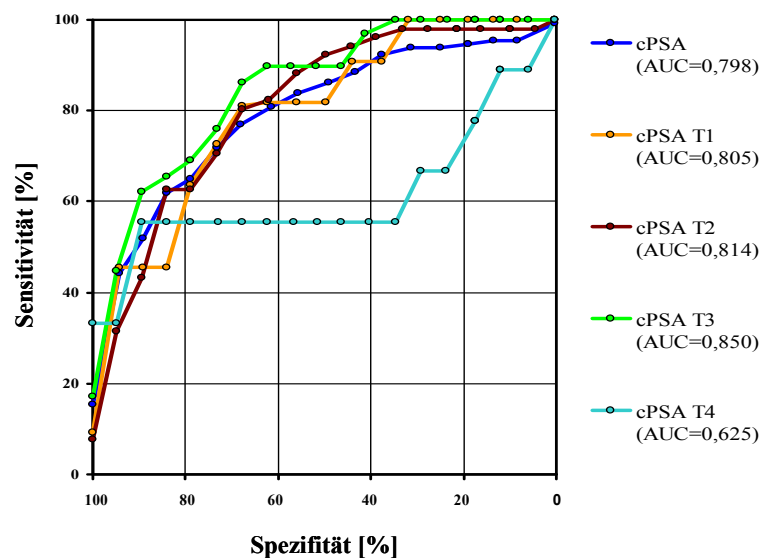


Abb. 4: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|---------|-----|-----|------------|--------------|-------|-------|-------------|----------|
| cPSA | 131 | 311 | 11,6 ng/ml | 39,7% | 0,798 | 0,024 | 0,749-0,847 | <0,00001 |
| cPSA T1 | 11 | - | - | 45,5% | 0,805 | 0,068 | 0,672-0,937 | 0,00001 |
| cPSA T2 | 51 | - | - | 27,5% | 0,814 | 0,032 | 0,753-0,875 | <0,00001 |
| cPSA T3 | 29 | - | - | 44,8% | 0,850 | 0,036 | 0,780-0,921 | <0,00001 |
| cPSA T4 | 9 | - | - | 33,3% | 0,625 | 0,142 | 0,348-0,903 | 0,37636 |

Tab. 10: Sensitivität für cPSA bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

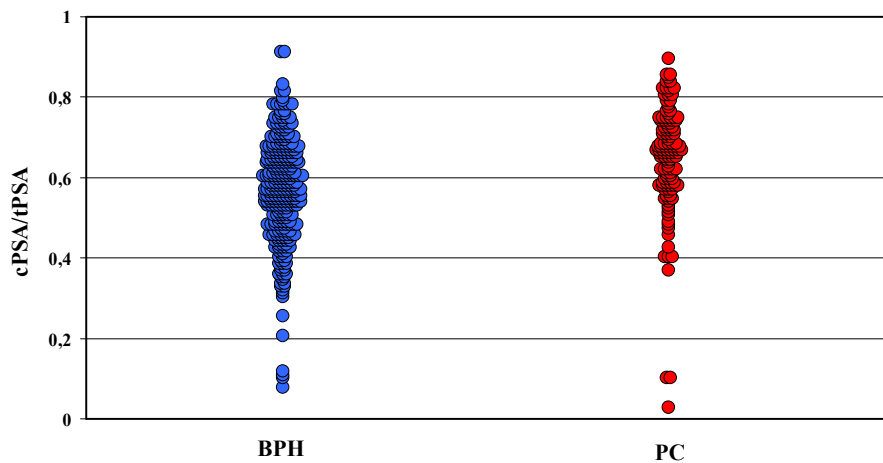


Abb. 7: Verteilung von cPSA/tPSA

| Diagnose | N | Median | Range | 25. Perzentile | 75. Perzentile | 95. Perzentile |
|----------|-----|--------|-----------|----------------|----------------|----------------|
| BPH | 311 | 0,57 | 0,07-0,91 | 0,48 | 0,65 | 0,75 |
| PC | 131 | 0,66 | 0,02-0,89 | 0,58 | 0,73 | 0,82 |

Tab. 13: Werteverteilung von cPSA/tPSA mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

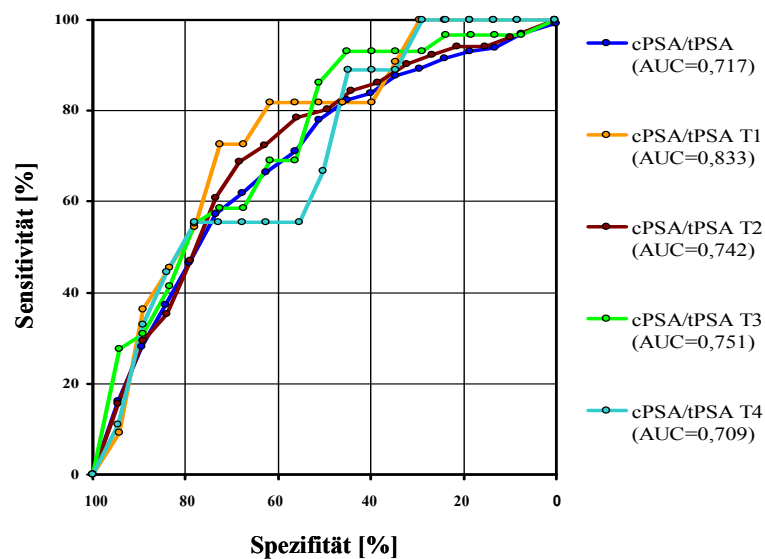


Abb. 8: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-------------|-----|-----|---------|--------------|-------|-------|-------------|----------|
| cPSA/tPSA | 131 | 311 | 0,75 | 16,8% | 0,717 | 0,026 | 0,666-0,768 | <0,00001 |
| cPSA/tPSAT1 | 11 | - | - | 27,3% | 0,833 | 0,068 | 0,711-0,956 | <0,00001 |
| cPSA/tPSAT2 | 51 | - | - | 13,7% | 0,742 | 0,036 | 0,672-0,811 | <0,00001 |
| cPSA/tPSAT3 | 29 | - | - | 27,6% | 0,751 | 0,048 | 0,659-0,844 | <0,00001 |
| cPSA/tPSAT4 | 9 | - | - | 11,1% | 0,709 | 0,082 | 0,548-0,870 | 0,01101 |

Tab.14: Sensitivität für cPSA/tPSA bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

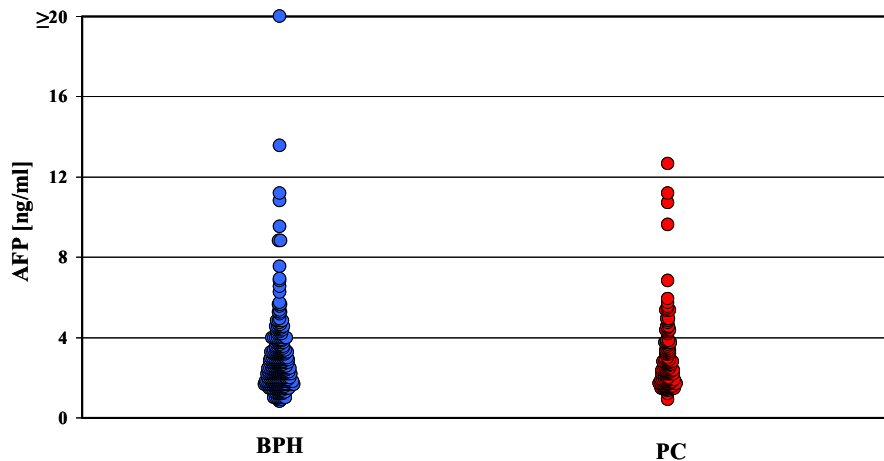


Abb. 9: Verteilung von AFP

| Diagnose | N | Median | Range | 25. Perzentile | 75. Perzentile | 95. Perzentile |
|----------|-----|--------|----------|----------------|----------------|----------------|
| BPH | 311 | 2,4 | 0,8-42,8 | 1,8 | 3,3 | 5,5 |
| PC | 131 | 2,4 | 0,9-12,6 | 1,8 | 3,4 | 5,7 |

Tab. 15: Werteverteilung von AFP mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

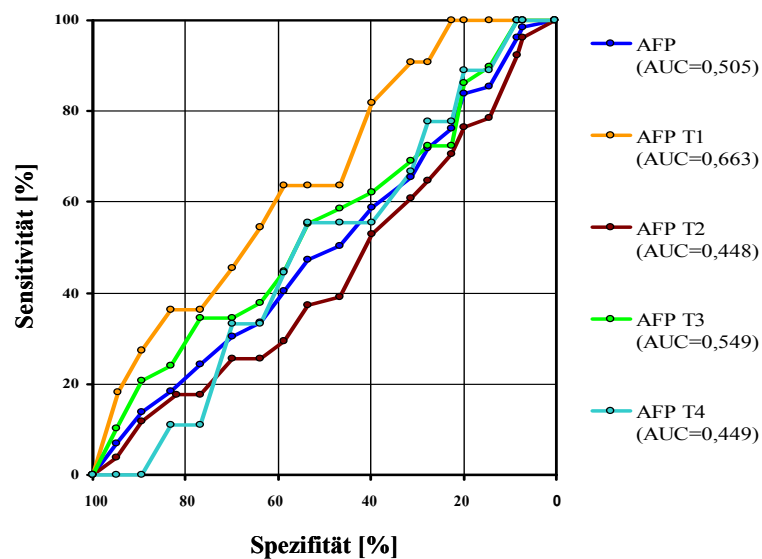


Abb. 10: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|--------|-----|-----|-----------|--------------|-------|-------|-------------|----------------|
| AFP | 131 | 311 | 5,5 ng/ml | 5,3% | 0,505 | 0,030 | 0,446-0,564 | 0,86983 |
| AFP T1 | 11 | - | - | 9,1% | 0,663 | 0,080 | 0,507-0,818 | 0,04034 |
| AFP T2 | 51 | - | - | 3,9% | 0,448 | 0,044 | 0,362-0,535 | 0,23927 |
| AFP T3 | 29 | - | - | 10,3% | 0,549 | 0,060 | 0,433-0,655 | 0,40760 |
| AFP T4 | 9 | - | - | 0% | 0,449 | 0,090 | 0,324-0,674 | 0,99204 |

Tab. 16: Sensitivität für AFP bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

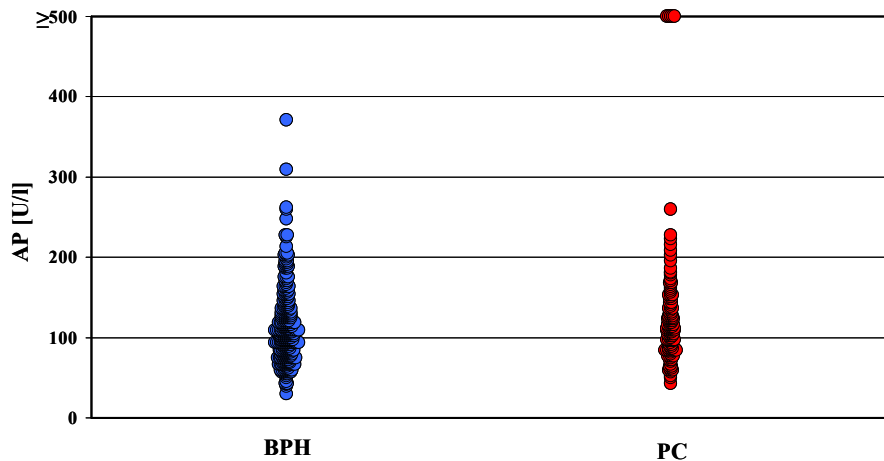


Abb. 11: Verteilung von AP

| Diagnose | N | Median | Range | 25. Perzentile | 75. Perzentile | 95. Perzentile |
|----------|-----|--------|---------|----------------|----------------|----------------|
| BPH | 311 | 104 | 28-370 | 81,0 | 132 | 196 |
| PC | 131 | 111 | 41-2720 | 87,0 | 143 | 225 |

Tab. 17: Werteverteilung von AP mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

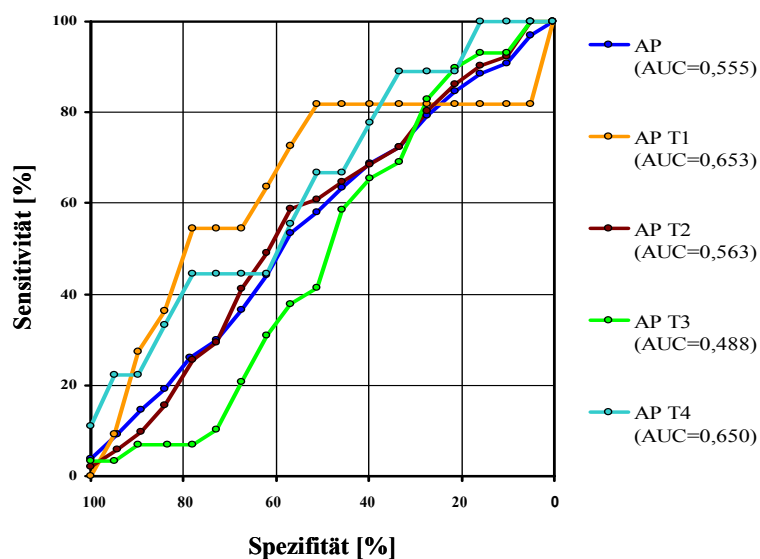


Abb. 12: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|--------|-----|-----|-----------|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| AP | 131 | 311 | 197,2 U/l | 8,4% | 0,555 | 0,030 | 0,497-0,613 | 0,06491 |
| AP T1 | 11 | - | - | 9,1% | 0,653 | 0,106 | 0,477-0,860 | 0,14640 |
| AP T2 | 51 | - | - | 5,8% | 0,563 | 0,042 | 0,482-0,644 | 0,12665 |
| AP T3 | 29 | - | - | 3,4% | 0,488 | 0,046 | 0,397-0,579 | 0,79931 |
| AP T4 | 9 | - | - | 22,2% | 0,650 | 0,096 | 0,462-0,839 | 0,11865 |

Tab. 18: Sensitivität für AP bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

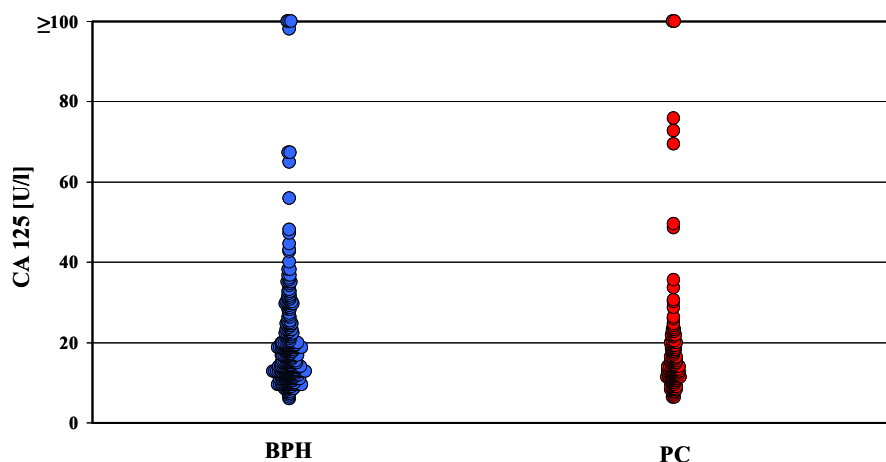


Abb. 13: Verteilung von CA 125

| Diagnose | N | Median | Range | 25. Perzentile | 75. Perzentile | 95. Perzentile |
|----------|-----|--------|---------|----------------|----------------|----------------|
| BPH | 311 | 15,8 | 5,9-166 | 12,0 | 21,4 | 37,8 |
| PC | 131 | 13,7 | 6-702 | 11,2 | 18,8 | 48,2 |

Tab. 19: Werteverteilung von CA 125 mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

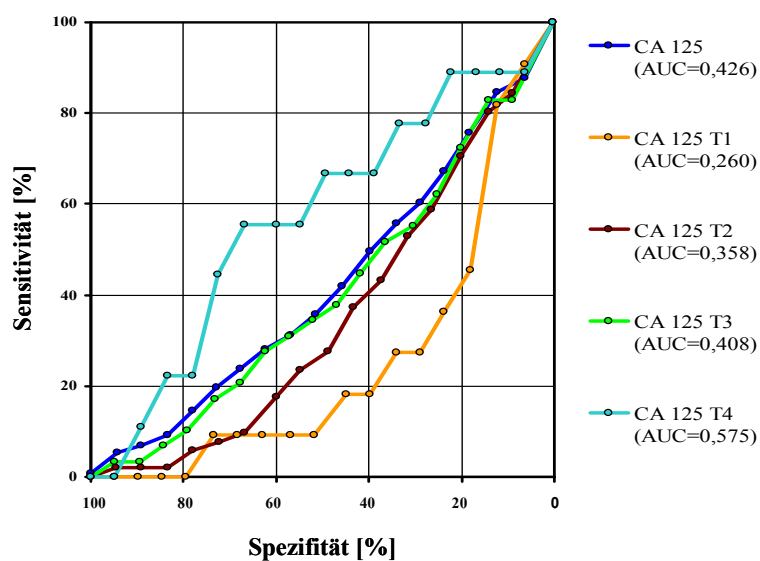


Abb. 14: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-----------|-----|-----|-----------|--------------|-------|-------|-------------|----------------|
| CA 125 | 131 | 311 | 37,8 U/ml | 5,3% | 0,426 | 0,030 | 0,367-0,484 | 0,01310 |
| CA 125 T1 | 11 | - | - | 0% | 0,260 | 0,064 | 0,134-0,387 | 0,00021 |
| CA 125 T2 | 51 | - | - | 1,9% | 0,358 | 0,038 | 0,283-0,432 | 0,00016 |
| CA 125 T3 | 29 | - | - | 3,4% | 0,408 | 0,056 | 0,300-0,516 | 0,09384 |
| CA 125 T4 | 9 | - | - | 0% | 0,575 | 0,100 | 0,378-0,773 | 0,45586 |

Tab. 20: Sensitivität für CA 125 bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

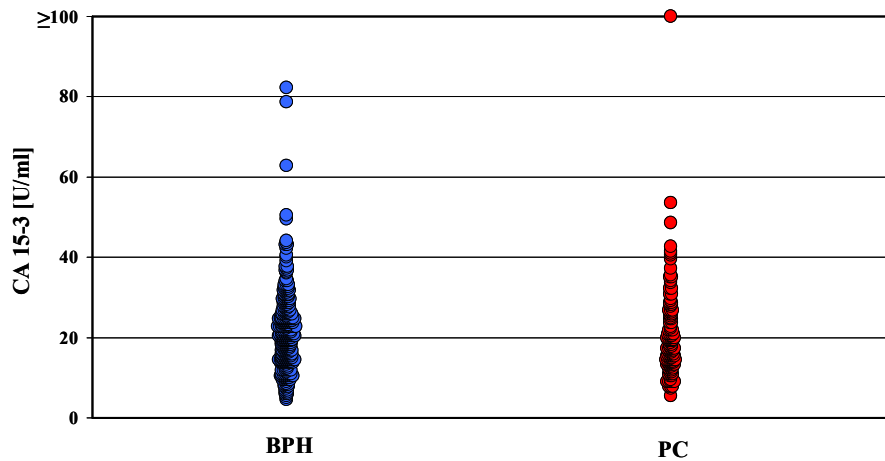


Abb. 15: Verteilung von CA 15-3

| Diagnose | N | Median | Range | 25. Perzentile | 75. Perzentile | 95. Perzentile |
|----------|-----|--------|----------|----------------|----------------|----------------|
| BPH | 311 | 20,3 | 4,2-82,1 | 14,8 | 25,8 | 37,1 |
| PC | 131 | 17,5 | 5,2-370 | 13,5 | 25,4 | 40,4 |

Tab. 21: Werteverteilung von CA 15-3 mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

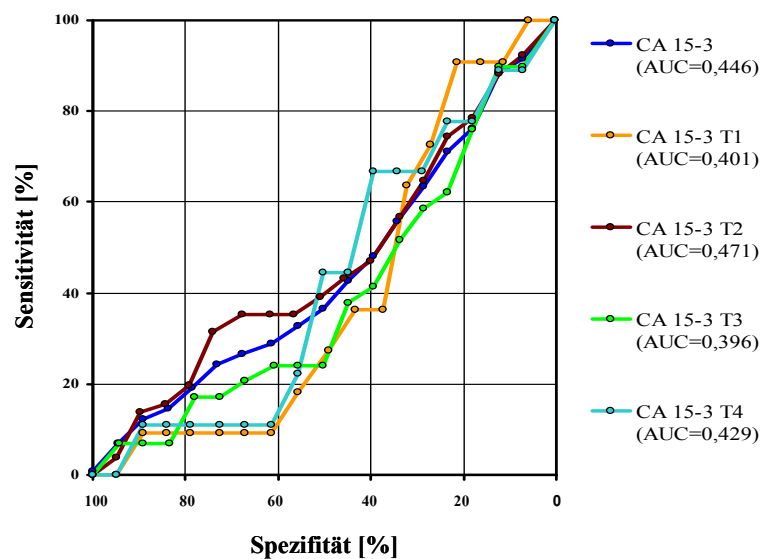


Abb. 16: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|------------|-----|-----|-----------|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| CA 15-3 | 131 | 311 | 37,2 U/ml | 6,1% | 0,446 | 0,030 | 0,387-0,506 | 0,07582 |
| CA 15-3 T1 | 11 | - | - | 0% | 0,401 | 0,070 | 0,262-0,540 | 0,16143 |
| CA 15-3 T2 | 51 | - | - | 3,9% | 0,471 | 0,046 | 0,382-0,559 | 0,51843 |
| CA 15-3 T3 | 29 | - | - | 6,8% | 0,396 | 0,054 | 0,290-0,502 | 0,05381 |
| CA 15-3 T4 | 9 | - | - | 0% | 0,429 | 0,088 | 0,258-0,600 | 0,41445 |

Tab. 22: Sensitivität für CA 15-3 bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

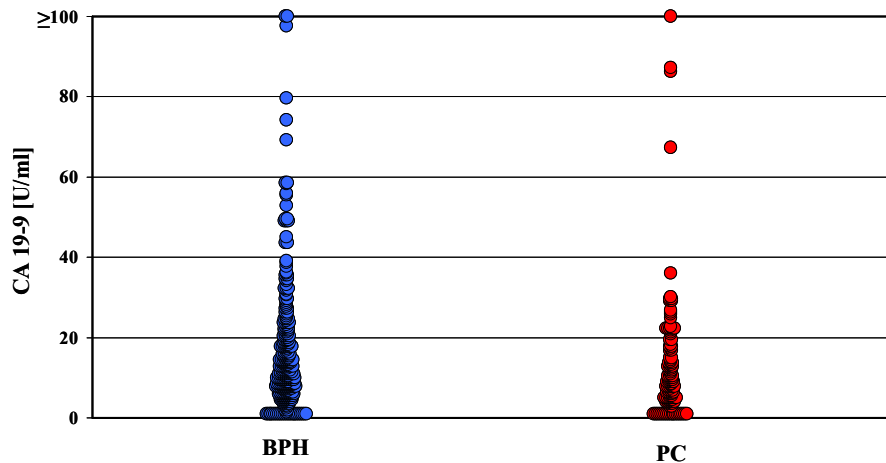


Abb. 17: Verteilung von CA 19-9

| Diagnose | N | Median | Range | 25. Perzentile | 75. Perzentile | 95. Perzentile |
|----------|-----|--------|---------|----------------|----------------|----------------|
| BPH | 311 | 11 | 0,6-149 | 6,1 | 19,4 | 48,9 |
| PC | 131 | 8,7 | 0,6-117 | 4,3 | 14,8 | 29,4 |

Tab. 23: Werteverteilung von CA 19-9 mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

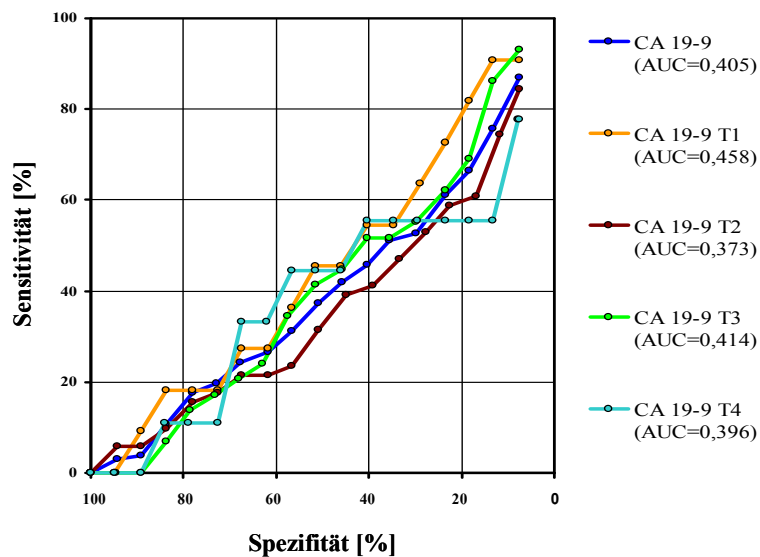


Abb. 18: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|------------|-----|-----|-----------|--------------|-------|-------|-------------|----------------|
| CA 19-9 | 131 | 311 | 48,9 U/ml | 3,1% | 0,405 | 0,030 | 0,346-0,463 | 0,00143 |
| CA 19-9 T1 | 11 | - | - | 0% | 0,458 | 0,090 | 0,281-0,634 | 0,63760 |
| CA 19-9 T2 | 51 | - | - | 5,9% | 0,373 | 0,044 | 0,285-0,460 | 0,00422 |
| CA 19-9 T3 | 29 | - | - | 0% | 0,414 | 0,052 | 0,312-0,516 | 0,09725 |
| CA 19-9 T4 | 9 | - | - | 0% | 0,396 | 0,108 | 0,185-0,607 | 0,33478 |

Tab. 24: Sensitivität für CA 19-9 bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

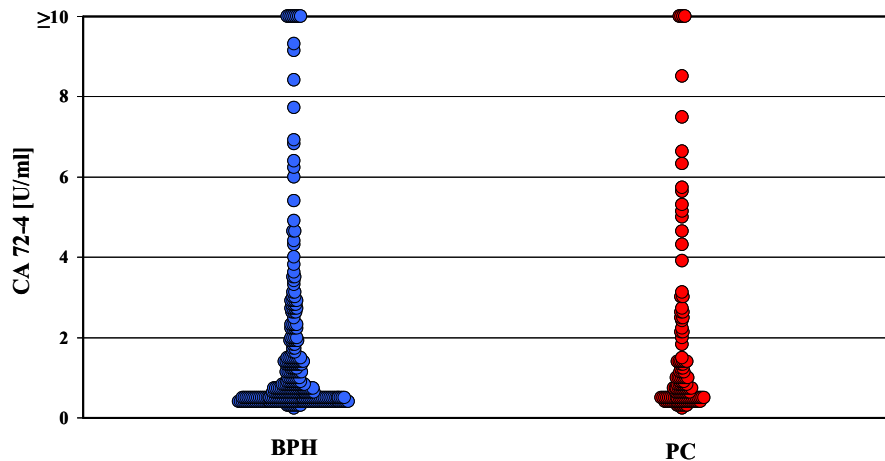


Abb. 19: Verteilung von CA 72-4

| Diagnose | N | Median | Range | 25.Perzentile | 75.Perzentile | 95.Perzentile |
|----------|-----|--------|----------|---------------|---------------|---------------|
| BPH | 311 | 0,7 | 0,2-28,2 | 0,5 | 1,5 | 6,2 |
| PC | 131 | 0,7 | 0,2-32,4 | 0,5 | 1,4 | 6,6 |

Tab. 25: Werteverteilung von CA 72-4 mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

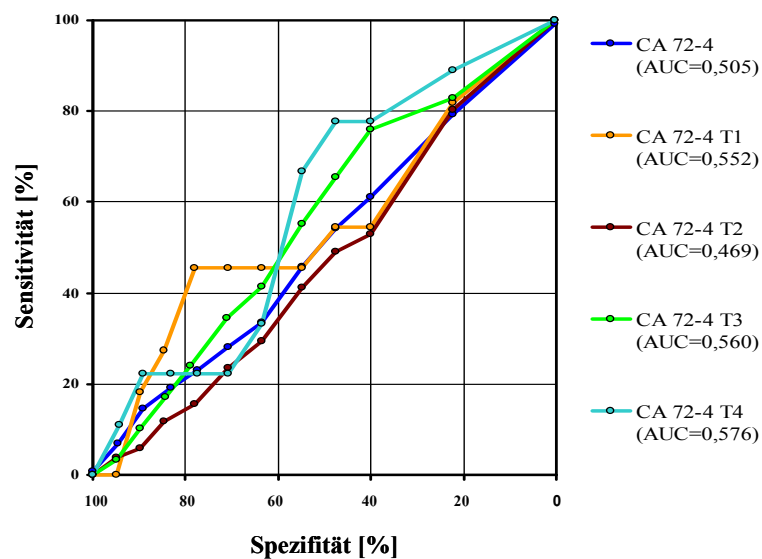


Abb. 20: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|------------|-----|-----|----------|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| CA 72-4 | 131 | 311 | 6,3 U/ml | 6,1% | 0,505 | 0,030 | 0,446-0,564 | 0,86151 |
| CA 72-4 T1 | 11 | - | - | 0% | 0,552 | 0,100 | 0,357-0,747 | 0,59796 |
| CA 72-4 T2 | 51 | - | - | 3,9% | 0,469 | 0,042 | 0,387-0,551 | 0,46166 |
| CA 72-4 T3 | 29 | - | - | 3,4% | 0,560 | 0,054 | 0,454-0,667 | 0,26618 |
| CA 72-4 T3 | 9 | - | - | 11,1% | 0,576 | 0,100 | 0,380-0,733 | 0,44710 |

Tab. 26: Sensitivität für CA 72-4 bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

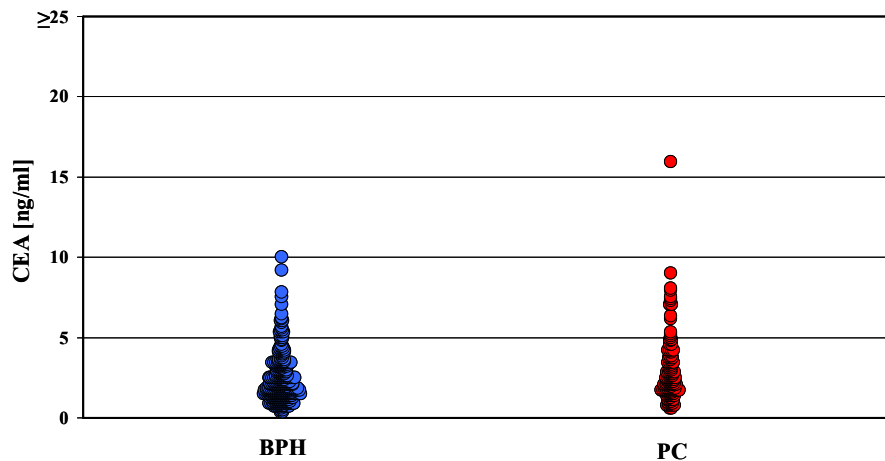


Abb. 21: Verteilung von CEA

| Diagnose | N | Median | Range | 25. Perzentile | 75. Perzentile | 95. Perzentile |
|----------|-----|--------|----------|----------------|----------------|----------------|
| BPH | 311 | 2 | 0,3-9,9 | 1,4 | 3,0 | 5,3 |
| PC | 131 | 2,3 | 0,5-15,8 | 1,6 | 3,4 | 7,2 |

Tab. 27: Werteverteilung von CEA mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

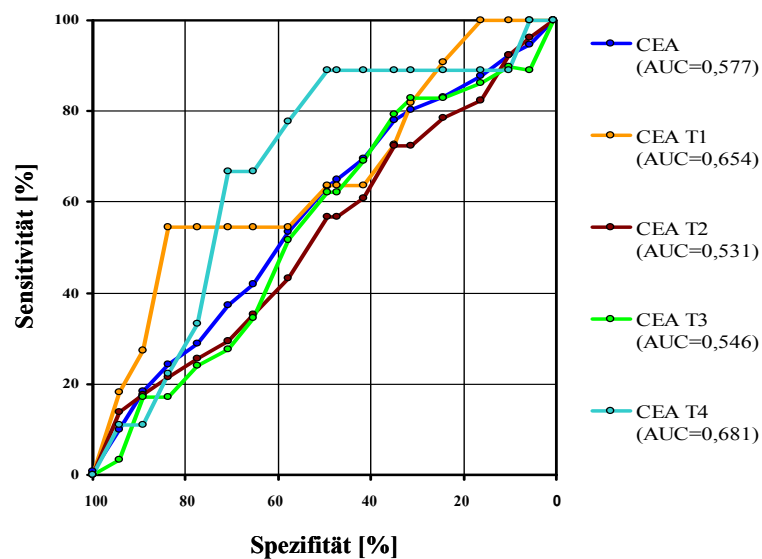


Abb. 22: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|--------|-----|-----|-----------|--------------|-------|-------|-------------|----------------|
| CEA | 131 | 311 | 5,3 ng/ml | 8,4% | 0,577 | 0,030 | 0,518-0,635 | 0,00994 |
| CEA T1 | 11 | - | - | 18,2% | 0,654 | 0,094 | 0,469-0,839 | 0,10266 |
| CEA T2 | 51 | - | - | 11,8% | 0,531 | 0,046 | 0,442-0,619 | 0,49722 |
| CEA T3 | 29 | - | - | 0% | 0,546 | 0,054 | 0,441-0,652 | 0,38766 |
| CEA T4 | 9 | - | - | 11,1% | 0,681 | 0,090 | 0,505-0,857 | 0,04384 |

Tab. 28: Sensitivität für CEA bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

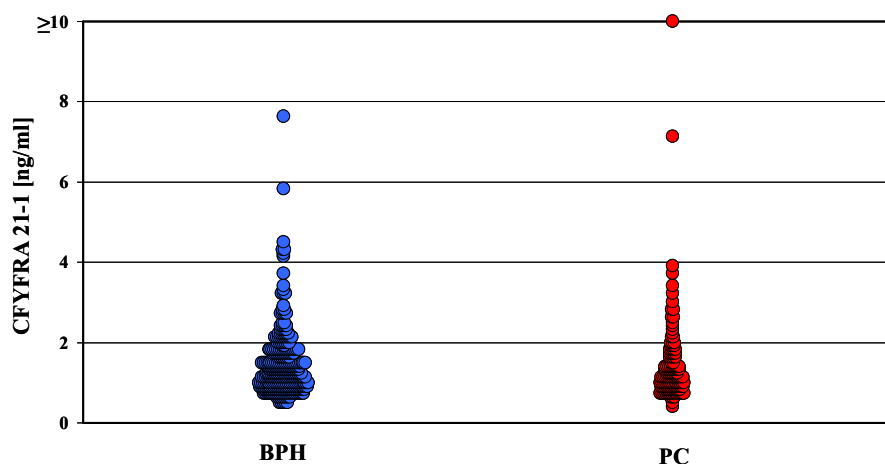


Abb. 23: Verteilung von CYFRA 21-1

| Diagnose | N | Median | Range | 25.Perzentile | 75.Perzentile | 95.Perzentile |
|----------|-----|--------|----------|---------------|---------------|---------------|
| BPH | 311 | 1,2 | 0,5-7,6 | 0,9 | 1,7 | 2,8 |
| PC | 131 | 1,1 | 0,4-32,3 | 0,9 | 1,6 | 3,0 |

Tab. 29: Werteverteilung von CYFRA 21-1 mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

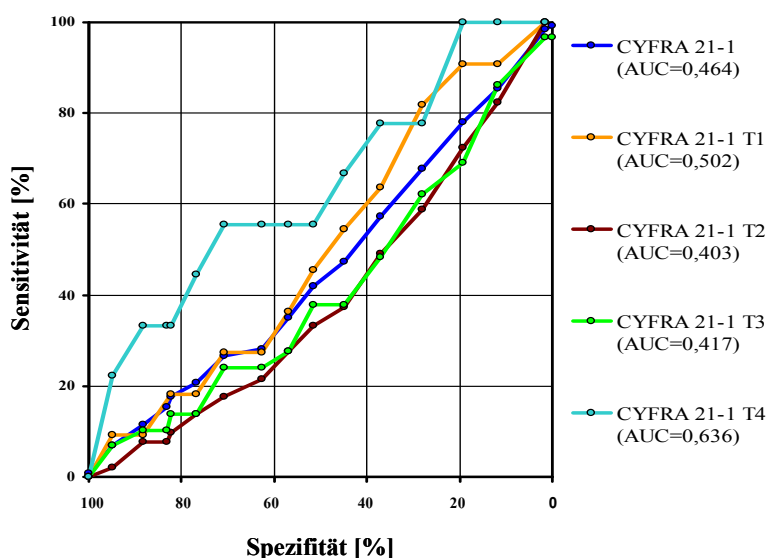


Abb. 24: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|---------------|-----|-----|-----------|--------------|-------|-------|-------------|----------------|
| CYFRA 21-1 | 131 | 311 | 2,8 ng/ml | 6,9% | 0,464 | 0,030 | 0,405-0,522 | 0,22444 |
| CYFRA 21-1 T1 | 11 | - | - | 9,1% | 0,502 | 0,082 | 0,341-0,663 | 0,98295 |
| CYFRA 21-1 T2 | 51 | - | - | 1,9% | 0,403 | 0,042 | 0,321-0,484 | 0,01930 |
| CYFRA 21-1 T3 | 29 | - | - | 6,9% | 0,417 | 0,054 | 0,311-0,522 | 0,12268 |
| CYFRA 21-1 T4 | 9 | - | - | 22,2% | 0,636 | 0,102 | 0,437-0,836 | 0,17907 |

Tab. 30: Sensitivität für CYFRA 21-1 bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

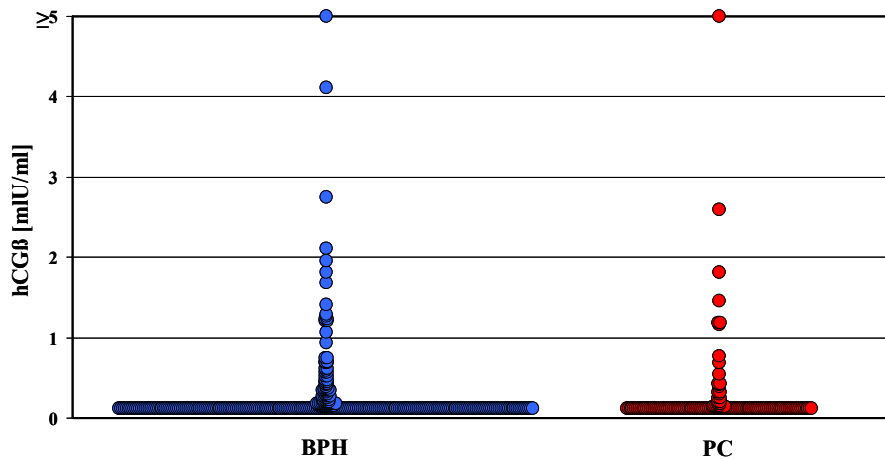


Abb. 25: Verteilung von hCGβ

| Diagnose | N | Median | Range | 25.Perzentile | 75.Perzentile | 95.Perzentile |
|----------|-----|--------|---------|---------------|---------------|---------------|
| BPH | 311 | 0,1 | 0,1-5,7 | 0,1 | 0,2 | 0,9 |
| PC | 131 | 0,1 | 0,1-6,5 | 0,1 | 0,1 | 1,2 |

Tab. 31: Werteverteilung von hCGβ mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

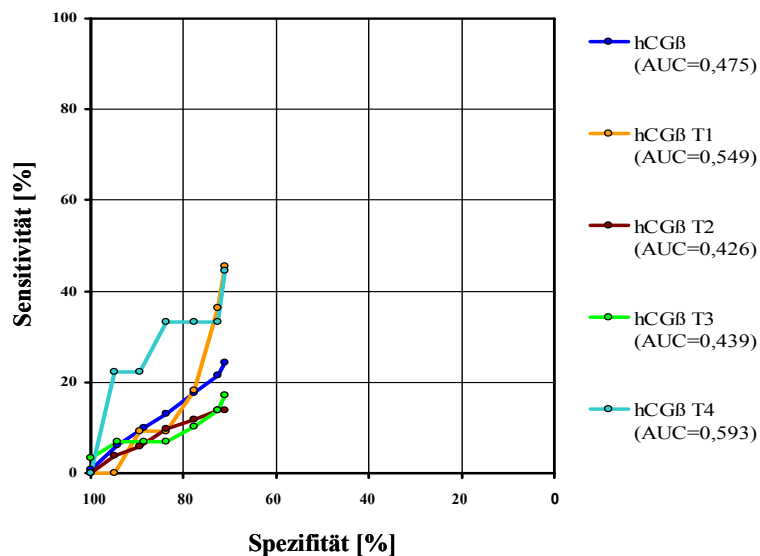


Abb. 26: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|---------|-----|-----|-------------|--------------|-------|-------|-------------|----------------|
| hCGβ | 131 | 311 | 0,97 mIU/ml | 5,3% | 0,475 | 0,024 | 0,430-0,521 | 0,28492 |
| hCGβ T1 | 11 | - | - | 0% | 0,549 | 0,070 | 0,412-0,686 | 0,48486 |
| hCGβ T2 | 51 | - | - | 1,9% | 0,426 | 0,028 | 0,371-0,481 | 0,00799 |
| hCGβ T3 | 29 | - | - | 6,9% | 0,439 | 0,038 | 0,364-0,514 | 0,11296 |
| hCGβ T4 | 9 | - | - | 22,2% | 0,593 | 0,098 | 0,401-0,785 | 0,34108 |

Tab. 32: Sensitivität für hCGβ bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

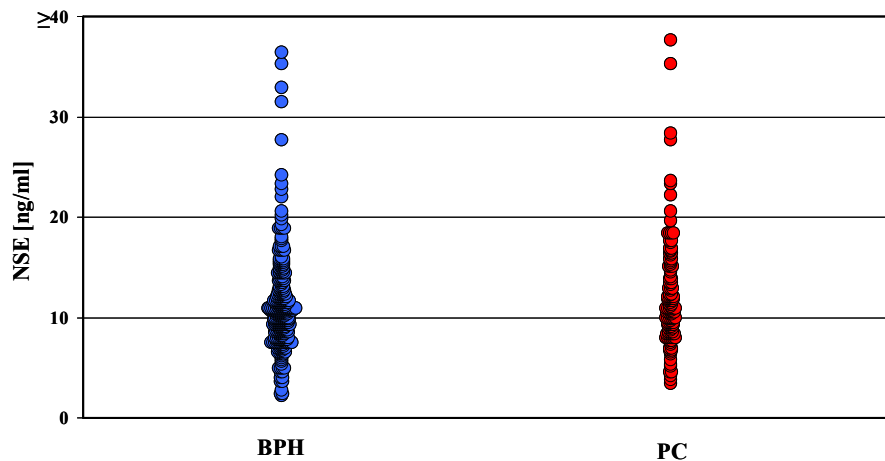


Abb. 27: Verteilung von NSE

| Diagnose | N | Median | Range | 25.Perzentile | 75.Perzentile | 95.Perzentile |
|----------|-----|--------|----------|---------------|---------------|---------------|
| BPH | 311 | 10,5 | 2,1-36,2 | 8,5 | 12,5 | 18,9 |
| PC | 131 | 10,8 | 3,3-37,6 | 8,6 | 14,5 | 22,1 |

Tab. 33: Werteverteilung von NSE mit Median, Range, 25. , 75. und 95. Perzentile

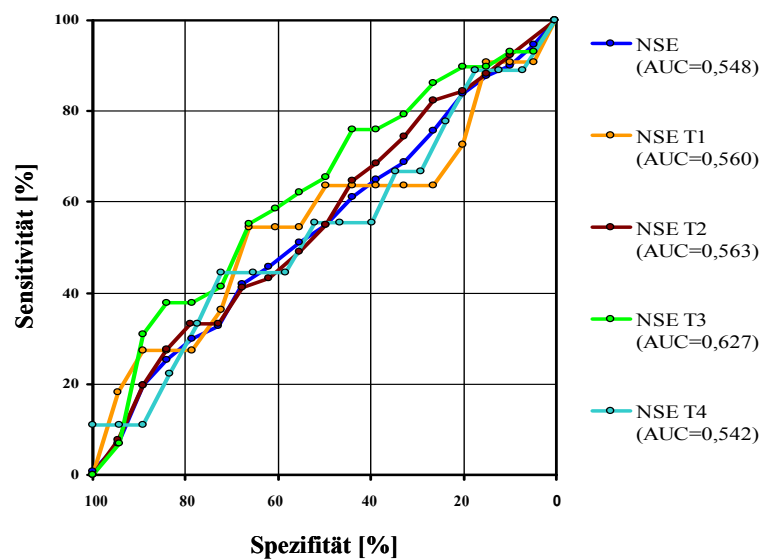


Abb. 28: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|--------|-----|-----|------------|--------------|-------|-------|-------------|----------------|
| NSE | 131 | 311 | 18,9 ng/ml | 6,9% | 0,548 | 0,030 | 0,487-0,608 | 0,12231 |
| NSE T1 | 11 | - | - | 9,1% | 0,560 | 0,106 | 0,351-0,769 | 0,57253 |
| NSE T2 | 51 | - | - | 7,8% | 0,563 | 0,044 | 0,477-0,649 | 0,15106 |
| NSE T3 | 29 | - | - | 6,9% | 0,627 | 0,058 | 0,515-0,739 | 0,02621 |
| NSE T4 | 9 | - | - | 11,1% | 0,542 | 0,110 | 0,326-0,759 | 0,70276 |

Tab. 34: Sensitivität für NSE bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

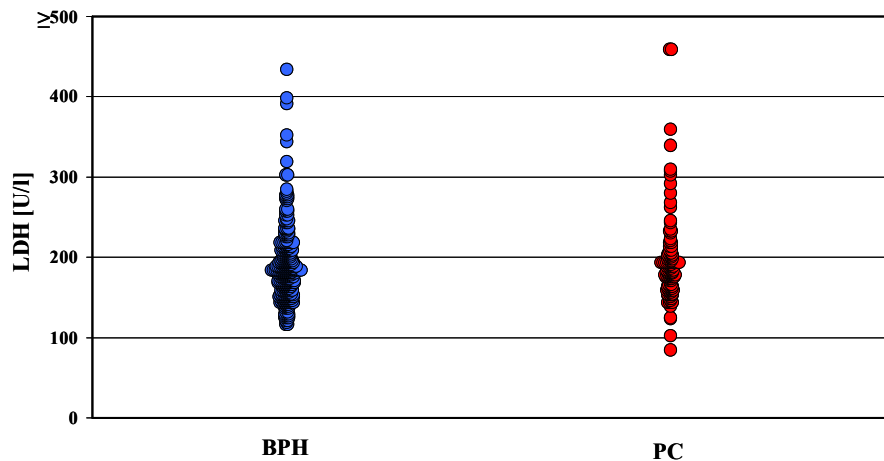


Abb. 29: Verteilung von LDH

| Diagnose | N | Median | Range | 25. Perzentile | 75. Perzentile | 95. Perzentile |
|----------|-----|--------|---------|----------------|----------------|----------------|
| BPH | 311 | 182 | 115-434 | 159 | 205 | 271,0 |
| PC | 131 | 182 | 82-459 | 162 | 199 | 300 |

Tab. 35: Werteverteilung von LDH mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

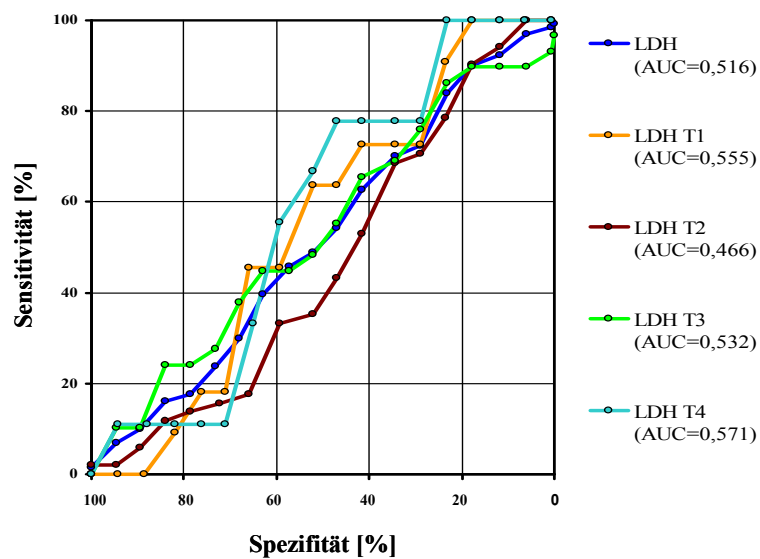


Abb. 30: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|--------|-----|-----|---------|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| LDH | 131 | 311 | 272 U/l | 6,9% | 0,516 | 0,028 | 0,460-0,573 | 0,57399 |
| LDH T1 | 11 | - | - | 0% | 0,555 | 0,072 | 0,416-0,695 | 0,43658 |
| LDH T2 | 51 | - | - | 1,9% | 0,466 | 0,040 | 0,389-0,542 | 0,37882 |
| LDH T3 | 29 | - | - | 10,3% | 0,532 | 0,052 | 0,431-0,634 | 0,53189 |
| LDH T4 | 9 | - | - | 0% | 0,571 | 0,076 | 0,423-0,718 | 0,34595 |

Tab. 36: Sensitivität für LDH bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

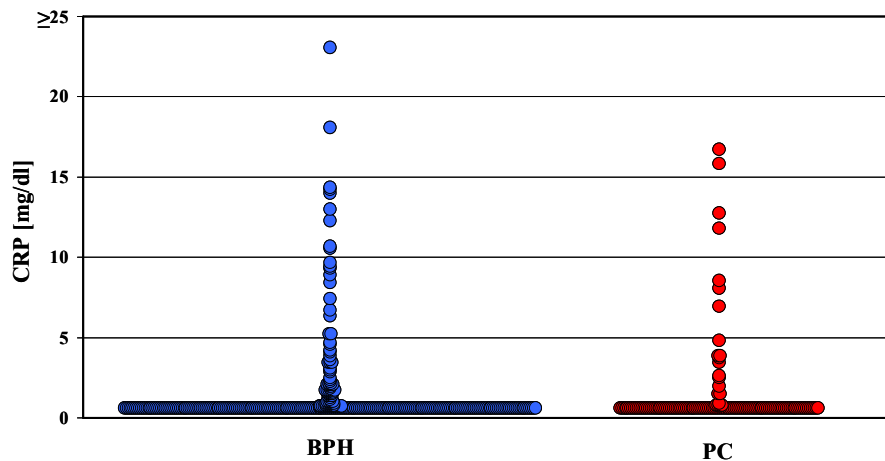


Abb. 31: Verteilung von CRP

| Diagnose | N | Median | Range | 25.Perzentile | 75.Perzentile | 95.Perzentile |
|----------|-----|--------|----------|---------------|---------------|---------------|
| BPH | 311 | 0,5 | 0,5-23 | 0,5 | 0,6 | 6,6 |
| PC | 131 | 0,5 | 0,5-16,6 | 0,5 | 0,5 | 6,9 |

Tab. 37: Werteverteilung von CRP mit Median, Range, 25., 75. und 95. Perzentile

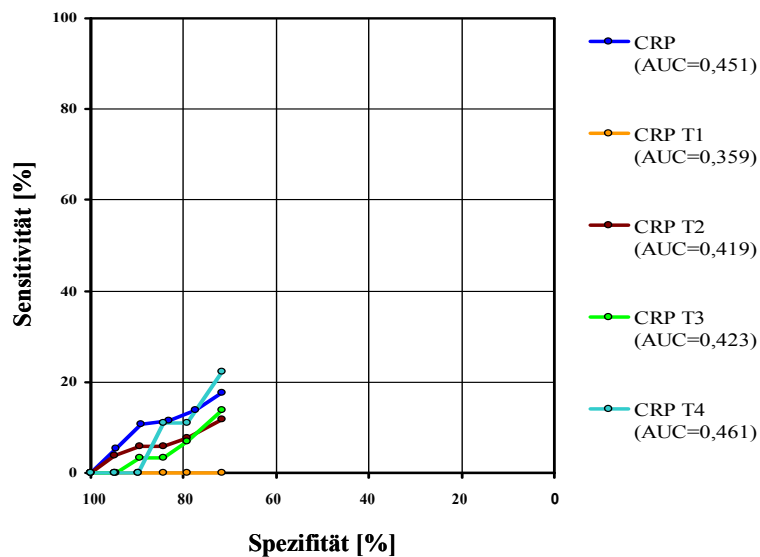


Abb. 32: ROC-Kurven für das Gesamtkollektiv und die einzelnen Stadien T1-T4

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|--------|-----|-----|-----------|--------------|-------|-------|-------------|--------------------|
| CRP | 131 | 311 | 6,9 mg/dl | 5,3% | 0,451 | 0,020 | 0,408-0,493 | 0,02316 |
| CRP T1 | 11 | - | - | 0% | 0,359 | 0,060 | 0,345-0,372 | <0,00001 |
| CRP T2 | 51 | - | - | 3,9% | 0,419 | 0,026 | 0,366-0,471 | 0,00243 |
| CRP T3 | 29 | - | - | 0% | 0,423 | 0,032 | 0,359-0,487 | 0,01847 |
| CRP T4 | 9 | - | - | 0% | 0,461 | 0,068 | 0,326-0,595 | 0,56581 |

Tab. 38: Sensitivität für CRP bei 95%-iger Spezifität insgesamt und für die einzelnen T-Stadien

III.1.2 Univariate Analyse einzelner Biomarker in verschiedenen tPSA-Bereichen

Im Weiteren wird die Verteilung der einzelnen Biomarker in Subpopulationen des Gesamtkollektivs mit verschiedenen tPSA-Bereichen dargelegt. In allen Untergruppen sind für tPSA, cPSA, fPSA/tPSA und cPSA/tPSA die ROCs mit ihren AUCs graphisch dargestellt. Darüber hinaus werden tabellarisch neben den Cut-off-Werten die dazugehörigen Sensitivitäten bei einer 95%-igen Spezifität versus Patienten mit einer BPH, die AUCs, deren Standardabweichung, die 95% Konfidenzintervalle und die jeweiligen p-Values aufgelistet.

Die erste Untergruppe umfasste Patienten mit tPSA-Werten von 0-3,9 ng/ml. Im Verteilungsmuster von tPSA, cPSA, der Ratio fPSA/tPSA, sowie der Ratio cPSA/tPSA gab es hier keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Kollektiven. Die Sensitivitäten von cPSA und fPSA/tPSA waren bei einer 95%-igen Spezifität mit jeweils 8,7% gleich, gefolgt von der Sensitivität von cPSA/tPSA mit 4,3% und von tPSA mit einer Sensitivität von 0 % (vgl. S. 46). CA 15-3 war in diesem Kollektiv bei Patienten mit BPH signifikant gegenüber PC erhöht (vgl. S. 46). Die übrigen Biomarker zeigten keine signifikanten Unterschiede im Verteilungsmuster. Vergleicht man die Subpopulationen mit tPSA-Bereichen von 2-10 ng/ml und 4-10 ng/ml (vgl. S. 47 und 48), waren die Werte von tPSA, cPSA, fPSA/tPSA und cPSA/tPSA in beiden Untergruppen signifikant häufiger in der PC-Gruppe erhöht als in der Gruppe mit BPH, mit Ausnahme von tPSA im Kollektiv mit Werten von 4-10 ng/ml. Die Sensitivität von fPSA/tPSA war in beiden Bereichen den übrigen Biomarkern überlegen. Signifikant unterschiedliche Verteilungen fanden sich auch für die Marker CA 125, CA 19-9, CYFRA 21-1, hCG β und CRP im Bereich von 2-10 ng/ml. Im Bereich von 4-10 ng/ml wiesen die Marker CA 125, CA 19-9, CYFRA 21-1, LDH und CRP signifikante Unterschiede in Verteilungsmuster auf, wobei die hier genannten Biomarker in beiden angesprochenen Bereichen in der Gruppe mit BPH signifikant höher waren als in der Gruppe mit PC (vgl. S. 47 und 48). Im tPSA-Bereich von 0-10 ng/ml besaß die Ratio fPSA/tPSA die beste Sensitivität mit 25,9%, gefolgt von cPSA, tPSA und cPSA/tPSA (vgl. S. 49). Bei allen vier bestand ein signifikanter Unterschied in der Verteilung zwischen beiden Kollektiven. Bei den Parametern CA 125 und CRP fanden sich ebenfalls signifikante Unterschiede: Beide Marker waren im Kollektiv mit BPH im Vergleich zum PC erhöht (vgl. S. 49). Im Bereich >10 ng/ml hatte cPSA die beste Sensitivität mit 38,4%, gefolgt von tPSA mit 32,9%, fPSA/tPSA mit 23,2% und cPSA/tPSA mit 17,8%. Alle vier Parameter waren signifikant höher in der PC-Gruppe. Ebenso waren die Marker CA 19-9, CRP und CEA in dieser Subpopulation zwischen Patienten mit BPH und mit PC signifikant unterschiedlich verteilt. Hier fand sich jedoch beim

CA19-9 und bei CRP eine Erhöhung in der BPH-Gruppe, während CEA in der PC-Gruppe erhöht war (vgl. S. 50).

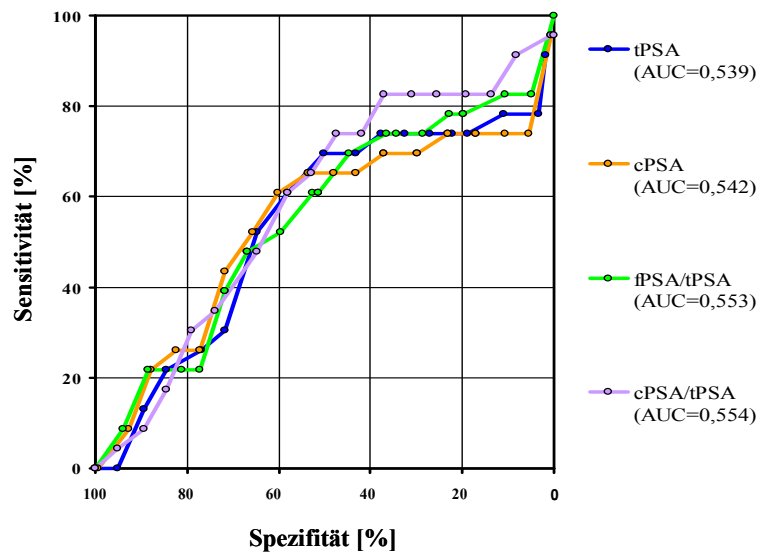


Abb. 33: ROC-Kurven für den Bereich tPSA 0-3,9 ng/ml

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-----------|----|-----|------------|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| tPSA | 23 | 181 | 3,6 ng/ml | 0% | 0,539 | 0,071 | 0,401-0,678 | 0,5888 |
| cPSA | - | - | 2,32 ng/ml | 8,7% | 0,542 | 0,075 | 0,394-0,690 | 0,5815 |
| fPSA/tPSA | - | - | 0,077 | 8,7% | 0,553 | 0,070 | 0,415-0,690 | 0,4543 |
| cPSA/tPSA | - | - | 0,740 | 4,3% | 0,554 | 0,075 | 0,459-0,708 | 0,4536 |

Tab. 39: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH mit Cut-off-Wert

| Marker | PC | BPH | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-------------|----|-----|-------|-------|-------------|---------------|
| AP | 23 | 181 | 0,590 | 0,071 | 0,451-0,728 | 0,2053 |
| AFP | - | - | 0,458 | 0,061 | 0,339-0,578 | 0,4943 |
| CA 125 | - | - | 0,380 | 0,063 | 0,257-0,503 | 0,0551 |
| CA 15-3 | - | - | 0,423 | 0,068 | 0,291-0,555 | 0,0250 |
| CA 19-9 | - | - | 0,578 | 0,069 | 0,442-0,713 | 0,2596 |
| CA 72-4 | - | - | 0,489 | 0,063 | 0,359-0,619 | 0,8701 |
| CEA | - | - | 0,546 | 0,064 | 0,421-0,671 | 0,4709 |
| CYFRA 21-1 | - | - | 0,434 | 0,078 | 0,295-0,572 | 0,3489 |
| hCG β | - | - | 0,047 | 0,047 | 0,379-0,561 | 0,5191 |
| NSE | - | - | 0,590 | 0,068 | 0,458-0,722 | 0,1814 |
| LDH | - | - | 0,593 | 0,049 | 0,496-0,690 | 0,0611 |
| CRP | - | - | 0,482 | 0,039 | 0,405-0,558 | 0,6428 |

Tab. 40: AUC, STD, 95% Konfidenzintervall und p-Value für jeden Biomarker

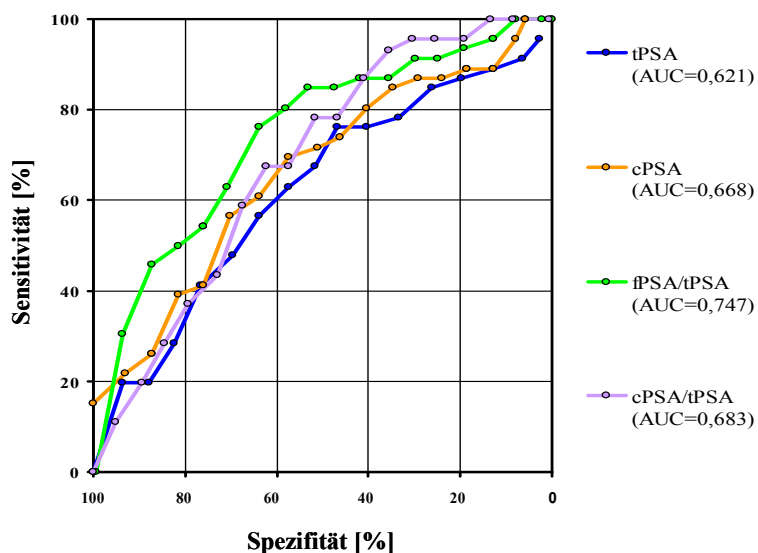


Abb. 34: ROC-Kurven für den Bereich tPSA 2,0-10,9 ng/ml

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-----------|----|-----|------------|--------------|-------|-------|-------------|-------------------|
| tPSA | 46 | 141 | 9,1 ng/ml | 19,6% | 0,621 | 0,049 | 0,524-0,718 | 0,0146 |
| cPSA | - | - | 5,69 ng/ml | 21,7% | 0,668 | 0,048 | 0,575-0,761 | 0,0005 |
| fPSA/tPSA | - | - | 0,075 | 30,4% | 0,747 | 0,042 | 0,664-0,830 | <0,0001 |
| cPSA/tPSA | - | - | 0,750 | 16,6% | 0,683 | 0,041 | 0,602-0,764 | <0,0001 |

Tab. 41: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH mit Cut-off-Wert

| Marker | PC | BPH | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-------------|----|-----|-------|-------|-------------|-------------------|
| AP | 46 | 141 | 0,546 | 0,046 | 0,456-0,636 | 0,3188 |
| AFP | - | - | 0,549 | 0,049 | 0,452-0,647 | 0,3203 |
| CA 125 | - | - | 0,332 | 0,043 | 0,247-0,417 | 0,0001 |
| CA 15-3 | - | - | 0,454 | 0,051 | 0,354-0,555 | 0,3706 |
| CA 19-9 | - | - | 0,383 | 0,047 | 0,291-0,476 | 0,0134 |
| CA 72-4 | - | - | 0,479 | 0,048 | 0,384-0,573 | 0,6607 |
| CEA | - | - | 0,541 | 0,049 | 0,445-0,636 | 0,4041 |
| CYFRA 21-1 | - | - | 0,373 | 0,451 | 0,284-0,461 | 0,0047 |
| hCG β | - | - | 0,429 | 0,033 | 0,364-0,494 | 0,0326 |
| NSE | - | - | 0,581 | 0,056 | 0,482-0,681 | 0,1076 |
| LDH | - | - | 0,442 | 0,045 | 0,354-0,530 | 0,1945 |
| CRP | - | - | 0,390 | 0,023 | 0,346-0,435 | <0,0001 |

Tab. 42: AUC, STD, 95% Konfidenzintervall und p-Value für jeden Biomarker

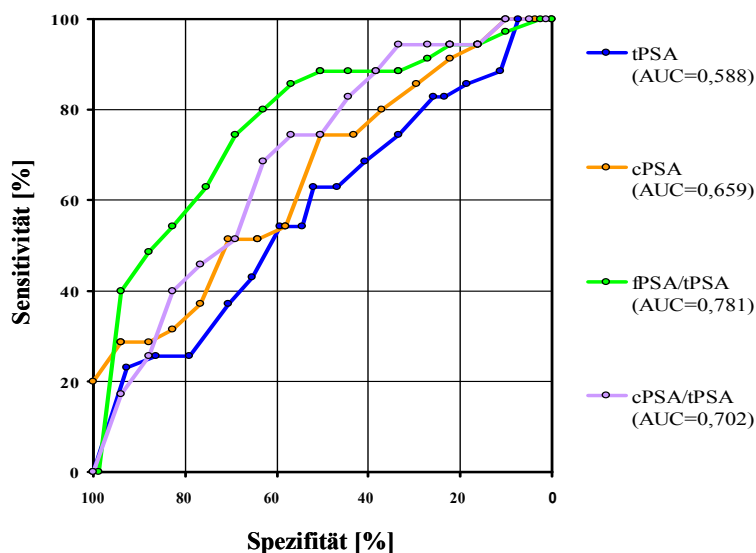


Abb. 35: ROC-Kurven für den Bereich tPSA 4,0-10,9 ng/ml

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-----------|----|-----|------------|--------------|-------|-------|-------------|-------------------|
| tPSA | 35 | 81 | 9,6 ng/ml | 20% | 0,588 | 0,059 | 0,473-0,704 | 0,1364 |
| cPSA | - | - | 6,04 ng/ml | 25,7% | 0,659 | 0,055 | 0,550-0,767 | 0,0044 |
| fPSA/tPSA | - | - | 0,079 | 34,3% | 0,781 | 0,049 | 0,685-0,876 | <0,0001 |
| cPSA/tPSA | - | - | 0,750 | 17,1% | 0,702 | 0,051 | 0,603-0,801 | 0,0001 |

Tab. 43: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH mit Cut-off-Wert

| Marker | PC | BPH | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-------------|----|-----|-------|-------|-------------|-------------------|
| AP | 35 | 81 | 0,547 | 0,054 | 0,442-0,653 | 0,3777 |
| AFP | - | - | 0,587 | 0,058 | 0,473-0,700 | 0,1355 |
| CA 125 | - | - | 0,322 | 0,052 | 0,220-0,423 | 0,0006 |
| CA 15-3 | - | - | 0,419 | 0,558 | 0,310-0,528 | 0,1469 |
| CA 19-9 | - | - | 0,331 | 0,053 | 0,227-0,435 | 0,0014 |
| CA 72-4 | - | - | 0,479 | 0,061 | 0,359-0,598 | 0,7269 |
| CEA | - | - | 0,551 | 0,058 | 0,438-0,665 | 0,3759 |
| CYFRA 21-1 | - | - | 0,366 | 0,055 | 0,258-0,475 | 0,0157 |
| hCG β | - | - | 0,442 | 0,415 | 0,361-0,523 | 0,1617 |
| NSE | - | - | 0,583 | 0,055 | 0,474-0,691 | 0,1356 |
| LDH | - | - | 0,379 | 0,055 | 0,272-0,486 | 0,0274 |
| CRP | - | - | 0,363 | 0,025 | 0,315-0,411 | <0,0001 |

Tab. 44: AUC, STD, 95% Konfidenzintervall und p-Value für jeden Biomarker

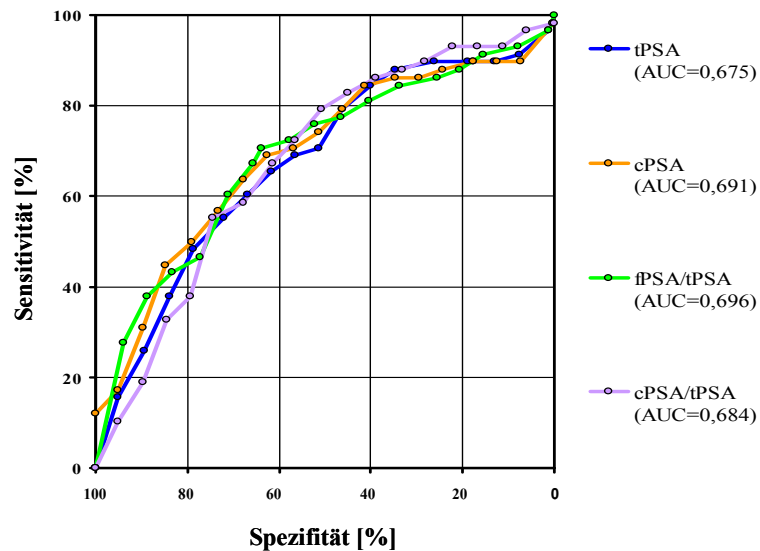


Abb. 36: ROC-Kurven für den Bereich tPSA <10 ng/ml

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-----------|----|-----|-----------|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| tPSA | 58 | 262 | 8,5ng/ml | 15,5% | 0,675 | 0,041 | 0,595-0,756 | <0,0001 |
| cPSA | - | - | 5,47ng/ml | 17,2% | 0,691 | 0,042 | 0,608-0,774 | <0,0001 |
| fPSA/tPSA | - | - | 0,083 | 25,9% | 0,696 | 0,042 | 0,615-0,778 | <0,0001 |
| cPSA/tPSA | - | - | 0,749 | 12,1% | 0,684 | 0,038 | 0,609-0,785 | <0,0001 |

Tab. 45: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH mit Cut-off-Wert

| Marker | PC | BPH | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-------------|----|-----|-------|-------|-------------|----------------|
| AP | 58 | 262 | 0,563 | 0,419 | 0,481-0,645 | 0,13277 |
| AFP | - | - | 0,562 | 0,415 | 0,445-0,607 | 0,52842 |
| CA 125 | - | - | 0,367 | 0,337 | 0,293-0,441 | 0,00043 |
| CA 15-3 | - | - | 0,432 | 0,041 | 0,352-0,512 | 0,09549 |
| CA 19-9 | - | - | 0,456 | 0,423 | 0,398-0,565 | 0,30229 |
| CA 72-4 | - | - | 0,481 | 0,426 | 0,447-0,646 | 0,65587 |
| CEA | - | - | 0,551 | 0,041 | 0,470-0,632 | 0,21985 |
| CYFRA 21-1 | - | - | 0,425 | 0,408 | 0,345-0,505 | 0,06577 |
| hCG β | - | - | 0,460 | 0,294 | 0,402-0,517 | 0,17020 |
| NSE | - | - | 0,572 | 0,429 | 0,488-0,656 | 0,09124 |
| LDH | - | - | 0,484 | 0,379 | 0,410-0,558 | 0,67312 |
| CRP | - | - | 0,429 | 0,021 | 0,388-0,470 | 0,00067 |

Tab. 46: AUC, STD, 95% Konfidenzintervall und p-Value für jeden Biomarker

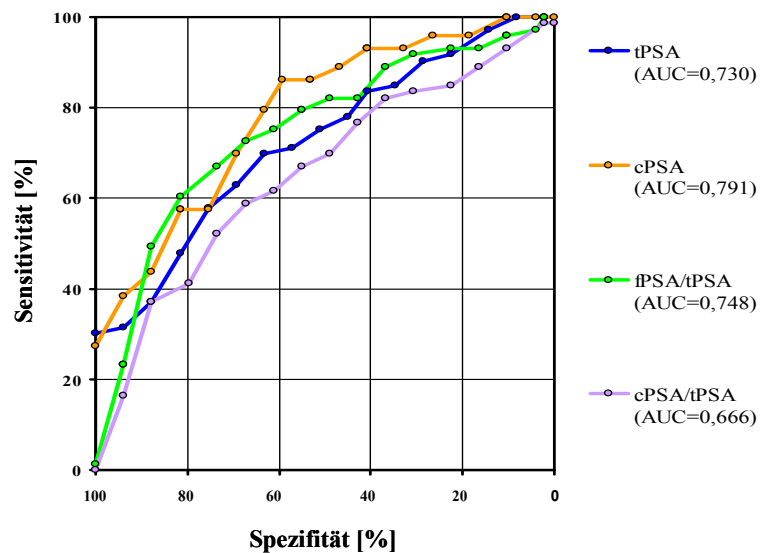


Abb. 37: ROC-Kurven für den Bereich tPSA >10 ng/ml

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-----------|----|-----|------------|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| tPSA | 73 | 49 | 36,4 ng/ml | 32,9% | 0,730 | 0,045 | 0,642-0,818 | <0,0001 |
| cPSA | - | - | 21,5 ng/ml | 38,4% | 0,791 | 0,040 | 0,712-0,871 | <0,0001 |
| fPSA/tPSA | - | - | 0,050 | 23,3% | 0,748 | 0,045 | 0,658-0,837 | <0,0001 |
| cPSA/tPSA | - | - | 0,77 | 17,8% | 0,666 | 0,046 | 0,570-0,762 | 0,0001 |

Tab. 47: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH mit Cut-off-Wert

| Marker | PC | BPH | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-------------|----|-----|-------|-------|-------------|---------|
| AP | 73 | 49 | 0,513 | 0,055 | 0,404-0,621 | 0,8181 |
| AFP | - | - | 0,474 | 0,054 | 0,368-0,580 | 0,6269 |
| CA 125 | - | - | 0,454 | 0,053 | 0,351-0,558 | 0,3873 |
| CA 15-3 | - | - | 0,510 | 0,053 | 0,406-0,614 | 0,8477 |
| CA 19-9 | - | - | 0,320 | 0,050 | 0,222-0,419 | 0,0003 |
| CA 72-4 | - | - | 0,547 | 0,051 | 0,447-0,646 | 0,3604 |
| CEA | - | - | 0,619 | 0,052 | 0,517-0,722 | 0,0225 |
| CYFRA 21-1 | - | - | 0,480 | 0,052 | 0,380-0,585 | 0,7372 |
| hCG β | - | - | 0,479 | 0,043 | 0,395-0,564 | 0,6323 |
| NSE | - | - | 0,540 | 0,052 | 0,437-0,643 | 0,4455 |
| LDH | - | - | 0,512 | 0,054 | 0,406-0,617 | 0,8296 |
| CRP | - | - | 0,365 | 0,045 | 0,277-0,453 | 0,0027 |

Tab. 48: AUC, STD, 95% Konfidenzintervall und p-Value für jeden Biomarker

III.1.3 Univariate Analyse von tPSA, cPSA, f/tPSA, c/tPSA und Graduierung

Tabelle 49 gibt bei unserem Patientenkollektiv den Median, die Range und die 95. Perzentile der Werte von tPSA, cPSA, fPSA/tPSA und cPSA/tPSA in Hinblick auf die Tumorgraduierung wieder. Abbildung 38 und 39 zeigen die ROCs mit ihren AUCs für tPSA, cPSA, fPSA/tPSA und cPSA/tPSA. Tabellen 50 und 51 zeigen Sensitivitäten bei 95%-iger Spezifität versus BPH, die AUC mit Standardabweichung und 95%-igem Konfidenzintervall. Tabelle 52 gibt den Zusammenhang zwischen Grading und Tumorstadium in unserem Kollektiv mit PC wieder.

| Grading | N | Variable | Median | Range | 95.Perzentile |
|---------|----|-----------|--------|-----------|---------------|
| 1 | 6 | tPSA | 7,95 | 1,8-30,4 | 30,4 |
| | | cPSA | 4,83 | 0,93-24,9 | 24,9 |
| | | fPSA/tPSA | 0,11 | 0,22-0,05 | 0,22 |
| | | cPSA/tPSA | 0,62 | 0,52-0,82 | 0,82 |
| 2 | 64 | tPSA | 12,55 | 0,1-573 | 55,3 |
| | | cPSA | 8,70 | 0,01-335 | 36,7 |
| | | fPSA/tPSA | 0,09 | 0,03-1 | 0,29 |
| | | cPSA/tPSA | 0,67 | 0,1-0,85 | 0,82 |
| 3 | 9 | tPSA | 23,6 | 0,3-1347 | 513 |
| | | cPSA | 15,3 | 0,11-989 | 360 |
| | | fPSA/tPSA | 0,09 | 0,04-0,33 | 0,32 |
| | | cPSA/tPSA | 0,67 | 0,37-0,89 | 0,84 |

Tab. 49: Angegeben sind die Anzahl der Patienten, die Biomarker , Median, Range und die 95.Perzentile

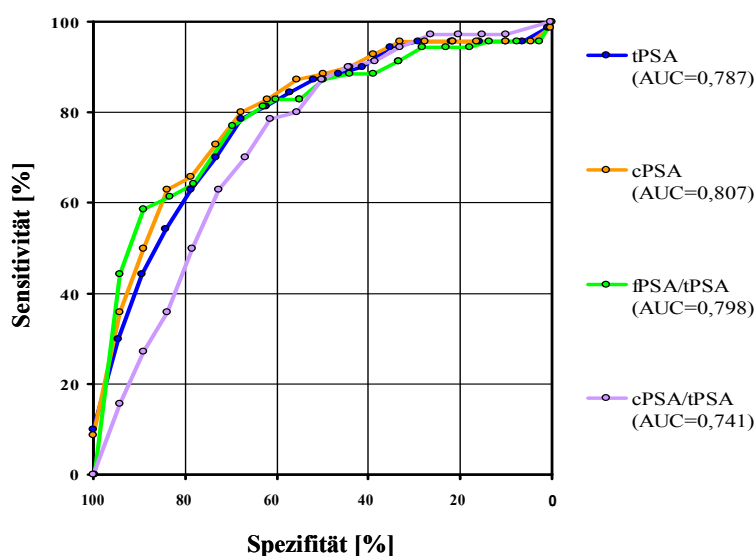


Abb. 38: ROC-Kurven im Stadium G1/2

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI |
|-----------|----|-----|------------|--------------|-------|-------|-------------|
| tPSA | 70 | 311 | 18,2 ng/ml | 28,6% | 0,787 | 0,031 | 0,727-0,848 |
| cPSA | - | - | 10,4 ng/ml | 35,7% | 0,807 | 0,030 | 0,747-0,866 |
| fPSA/tPSA | - | - | 0,077 | 44,3% | 0,798 | 0,033 | 0,734-0,863 |
| cPSA/tPSA | - | - | 0,750 | 17,1% | 0,741 | 0,030 | 0,682-0,800 |

Tab. 50 Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH mit Cut-off-Wert, AUC, STD und 95%-KI

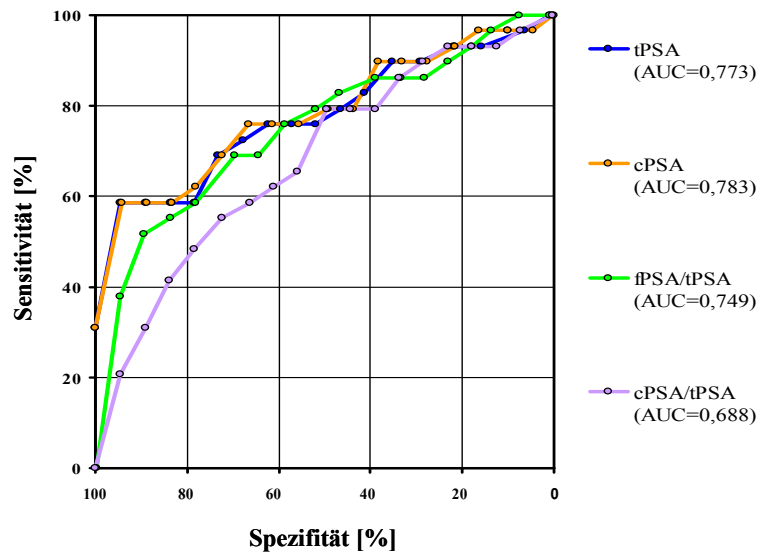


Abb. 39: ROC-Kurven im Stadium G3

| Marker | PC | BPH | Cut-off | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI |
|-----------|----|-----|------------|--------------|-------|-------|-------------|
| tPSA | 29 | 311 | 18,2 ng/ml | 55,2% | 0,773 | 0,056 | 0,663-0,884 |
| cPSA | - | - | 10,4 ng/ml | 58,6% | 0,783 | 0,055 | 0,675-0,890 |
| fPSA/tPSA | - | - | 0,077 | 37,9% | 0,749 | 0,054 | 0,643-0,854 |
| cPSA/tPSA | - | - | 0,750 | 27,6% | 0,688 | 0,053 | 0,584-0,792 |

Tab. 51: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH mit Cut-off-Wert, AUC, STD und 95%-KI

| G ↓ T → | 1 | 2 | 3 | 4 | Summe |
|---------|----------|-----------|-----------|----------|-------|
| 1 | 3 60% | 2 40% | - | - | 5 |
| 2 | 6 11% | 33 58% | 15 26% | 3 5% | 57 |
| 3 | 2 8% | 9 36% | 10 40% | 4 16% | 25 |
| Summe | 11 | 44 | 25 | 7 | 87 |

Tab. 52: Korrelation zwischen T-Stadium und Tumorgraduierung an Hand von Grading p-Value: 0,009

III.1.4 Korrelation von Biomarkern

Abbildung 40 zeigt die Korrelation der einzelnen Biomarker untereinander und mit dem Alter (BPH-Gruppe blau, PC-Gruppe rot). Gute Korrelationen sind durch Kreise hervorgehoben.

| BPH → PCA → | Alter | AFP | AP | CA 125 | CA 15-3 | CA 19-9 | CA 72-4 | CEA | CYFRA 21-1 | HCGB | LDH | NSE | CRP | tPSA | cPSA | fPSA | f/PSA | c/PSA |
|----------------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|--------|------------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|--------|
| Alter | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AFP | -0,145 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP | 0,101 | 0,048 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CA 125 | 0,188 | -0,026 | 0,126 | | | | | | | | | | | | | | | |
| CA 15-3 | -0,009 | 0,051 | 0,204 | 0,172 | | | | | | | | | | | | | | |
| CA 19-9 | 0,012 | -0,180 | 0,145 | 0,210 | 0,185 | | | | | | | | | | | | | |
| CA 72-4 | 0,102 | 0,039 | -0,065 | -0,013 | -0,095 | -0,014 | | | | | | | | | | | | |
| CEA | 0,178 | -0,012 | 0,166 | 0,175 | 0,157 | 0,262 | 0,073 | | | | | | | | | | | |
| CYFRA 21-1 | 0,300 | -0,005 | 0,333 | 0,102 | 0,182 | 0,168 | 0,249 | 0,111 | | | | | | | | | | |
| HCGB | 0,251 | -0,069 | 0,194 | 0,149 | 0,047 | 0,007 | 0,103 | 0,104 | 0,217 | | | | | | | | | |
| LDH | 0,349 | -0,158 | 0,006 | 0,275 | 0,088 | 0,057 | 0,132 | -0,023 | 0,141 | 0,241 | | | | | | | | |
| NSE | -0,156 | 0,017 | -0,055 | -0,178 | 0,142 | 0,028 | 0,036 | -0,053 | 0,041 | -0,031 | 0,299 | | | | | | | |
| CRP | 0,249 | -0,005 | 0,257 | 0,252 | 0,127 | 0,041 | 0,060 | 0,060 | 0,294 | 0,333 | 0,212 | -0,195 | | | | | | |
| tPSA | 0,165 | -0,064 | 0,044 | 0,222 | 0,060 | -0,088 | 0,068 | 0,104 | 0,224 | 0,178 | 0,159 | -0,127 | 0,238 | 0,612 | 0,260 | 0,218 | -0,096 | 0,088 |
| cPSA | 0,144 | -0,072 | 0,048 | 0,204 | 0,031 | -0,097 | 0,066 | 0,087 | 0,204 | 0,169 | 0,151 | -0,117 | 0,206 | 0,983 | 0,909 | 0,909 | -0,303 | 0,340 |
| fPSA | 0,239 | 0,006 | 0,093 | 0,240 | 0,120 | -0,016 | 0,111 | 0,137 | 0,238 | 0,278 | 0,142 | -0,171 | 0,293 | 0,991 | 0,854 | 0,854 | -0,388 | 0,479 |
| f/PSA | 0,098 | 0,141 | 0,102 | 0,052 | 0,057 | 0,160 | 0,090 | 0,058 | -0,011 | 0,180 | -0,051 | -0,109 | 0,035 | 0,882 | 0,841 | 0,882 | 0,089 | 0,048 |
| c/PSA | -0,138 | 0,016 | -0,001 | -0,160 | -0,092 | -0,084 | -0,080 | -0,019 | -0,127 | -0,066 | -0,088 | 0,073 | -0,232 | 0,154 | 0,257 | -0,084 | -0,569 | -0,730 |

Abb. 40: Korrelationskoeffizienten in der Gruppe mit BPH (blau) und in der Gruppe mit PC (rot)

Die Abbildungen 41 und 42 zeigen zur Übersicht die Verteilung von tPSA und cPSA in Korrelation mit dem Alter. Blau gibt die BPH-Gruppe und Rot die PC-Gruppe wieder.

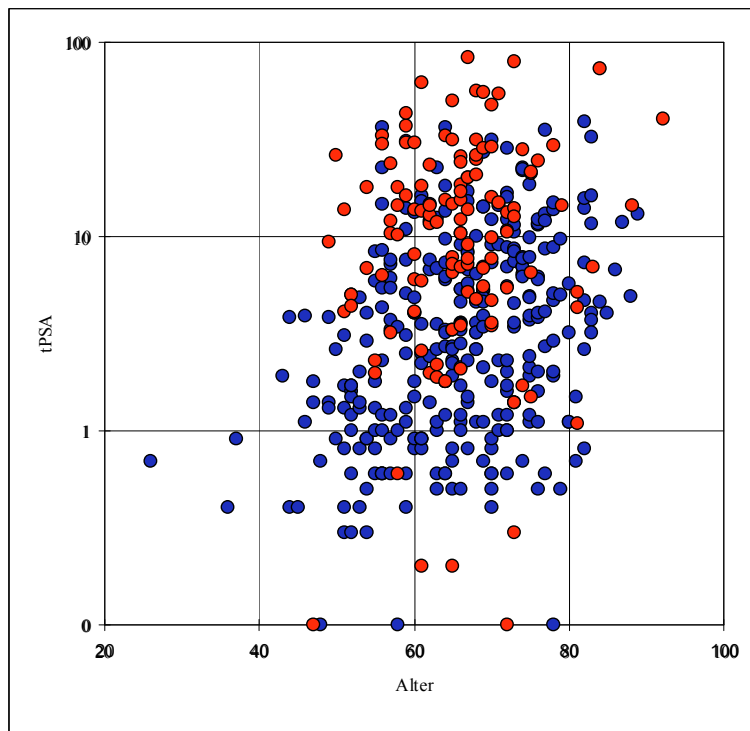


Abb. 41: tPSA-Verteilung in Abhängigkeit von Alter: Blau für BPH und Rot für PC

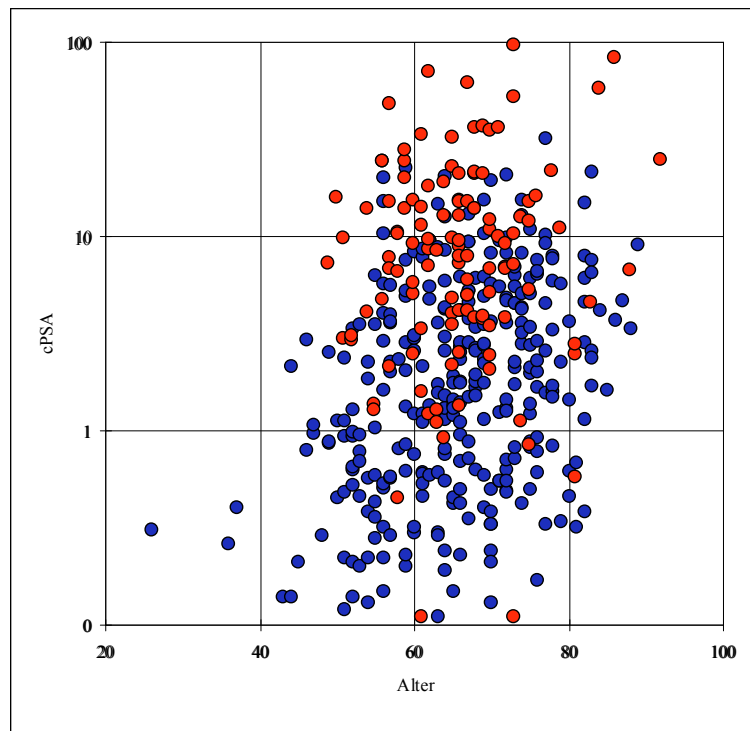


Abb. 42: cPSA-Verteilung in Abhängigkeit von Alter: Blau für BPH und Rot für PC

III.2 Multivariate Analyse mit Hilfe der logistischen Regression

Im Rahmen der Multivariaten Analyse wurden verschiedene Biomarker miteinander kombiniert. Dabei wurden zur Auswahl der Kollektive tPSA-Bereiche kleiner und größer 10 ng/ml berücksichtigt. Im Bereich < 10 ng/ml befanden sich insgesamt 58 Patienten mit einem PC und 262 Patienten mit einer Hyperplasie der Prostata. In der Gruppe mit tPSA > 10 ng/ml, fanden sich 73 Patienten mit einem PC und 49 Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie (vgl. S. 56-57 und 58-59).

Bei der Auswahl der in der Multivariaten Analyse verwendeten Biomarker wurden nur diejenigen Marker berücksichtigt, die im Rahmen der Univariaten Analyse signifikante Unterschiede im Verteilungsmuster zwischen beiden Gruppen aufzeigten (vgl. S. 29-50). Die Abbildungen 43-46 zeigen die ROCs mit ihren AUCs für tPSA, cPSA und die Kombination aus den jeweiligen Biomarkern für den Bereich < 10 ng/ml. Die Abbildungen 47-50 zeigen die jeweiligen ROCs mit ihren AUCs für den Bereich > 10 ng/ml (vgl. S. 56-59). Die unter den Abbildungen dargestellten Tabellen geben die jeweiligen Biomarker, die Sensitivitäten bei 95%-iger Spezifität versus Patienten mit benigner Prostatahyperplasie, die AUCs, deren Standardabweichungen, die dazugehörigen 95%-igen Konfidenzintervalle und die p-Values wieder. Die angegebenen AUCs sind alle signifikant unterschiedlich von 0,5 ($p < 0,05$).

Im ersten Schritt wurden tPSA, CA 125, CEA, NSE und CRP miteinander kombiniert. Für diese Kombination errechnete sich eine AUC von 0,767. Die diagnostische Sensitivität lag bei einer 95%-igen Spezifität bei 37,9%. Im Vergleich dazu lag die Sensitivität von tPSA alleine bei 15,5% und von cPSA alleine bei 17,2% (vgl. Abb.43 und Tab. 53). In einem zweiten Schritt wurde anstatt von tPSA, cPSA verwendet. Die AUC erreichte einen Wert von 0,799, wobei bei dieser Kombination die Sensitivität mit 37,9% unverändert war (vgl. Abb. 44 und Tab. 54).

Bei einer Kombination von tPSA, fPSA und der Ratio fPSA/tPSA konnte eine Vergrößerung der AUC auf 0,799 erzielt werden. Im Vergleich dazu war die AUC von tPSA alleine 0,675 und von cPSA alleine 0,691. Eine weitere Einbeziehung von CA 125 und CEA ergab eine AUC von 0,822 (vgl. S. 57).

Für den t-PSA Bereich > 10 ng/ml wurden die Marker tPSA, CA125, CA 19-9, CEA, NSE und CRP miteinander kombiniert (vgl. S. 58). Die AUC lag bei 0,855. Des Weiteren wurde tPSA durch cPSA ausgetauscht. Die AUC lag hier bei 0,863 und somit etwas höher.

Auf Seite 59 sieht man die Kombination von tPSA, fPSA und fPSA/tPSA mit einer AUC von 0,837. Durch zusätzliche Verwendung von CA 125, CA 19-9 und CEA ergab sich eine AUC von 0,854 (vgl. S. 59).

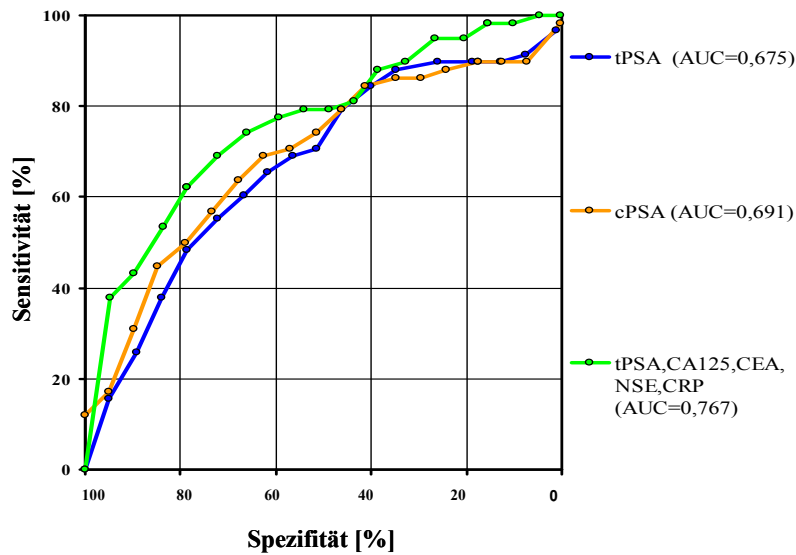


Abb. 43: ROC-Kurven für den Bereich tPSA <10 ng/ml

| Marker | PC | BPH | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|------------------------|----|-----|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| tPSA | 58 | 262 | 15,5% | 0,675 | 0,041 | 0,595-0,756 | <0,0001 |
| cPSA | - | - | 17,2% | 0,691 | 0,042 | 0,608-0,774 | <0,0001 |
| tPSA,CA125,CEA,NSE,CRP | - | - | 37,9% | 0,767 | 0,036 | 0,695-0,838 | <0,0001 |

Tab. 53: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH, AUC, STD, 95%-ige KI und p-Value

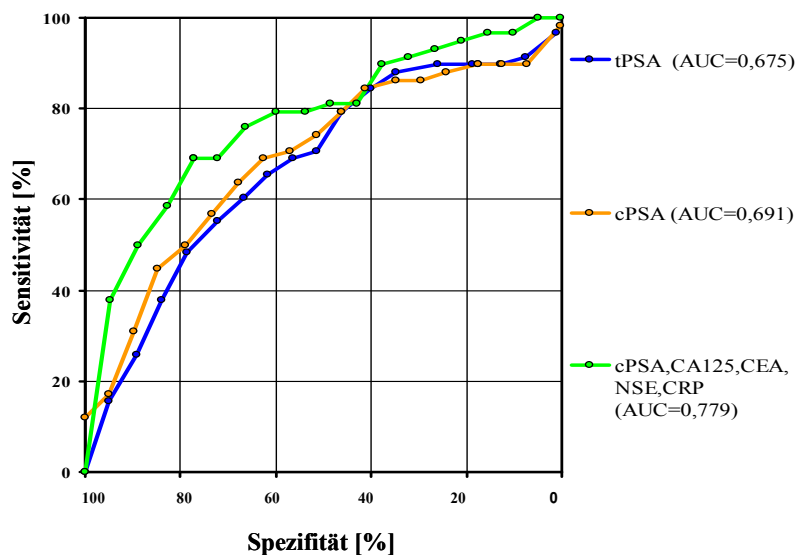


Abb. 44: ROC-Kurven für den Bereich tPSA <10 ng/ml

| Marker | PC | BPH | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|------------------------|----|-----|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| tPSA | 58 | 262 | 15,5% | 0,675 | 0,041 | 0,595-0,756 | <0,0001 |
| cPSA | - | - | 17,2% | 0,691 | 0,042 | 0,608-0,774 | <0,0001 |
| cPSA,CA125,CEA,NSE,CRP | - | - | 37,9% | 0,779 | 0,036 | 0,708-0,850 | <0,0001 |

Tab. 54: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH, AUC, STD, 95%-ige KI und p-Value

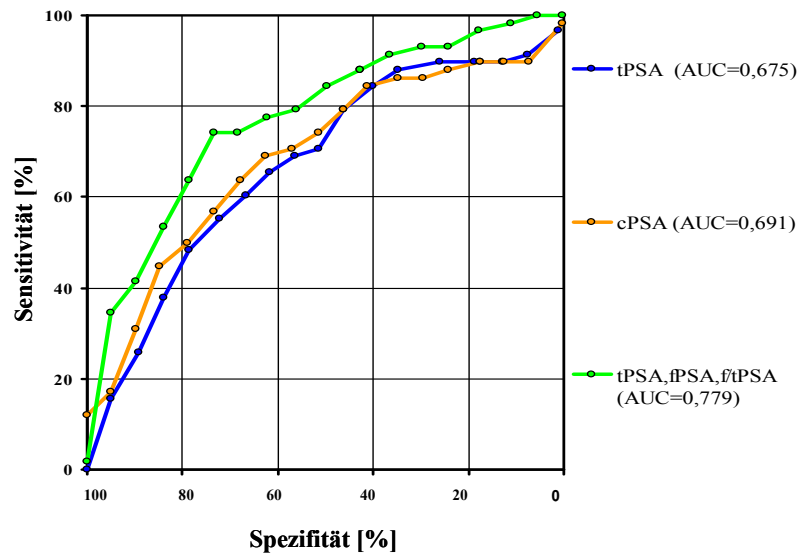


Abb. 45: ROC-Kurven für den Bereich tPSA <10 ng/ml

| Marker | PC | BPH | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|---------------------|----|-----|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| tPSA | 58 | 262 | 15,5% | 0,675 | 0,041 | 0,595-0,756 | <0,0001 |
| cPSA | - | - | 17,2% | 0,691 | 0,042 | 0,608-0,774 | <0,0001 |
| tPSA,fPSA,fPSA/tPSA | - | - | 34,5% | 0,779 | 0,034 | 0,711-0,848 | <0,0001 |

Tab. 55: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH, AUC, STD, 95% KI und p-Value

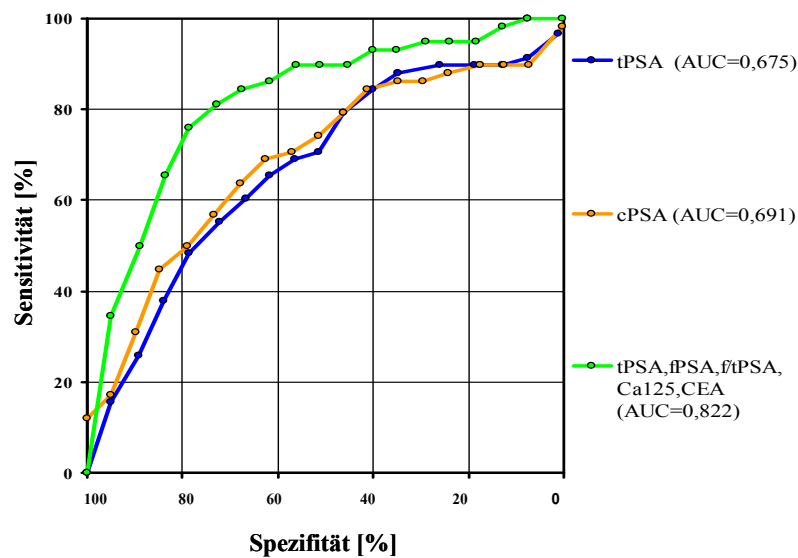


Abb. 46: ROC-Kurven für den Bereich tPSA <10 ng/ml

| Marker | PC | BPH | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-----------------------------------|----|-----|--------------|-------|-------|-------------|----------------|
| tPSA | 58 | 262 | 15,5% | 0,675 | 0,041 | 0,595-0,756 | <0,0001 |
| cPSA | - | - | 17,2% | 0,691 | 0,042 | 0,608-0,774 | <0,0001 |
| tPSA,fPSA,fPSA/tPSA, Ca125,CEA | - | - | 34,5% | 0,822 | 0,032 | 0,761-0,884 | 0,00243 |

Tab. 56: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH, AUC, STD, 95% KI und p-Value

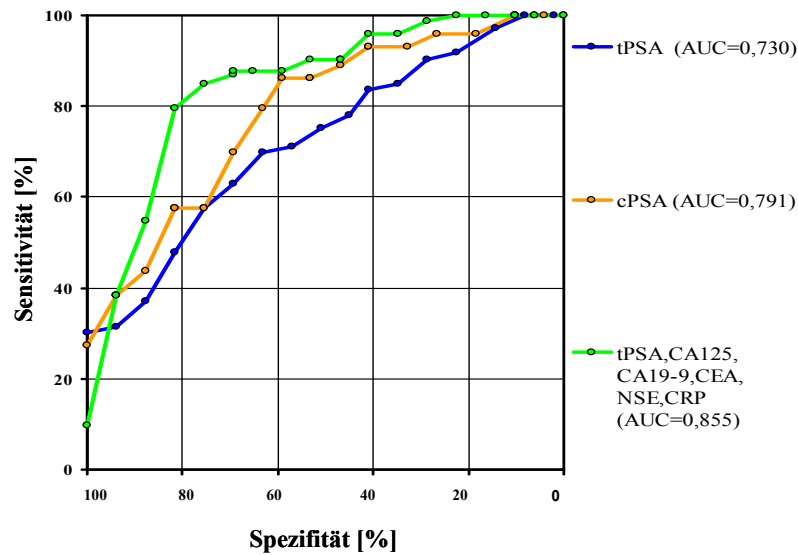


Abb. 47: ROC-Kurven für den Bereich tPSA >10 ng/ml

| Marker | PC | BPH | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-------------------------------|----|-----|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| tPSA | 73 | 49 | 32,9% | 0,730 | 0,045 | 0,642-0,818 | <0,0001 |
| cPSA | - | - | 38,4% | 0,791 | 0,040 | 0,712-0,871 | <0,0001 |
| tPSA,CA125,CA19-9,CEA,NSE,CRP | - | - | 35,6% | 0,855 | 0,036 | 0,785-0,925 | <0,0001 |

Tab. 57: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH, AUC, STD, 95% KI und p-Value

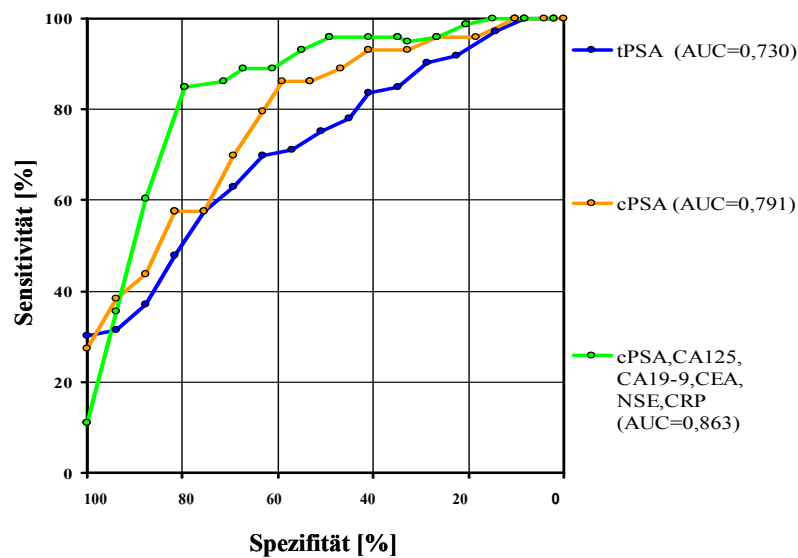


Abb. 48: ROC-Kurven für den Bereich tPSA >10 ng/ml

| Marker | PC | BPH | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-------------------------------|----|-----|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| tPSA | 73 | 49 | 32,9% | 0,730 | 0,045 | 0,642-0,818 | <0,0001 |
| cPSA | - | - | 38,4% | 0,791 | 0,040 | 0,712-0,871 | <0,0001 |
| cPSA,CA125,CA19-9,CEA,NSE,CRP | - | - | 30,1% | 0,863 | 0,036 | 0,794-0,933 | <0,0001 |

Tab. 58: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH, AUC, STD, 95% KI und p-Value

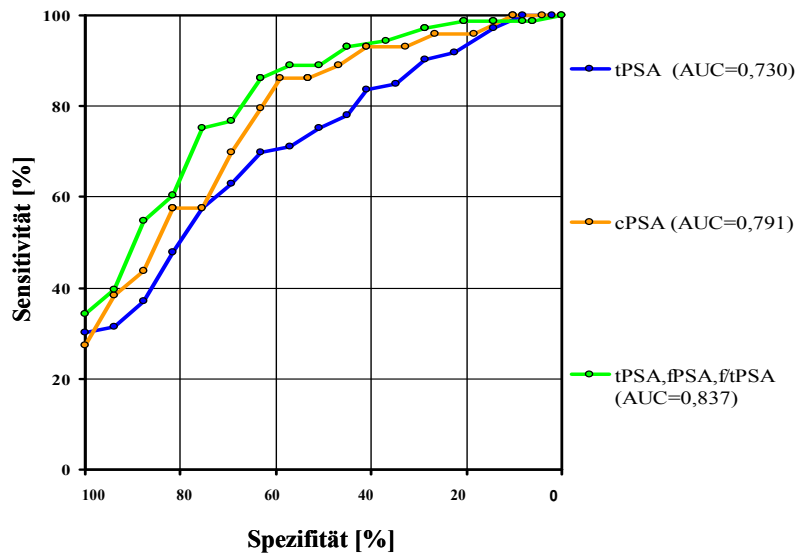


Abb. 49: ROC-Kurven für den Bereich tPSA >10 ng/ml

| Marker | PC | BPH | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|------------------|----|-----|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| tPSA | 73 | 49 | 32,9% | 0,730 | 0,045 | 0,642-0,818 | <0,0001 |
| cPSA | - | - | 38,4% | 0,791 | 0,040 | 0,712-0,871 | <0,0001 |
| tPSA,fPSA,f/tPSA | - | - | 39,7% | 0,837 | 0,036 | 0,766-0,907 | <0,0001 |

Tab. 59: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH, AUC, STD, 95%- KI und p-Value

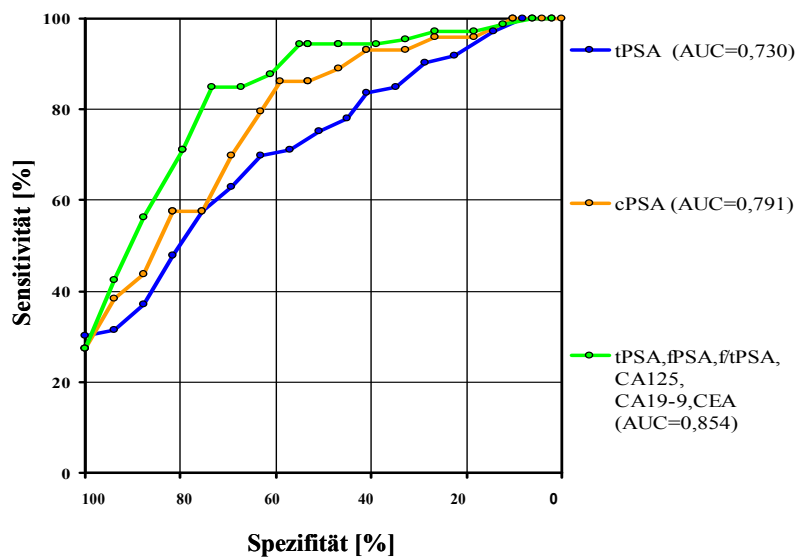


Abb. 50: ROC-Kurven für den Bereich tPSA >10 ng/ml

| Marker | PC | BPH | Sensitivität | AUC | SE | 95%-KI | p-Value |
|-----------------------------------|----|-----|--------------|-------|-------|-------------|---------|
| tPSA | 73 | 49 | 32,9% | 0,730 | 0,045 | 0,642-0,818 | <0,0001 |
| cPSA | - | - | 38,4% | 0,791 | 0,040 | 0,712-0,871 | <0,0001 |
| tPSA,fPSA,f/tPSA,CA125,CA19-9,CEA | - | - | 42,5% | 0,854 | 0,034 | 0,786-0,922 | <0,0001 |

Tab. 60: Sensitivität bei 95%-iger Spezifität versus BPH, AUC, STD, 95%- KI und p-Value

IV Diskussion

Das PC stellt unter anderem wegen seiner steigenden Inzidenz im Verlauf der letzten Jahre eine Tumorentität dar, welche den Urologen auch in Zukunft mit am häufigsten fordern wird. Wie eingangs erwähnt, hat im Zeitalter der Früherkennung bei Männern mittels digital-rektaler Untersuchung und Prostata-spezifischem Antigen nicht nur die Inzidenz von Prostatakarzinomen zugenommen, sondern auch ein Stadienshift in Richtung organbegrenzten und somit potentiell kurativen Prostatakarzinomen stattgefunden (Tarone et al. 2000). Die laufende Diskussion um optimale Strategien zur Früherkennung und zum Screening des PCs mit den daraus eventuell resultierenden Vorteilen und Nutzen für die Patienten ist derzeit brisanter als je zuvor. Aus diesem Grunde soll diese Thematik auch in der vorliegenden Arbeit aufgegriffen werden.

IV.1 PSA-Screening ja oder nein?

Das Ziel von Screeninguntersuchungen ist, eine Erkrankung zu einem Zeitpunkt zu erkennen, in dem eine Behandlung entweder zur vollständigen Heilung führt oder zur Vermeidung von Leiden oder Tod (Wilson und Jungner 1968; Cochrane und Holland 1971). Dabei besteht der Unterschied zwischen Screening und Früherkennung darin, dass beim Screening eine große Population asymptomatischer Männer untersucht wird, während sich die Früherkennung auf bestimmte Individuen bezieht. Eine solche Unterscheidung ist im Fall des PCs schwierig, da zwar im Sinne eines Screenings die Untersuchung aller Männer über 45 Jahren unabhängig von einer Symptomatik mittels digital-rektaler Untersuchung und PSA-Bestimmung empfohlen wird, andererseits aber durch die Altersbeschränkung bereits ein ausgewählter, mit einem höheren Risiko behafteter Personenkreis herausgestellt wird, der häufig bereits Symptome wie z.B. Miktionsstörungen zeigt.

Eine Ursache für die zum Teil sehr kontroversen Ansichten bezüglich des PC-Screenings mittels PSA-Bestimmung liegt in der großen klinischen Varianz und der damit verbundenen unterschiedlichen Relevanz von Prostatakarzinomen. So reicht das Erscheinungsbild von kleinen asymptomatischen Tumoren, welche über Jahre hinweg bestehen können und keiner Therapie bedürfen, bis hin zu Tumoren, welche sich rasch ausbreiten und sich zum Zeitpunkt der Diagnose bereits in einem infausten Stadium befinden (Schmid et al. 1999). So konnte durch Autopsiestudien asymptomatische Prostatakarzinome bereits bei 27% der 30- Jährigen und 34% der 40-Jährigen nachgewiesen werden (Sakr et al. 1993). Zwar nimmt das Risiko, an

einem klinisch manifesten PC zu erkranken, mit steigendem Alter zu. Dennoch müssen diese Zahlen im Hinblick auf eine Alterssenkung bei den Vorsorgeuntersuchungen kritisch diskutiert werden (Thompson und Ankerst 2007). Verfechter von Screeninguntersuchungen berufen sich auf die Möglichkeit, Karzinome in einem niedrigeren und somit eventuell besser therapierbaren Stadium erkennen zu können, und weisen auf die zeitgleiche Abnahme derjenigen Karzinome hin, welche sich bereits in einem organüberschreitenden, metastasierten Stadium mit schlechter Prognose befinden. Zusätzlich beziehen sie sich auch auf eine scheinbar abnehmende Mortalität durch Prostatakarzinomen, seitdem das Screening mittels PSA in den USA eingeführt wurde (Tarone et al. 2000).

Im Gegensatz dazu betonen die Kritiker des PSA-Screenings eine starke Zunahme an „überdiagnostizierten“ Tumoren, da zwar das Risiko, im Laufe des Lebens an einem klinisch manifesten PC zu erkranken ca. 18% beträgt, das Risiko, tatsächlich an einem PC zu versterben, jedoch nur ca. 3% (Daten für die USA) (Thompson und Ankerst 2007). So führt nach Meinung der Kritiker die frühere Diagnosestellung zur Therapie von Tumoren, welche eigentlich keine klinische Relevanz besitzen. Durch diese „Übertherapie“ werden zusätzliche Kosten für das Gesundheitssystem verursacht. Darüber hinaus argumentieren sie mit einer Zunahme von vermeidbaren Nebenwirkungen und Komplikationen von durchgeführten Therapien und der natürlich nicht zu vernachlässigenden Angst, mit der Patienten nach Diagnosestellung einer bösartigen Erkrankung umgehen müssen (Barry 2000). Trotz der Zunahme organbegrenzter Tumoren konnte bislang eine Abnahme der Mortalität des PCs durch eine frühzeitige Diagnose noch nicht bewiesen werden (Stenman et al. 2005). Diesbezügliche Untersuchungen finden derzeit im Rahmen zweier groß angelegter prospektiv-randomisierter Studien in Europa und den USA statt (Andriole et al. 2005; Gosselaar et al. 2006).

Gegen das Argument einer Übertherapie spricht allerdings eine Studie von Bill-Axelsson et al., bei der gezeigt werden konnte, dass eine zuwartende Haltung („watchful waiting“) bei Patienten mit einem PC, welches in einem frühen Stadium erkannt wurde, gegenüber einer frühen radikalen Prostatektomie unterlegen ist. In der genannten Studie wurden insgesamt 695 Patienten randomisiert untersucht. Die Gruppe mit radikaler Prostatektomie profitierte deutlich in Bezug auf Risikominimierung eines Lokalrezidives, Metastasierung und Tod im Vergleich zur Gruppe mit dem Therapiekonzept „watchful waiting“ (Bill-Axelsson et al. 2005). Auch Young betonte bereits 2002 die Bedeutung einer frühen Tumorerkennung für eine erfolgreiche kurative Therapie (Young 2002).

Für die frühe Detektion des PCs, sind die digital-rektale Untersuchung und die Bestimmung des tPSA momentan der Goldstandard des klinischen Alltags. Wegen ihrer limitierten Sensitivität und Spezifität war es Ziel dieser Arbeit, nochmals den diagnostischen Vorteil der Ratio von fPSA/tPSA gegenüber tPSA darzulegen und den diagnostischen Nutzen des an Alpha-1-Antichymotrypsin gebundenen cPSA und der Ratio von cPSA/tPSA im Vergleich zu tPSA und fPSA/tPSA zu untersuchen.

Weiterhin sollte das Verteilungsmuster unterschiedlicher Biomarker, die bei anderen Tumorentitäten im klinischen Alltag eingesetzt werden, bei Patienten mit und ohne PC bestimmt und im Hinblick auf einen eventuellen Nutzen bei der Detektion des PCs evaluiert werden.

IV.2 Diskussion der Methodik

IV.2.1 Diskussion des Patientenkollektivs und der Ausschlusskriterien

In der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Untersuchung eines Patientenkollektivs. Aufgrund des Studiendesigns ist mit einigen Einschränkungen zu rechnen (Lukas-Nülle 2007). So wurden die Patientendaten anhand von archivierten Akten erhoben, die eventuell nicht immer vollständig sind. Es besteht somit die Möglichkeit, dass potentielle Einflussfaktoren nicht erfasst wurden. Darüber hinaus sind retrospektiven Studien generell zwar dazu geeignet, Hypothesen zu generieren, es können aber keine Beweise für diese geliefert werden. Andererseits bietet ein retrospektiver Ansatz auch entscheidende Vorteile wie z.B. schnelle Bearbeitungsmöglichkeit, ethische Unbedenklichkeit und geringer Kostenaufwand. Betrachtet man die für diese Arbeit relevanten, Studien, handelt es sich zumeist ebenfalls um retrospektiv erhobene Daten. Die genannten Einschränkungen müssen also auch für diese gelten.

Um eine ausreichende statistische Power zu gewährleisten, wurde in der vorliegenden Arbeit ein Patientenkollektiv mit insgesamt 442 Patienten bearbeitet, von denen 131 Patienten ein histologisch gesichertes PC und 311 Patienten eine benigne Hyperplasie der Prostata hatten. Die vorliegende Studie liegt somit in der Größenordnung vorausgegangener Studien (Brawer et al. 2000; Tanguay et al. 2002). Die Altersverteilung war mit seinem Median von 66 Jahren in beiden Gruppen gleich.

Bei der Auswahl der Ausschlusskriterien wurde, soweit retrospektiv möglich, versucht, den Faktoren Rechnung zu tragen, welche die Bestimmung der Biomarker beeinflussen könnten. Insbesondere wurde darauf geachtet, dass die Entnahme der Serumproben vor Manipulation

an der Prostata satt fand. Auf die mögliche Beeinflussung der PSA-Werte durch Manipulationen der Prostata sowie weitere Einflussgrößen, die zu einer falsch-positiven Veränderung der anderen vermessenen Biomarker beitragen könnten, wurde bereits im Einleitungsabschnitt eingegangen (Klomp et al. 1994; Bossens et al. 1995).

Einschränkend ist zu erwähnen, dass trotz negativen Tastbefunds und PSA-Werten $<4,0$ ng/ml das Vorhandensein eines PCs in der BPH-Gruppe nicht hundertprozentig ausgeschlossen werden kann. Hierfür wäre eine histologische Beurteilung bei allen Patienten notwendig gewesen, was retrospektiv nicht mehr möglich ist. Diese Problematik besteht jedoch auch bei den vergleichbaren Studien.

IV.2.2 Diskussion der Messverfahren

Bis auf den ADVIA Centaur der Firma Bayer zur Bestimmung des cPSAs kommen alle in dieser Arbeit verwendeten Messverfahren in der Routinediagnostik des Klinikums Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität zum Einsatz. Die von Weining und Semjonow geforderten Herstellerangaben zu den jeweiligen Reagenzien sowie der ermittelten Referenzbereichen unter Angabe von Geschlecht, Alter und Anzahl der untersuchten Probanden waren für alle Testverfahren vorhanden und wurden bei der Interpretation der einzelnen Messergebnisse berücksichtigt (Weining and Semjonow 1996).

IV.2.3 Anforderungen an Biomarker und ihre diagnostischen Gütekriterien

Als Gütekriterien eines Biomarkers werden häufig die diagnostische Sensitivität und Spezifität sowie der positiv und negativ prädiktive Wert angegeben. In der Theorie verfügt ein perfekter Biomarker über eine 100%ige Sensitivität und eine 100%ige Spezifität. Das hieße, dass alle Patienten mit der gesuchten Erkrankung durch den Test tatsächlich als „krank“ erkannt werden und alle Patienten ohne die Erkrankung als „gesund“. Keiner der derzeit klinisch angewandten onkologischen Biomarker kann bislang diese Anforderungen erfüllen. Das liegt unter anderem an der oftmals limitierten Organ- und Krankheitsspezifität der Marker. So sind viele Biomarker auch bei anderen Erkrankungen als der eigentlich gesuchten nachweisbar. Bemühungen, die Krankheitsspezifität zu erhöhen, indem beispielsweise der Cut-off für den jeweiligen Marker angehoben wird, führen wiederum zu einer Abnahme der Sensitivität (Guder and Nolte 2005).

Dieser Zusammenhang gilt auch für das PSA. Es ist erwiesen, dass eine Reduzierung des Cut-off Wertes zwar zu einer Verbesserung der Sensitivität führt, jedoch auf Kosten der Spezifität (Thompson and Ankerst 2007). Umgekehrt verhält es sich nur bei der Ratio fPSA/tPSA, da hier durch eine Erhöhung des Cut-off-Wertes eine Erhöhung der Sensitivität erreicht wird.

Dies begründet sich dadurch, dass der Anteil an freiem PSA bei Patienten mit PC abnimmt (Chen et al. 1996). Generell sollte bei der Festlegung des Cut-off-Wertes versucht werden, die Sensitivität und Spezifität zu maximieren. Beim Screening des PCs sollte der angewandte Test eine falsch-positive Rate (1-Spezifität) von maximal 20% haben (Thompson und Ankerst 2007).

Zum Vergleich einzelner Biomarker miteinander sollte nach internationalen Vereinbarungen der Ausgangspunkt bei einer 95% Spezifität gegenüber einer gesunden Population gewählt werden (Lamerz und Stieber 2004). Im Einklang mit dieser Empfehlung wurden in der vorliegenden Arbeit die Sensitivitäten für jeden gemessenen Biomarker bei einer 95%-igen Spezifität versus Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie angegeben.

Sensitivität und Spezifität sowie positiv und negativ prädiktiver Wert können einfach mit Hilfe einer Vierfeldertafel ermittelt werden. Exemplarisch ist in Abbildung 51 die Vierfeldertafel für tPSA bei einer festgelegten Spezifität von 95% im untersuchten Patientenkollektiv dargestellt. Der verwendete Cut-off Wert für tPSA lag hierbei bei 19,2 ng/ml. (Siehe auch Seite 28).

| | PC | BPH | | |
|-------------------|-------------------------------|------------------------------|----------------------------|-----------------------|
| tPSA > 19,2 ng/ml | 46 | 16 | Alle Test-Positiven 62 | PPW = 46/62 =74% |
| tPSA < 19,2 ng/ml | 85 | 295 | Alle Test-Negativen 380 | NPW = 295/380 =78% |
| | 131 alle Erkrankten | 311 alle Gesunden | | |
| | Sensitivität = 46/131 =35% | Spezifität = 295/311 =95% | | |

Abb. 51: Vierfeldertafel mit Sensitivität und Spezifität sowie pos. prädiktivem und negativ prädiktivem Wert bei einem festgelegten Cut-off-Wert von 19,2 ng/ml für tPSA (siehe auch Seite 28)

IV.3 Diskussion der Ergebnisse

IV.3.1 Univariate Analyse

Es ist unumstritten, dass das Prostata-spezifische Antigen (PSA) aufgrund seiner hohen Organspezifität einen äußerst wichtigen Biomarker zur Detektion des PCs darstellt. Das PSA ist, wie bereits mehrfach erwähnt, neben der digital-rektalen Untersuchung der wichtigste Hilfsparameter zur Entscheidungsfindung, ob eine Stanzbiopsie der Prostata durchgeführt werden sollte oder nicht. Dennoch sind sowohl das PSA wie auch die digital-rektalen Untersuchung durch Ihre relativ geringe Sensitivität und unzureichende Krankheitsspezifität in ihrer Aussagekraft limitiert. Aus diesem Grund sollten beide nur gemeinsam eingesetzt werden, da gezeigt werden konnte, dass durch Kombination von PSA-Bestimmung und digital-rektaler Untersuchung eine Erhöhung von Sensitivität und Spezifität erreicht werden kann (Catalona et al. 1994; Waidelich et al. 1997; Crawford et al. 1999; Luboldt et al. 2001; Hoesl und Altwein 2005).

Vor den 1990-er Jahren war vor allem die Prostata-spezifische-Phosphatase der wichtigste Biomarker zur Detektion von Erkrankungen der Prostata. Durch eine 1987 von Stamey et al. im New England Journal of Medicine publizierte Case-Control-Studie konnte jedoch der diagnostische Vorteil von PSA gegenüber der Prostata-spezifischen-Phosphatase belegt werden (Stamey et al. 1987). 1990 wurde von Cooner et al. untersucht, inwiefern PSA und digital rektale Untersuchung zur Diskriminierung zwischen Patienten mit einem PC und Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie beitragen. Dabei wurden insgesamt 1807 Männer zwischen 50-89 Jahren evaluiert. Alle Patienten mit einem auffälligen Tastbefund der Prostata und/oder PSA-Werten von größer 4 ng/ml wurden einer transrektalen Stanzbiopsieentnahme aus der Prostata unterzogen. Hierdurch konnte bei 15% ein PC nachgewiesen werden (Cooner et al. 1990). Eine weitere von Catalona et al. 1991 publizierte Studie erbrachte ähnliche Ergebnisse. Von insgesamt 1653 Männern >50 Jahre wurde bei denjenigen, die einen PSA-Wert von über 4 ng/ml und entweder einen suspekten Tastbefund und/oder einen suspekten Befund in der transrektalen Sonographie hatten, eine Prostatabiopsie durchgeführt. Bei Probanden, die einen PSA-Wert von 4,0-9,9 ng/ml hatten, konnte in 22% der Fälle ein PC entdeckt werden. Bei PSA-Werten von $\geq 10,0$ ng/ml lag die Detektionsrate sogar bei 67%. In dieser Studie konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass durch die alleinige Anwendung von digital-rektaler Untersuchung 37% der Karzinome und durch alleinige rektale Sonographie 43% der Karzinome unentdeckt geblieben wären

(Catalona et al. 1991). Infolge der angeführten Studien wurde die Bestimmung von PSA in die Routinediagnostik zur Detektion des PCs eingeführt.

Zur Bestimmungen von PSA standen in der Anfangszeit zwei kommerzielle Assays (Pro-Check® und Tandem-R®) zur Verfügung. Beide Testverfahren und die ermittelten PSA-Werte waren dabei nicht direkt miteinander vergleichbar. 1994 wurde in einer groß angelegten klinischen Studie zur Früherkennung des PCs in den USA der Hybritech Assay (Tandem-R® Assay) verwendet. Bei diesem Assay wurde ein Bereich von 0-3,99 ng/ml als Normalbereich definiert und Werte von $\geq 4,0$ ng/ml galten als Indikation zur Stanzbiopsie der Prostata (Makarov and Carter 2006). Seitdem hat sich ein Cut-off-Wert von 4,0 ng/ml bei den meisten Assays etabliert. Dieser Wert muss jedoch kritisch diskutiert werden, da jeder Hersteller für seinen eigenen Assay den optimalen Cut-off-Wert festlegen sollte (Semjonow et al. 2002). Nach Semjonow und Lamerz ist die Festlegung des Referenzbereiches abhängig von der Wahl des jeweiligen Testverfahrens (Semjonow and Lamerz 1998). Zusätzlich sollte jedes Labor bei allen diagnostischen in-vitro-Tests seine eigenen Referenzbereiche zur diagnostischen Beurteilung von Patientenergebnissen ermitteln (Standards 1995). Dies wurde bei den in unserer Arbeit vermessenen Biomarkern durch das Institut für Klinische Chemie der LMU München gewährleistet.

IV.3.1.1 tPSA, cPSA, f/tPSA und c/tPSA im Gesamtkollektiv

Betrachtet man die Verteilung von tPSA, cPSA, fPSA/tPSA und cPSA/tPSA im vorliegenden Patientenkollektiv, erkennt man, dass zwischen dem Kollektiv mit PC und dem Kollektiv mit einer benignen Prostatahyperplasie signifikante Unterschiede bestehen. Die Verteilung der einzelnen Marker ist hierbei vergleichbar mit den Daten vorausgegangener Studien.

Bei einem Cut-off von 4 ng/ml errechneten sich aus der Verteilung zwischen der Gruppe mit PC und der Vergleichsgruppe mit BPH für das tPSA eine Sensitivität von 82% und eine Spezifität von 58%. Der positiv prädiktive Wert (PPW) lag bei 45% und der negativ prädiktive Wert (NPW) bei 89%. Ähnliche Werte wurden auch von Tanguay et al publiziert, die insgesamt 535 Patienten unter ähnlichen Bedingungen untersucht haben. 204 Patienten hatten hierbei ein histologisch gesichertes PC und die restlichen 331 Patienten eine benigne Prostatahyperplasie. Bei einem Cut-off von 4 ng/ml wurde in der angeführten Studie eine Sensitivität von 87% gegenüber einer Spezifität von 27% erreicht (Tanguay et al. 2002). In anderen Studien, in denen der Cut-off ebenfalls bei 4 ng/ml festgelegt wurde, ergaben sich vergleichbare Sensitivitäten von 80-91% bei Spezifitäten von 28-85% (Brawer et al. 1998;

Brawer et al. 2000; Chakrabarti et al. 2001). Die deutliche Varianz vor allem in Hinblick auf die Spezifitäten kann unter anderem mit der Anwendung unterschiedlicher Testverfahren erklärt werden (Reiter et al. 1997).

Bereits im Jahre 1989 wurde die Wahl des Cut-off-Wertes von tPSA für die Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie von Myrtle diskutiert. Er schlug vor, den Cut-off-Wert von 4 ng/ml auf mindestens 2 ng/ml zu senken, da dadurch die Sensitivität und somit die Detektionsrate von Prostatakarzinomen gesteigert werden könnte (Myrtle 1989).

Dieser Zusammenhang wurde auch in der vorliegenden Arbeit beobachtet. So zeigte sich, dass die diagnostische Sensitivität bei einem Cut-off von 2 ng/ml 91% betrug, während bei einem Cut-off von 4 ng/ml nur noch eine Sensitivität von 82% erreicht werden konnte. Somit könnte man durch die Wahl eines niedrigeren Cut-off Wertes zusätzlich bei knapp einem von 10 Fällen eine PC detektieren. Die Senkung des Cutt-offs ginge allerdings mit einer Senkung der Spezifität von 58% auf 39% einher. Das hieße, dass 60 Patienten mit einer BPH fälschlicherweise biopsiert worden wären. Trotz der dargestellten Abnahme der Sensitivität wurde die Absenkung des Cut-off-Wertes zu Gunsten der Sensitivität auch von anderen Autoren schon des öfteren gefordert (Catalona 1997; Babaian et al. 2001).

Entgegen den Angaben von Tanguay et al. zeigte sich in unserem Kollektiv kein genereller diagnostischer Vorteil für die Ratio von fPSA/tPSA gegenüber tPSA (Tanguay et al. 2002). So ergaben sich für die Ratio von fPSA/tPSA bei einer zum Vergleich mit tPSA gewählten Sensitivität von 82% nur eine Spezifität von 55% sowie etwas geringere positiv und negativ prädiktive Werte mit 43% bzw. 87%. Diese Werte stimmen mit anderen Publikationen überein (Trinkler et al. 1998). Eine Ausnahme hiervon stellt der tPSA-Bereich von 2 - 10 ng/ml bzw. 4 – 10 ng/ml dar, auf den später detailliert eingegangen wird.

Im Gegensatz hierzu konnte für das komplexierte PSA bei einer 82%-igen Sensitivität im Vergleich zum tPSA eine etwas bessere Spezifität von 60% erreicht werden. Der PPW lag bei 46% und NPW bei 89%. Durch die alleinige Anwendung von cPSA anstatt von tPSA wäre somit fünf Patienten mit BPH eine Biopsie erspart geblieben. Geht man, wie von Lamerz und Stieber gefordert, von einer diagnostischen Spezifität von 95% aus (Lamerz and Stieber 2004), so bleiben die zuvor dargestellten Unterschiede von tPSA, fPSA/tPSA und cPSA bestehen.

Die Bedeutung von cPSA zur Diagnostik des PCs wird in der aktuellen Literatur kontrovers diskutiert. Einige Autoren sehen einen diagnostischen Vorteil von cPSA gegenüber tPSA und zum Teil auch gegenüber der Ratio von fPSA/tPSA (Stenman et al. 1991; Leinonen et al. 1993; Brawer et al. 1998; Espana et al. 1998; Miller et al. 2001; Mitchell et al. 2001; Okihara et al. 2001; Horninger et al. 2002; Partin et al. 2003). So konnten beispielsweise Brawer und Kollegen in einer Studie mit 300 Patienten zeigen, dass die AUC für cPSA mit 0,722 größer war als für tPSA mit 0,688. Bei einer Sensitivität von 95% lag die diagnostische Spezifität für cPSA mit 26,7% im Vergleich zum tPSA um 4,9% höher. Vergleichend mit dieser Studie konnte in der vorliegenden Arbeit für cPSA eine AUC von 0,798 und für tPSA eine AUC von 0,785 errechnet werden. In einer weiteren Studie von Brawer et al. wurden insgesamt 657 Patienten untersucht. Auch hier konnten für das cPSA eine im Vergleich zum tPSA signifikant höhere Spezifität aufgezeigt werden (Brawer et al. 2000).

Andere Studien konnten dagegen den diagnostischen Vorteil von cPSA nicht bestätigen. So berichteten Miller et al. über eine äquivalente Spezifität von cPSA im Vergleich zu tPSA bei einer Sensitivität von 95% (Miller et al. 2001). Okihara et al. evaluierten den diagnostischen Nutzen von cPSA im Vergleich zu tPSA anhand von 354 Patienten, die sich einer Prostatastanzbiopsie unterzogen. Obgleich die ROC-Analyse ergab, dass die AUC für cPSA (0,652) im Vergleich zum tPSA (0,634) größer war, fanden sich bei hohen Sensitivitätswerten für die Erkennung von Prostatakarzinomen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Spezifität im Vergleich von cPSA zu tPSA (Okihara et al. 2002).

In unserer Studie wurde zudem die Ratio von cPSA/tPSA berechnet. Bei einer 95%-igen Spezifität lag die Sensitivität bei 16,8%. Vergleichend mit tPSA, cPSA und der Ratio von fPSA/tPSA besitzt die Ratio von cPSA/tPSA eine deutlich geringere Sensitivität bezogen auf das Gesamtkollektiv und bietet somit keinen diagnostischen Vorteil. Diese Daten widersprechen denen von Jung et al., welche in der Festlegung von cPSA/tPSA denselben diagnostischen Nutzen wie durch die Ratio fPSA/tPSA gegeben sehen (Jung et al. 2000). In der zuvor genannten Studie von Okihara et al. hatte die Ratio cPSA/tPSA zwar keinen diagnostischen Vorteil gegenüber fPSA/tPSA, hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität war es jedoch gegenüber tPSA und cPSA alleine in seiner diagnostischen Aussagekraft überlegen (Okihara et al. 2002). Auch dies kann durch unsere Daten nicht bestätigt werden (vgl. S. 31).

IV.3.1.2 tPSA, cPSA, f/tPSA und c/tPSA in verschiedenen Werte-Bereichen von tPSA

In der klinischen Routine wird üblicherweise von einem Grenzwert des Gesamt-PSAs von 4 ng/ml ausgegangen. Wie bereits zuvor erwähnt, wird dieser Grenzwert jedoch häufig kritisch diskutiert (Haese et al. 2003). So stellt insbesondere der Bereich von 4 bis 10 ng/ml einen diagnostischen Graubereich dar, in dem eine Diskriminierung zwischen Patienten mit PC und Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie oft schwierig ist.

In der vorliegenden Arbeit wurde die diagnostische Aussagekraft von tPSA, cPSA sowie der Ratios von fPSA/tPSA und cPSA/tPSA in verschiedenen PSA-Wertebereichen evaluiert. Hier zeigte sich, dass in einem tPSA-Bereich von 0-3,9 ng/ml für alle vier Parameter keine signifikanten Unterschiede zwischen der Gruppe mit PC und der Gruppe mit einer BPH bestanden. Ähnliche Ergebnisse wurden auch von Lenin und Mitarbeitern publiziert. Sie konnten im Rahmen einer Multicenterstudie mit 283 PC-Patienten und 417 Patienten ohne PC in einem t-PSA-Bereich von <4 ng/ml keine ausreichende Differenzierung zwischen den zwei Patientenkollektiven durch die einzelnen Marker erzielen (Lein et al. 2003). Eine neuere Studie von Okihara et al. ergab dagegen einen diagnostischen Vorteil von cPSA gegenüber fPSA/tPSA im Bereich von <4 ng/ml (Okihara et al. 2004).

Interessanterweise befanden sich in unserem Kollektiv im tPSA Bereich von 0-3,9 ng/ml unter den Patienten mit PC (n = 23) vier Patienten in einem T4-Stadium und drei in einem T3-Stadium. Sechs Patienten hatten einen Gleason-Score von ≥ 7 . Dies zeigt, dass sich auch im tPSA-Bereich von <4 ng/ml Karzinome mit einem organüberschreitenden Wachstum und einem Gleason-Score mit ungünstiger Prognose befinden können und bestätigt die Angaben von Thompson et al. (Thompson et al. 2004).

Wie schon erwähnt, liegt die größte diagnostische Lücke bei der Diskriminierung zwischen Patienten mit PC und Patienten mit einer benignen Hyperplasie der Prostata im Bereich von 4-10 ng/ml. In unserem Kollektiv befanden sich insgesamt 116 Patienten in diesem Bereich. Von diesen hatten 35 Patienten ein PC und 81 Patienten eine benigne Hyperplasie der Prostata. Die diagnostische Sensitivität bei einer 95%-igen Spezifität war im tPSA-Bereich von 4-10 ng/ml am höchsten für die Ratio fPSA/tPSA mit 34,3% versus 25,7% für cPSA, 20% für tPSA und 17,1% für cPSA/tPSA. Im Hinblick auf die AUCs war ebenfalls die Ratio von fPSA/tPSA den anderen Markern überlegen. Interessanterweise zeigte sich, dass im Falle von tPSA mit einer AUC von 0,588 in dieser Subpopulation keine Diskriminierung zwischen PC und BPH möglich war ($p > 0,05$). Diese Daten lassen sich durch eine Reihe

vorausgegangener Publikationen stützen. So konnte z.B. Catalona et al. im Jahre 1998 den diagnostischen Nutzen von fPSA/tPSA vor allem im Bereich von 4-10 ng/ml belegen (Catalona et al. 1998). Okegawa et al. publizierten im Jahre 2000 eine Studie, bei der das tPSA, wie auch in der vorliegenden Arbeit, im Bereich von 4-10 ng/ml im Vergleich zur Ratio von fPSA/tPSA unterlegen war (Okegawa et al. 2000). In einer anderen Studie von Brawer et al. aus dem Jahre 2000 lag die diagnostische Sensitivität für fPSA/tPSA bei 52% im Gesamtkollektiv und 48% im Graubereich von 4-10 ng/ml und war damit signifikant besser als cPSA mit einer Spezifität von 46% für alle Patienten und 37% im angegebenen Graubereich. tPSA war sowohl cPSA als auch fPSA/tPSA im Bereich von 4-10 ng/ml deutlich unterlegen (Brawer et al. 2000). Ein diagnostischer Vorteil der Ratio von fPSA/tPSA im genannten Bereich von 4-10 ng /ml scheint bewiesen. Dennoch muss gerade in der Diskussion um die Anwendung von cPSA anstatt von fPSA/tPSA auf einige Nachteile von fPSA hingewiesen werden. Die Benutzung unterschiedlicher Assays zur Bestimmung von fPSA und tPSA führt zu unterschiedlichen Cut-off-Werten, die in unterschiedlichen Spezifitäten resultieren (Junker et al. 1997). Das Alter der untersuchten Patienten spielt ebenfalls bei der Freisetzung des freien PSA-Anteils eine Rolle (Veltri et al. 2002) wie auch die Tatsache, dass fPSA instabil ist und somit starken Schwankungen in Abhängigkeit von zeitlichen und technischen Faktoren unterliegt. So nimmt beispielsweise seine Konzentration im gefrorenen Zustand ab (Sokoll et al. 2002). Diese Umstände limitieren die diagnostische Aussagekraft der Ratio fPSA/tPSA und müssen auch bei der Bewertung unserer Daten berücksichtigt werden.

Im Untersuchungskollektiv mit einem tPSA-Wertebereich von 2-10 ng/ml zeigte sich analog zum Wertebereich von 4-10 ng/ml eine diagnostische Überlegenheit der Ratio von fPSA/tPSA gegenüber cPSA, tPSA und der Ratio von cPSA/tPSA. Dennoch konnte auch cPSA in diesem Wertebereich einen diagnostischen Vorteil gegenüber tPSA belegt werden. Diese Ergebnisse stimmen mit einigen in der Literatur gemachten Angaben überein (Roddam et al. 2005).

Andererseits gibt es aber auch Autoren, die zu einem anderen Schluss kommen. So konnte von Okihara et al. kein diagnostischer Vorteil für cPSA gegenüber tPSA im diagnostischen Fenster von 2-10 ng/ml ermittelt werden. In dieser Studie lag die größte diagnostische Aussagekraft bei der Ratio von fPSA/tPSA (Okihara et al. 2002). Jung et al. sehen wiederum in der Ratio von cPSA/tPSA einen Vorteil gegenüber tPSA und cPSA, der in unserem Kollektiv nicht bestätigt werden konnte (Jung et al. 2000).

Umfasst man den gesamten tPSA-Bereich <10 ng/ml, zeigten sich bei einer festgesetzten Spezifität von 95% insgesamt geringere Sensitivitäten für alle zuvor aufgeführten Marker. Die größte diagnostische Sensitivität erreichte hierbei wiederum die Ratio fPSA/tPSA mit 25,9%, gefolgt von cPSA mit 17,2%, tPSA mit 15,5% und der Ratio cPSA/tPSA mit 12,1%.

Vergleicht man dagegen die Sensitivitäten im tPSA-Bereich von >10 ng/ml bei einer 95% Spezifität, so zeigt sich, dass es in dieser Subpopulation zu einer Zunahme der Sensitivitäten zugunsten von tPSA und cPSA kam, wobei auch hier die diagnostische Sensitivität von cPSA mit 38,4% gegenüber der von tPSA mit 32,9% höher lag. Die diagnostische Sensitivität von fPSA/tPSA lag dagegen nur bei 23,3%. Die Sensitivität der Ratio von cPSA/tPSA lag mit 17,8% am niedrigsten. Der diagnostische Vorteil von cPSA in diesem Wertebereich, der bereits zuvor von Mitchell und Kollegen postuliert wurde, wird somit durch unsere Daten bestätigt (Mitchell et al. 2001).

Insgesamt kann man anhand unserer Daten und vorausgegangener Studien erkennen, dass in niedrigen Wertebereichen des Gesamt-PSAs die größte Diskriminierungsfähigkeit bei der Ratio von fPSA/tPSA liegt, während in höheren Wertelagen zunehmend das cPSA und das tPSA einen diagnostischen Vorteil erlangen.

IV.3.1.3 tPSA, cPSA, f/tPSA und c/tPSA in Bezug auf Tumorstadium und -graduierung

Betrachtet man die Verteilung von tPSA, cPSA, sowie den Ratios fPSA/tPSA und cPSA/tPSA in Bezug auf das Tumorstadium (T1-T4), so ergibt sich ein sehr heterogenes Bild, wobei in den verschiedenen Stadien jeweils unterschiedliche Marker gegenüber den anderen einen geringen diagnostischen Vorteil aufweisen. Ein Rückschluss auf das Tumorstadium anhand des Verteilungsmusters der Marker ist nicht möglich. Diese Beobachtung stimmt mit der Aussage von Semjonow und Hertle überein, die zu dem Schluss kamen, dass anhand der alleinigen Bestimmung von tPSA keine Aussage über die Ausdehnung des PCs gemacht werden kann (Semjonow und Hertle 1995).

Überraschenderweise zeigte sich in unserem Kollektiv, dass bei Patienten mit einem T4-Stadium kein signifikanter Unterschied in der Werteverteilung von tPSA und cPSA im Vergleich zu Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie bestand. Dieses Ergebnis ist jedoch aufgrund der insgesamt sehr kleinen Anzahl an Patienten mit einem T4-Tumor ($n=9$) mit Vorsicht zu interpretieren. Grundsätzlich ist bei einer Ausdehnung der Tumorerkrankung davon auszugehen, dass es zu einem Anstieg der Tumormarker kommt, bzw. lässt umgekehrt eine Zunahme der PSA-Werte eine Ausbreitung des Tumors vermuten.

Im Bezug auf die Tumorgraduierung zeigte sich bei gut bis mäßig differenzierten Tumoren (G1 und G2) ein diagnostischer Vorteil der Ratio von fPSA/tPSA im Vergleich zu tPSA und cPSA. So besaß fPSA/tPSA bei einer 95% Spezifität die beste Sensitivität mit 44,3%, gefolgt von cPSA mit 35,7% und tPSA mit einer Sensitivität von 28,6%. Im Gegensatz dazu war bei schlecht differenzierten Tumoren (G3) cPSA im Vergleich zu tPSA und fPSA/tPSA mit einer Sensitivität von 58,2% bei einer 95%-igen Spezifität überlegen. Diese Unterschiede erklären sich am ehesten durch die Korrelation der PSA-Werte mit der Tumorgraduierung, wobei es mit steigendem Grading, d.h. mit zunehmender Entdifferenzierung, zu steigenden PSA-Werten kommt. Zuvor wurde bereits dargestellt, dass vor allem bei niedrigeren PSA-Werten die Ratio von fPSA/tPSA die beste diagnostische Aussagekraft besitzt, während bei höheren PSA-Wertelagen cPSA einen diagnostischen Vorteil besitzt. Dies bestätigt die Annahme, dass die Höhe der Marker und ihre Fähigkeit zur Diskriminierung auch vom Tumorgrad abhängig sein kann (Xess et al. 2001).

IV.3.1.4 Andere Biomarker und ihr Verteilungsmuster

Wie eingangs erwähnt, war es unter anderem Ziel der vorliegenden Arbeit, die Verteilung verschiedener Biomarker, die im klinischen Alltag bei unterschiedlichen Tumorentitäten ihren Einsatz finden, in unserem Patientenkollektiv im Hinblick auf einen diagnostischen Nutzen bei der Unterscheidung von Patienten mit benigner Prostatahyperplasie und Patienten mit PC zu evaluieren. Eine detaillierte Auflistung der einzelnen Biomarker findet sich auf Seite 33-44 und 46-50.

Bei der Untersuchung der Biomarker Lactatdehydrogenase (LDH), Alkalische Phosphatase, Alpha-1-Fetoprotein, Cancer Antigen 15-3 und Cancer Antigen 72-4 ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Verteilung zwischen Patienten mit PC und Patienten mit benigner Prostatahyperplasie.

Betrachtet man die in der aktuellen Literatur publizierten Daten zur Lactatdehydrogenase in Zusammenhang mit der Prostata, so scheint die LDH vor allem bei fortgeschrittenen, ossär metastasierten PC bei der Therapiebeurteilung und der damit verbundenen Abschätzung der Überlebenszeit eine Rolle zu spielen. Zur Diskriminierung zwischen PC und BPH als Tumormarker ist die LDH, wie an unseren Daten ersichtlich, primär nicht geeignet (Salminen et al. 2006; Naruse et al. 2007; Robinson et al. 2008). Ähnliches gilt auch für die Alkalische Phosphatase, die in Verbindung mit metastasierten Prostatakarzinomen im Rahmen der Therapiekontrolle und Einschätzung der Überlebenszeit ebenfalls diskutiert wird. Hier scheint die Höhe der Alkalischen Phosphatase in engem Zusammenhang mit Metastasen im Bereich

des Skelettsystems zu stehen. Bei der Diskriminierung zwischen unseren beiden Kollektiven konnte auch die AP zu keiner Verbesserung beitragen (Robinson et al. 2008; Salminen et al. 2006).

Ein weiterer von uns bestimmter Biomarker war das Alpha-1-Fetoprotein, welches in unserem Kollektiv in der Gruppe mit PC eine ähnliche Verteilung wie in der Gruppe mit BPH aufwies. Im Vergleich dazu war in einer Studie von Parekh et al. aus dem Jahre 2007, in der insgesamt 54 Biomarker im Serum von Patienten mit und ohne PC vermessen wurden, das AFP in der PC-Gruppe höher als in der Gruppe ohne PC. Insgesamt konnte das AFP aber mit einer AUC von $< 0,6$ nicht ausreichend zur Diskriminierung zwischen Patienten mit und ohne PC beitragen (Parekh et al. 2007). Diese Beobachtung wird durch unsere Daten gestärkt, indem ebenfalls gezeigt werden konnte, dass das AFP mit einer AUC von 0,505 bezogen auf das gesamte Kollektiv keinen Nutzen zur Diskriminierung zwischen Patienten mit PC und Patienten mit BPH besitzt.

Im Hinblick auf das Cancer Antigen 15-3 sehen einige Autoren eine gewisse Bedeutung für die Diagnostik des PCs. In einer Studie von Falsaperla wurde bei Patienten mit PC und niedrigen PSA-Werten ein diagnostischer Nutzen in der Bestimmung des CA 15-3 und einer damit verbundenen Entscheidung für oder gegen eine Biopsieentnahme der Prostata postuliert. Hierbei fanden sich bei den Patienten mit PC ($n = 52$) erhöhte CA 15-3 Werte (Falsaperla et al. 2003). Vergleicht man die von uns gemessenen Werte, so findet sich ebenfalls im niedrigen PSA-Bereich von < 4 ng/ml ein signifikanter Unterschied in der Verteilung zwischen Patienten mit PC ($n = 23$) und BPH ($n = 181$). Allerdings war in unserem Kollektiv das CA 15-3 in der Gruppe mit BPH höher als in der Gruppe mit PC, wobei der Median in beiden Gruppen innerhalb des Normbereichs lag. Es ist derzeit nicht eindeutig nachvollziehbar, wodurch diese unterschiedlichen Ergebnisse bedingt sein könnten. Einschränkend bei der Bewertung wirken sicherlich die bislang eher kleinen Fallzahlen.

Wie bereits erwähnt, kommt das Cancer Antigen 72-4 vorwiegend bei gastrointestinalen Tumorerkrankungen, beim Pankreaskarzinom und bei ovariellen Erkrankungen zum Einsatz (Guadagni et al. 1995; Carpelan-Holmstrom et al. 2002). In der aktuellen Literatur finden sich derzeit keine Daten zur Bedeutung von CA 72-4 im Zusammenhang mit Prostatakarzinomen. Anhand der von uns ermittelten Werteverteilung war keine Diskriminierung zwischen Patienten mit PC und Patienten mit BPH möglich.

Im Gegensatz zu den bereits erwähnten Biomarkern konnte bei den Markern CA 125, CA 19-9, CEA und CRP, bezogen auf das Gesamtkollektiv, ein signifikanter Unterschied im Verteilungsmuster zwischen der Gruppe mit PC und der Gruppe mit BPH festgestellt werden. Dabei waren CA 125, CA 19-9 und CRP in der Gruppe mit benigner Prostatahyperplasie signifikant höher verteilt als in der Gruppe mit PC. Im Gegensatz dazu fanden sich für CEA in der Gruppe mit PC höhere Werte als in der Gruppe mit BPH.

Im Zusammenhang mit CA 125 berichtete Nap über einen positiven Nachweis im Drüsengewebe der Prostata (Nap 1998). Kiyokawa et al. publizierten einen Case-Report, bei dem ein immunhistologischer Nachweis von Ca 125 in malignem Prostatagewebe gelang (Kiyokawa et al. 2003). Bei der Aufarbeitung des Gewebes der Prostata zeigte sich ein anaplastisches Karzinom, das positiv für CA 125, vereinzelt für CEA und negativ für PSA war. Im Gegensatz dazu postuliert Goldstein, dass bei positiven Reaktionen mit CA 125 und CEA die Wahrscheinlichkeit für ein PC sehr gering ist. Er hatte insgesamt 225 Adenokarzinome der Prostata untersucht (Goldstein 2002). Betrachtet man unsere Daten, so besteht ein Unterschied in der Verteilung von CA 125 zwischen der BPH-Gruppe und der Prostatakarzinom-Gruppe im gesamten Kollektiv. Hierbei fanden sich signifikant höhere CA 125-Werte in der BPH Gruppe, wobei sich der Median in beiden Gruppen innerhalb des Normbereichs befand. Betrachtet man die einzelnen AUCs für CA 125, so sieht man, dass eine klinisch relevante Diskriminierung zwischen beiden Gruppen mit Hilfe von CA 125 als alleinigen Marker nicht möglich ist. Entsprechende Publikationen zum Vergleich existieren derzeit nicht.

Wie bereits erwähnt, zeigten sich auch für das Carcinoembryonale Antigen (CEA) im Report von Kiyokawa et al. vereinzelt positive immunhistologische Reaktionen (Kiyokawa et al. 2003). Eine immunozytochemische Evaluation von Prostatakarzinomen wurde mit Hilfe der Marker CEA, β HCG und PSA von Purnell et al. durchgeführt. Dabei zeigten sich in allen 38 Fällen positive Reaktion für PSA, drei der 38 Fälle waren ebenfalls positiv für β HCG und einer war positiv für CEA (Purnell et al. 1984). In einer anderen, von Okada et al. publizierten Studie, wurden zwei Fälle von kleinzelligen Prostatakarzinomen untersucht. Im ersten Fall konnten erhöhte Serumlevel für die Biomarker CEA, CA 19-9 und NSE gemessen werden. Bei der immunhistologischen Untersuchung waren beide Prostatapräparate für die Marker CEA, PSA, NSE und einige andere Marker positiv (Okada et al. 1996). In einem von Momma et al. publizierten Case-Report wurde über erhöhte Werte von CEA und CA 19-9 im Serum eines 80-jährigen Patienten mit einem schlecht differenzierten PC berichtet (Momma et al.

1998). Ogawa et al. empfiehlt bei hohen PSA-Werten eine zusätzliche Bestimmung von CEA und CA 19-9, basierend auf einer Studie, die im Jahre 2000 publiziert wurde. Dabei wurde das Serum von insgesamt 15 Patienten mit histologisch gesichertem PC untersucht, und es wurden unter anderem erhöhte Werte für CEA und CA 19-9 festgestellt (Ogawa et al. 2000). Aufgrund der Hinweise auf einen möglichen diagnostischen Nutzen von CEA und CA 19-9 bei Patienten mit PC wurden diese beiden Marker ebenfalls in unserem Kollektiv untersucht. Eine signifikant höhere Verteilung von CEA fand sich in unserem Kollektiv bei Patienten mit Prostatakarzinomen im Stadium T4 und bei PSA-Werten >10 ng/ml. Dies stimmt mit den Daten von Ogawa et al. überein (Ogawa et al. 2000). CEA besitzt jedoch mit einer AUC von 0,619 im tPSA-Bereich >10 ng/ml im Vergleich zu tPSA mit einer AUC von 0,730 keinen diagnostischen Vorteil. Bei Patienten im T4 Stadium ist CEA mit einer AUC von 0,681 dem tPSA mit einer AUC von 0,607 minimal überlegen. Bei der Untersuchung auf CA 19-9 ergab sich ebenfalls ein Unterschied zwischen den Kollektiven mit signifikant höheren Werten in der BPH-Gruppe, wobei in beiden Kollektiven der Median innerhalb der Norm lag. Bei Betrachtung der ROC zeigt sich jedoch, dass das CA 19-9 als Tumormarker für das PC aufgrund des gegensätzlichen Zusammenhangs zwischen Sensitivität und Spezifität nicht geeignet ist.

Die Bestimmung von CRP wird im klinischen Alltag vor allem im Rahmen von entzündlichen Prozessen sehr häufig durchgeführt. Dabei gibt es eine Vielzahl benigner wie auch maligner Erkrankungen, die für eine CRP Erhöhung verantwortlich sein können. Im Bereich der malignen Erkrankungen werden z.B. maligne Melanome der Haut in Zusammenhang mit erhöhten CRP Werten gebracht (Deichmann et al. 2004). Auch für das kolorektale Karzinom wurde von einer Assoziation mit erhöhten CRP-Werten berichtet (Erlinger et al. 2004).

In unserem Patientenkollektiv fällt die Verteilung von CRP zugunsten höherer Werte in der Gruppe mit BPH aus. Eine Erklärung hierfür bietet Nickel, der eine enge Verbindung zwischen der benignen Prostatahyperplasie und einer Prostatitis, d.h. einer entzündlichen Veränderung der Prostata sieht (Nickel 2008). Diese Aussage kann durch andere Publikationen belegt werden (Nickel et al. 1999; Nickel 2006; Delongchamps et al. 2008). In der vorliegenden Arbeit konnte in der Gruppe mit BPH eine positive Korrelation zwischen CRP und tPSA mit $r = 0,612$ dargestellt werden. Dieser Zusammenhang erklärt sich am ehesten dadurch, dass bei einer Prostatitis sowohl PSA als auch CRP freigesetzt werden.

In der Gruppe mit PC bestand dagegen keine Korrelation zwischen CRP und PSA Werten ($r = 0,238$).

Es muss beachtet werden, dass es im Rahmen einer BPH zwar häufig zu einer begleitenden Prostatitis kommt, umgekehrt aber aufgrund hoher CRP-Werte nicht automatisch davon ausgegangen werden kann, dass der Patient an einer BPH und nicht an einem PC leidet. Eine Diskriminierung zwischen der Gruppe mit PC und der Gruppe mit BPH alleine anhand der CRP-Werte kann durch unsere Daten nicht getroffen werden und lässt sich auch durch keine in der Literatur gemachten Angaben belegen.

Die Neuron-spezifische Enolase wird durch eine Vielzahl von Tumorentitäten exprimiert und stellt keinen tumorspezifischen Biomarker dar. Das Vorhandensein von neuroendokrinen Zellen scheint bei der Freisetzung der NSE eine entscheidende Rolle zu spielen. Neuroendokrine Zellen wurden auch vereinzelt in der Prostata durch immunhistochemische Untersuchungen nachgewiesen. In einer Studie von Aprikian und Mitarbeitern wurden sowohl benigne wie auch maligne Prostatapräparate untersucht. Dabei konnten in beiden Gruppen neuroendokrine Zellen identifiziert werden (Aprikian et al. 1993). Cerovic untersuchte insgesamt 73 unbehandelte Prostatapräparate, die entweder durch eine TUR der Prostata oder durch eine radikale Prostatektomie gewonnen worden waren. Hier konnte bei Patienten mit organüberschreitendem Wachstum ein signifikanter Zusammenhang zwischen schlecht differenzierten Prostatakarzinomen und dem Nachweis von neuroendokrinem Gewebe erbracht werden. (Cerovic et al. 2004). Berutti et al. berichtete über eine Sekretion von NSE sowohl bei Patienten mit BPH, wie auch bei Patienten mit PC, wobei eine Unterscheidung zwischen Tumorstadium und Tumorgrad nicht möglich war (Berutti et al. 2000). Im Gegensatz dazu konnte Angelson trotz des histologischen Nachweises von neuroendokrinen Zellen anhand von 22 Prostatakarzinomen keine erhöhten NSE-Werte im Serum feststellen (Angelson et al. 1997). In einer Studie von Kamiya et al. wurde der Serumlevel von NSE als Prognosefaktor bei Patienten mit PC untersucht. Interessanterweise zeigten die Patienten im Vergleichskollektiv mit einer BPH signifikant höhere NSE-Werte im Serum als Patienten mit PC. In der Gruppe mit PC wiederum waren bei denjenigen Patienten, die Metastasen hatten, die NSE-Werte im Serum am höchsten. Diese Patienten hatten nach der Therapie eine signifikant niedrigere Lebenserwartung als diejenigen mit niedrigen NSE-Werten vor Therapiebeginn (Kamiya et al. 2003). Dies kann durch Daten von Hvamstad et al. belegt werden, der Patienten mit einem hormonrefraktären PC untersucht hatte und ebenfalls bei erhöhten NSE-Werten im Serum eine Verminderung der Überlebensrate nachweisen konnte (Hvamstad et al. 2003). Einen Nutzen in der Bestimmung von NSE zur Einschätzung der 10-

Jahres Überlebensrate von Patienten mit einem PC und einer N0-Situation sehen auch Lilleby et al. 2001.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Kamiya und Mitarbeitern fand sich in unserem Kollektiv weder insgesamt noch in den einzelnen oben aufgeführten PSA-Bereichen ein signifikanter Unterschied im Verteilungsmuster zwischen Patienten mit benigner Prostatahyperplasie und Patienten mit PC. Eine Korrelation zwischen der Höhe der NSE-Werte und dem Tumorstadium, wie zuvor berichtet, konnte nicht nachgewiesen werden. Der Vergleich zwischen der PC-Gruppe und der BPH-Gruppe unter Berücksichtigung des Tumorstadiums ergab lediglich im T3-Stadium einen signifikanten Unterschied mit höheren NSE-Werten in der PC-Gruppe, wobei NSE mit einer AUC von 0,627 den Markern tPSA, cPSA und der Ratio von fPSA/tPSA und cPSA/tPSA deutlich unterlegen war. Die unterschiedlichen Ergebnisse des Verteilungsmusters von NSE bei Patienten mit Prostatakarzinomen sprechen derzeit gegen einen routinemäßigen Einsatz im klinischen Alltag. Dennoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass bestimmte Patientengruppen, z.B. solche mit hormonrefraktären Prostatakarzinomen, von einer zusätzlichen Bestimmung der NSE profitieren könnten.

Diskutiert man die Diskriminierungsfähigkeit von β HCG, zeigt sich bei Betrachtung unserer Daten, dass eine signifikant häufigere Verteilung in der Gruppe mit BPH im Vergleich zu denjenigen Patienten mit PC nur im T2-Stadium und im tPSA-Bereich von 2-10 ng/ml vorlag. Ein zusätzlicher signifikanter Unterschied in der Verteilung zwischen den beiden Kollektiven war nicht zu eruieren. Eine Diskriminierung zwischen beiden Gruppen durch die alleinige Anwendung von β HCG ist anhand unserer Daten nicht möglich. Diese Annahme wird auch durch eine Studie von Otite et al. aus dem Jahre 2006 bestätigt. Hier wurden der Urin und das Serum von insgesamt 104 Patienten mit einem histologisch gesicherten PC und von 115 Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie untersucht. Die genannte Arbeitsgruppe kam zu dem Schluss, dass β HCG bei der klinischen Detektion des PCs keine Aussagekraft hat (Otite et al. 2006).

CYFRA 21-1 kommt vorrangig bei der Differentialdiagnose von unklaren Lungenherden im klinischen Alltag zum Einsatz. Sein diagnostisches Potential als Tumormarker wurde in einer groß angelegten Pilotstudie von Stieber et al. bereits 1993 publiziert. Hier wurden das Serum von insgesamt 1741 Patienten mit unterschiedlichsten Tumorentitäten und differentialdiagnostisch wichtigen benignen Erkrankungen untersucht. Einen Vorteil bei der

Diskriminierung zwischen Patienten mit BPH und denen mit PC konnte, wie auch in der vorliegenden Arbeit, nicht belegt werden (Stieber et al. 1993). Eine signifikante Erhöhung von CYFRA 21-1 bei Patienten mit BPH fand sich in unserem Kollektiv nur im Vergleich zu Patienten mit PC im Stadium-T2 und im tPSA-Bereich von 2-10 ng/ml.

Es muss grundsätzlich diskutiert werden, inwiefern eine Bestimmung biologischer Marker im Serum zur Diagnosestellung einer Tumorerkrankung herangezogen werden kann. Wie bereits einleitend dargestellt, liegt das größte Problem in der mehrheitlich mangelnden Sensitivität und Spezifität der bislang identifizierten Tumormarker. Selbst im Falle des PSAs, welches sich von den meisten Tumormarkern durch seine hohe Organspezifität unterscheidet, besteht weiterhin eine diagnostische Unsicherheit aufgrund seiner mangelnden Krankheitsspezifität. Der immunhistologische Nachweis verschiedener anderer Biomarker bei Patienten mit PC gibt Anlass zur genaueren Untersuchung der diagnostischen Bedeutung dieser Marker. Hierbei ist für die klinische Routine vor allem ein serologischer Nachweis dieser Marker von Interesse. Betrachtet man die diesbezüglichen Daten in der aktuellen Literatur, finden sich im Zusammenhang von nicht PSA-Biomarkern und dem PC bislang nur sehr wenige Veröffentlichungen, die zumeist kontroverse Daten liefern. Bei den meisten Publikationen handelt es sich um Fallberichte oder Beschreibungen immunhistologischer Untersuchungen. Groß angelegte Studien zum serologischen Nachweis verschiedener Biomarker beim PC sind selten.

In der vorliegenden Arbeit wurde retrospektiv das serologische Verteilungsmuster gängiger Biomarker in einem relativ großen Kollektiv von Patienten mit PC oder benigner Prostatahyperplasie untersucht. Anhand unserer Patientenzahl kann bezogen auf die oben aufgeführten Biomarker eine Aussage bezüglich deren Diskriminierungsfähigkeit zwischen Patienten mit und ohne PC getroffen werden. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die unterschiedlichen Biomarker im Vergleich zur PSA-Bestimmung im Einzelnen keinen diagnostischen Vorteil bei der Detektion des PCs besitzen. Aufgrund der noch zu geringen Fallzahl bei bestimmten Patienten-Untergruppen und den generellen Einschränkungen einer retrospektiven Datenerhebung kann jedoch keine allgemeingültige Aussage getroffen werden. Für eine eindeutige Beurteilung der Marker sind groß angelegte prospektive Studien notwendig.

IV.3.2 Multivariate Analyse

Die Multivariate Analyse wurde mit Hilfe der logistischen Regressionsanalyse berechnet. Dabei wurden in unsere Studie nur diejenigen Biomarker verwendet, die in der Verteilung zwischen der Gruppe mit PC und der Gruppe mit benigner Prostatahyperplasie signifikante Unterschiede aufwiesen. Zusätzlich wurden bei der Multivariaten Analyse nur die tPSA-Bereiche kleiner und größer 10 ng/ml berücksichtigt und die jeweiligen Unterkollektive demnach festgelegt, um eine ausreichende Anzahl an Patienten für die Berechnung zu gewährleisten.

Die Kombination einzelner Tumormarker zur Verbesserung der Diskriminierung zwischen einer malignen Erkrankung und der differentialdiagnostisch in Erwägung zu ziehenden benignen Erkrankungen wurde bereits für andere Tumorentitäten veröffentlicht. So zeigten Carplean-Holmstrom et al., dass bei der Detektion von Kolonkarzinomen eine zusätzliche Bestimmung von CA 72-4 neben CEA zu einer Verbesserung der Detektionsrate führen kann. Die Berechnung der Tumorwahrscheinlichkeit erfolgte wie auch in unserer Studie mit Hilfe der logistischen Regressionsanalyse (Carpelan-Holmstrom et al. 2004). In einer anderen von Carplean-Holmstrom publizierten Studie aus dem Jahre 2002 wurde ein Vorteil bei der Detektion von gastrointestinalen Karzinomen durch eine Kombination von CEA, CA 19-9 und CA 72-4 berichtet (Carpelan-Holmstrom et al. 2002). Über einen Vorteil bei der Detektion von gastrointestinalen Karzinomen mit Hilfe der Kombination von den Tumormarkern β HCG, CA 19-9 und CEA berichtete auch Louhimo et al. (Louhimo et al. 2002). Betrachtet man Publikationen zum PC, wird im Rahmen der logistischen Regressionsanalyse über eine Verbesserung der Detektion von PC mit Hilfe der Variablen tPSA, der Ratio von fPSA/tPSA, der digital-rektalen Untersuchung und einer positiven Familienanamnese berichtet (Virtanen et al. 1999). In einer anderen Studie von Seker et al. wurden die Variablen Tumorstadium, Skelettmetastasen, Gleason-Score und experimentelle Prognosemarker wie das p53 und das bcl-2 berücksichtigt (Seker et al. 2003). Über die alleinige Kombination einzelner onkologischer Biomarker bei Patienten mit PC finden sich in der aktuellen Literatur bisher keine Angaben.

Betrachtet man unsere Ergebnisse im PSA-Bereich von kleiner 10 ng/ml, konnte durch eine Kombination von tPSA mit CA 125, CEA, NSE und CRP eine AUC von 0,767 erreicht werden. Eine Bestimmung von cPSA anstatt von tPSA in der Kombination erbrachte eine minimale Verbesserung der AUC auf 0,799. Im Vergleich dazu lagen die AUCs von tPSA alleine bei 0,675 und die von cPSA bei 0,691. Eine Kombination von tPSA, fPSA und fPSA/tPSA führte ebenfalls zu einer Verbesserung der diagnostischen

Diskriminierungsfähigkeit zwischen beiden Kollektiven. Die Unterschiede zwischen den AUCs waren für die genannten Kombinationen statistisch jedoch nicht signifikant. Ein signifikanter diagnostischer Vorteil konnte im PSA-Bereich $< 10\text{ng/ml}$ nur für die Kombination der Marker tPSA, fPSA, der Ratio von fPSA/tPSA, CA125 und CEA mit einer AUC von 0,822 erreicht werden.

Im Kollektiv mit PSA-Werten von größer 10 ng/ml konnte ebenfalls durch Kombination verschiedenster Marker eine Zunahme der einzelnen AUCs erreicht werden. Allerdings bestand bei keiner der Kombinationen ein statistischer Vorteil gegenüber der alleinigen Bestimmung von tPSA oder cPSA. Dies liegt u.a. an der bereits sehr hohen diagnostischen Aussagekraft von tPSA bzw. cPSA alleine im PSA-Wertebereich von $>10\text{ ng/ml}$.

Trotz der an sich positiven Ergebnisse, die durch Multivariate Analysen erzielt werden können, sollten gewisse Limitierungen berücksichtigt werden. Es muss die diagnostische Bedeutung der in die Berechnung eingehenden Variablen per se vor der Analyse ermittelt werden, da die Analyseergebnisse keine Rückschlüsse auf den Einfluss der jeweiligen Variablen erlauben. Außerdem können die Analyseergebnisse nicht direkt auf einen individuellen Fall übertragen werden (Horninger et al. 2001). So wurde z.B. bereits erwähnt, dass die Freisetzung der onkologischen Biomarker individuellen Schwankungen unterliegt (Lamerz und Stieber 2004). Prinzipiell handelt es sich bei der Multivariaten Analyse um ein statistisches Verfahren, welches theoretisch zu einer Optimierung der diagnostischen Diskriminierungsfähigkeit beitragen kann. Die klinische Praktikabilität ist hierbei jedoch in Frage zu stellen.

Dennoch ist zu erwähnen, dass bei gleichzeitiger Bestimmung der zuvor angeführten Biomarker in unserem Kollektiv eine nicht außer Acht zu lassende Anzahl an Prostatabiopsien hätte vermieden werden und eine gewisse Anzahl an Prostatakarzinomen detektiert werden können. So wäre im PSA-Bereich $<10\text{ ng/ml}$ z.B. durch Kombination von tPSA, CA 125, CEA, NSE und CRP bei einer Spezifität von 95% die Anzahl richtig positiver Ergebnisse von 9 Patienten bei alleiniger tPSA Bestimmung (Sensitivität 15,5%) auf 22 Patienten (Sensitivität 37,9%) gestiegen. Zusätzlich kann durch die Kombination der Biomarker eine Zunahme des prädiktiven Wertes von 40% bei tPSA alleine auf 63% erreicht werden.

IV.3.3 Ausblick

Das PC stellt wegen seiner steigenden Inzidenz in den letzten Jahren nicht nur den Urologen, sondern auch den Hausarzt vor eine große Herausforderung. Einerseits muss es Ziel sein, eine eventuelle Tumorerkrankung frühzeitig und somit in einem kurativen Stadium zu detektieren, andererseits sollte eine Übertherapie vermieden werden. Die Diagnose PC kann, wie bereits erwähnt, letztendlich nur durch eine Biopsieentnahme aus der Prostata gestellt werden. Das allgemeine Problem besteht darin, dass sehr viele Patienten fälschlicherweise biopsiert werden und sich demnach einem invasivem Verfahren mit nicht zu vernachlässigenden Risiken unterziehen müssen und zusätzlich mit der Angst, ein Karzinom zu haben, konfrontiert werden. Eine Verbesserung der diagnostischen Mittel, welche zu der Entscheidung führen, ob und wann ein Patient einer Prostatabiopsie unterzogen werden sollte, stellt daher eine wichtige Aufgabe dar.

Wie bereits einleitend dargestellt, nimmt die PSA-Bestimmung neben der digital-rektalen Untersuchung eine zentrale Stellung bei der Früherkennung eines PCs ein. Es gibt derzeit zahlreiche Bemühungen, die Sensitivität von PSA zu erhöhen. Dies könnte zum Beispiel durch Kombination von PSA mit anderen Biomarkern erreicht werden, wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden konnte. Daneben spielt aber vor allem die Untersuchung spezieller PSA-Untergruppen eine Rolle. So konnte in unserem Kollektiv der Vorteil einer Bestimmung des Quotienten aus freiem PSA zum Gesamt-PSA (fPSA/tPSA) im PSA-Bereich von 4-10 ng/ml, wie zuvor bereits publiziert, bestätigt werden (Catalona et al. 1995). Neben dem bereits ausführlich beschriebenen cPSA und dem fPSA existieren noch verschiedene Isoformen von fPSA, wie z.B. das „nicked-PSA“ oder auch BPSA genannt, welches anscheinend im Serum von Patienten mit benigner Prostatahyperplasie vermehrt freigesetzt wird (Mikolajczyk et al. 2000). Andere fPSA-Isoformen mit partiell oder komplett erhaltenem Propeptid wie das proPSA, welches je nach Abspaltung einzelner Aminosäuresequenzen in (-7)proPSA, (-4)proPSA und (-2)proPSA unterteilt werden kann, scheinen ebenfalls wegen ihrer signifikant häufigeren Verteilung bei Patienten mit PC einen sehr interessanten Forschungsansatz zu bieten (Sokoll et al. 2003).

Das humane glanduläre Kallikrein 2 (hk2), welches in seinem chemischen Aufbau eine 80% Homologie mit der Aminosäuresequenz des PSA aufweist (Schedlich et al. 1987), scheint vor allem bei der Unterscheidung zwischen entdifferenzierten und hochdifferenzierten Prostatakarzinomen und bei der kombinierten Anwendung mit tPSA und der Ratio von fPSA/tPSA vor allem in PSA-Bereichen von <10 ng/ml eine entscheidende Rolle zu spielen (Magklara et al. 1999). Insgesamt muss zu den einzelnen genannten Marker jedoch gesagt werden, dass

sich die jeweiligen Assays noch in Entwicklung befinden und ihr klinischer Nutzen für die Detektion des PCs durch groß angelegte Studien erst bewiesen werden muss.

Weitere Ansätze zur Verbesserung der PC-Diagnostik, die derzeit erforscht werden, liegen in der Bestimmung der PSA-Density und PSA-Velocity sowie dem Einsatz altersspezifischer PSA-Grenzen. Die PSA-Density wurde erstmals von Babian et al. definiert und errechnet sich aus dem tPSA-Wert im Verhältnis zum Prostatavolumen (ng/ml/cm^3) (Babaian et al. 1990). Die in der aktuellen Literatur gemachten Angaben hinsichtlich der Erhöhung von Sensitivität und Spezifität zur Detektion des PCs sind jedoch widersprüchlich und lassen sich dadurch begründen, dass die Bestimmung des Prostatavolumens einerseits einer gewissen Ungenauigkeit in Abhängigkeit vom Untersucher unterliegt und andererseits ein deutlicher Unterschied zwischen PSA-produzierendem Gewebe (Prostataepithel) und nicht PSA-produzierendem Gewebe (Stroma) besteht. Eine Unterscheidung zwischen den beiden Geweben anhand der Sonographie ist nicht möglich. Dieses Problem findet sich auch bei der Modifikation der PSA-Dichte durch die Bestimmung der PSA-Transitionaldichte (Babaian et al. 1990; Manseck et al. 1997; Egawa et al. 1999; Chakrabarti et al. 2001).

Bei der Bestimmung von PSA- Verdopplungszeit und PSA-Velocity (PSAV) geht man davon aus, dass bei Männern mit PC das PSA wesentlich schneller ansteigt als bei gesunden Männern. So wird allgemein eine Verdopplungszeit von 3 bis 4 Jahren und eine PSAV von $> 0,75 \text{ ng/ml/Jahr}$ als karzinomverdächtig angesehen (Raaijmakers et al. 2004). Nachteil der PSA-Anstiegsgeschwindigkeit ist neben den analytischen Fehlern, die durch die Verwendung verschiedener Assays verursacht werden, auch die normale intraindividuelle Variation der Serum-PSA-Konzentrationen. So können kurzfristige Erhöhungen von PSA-Werten, die z.B. durch digital-rektale Untersuchung oder durch Zystoskopie verursacht werden, eine graduelle Evaluation von PSA verzerren (Haese et al. 2003). Dennoch scheint bei unauffälliger DRU und PSA-Werten von $< 10 \text{ ng/ml}$ bei der Entscheidung für oder gegen eine Prostatabiopsie die Einbeziehung von PSA-Verdopplungszeit und PSAV sinnvoll.

Die Einführung von altersspezifischen Normwerten von PSA basiert auf der Annahme, dass PSA-Werte mit dem Alter zunehmen (Oesterling et al. 1993; McConnell et al. 1994). Durch die Verwendung von altersspezifischen Normwerten soll die Sensitivität durch die PSA-Konzentration zur PC-Detektion bei Männern < 50 Jahre erhöht werden, wobei die gleiche PSA-Konzentration bei einem 70-jährigen Mann keinen Anlass zum Verdacht auf ein PC geben würde. Gleichzeitig soll die Spezifität, also die Abnahme unnötiger Biopsien bei

älteren Patienten, erhöht werden. Ein gewisser Vorteil durch die Verwendung von altersspezifischen PSA-Grenzwerten konnte belegt werden (Partin et al. 1996). Vor allem wurde gezeigt, dass junge Patienten durch frühe Detektion und eine aggressive Therapie profitieren können (Reissigl et al. 1995). In einer anderen Studie von Catalona et al. wurden jedoch durch die Anwendung von altersspezifischen Grenzwerten als alleiniger Entscheid für oder gegen eine Biopsie immerhin 47% lokal begrenzter Prostatakarzinome bei Männern im Alter ≥ 70 Jahre übersehen und bei bis zu 45% der Männer im Alter zwischen 50 und 59 Jahre fälschlicherweise eine Biopsie durchgeführt (Catalona et al. 1994). Aus diesem Grunde ist der alleinige Einsatz von altersspezifischen Grenzwerten von PSA umstritten.

Andere diagnostische Verfahren, die in Zukunft eventuell einen Platz in der klinischen Diagnostik einnehmen könnten, umfassen die Bestimmung von Urinmarkern sowie den Einsatz von neuartigen bildgebenden Verfahren wie z.B. die MRT-Spektroskopie der Prostata (Deras et al. 2008; Kumar et al. 2008).

Trotz der erheblichen Fortschritte und der vielfältigen neuen diagnostischen Ansätze, die in den letzten Jahren zur Detektion des PCs entwickelt wurden, besteht weiterhin ein großer Forschungsbedarf, um die Versorgung der Patienten zu optimieren.

IV.3.4 Zusammenfassung

Das Prostatakarzinom (PC) ist neben bösartigen Hauterkrankungen das häufigste Malignom des Mannes, und im Bereich der urologischen Tumoren stellt es die häufigste tumorbedingte Todesursache dar. Voraussetzung für einen kurativen Therapieansatz ist die Diagnosestellung in einem organbegrenzten Tumorstadium. Hierfür wird im klinischen Alltag neben der digital-rektalen Untersuchung und einer transrektalen Sonographie die Bestimmung des Prostata-spezifischen Antigens empfohlen. Diese Untersuchungen haben jedoch wegen ihrer nicht 100%-igen Sensitivität und Spezifität limitierte Aussagekraft, so dass in einer nicht zu vernachlässigenden Anzahl von Fällen falsch positive sowie falsch negative Ergebnisse auftreten. Aus diesem Grunde besteht ein ständiges Bestreben, die Sensitivität und Spezifität der genannten Untersuchungen zu erhöhen. Durch die zusätzliche Bestimmung der Ratio fPSA/tPSA konnte vor allem im Graubereich von 4-10 ng/ml tPSA eine Verbesserung der Sensitivität und Spezifität in unterschiedlichsten Studien belegt werden. Die alternative Bestimmung von cPSA anstatt von tPSA wird in der aktuellen Literatur kontrovers diskutiert. Betrachtet man die relevante Literatur, zeigt sich, dass im Prostatagewebe auch eine Reihe anderer onkologischer Biomarker, die im klinischen Alltag bei unterschiedlichen Tumorentitäten eingesetzt werden, immunhistologisch nachweisbar ist. Große Studien, bei denen diese Marker im Serum von Patienten mit PC vermessen und zeitgleich mit dem Serum von Patienten mit einer BPH verglichen wurden, finden sich kaum.

Ziel dieser Arbeit war es daher, den diagnostischen Nutzen von tPSA, fPSA/tPSA, cPSA und cPSA/tPSA anhand eines Patientenkollektivs der Urologischen Klinik der LMU München zu untersuchen und mit der aktuellen Literatur zu vergleichen. In einem weiteren Schritt sollte das Verteilungsmuster onkologischer Biomarker, die bei unterschiedlichen Tumorentitäten im klinischen Alltag eingesetzt werden, bei Patienten mit PC oder benigner Prostatahyperplasie (BPH) bestimmt und im Hinblick auf einen eventuellen Nutzen bei der Detektion des PCs evaluiert werden. Zuletzt wurde durch Kombination mehrerer Marker untersucht, ob hierdurch ein eventueller Vorteil bei der Detektion des PCs erreicht werden kann.

Insgesamt wurde das Serum von 442 Patienten untersucht, von denen 131 Patienten ein histologisch gesichertes PC und die restlichen 311 Patienten eine BPH hatten. Im Serum der Patienten wurden folgende Parameter vermessen: tPSA, fPSA, cPSA, die Ratio von fPSA/tPSA und cPSA/tPSA. Weiterhin wurden die Biomarker AFP, AP, CA 125, CA 15-3, CA 19-9, CA 72-4, CEA, CYFRA 21-1, hCG β , NSE, LDH und CRP bestimmt.

In einem ersten Schritt wurde im Rahmen einer Univariaten Analyse auf die Verteilung jedes Markers sowie dessen Fähigkeit zur Diskriminierung zwischen der PC- und der BPH-Gruppe eingegangen. Hierbei wurden neben dem Gesamtkollektiv auch die einzelnen Tumorstadien analysiert. Die Verteilung von tPSA, die Ratio von fPSA/tPSA, cPSA und die Ratio von cPSA/tPSA waren in der PC-Gruppe signifikant erhöht. Die beste Diskriminierungsfähigkeit bezogen auf das Gesamtkollektiv konnte durch cPSA erzielt werden, gefolgt von tPSA und fPSA/tPSA. Im Gegensatz zu anderen Studien erbrachte die Berechnung der Ratio von cPSA/tPSA keinen diagnostischen Vorteil. Bei der Bestimmung der übrigen Biomarker konnten ebenfalls Unterschiede im Verteilungsmuster der beiden Gruppen gezeigt werden, wobei die Marker CA 125, CA 19-9, CYFRA 21-1, hCG β und CRP in der BPH-Gruppe signifikant gegenüber der PC-Gruppe erhöht waren, während die Marker AFP, CEA und NSE signifikant höher in der PC-Gruppe lagen. Für keinen der alternativen Biomarker konnte bei alleiniger Bestimmung ein diagnostischer Vorteil gegenüber PSA verzeichnet werden.

In einem zweiten Schritt wurde die Verteilung der untersuchten Marker unter Berücksichtigung verschiedener tPSA-Bereiche analysiert. Hierbei wurden die Bereiche von 0-3,9 ng/ml, 2-10 ng/ml, 4-10 ng/ml, 0-10 ng/ml und >10 ng/ml tPSA unterschieden. Im Bereich von 0-3,9 ng/ml konnte durch keinen der bestimmten Biomarker eine zufrieden stellende Diskriminierung zwischen beiden Kollektiven erreicht werden. Im Bereich von 2-10 ng/ml, im Graubereich von 4-10 ng/ml sowie im gesamten Bereich <10 ng/ml besaß fPSA/tPSA die beste Diskriminierungsfähigkeit unter allen Markern. Die Ratio von cPSA/tPSA und cPSA alleine waren gegenüber tPSA überlegen, welches im Bereich von 4-10 ng/ml keinerlei Diskriminierungsfähigkeit aufwies. Bei tPSA-Werten von >10 ng/ml konnte für cPSA die beste Diskriminierungsfähigkeit nachgewiesen werden, gefolgt von tPSA. Die Ratios von fPSA/tPSA und cPSA/tPSA waren in diesem Bereich unterlegen. Ebenso konnte für die übrigen Biomarker auch unter Berücksichtigung verschiedener tPSA-Bereiche kein diagnostischer Vorteil verzeichnet werden.

Im Hinblick auf die Tumorgraduierung zeigte sich entsprechend den Angaben in der Literatur, dass die Höhe der Marker und ihre Fähigkeit zur Diskriminierung auch vom Tumorgrad abhängig sein kann. Bei G1 und G2-Tumoren besaß fPSA/tPSA und bei G3-Tumoren cPSA die beste Diskriminierungsfähigkeit.

Im Rahmen einer Multivariaten Analyse erfolgte am Modell der logistischen Regression eine Kombination derjenigen Marker, die bei der Univariaten Analyse signifikante Unterschiede

im Verteilungsmuster zwischen der PC- und der BPH-Gruppe aufgewiesen hatten. Um eine statistisch ausreichende Patientenzahl zu gewährleisten, wurde auf die tPSA-Bereiche von <10 ng/ml und >10 ng/ml eingegangen. Im Bereich < 10 ng/ml konnte durch Kombination verschiedener Marker eine Verbesserung der Diskriminierungsfähigkeit im Vergleich zu tPSA und cPSA erreicht werden, wobei lediglich die Kombination von tPSA, fPSA, fPSA/tPSA, CA 125 und CEA einen signifikanten Unterschied gegenüber tPSA erbrachte. Im Bereich > 10 ng/ml konnte durch kombinierte Anwendung einzelner Marker ebenfalls eine Verbesserung der Diskriminierungsfähigkeit erzielt werden, wobei sich kein signifikanter Unterschied zu tPSA oder cPSA ergab. Ein Grund hierfür liegt vermutlich in der bereits sehr hohen diagnostischen Aussagekraft von tPSA und cPSA in diesem Bereich.

Die Ergebnisse dieser Studie erlauben folgende Schlussfolgerung:

Im diagnostischen Graubereich von tPSA 2-10 ng/ml, 4-10 ng/ml und tPSA < 10 ng/ml ist die Bestimmung der Ratio von fPSA/tPSA in seiner Diskriminierungsfähigkeit der von tPSA, cPSA und cPSA/tPSA überlegen. Im tPSA-Bereich von 0-3,9 ng/ml ergab keiner der bestimmten Marker eine zufrieden stellende Diskriminierungsfähigkeit. Das cPSA scheint in allen Bereichen denen von tPSA überlegen zu sein und kann aus diesem Grunde durchaus als alternatives Testverfahren im klinischen Alltag zur Detektion von Prostatakarzinomen herangezogen werden. Eine Berechnung der Ratio von cPSA/tPSA erbringt keinen diagnostischen Vorteil und sollte im klinischen Alltag nicht eingesetzt werden. Einen Vorteil der Bestimmung der nicht PSA-spezifischen onkologischen Biomarker bei alleinigem Einsatz kann durch unsere Daten in dieser Arbeit nicht aufgezeigt werden. Dennoch konnten für einzelne Marker ein signifikanter Unterschied in der Verteilung aufgezeigt und durch kombinierte Anwendung eine Verbesserung der Diskriminierungsfähigkeit zwischen benignen und malignen Prostataerkrankungen erreicht werden. Um die klinische Relevanz des erweiterten Einsatzes nicht PSA-spezifischer onkologischen Biomarker, auch unter Berücksichtigung des Kosten-Nutzen Verhältnisses, zu evaluieren, ist derzeit an unserer Klinik eine prospektiv-randomisierte Studie in Vorbereitung.

V Literaturverzeichnis

- Andriole, G. L., D. L. Levin, et al. (2005). "Prostate Cancer Screening in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial: findings from the initial screening round of a randomized trial." *J Natl Cancer Inst* **97**(6): 433-8.
- Angelson, A., U. Syversen, et al. (1997). "Neuroendocrine differentiation in carcinomas of the prostate: do neuroendocrine serum markers reflect immunohistochemical findings?" *Prostate* **1**(30(1)): 1-6.
- Aprikian, A. G., C. Cordon-Cardo, et al. (1993). "Characterization of neuroendocrine differentiation in human benign prostate and prostatic adenocarcinoma." *Cancer* **71**(12): 3952-65.
- Babaian, R. J., H. A. Fritsche, et al. (1990). "Prostate-specific antigen and prostate gland volume: correlation and clinical application." *J Clin Lab Anal* **4**(2): 135-7.
- Babaian, R. J., D. A. Johnston, et al. (2001). "The incidence of prostate cancer in a screening population with a serum prostate specific antigen between 2.5 and 4.0 ng/ml: relation to biopsy strategy." *J Urol* **165**(3): 757-60.
- Ballesta, A. M., R. Molina, et al. (1995). "Carcinoembryonic antigen in staging and follow-up of patients with solid tumors." *Tumour Biol* **16**(1): 32-41.
- Barry, M. J. (2000). "Early detection and aggressive treatment of prostate cancer: groping in the dark." *J Gen Intern Med* **15**(10): 749-51.
- Bast, R. C., Jr., T. L. Klug, et al. (1983). "A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer." *N Engl J Med* **309**(15): 883-7.
- Bendon, R. W. (1991). "The anatomic basis of maternal serum screening." *Ann Clin Lab Sci* **21**(1): 36-9.
- Berruti, A., L. Dogliotti, et al. (2000). "Circulating neuroendocrine markers in patients with prostate carcinoma." *Cancer* **88**(11): 2590-7.
- Bill-Axelson, A., L. Holmberg, et al. (2005). "Radical prostatectomy versus watchful waiting in early prostate cancer." *N Engl J Med* **352**(19): 1977-84.
- Bodenmuller, H. (1995). "The biochemistry of CYFRA 21-1 and other cytokeratin-tests." *Scand J Clin Lab Invest Suppl* **221**: 60-6.
- Bossens, M. M., J. P. Van Straalen, et al. (1995). "Kinetics of prostate-specific antigen after manipulation of the prostate." *Eur J Cancer* **31A**(5): 682-5.
- Brawer, M. K., C. D. Cheli, et al. (2000). "Complexed prostate specific antigen provides significant enhancement of specificity compared with total prostate specific antigen for detecting prostate cancer." *J Urol* **163**(5): 1476-80.
- Brawer, M. K., M. P. Chetner, et al. (1992). "Screening for prostatic carcinoma with prostate specific antigen." *J Urol* **147**(3 Pt 2): 841-5.

- Brawer, M. K., G. E. Meyer, et al. (1998). "Measurement of complexed PSA improves specificity for early detection of prostate cancer." *Urology* **52**(3): 372-8.
- Brewer, J. A. and E. S. Tank (1993). "Yolk sac tumors and alpha-fetoprotein in first year of life." *Urology* **42**(1): 79-80.
- Butterworth, R. J., W. S. Wassif, et al. (1996). "Serum neuron-specific enolase, carnosinase, and their ratio in acute stroke. An enzymatic test for predicting outcome?" *Stroke* **27**(11): 2064-8.
- Canick, J. A. and D. N. Saller, Jr. (1993). "Maternal serum screening for aneuploidy and open fetal defects." *Obstet Gynecol Clin North Am* **20**(3): 443-54.
- Carpelan-Holmstrom, M., J. Louhimo, et al. (2002). "CEA, CA 19-9 and CA 72-4 improve the diagnostic accuracy in gastrointestinal cancers." *Anticancer Res* **22**(4): 2311-6.
- Carpelan-Holmstrom, M., J. Louhimo, et al. (2004). "Estimating the probability of cancer with several tumor markers in patients with colorectal disease." *Oncology* **66**(4): 296-302.
- Catalona, W. J. (1997). "Screening for prostate cancer. Early screening is important despite lack of data from trials." *Bmj* **315**(7101): 187.
- Catalona, W. J., A. W. Partin, et al. (1998). "Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial." *Jama* **279**(19): 1542-7.
- Catalona, W. J., J. P. Richie, et al. (1994). "Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men." *J Urol* **151**(5): 1283-90.
- Catalona, W. J., J. P. Richie, et al. (1994). "Comparison of prostate specific antigen concentration versus prostate specific antigen density in the early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves." *J Urol* **152**(6 Pt 1): 2031-6.
- Catalona, W. J., D. S. Smith, et al. (1993). "Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening." *Jama* **270**(8): 948-54.
- Catalona, W. J., D. S. Smith, et al. (1991). "Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer." *N Engl J Med* **324**(17): 1156-61.
- Catalona, W. J., D. S. Smith, et al. (1995). "Evaluation of percentage of free serum prostate-specific antigen to improve specificity of prostate cancer screening." *Jama* **274**(15): 1214-20.
- Cerovic, S. J., G. R. Brajuskovic, et al. (2004). "Neuroendocrine differentiation in prostate cancer." *Vojnosanit Pregl* **61**(5): 513-8.
- Chakrabarti, S., K. Raha, et al. (2001). "The usefulness of prostate specific antigen density as a screening method for prostatic carcinoma." *J Indian Med Assoc* **99**(11): 627-8, 630.
- Chen, Y. T., A. A. Luderer, et al. (1996). "Using proportions of free to total prostate-specific antigen, age, and total prostate-specific antigen to predict the probability of prostate cancer." *Urology* **47**(4): 518-24.

- Chiu, K. Y. and C. R. Yong (2004). "Effects of finasteride on prostate volume and prostate-specific antigen." *J Chin Med Assoc* **67**(11): 571-4.
- Chodak, G. W. (1989). "Early detection and screening for prostatic cancer." *Urology* **34**(4 Suppl): 10-2; discussion 46-56.
- Chodak, G. W., P. Keller, et al. (1988). "Routine screening for prostate cancer using the digital rectal examination." *Prog Clin Biol Res* **269**: 87-98.
- Cochrane, A. L. and W. W. Holland (1971). "Validation of screening procedures." *Br Med Bull* **27**(1): 3-8.
- Colcher, D., P. H. Hand, et al. (1981). "A spectrum of monoclonal antibodies reactive with human mammary tumor cells." *Proc Natl Acad Sci U S A* **78**(5): 3199-203.
- Cooner, W. H., B. R. Mosley, et al. (1990). "Prostate cancer detection in a clinical urological practice by ultrasonography, digital rectal examination and prostate specific antigen." *J Urol* **143**(6): 1146-52; discussion 1152-4.
- Cooner, W. H., B. R. Mosley, et al. (2002). "Prostate cancer detection in a clinical urological practice by ultrasonography, digital rectal examination and prostate specific antigen. 1990." *J Urol* **167**(2 Pt 2): 966-73; discussion 973-5.
- Cooper, E. H. (1991). "Tumour markers in prostatic cancer." *Scand J Clin Lab Invest Suppl* **206**: 42-51.
- Crawford, E. D., E. P. DeAntoni, et al. (1996). "Serum prostate-specific antigen and digital rectal examination for early detection of prostate cancer in a national community-based program. The Prostate Cancer Education Council." *Urology* **47**(6): 863-9.
- Crawford, E. D., S. Leewansangtong, et al. (1999). "Efficiency of prostate-specific antigen and digital rectal examination in screening, using 4.0 ng/ml and age-specific reference range as a cutoff for abnormal values." *Prostate* **38**(4): 296-302.
- Cunningham, R. T., M. Watt, et al. (1996). "Serum neurone-specific enolase as an indicator of stroke volume." *Eur J Clin Invest* **26**(4): 298-303.
- Davis, H. M., V. R. Zurawski, Jr., et al. (1986). "Characterization of the CA 125 antigen associated with human epithelial ovarian carcinomas." *Cancer Res* **46**(12 Pt 1): 6143-8.
- Deichmann, M., B. Kahle, et al. (2004). "Diagnosing melanoma patients entering American Joint Committee on Cancer stage IV, C-reactive protein in serum is superior to lactate dehydrogenase." *Br J Cancer* **91**(4): 699-702.
- Delongchamps, N. B., G. de la Roza, et al. (2008). "Evaluation of prostatitis in autopsied prostates--is chronic inflammation more associated with benign prostatic hyperplasia or cancer?" *J Urol* **179**(5): 1736-40.
- Deras, I. L., S. M. Aubin, et al. (2008). "PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome." *J Urol* **179**(4): 1587-92.
- Diamandis, E., H. A. Fritsche, et al. (2002). "Tumor markers. Physiology, pathobiology, technology and clinical applications." AACC press.

- Diamandis, E. P. (1995). "New diagnostic applications and physiological functions of prostate specific antigen." *Scand J Clin Lab Invest Suppl* **221**: 105-12.
- Dorr, V. J., S. K. Williamson, et al. (1993). "An evaluation of prostate-specific antigen as a screening test for prostate cancer." *Arch Intern Med* **153**(22): 2529-37.
- Ebert, T., B. J. Schmitz-Drager, et al. (1991). "Accuracy of imaging modalities in staging the local extent of prostate cancer." *Urol Clin North Am* **18**(3): 453-7.
- Ebert, W., H. Dienemann, et al. (1994). "Cytokeratin 19 fragment CYFRA 21-1 compared with carcinoembryonic antigen, squamous cell carcinoma antigen and neuron-specific enolase in lung cancer. Results of an international multicentre study." *Eur J Clin Chem Clin Biochem* **32**(3): 189-99.
- Ebert, W., T. Muley, et al. (1996). "Does the assessment of serum markers in patients with lung cancer aid in the clinical decision making process?" *Anticancer Res* **16**(4B): 2161-8.
- Egawa, S., K. Suyama, et al. (1999). "Prospective evaluation of prostate cancer detection by prostate-specific antigen-related parameters." *Int J Urol* **6**(10): 493-501.
- Erlinger, T. P., E. A. Platz, et al. (2004). "C-reactive protein and the risk of incident colorectal cancer." *Jama* **291**(5): 585-90.
- Espana, F., M. Royo, et al. (1998). "Free and complexed prostate specific antigen in the differentiation of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer: studies in serum and plasma samples." *J Urol* **160**(6 Pt 1): 2081-8.
- Falsaperla, M., G. Morgia, et al. (2003). "Role of Ca 15-3 in patients with biochemically suspected prostate cancer and multiple negative ultrasound-guided prostate biopsies." *Prostate Cancer Prostatic Dis* **6**(1): 45-9.
- Farini, R., C. Fabris, et al. (1985). "CA 19-9 in the differential diagnosis between pancreatic cancer and chronic pancreatitis." *Eur J Cancer Clin Oncol* **21**(4): 429-32.
- Farkas, A., D. Schneider, et al. (1998). "National trends in the epidemiology of prostate cancer, 1973 to 1994: evidence for the effectiveness of prostate-specific antigen screening." *Urology* **52**(3): 444-8; discussion 448-9.
- Fateh-Moghadam, A. and P. Stieber (1994). "Sensible use of tumor markers."
- Filella, X., J. Fuster, et al. (1994). "TAG-72, CA 19.9 and CEA as tumor markers in gastric cancer." *Acta Oncol* **33**(7): 747-51.
- Filella, X., R. Molina, et al. (1992). "Tumor associated glycoprotein-72 (TAG-72) levels in patients with non-malignant and malignant disease." *Bull Cancer* **79**(3): 271-7.
- Filella, X., R. Molina, et al. (1991). "Significance of CA72.4 in patients with colorectal cancer. Comparison with CEA and CA19.9." *J Nucl Biol Med* **35**(3): 158-61.
- Fritsche, H. A., Jr. and F. B. Gelder (1990). "Serum tumor markers for pancreatic carcinoma." *Immunol Ser* **53**: 289-96.

- Gleason, D. F. and G. T. Mellinger (1974). "Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging." *J Urol* **111**(1): 58-64.
- Gleason, D. F. and G. T. Mellinger (2002). "Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. 1974." *J Urol* **167**(2 Pt 2): 953-8; discussion 959.
- Gold, P. and S. O. Freedman (1965). "Demonstration Of Tumor-Specific Antigens In Human Colonic Carcinomata By Immunological Tolerance And Absorption Techniques." *J Exp Med* **121**: 439-62.
- Goldstein, N. S. (2002). "Immunophenotypic characterization of 225 prostate adenocarcinomas with intermediate or high Gleason scores." *Am J Clin Pathol* **117**(3): 471-7.
- Gosselaar, C., M. J. Roobol, et al. (2006). "Screening for prostate cancer without digital rectal examination and transrectal ultrasound: results after four years in the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC), Rotterdam." *Prostate* **66**(6): 625-31.
- Guadagni, F., M. Roselli, et al. (1995). "CA 72-4 serum marker--a new tool in the management of carcinoma patients." *Cancer Invest* **13**(2): 227-38.
- Guder, W. G. and J. Nolte (2005). "Das Laborbuch für Klinik und Praxis."
- Haese, A., M. Graefen, et al. (2003). "Serum markers for early detection and staging of prostate cancer. Status report on current and future markers." *Urologe A* **42**(9): 1172-87.
- Hanley, J. A. and B. J. McNeil (1982). "The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve." *Radiology* **143**(1): 29-36.
- Hansson, G. C. and D. Zopf (1985). "Biosynthesis of the cancer-associated sialyl-Lea antigen." *J Biol Chem* **260**(16): 9388-92.
- Hasholzner, U., L. Baumgartner, et al. (1994). "Significance of the tumour markers CA 125 II, CA 72-4, CASA and CYFRA 21-1 in ovarian carcinoma." *Anticancer Res* **14**(6B): 2743-6.
- Hasholzner U, S. C., Fabricius PG, Stieber P, Hofmann K, Jansen HM, et al. (1993). "Clinical Relevance of the New Tumor Marker CYFRA 21-1 in Urinary Bladder Cancer Compared with TPA and TPS." *Laboratoriumsmedizin* **17**: 324-327.
- Hasholzner, U., C. Schambeck, et al. (1993). "Clinical Relevance of the New Tumor Marker CYFRA 21-1 in Urinary Bladder Cancer Compared with TPA and TPS." *Laboratoriumsmedizin* **17**: 324-327.
- Heidenreich, A., G. Aus, et al. (2008). "EAU guidelines on prostate cancer." *Eur Urol* **53**(1): 68-80.
- Henttu, P. and P. Vihko (1994). "Prostate-specific antigen and human glandular kallikrein: two kallikreins of the human prostate." *Ann Med* **26**(3): 157-64.
- Heptner, G., S. Domschke, et al. (1989). "Comparison of CA 72-4 with CA 19-9 and carcinoembryonic antigen in the serodiagnostics of gastrointestinal malignancies." *Scand J Gastroenterol* **24**(6): 745-50.

- Herlyn, M., H. F. Sears, et al. (1982). "Monoclonal antibody detection of a circulating tumor-associated antigen. I. Presence of antigen in sera of patients with colorectal, gastric, and pancreatic carcinoma." *J Clin Immunol* **2**(2): 135-40.
- Hoesl, C. E. and J. E. Altwein (2005). "Early detection of cancer of the prostate. Pros and cons." *MMW Fortschr Med* **147**(14): 32, 34-6.
- Horninger, W., G. Bartsch, et al. (2001). "The problem of cutoff levels in a screened population: appropriateness of informing screenees about their risk of having prostate carcinoma." *Cancer* **91**(8 Suppl): 1667-72.
- Horninger, W., C. D. Cheli, et al. (2002). "Complexed prostate-specific antigen for early detection of prostate cancer in men with serum prostate-specific antigen levels of 2 to 4 nanograms per milliliter." *Urology* **60**(4 Suppl 1): 31-5.
- Hosmer, D. W. and S. Lemeshow (2000). "Applied Logistic Regression." ed 2. New York.
- Hvamstad, T., A. Jordal, et al. (2003). "Neuroendocrine serum tumour markers in hormone-resistant prostate cancer." *Eur Urol* **44**(2): 215-21.
- Jemal, A., T. Murray, et al. (2005). "Cancer statistics, 2005." *CA Cancer J Clin* **55**(1): 10-30.
- Jocham, D. and K. Miller (2003). "Praxis der Urologie." **II**: 174-220.
- Jung, K., B. Brux, et al. (2000). "Molecular forms of prostate-specific antigen in malignant and benign prostatic tissue: biochemical and diagnostic implications." *Clin Chem* **46**(1): 47-54.
- Jung, K., U. Elgeti, et al. (2000). "Ratio of free or complexed prostate-specific antigen (PSA) to total PSA: which ratio improves differentiation between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer?" *Clin Chem* **46**(1): 55-62.
- Junker, R., B. Brandt, et al. (1997). "Comparison of prostate-specific antigen (PSA) measured by four combinations of free PSA and total PSA assays." *Clin Chem* **43**(9): 1588-94.
- Kabawat, S. E., R. C. Bast, Jr., et al. (1983). "Tissue distribution of a coelomic-epithelium-related antigen recognized by the monoclonal antibody OC125." *Int J Gynecol Pathol* **2**(3): 275-85.
- Kabawat, S. E., R. C. Bast, et al. (1983). "Immunopathologic characterization of a monoclonal antibody that recognizes common surface antigens of human ovarian tumors of serous, endometrioid, and clear cell types." *Am J Clin Pathol* **79**(1): 98-104.
- Kamiya, N., K. Akakura, et al. (2003). "Pretreatment serum level of neuron specific enolase (NSE) as a prognostic factor in metastatic prostate cancer patients treated with endocrine therapy." *Eur Urol* **44**(3): 309-14; discussion 314.
- Keuler, F. U. and J. E. Altwein (2002). "Early detection and follow-up of prostatic carcinoma. Responsibilities of the general practitioner." *MMW Fortschr Med* **144**(1-2): 32-6, 38.
- Kiyokawa, H., M. Koyama, et al. (2003). "Adenocarcinoma of the prostate immunostained for carbohydrate antigen 125 and carcinoembryonic antigen." *BJU Int* **91**(3): 298-9.

- Kleer, E. and J. E. Oesterling (1993). "PSA and staging of localized prostate cancer." *Urol Clin North Am* **20**(4): 695-704.
- Klepp, O. (1991). "Serum tumour markers in testicular and extragonadal germ cell malignancies." *Scand J Clin Lab Invest Suppl* **206**: 28-41.
- Klomp, M. L., A. J. Hendriks, et al. (1994). "The effect of transrectal ultrasonography (TRUS) including digital rectal examination (DRE) of the prostate on the level of prostate specific antigen (PSA)." *Br J Urol* **73**(1): 71-4.
- Klug, T. L., R. C. Bast, Jr., et al. (1984). "Monoclonal antibody immunoradiometric assay for an antigenic determinant (CA 125) associated with human epithelial ovarian carcinomas." *Cancer Res* **44**(3): 1048-53.
- Koprowski, H., Z. Steplewski, et al. (1979). "Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies." *Somatic Cell Genet* **5**(6): 957-71.
- Kort, S. A., F. Martens, et al. (2006). "Comparison of 6 automated assays for total and free prostate-specific antigen with special reference to their reactivity toward the WHO 96/670 reference preparation." *Clin Chem* **52**(8): 1568-74.
- Kramer, B. S., M. L. Brown, et al. (1993). "Prostate cancer screening: what we know and what we need to know." *Ann Intern Med* **119**(9): 914-23.
- Kumar, R., R. Nayyar, et al. (2008). "Potential of Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging in Predicting Absence of Prostate Cancer in Men with Serum Prostate-Specific Antigen Between 4 and 10 ng/mL: A Follow-up Study." *Urology*.
- Lamerz, R. (1998). "NSE (Neuronen-spezifische Enolase), γ -Enolase." *Clinical Laboratory Diagnosis* **5**: 1000-1003.
- Lamerz, R. and P. Stieber (2004). "Tumour markers." *Dtsch Med Wochenschr* **129**(50): 2722-30.
- Lein, M., M. Kwiatkowski, et al. (2003). "A multicenter clinical trial on the use of complexed prostate specific antigen in low prostate specific antigen concentrations." *J Urol* **170**(4 Pt 1): 1175-9.
- Leinonen, J., T. Lovgren, et al. (1993). "Double-label time-resolved immunofluorometric assay of prostate-specific antigen and of its complex with alpha 1-antichymotrypsin." *Clin Chem* **39**(10): 2098-103.
- Lilja, H., A. Christensson, et al. (1991). "Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin." *Clin Chem* **37**(9): 1618-25.
- Lilleby, W., E. Paus, et al. (2001). "Prognostic value of neuroendocrine serum markers and PSA in irradiated patients with pN0 localized prostate cancer." *Prostate* **46**(2): 126-33.
- Louhimo, J., P. Finne, et al. (2002). "Combination of HCGbeta, CA 19-9 and CEA with logistic regression improves accuracy in gastrointestinal malignancies." *Anticancer Res* **22**(3): 1759-64.

- Luboldt, H. J., A. Bex, et al. (2001). "Early detection of prostate cancer in Germany: a study using digital rectal examination and 4.0 ng/ml prostate-specific antigen as cutoff." *Eur Urol* **39**(2): 131-7.
- Lukas-Nülle (2007). "Retrospektive versus prospektive Krankheitskostenstudien - Eine Analyse am Beispiel chronischer Schmerzpatienten." Georg Thieme Verlag KG Stuttgart, New York: 247-52.
- Magklara, A., A. Scorilas, et al. (1999). "The combination of human glandular kallikrein and free prostate-specific antigen (PSA) enhances discrimination between prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in patients with moderately increased total PSA." *Clin Chem* **45**(11): 1960-6.
- Makarov, D. V. and H. B. Carter (2006). "The discovery of prostate specific antigen as a biomarker for the early detection of adenocarcinoma of the prostate." *J Urol* **176**(6 Pt 1): 2383-5.
- Manseck, A., T. Benusch, et al. (1997). "Value of PSA density determination in prostate carcinoma." *Urologe A* **36**(4): 323-6.
- Marcillac, I., F. Troalen, et al. (1992). "Free human chorionic gonadotropin beta subunit in gonadal and nongonadal neoplasms." *Cancer Res* **52**(14): 3901-7.
- McConnell, J. D., M. J. Barry, et al. (1994). "Benign prostatic hyperplasia: diagnosis and treatment. Agency for Health Care Policy and Research." *Clin Pract Guidel Quick Ref Guide Clin*(8): 1-17.
- Mettlin, C., F. Lee, et al. (1991). "The American Cancer Society National Prostate Cancer Detection Project. Findings on the detection of early prostate cancer in 2425 men." *Cancer* **67**(12): 2949-58.
- Mikolajczyk, S. D., L. S. Millar, et al. (2000). "Seminal plasma contains "BPSA," a molecular form of prostate-specific antigen that is associated with benign prostatic hyperplasia." *Prostate* **45**(3): 271-6.
- Miller, M. C., G. J. O'Dowd, et al. (2001). "Contemporary use of complexed PSA and calculated percent free PSA for early detection of prostate cancer: impact of changing disease demographics." *Urology* **57**(6): 1105-11.
- Mitchell, I. D., B. L. Croal, et al. (2001). "A prospective study to evaluate the role of complexed prostate specific antigen and free/total prostate specific antigen ratio for the diagnosis of prostate cancer." *J Urol* **165**(5): 1549-53.
- Momma, T., S. Kimura, et al. (1998). "[Prostate cancer with high serum level of CEA and CA19-9: a case report]." *Hinyokika Kyo* **44**(3): 187-91.
- Moss, D. and R. Henderson (1999). "Clinical Enzymology." Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz textbook of clinical chemistry*: 668-673.
- Moss, D. and R. Henderson (1999). "Clinical Enzymology." Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz textbook of clinical chemistry*: 676-684.

- Mostofi, F., Sesterhenn, J, Sobin, LH (1980). "Histological typing of prostate tumours. International histological classification of tumours. No. 22." World Health Organisation, Geneva 1980.
- Mostofi, F. K. (1975). "Grading of prostatic carcinoma." *Cancer Chemother Rep* **59**(1): 111-7.
- Myrtle, J. F. (1989). "Normal levels of prostate-specific antigen (PSA)." Elsevier: 183-189.
- Nap, M. (1998). "Immunohistochemistry of CA 125. Unusual expression in normal tissues, distribution in the human fetus and questions around its application in diagnostic pathology." *Int J Biol Markers* **13**(4): 210-5.
- Naruse, K., Y. Yamada, et al. (2007). "Lactate dehydrogenase is a prognostic indicator for prostate cancer patients with bone metastasis." *Hinyokika Kyo* **53**(5): 287-92.
- Nickel, J. C. (2006). "The overlapping lower urinary tract symptoms of benign prostatic hyperplasia and prostatitis." *Curr Opin Urol* **16**(1): 5-10.
- Nickel, J. C. (2008). "Inflammation and benign prostatic hyperplasia." *Urol Clin North Am* **35**(1): 109-15; vii.
- Nickel, J. C., J. Downey, et al. (1999). "Asymptomatic inflammation and/or infection in benign prostatic hyperplasia." *BJU Int* **84**(9): 976-81.
- Oesterling, J. E. (1991). "Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate." *J Urol* **145**(5): 907-23.
- Oesterling, J. E., S. J. Jacobsen, et al. (1993). "Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men. Establishment of age-specific reference ranges." *Jama* **270**(7): 860-4.
- Ogawa, A., A. Yoshida, et al. (2000). "Markers of undiagnosed incidental cancer in comparison with clinical prostatic cancer." *J Med* **31**(1-2): 101-10.
- Okada, H., A. Gotoh, et al. (1996). "Two cases of small cell carcinoma of the prostate." *Scand J Urol Nephrol* **30**(6): 503-8.
- Okegawa, T., H. Noda, et al. (2000). "Comparison of two investigative assays for the complexed prostate-specific antigen in total prostate-specific antigen between 4.1 and 10.0 ng/mL." *Urology* **55**(5): 700-4.
- Okihara, K., C. D. Cheli, et al. (2002). "Comparative analysis of complexed prostate specific antigen, free prostate specific antigen and their ratio in detecting prostate cancer." *J Urol* **167**(5): 2017-23; discussion 2023-4.
- Okihara, K., H. A. Fritsche, et al. (2001). "Can complexed prostate specific antigen and prostatic volume enhance prostate cancer detection in men with total prostate specific antigen between 2.5 and 4.0 ng./ml." *J Urol* **165**(6 Pt 1): 1930-6.
- Okihara, K., O. Ukimura, et al. (2004). "Can complexed prostate specific antigen enhance prostate cancer detection in Japanese men?" *Eur Urol* **46**(1): 57-64.

- Otite, U., S. Baithun, et al. (2006). "Detection of human chorionic gonadotrophin-beta in serum or urine of prostate cancer patients is of no clinical significance." *Tumour Biol* **27**(4): 181-6.
- Parekh, D. J., D. P. Ankerst, et al. (2007). "Assessment of 54 biomarkers for biopsy-detectable prostate cancer." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **16**(10): 1966-72.
- Parkin, D. M., F. Bray, et al. (2001). "Estimating the world cancer burden: Globocan 2000." *Int J Cancer* **94**(2): 153-6.
- Partin, A. W., M. K. Brawer, et al. (2003). "Complexed prostate specific antigen improves specificity for prostate cancer detection: results of a prospective multicenter clinical trial." *J Urol* **170**(5): 1787-91.
- Partin, A. W., S. R. Criley, et al. (1996). "Standard versus age-specific prostate specific antigen reference ranges among men with clinically localized prostate cancer: A pathological analysis." *J Urol* **155**(4): 1336-9.
- Pedersen, K. V., P. Carlsson, et al. (1990). "Screening for carcinoma of the prostate by digital rectal examination in a randomly selected population." *Bmj* **300**(6731): 1041-4.
- Prestigiacomo, A. F. and T. A. Stamey (1995). "Clinical usefulness of free and complexed PSA." *Scand J Clin Lab Invest Suppl* **221**: 32-4.
- Purnell, D. M., B. M. Heatfield, et al. (1984). "Immunocytochemical evaluation of human prostatic carcinomas for carcinoembryonic antigen, nonspecific cross-reacting antigen, beta-chorionic gonadotrophin, and prostate-specific antigen." *Cancer Res* **44**(1): 285-92.
- Raaijmakers, R., M. F. Wildhagen, et al. (2004). "Prostate-specific antigen change in the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer, section Rotterdam." *Urology* **63**(2): 316-20.
- Ramsey, W. H. and G. Y. Wu (1995). "Hepatocellular carcinoma: update on diagnosis and treatment." *Dig Dis* **13**(2): 81-91.
- Rasmussen T, G. K., Ljungberg B (1993). "Serum gamma-enolase and prognosis of patients with renal cell carcinoma." *Cancer* **72**: 1324-1328.
- Reissigl, A., J. Pointner, et al. (1995). "Comparison of different prostate-specific antigen cutpoints for early detection of prostate cancer: results of a large screening study." *Urology* **46**(5): 662-5.
- Reiter, W., P. Stieber, et al. (1997). "Is free prostate-specific antigen helpful in the differential diagnosis of benign hyperplasia and cancer of the prostate?" *Tumour Biol* **18**(2): 80-7.
- Rinnab, L., R. Kufer, et al. (2005). "Innovative concepts in early cancer detection and staging of localized prostate cancer." *Urologe A* **44**(11): 1262, 1264-6, 1268-70, 1272-5.
- Ritts, R. E., Jr., B. C. Del Villano, et al. (1984). "Initial clinical evaluation of an immunoradiometric assay for CA 19-9 using the NCI serum bank." *Int J Cancer* **33**(3): 339-45.

- Robinson, D., G. Sandblom, et al. (2008). "Prediction of survival of metastatic prostate cancer based on early serial measurements of prostate specific antigen and alkaline phosphatase." *J Urol* **179**(1): 117-22; discussion 122-3.
- Roddam, A. W., M. J. Duffy, et al. (2005). "Use of prostate-specific antigen (PSA) isoforms for the detection of prostate cancer in men with a PSA level of 2-10 ng/ml: systematic review and meta-analysis." *Eur Urol* **48**(3): 386-99; discussion 398-9.
- Safi, F., R. Roscher, et al. (1990). "The clinical relevance of the tumor marker CA 19-9 in the diagnosing and monitoring of pancreatic carcinoma." *Bull Cancer* **77**(1): 83-91.
- Sakr, W. A., D. J. Grignon, et al. (1994). "High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20-69: an autopsy study of 249 cases." *In Vivo* **8**(3): 439-43.
- Sakr, W. A., G. P. Haas, et al. (1993). "The frequency of carcinoma and intraepithelial neoplasia of the prostate in young male patients." *J Urol* **150**(2 Pt 1): 379-85.
- Salminen, E. K., M. J. Kallioinen, et al. (2006). "Survival markers related to bone metastases in prostate cancer." *Anticancer Res* **26**(6C): 4879-84.
- Sato, Y., K. Nakata, et al. (1993). "Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profiles of alpha-fetoprotein." *N Engl J Med* **328**(25): 1802-6.
- Schedlich, L. J., B. H. Bennetts, et al. (1987). "Primary structure of a human glandular kallikrein gene." *Dna* **6**(5): 429-37.
- Schmid, H. P., J. E. Altwein, et al. (1999). "Screening und Früherkennung des PCs: Zwischen Szylla und Charybdis." *Dtsch Ärzteblatt* **96**(12).
- Seker, H., M. O. Odetayo, et al. (2003). "A fuzzy logic based-method for prognostic decision making in breast and prostate cancers." *IEEE Trans Inf Technol Biomed* **7**(2): 114-22.
- Semjonow, A., B. Brandt, et al. (1996). "Discordance of assay methods creates pitfalls for the interpretation of prostate-specific antigen values." *Prostate Suppl* **7**: 3-16.
- Semjonow, A. and L. Hertle (1995). "[Can the tumor stage of prostate carcinoma be determined with the aid of prostate-specific antigen?]." *Urologe A* **34**(4): 290-6.
- Semjonow, A. and R. Lamerz (1998). "PSA (Prostata-spezifisches Antigen)." Thomas L, ed. *Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results.*: 1342-1351.
- Semjonow, A., F. Oberpenning, et al. (1996). "Impact of free prostate-specific antigen on discordant measurement results of assays for total prostate-specific antigen." *Urology* **48**(6A Suppl): 10-5.
- Semjonow, A., F. Oberpenning, et al. (2002). "Unterschiede zwischen PSA-Bestimmungsverfahren." In: Fornara P, Semjonow A, eds. *PSA: Der Weg zum Befund-Präanalytik und Analytik des prostataspezifischen Antigens.*
- Sensabaugh, G. F. (1978). "Isolation and characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: a potential new marker for semen identification." *J Forensic Sci* **23**(1): 106-15.

- Sokoll, L. J., D. J. Bruzek, et al. (2002). "Short-term stability of the molecular forms of prostate-specific antigen and effect on percent complexed prostate-specific antigen and percent free prostate-specific antigen." *Urology* **60**(4 Suppl 1): 24-30.
- Sokoll, L. J., D. W. Chan, et al. (2003). "Proenzyme psa for the early detection of prostate cancer in the 2.5-4.0 ng/ml total psa range: preliminary analysis." *Urology* **61**(2): 274-6.
- Stamey, T. A., N. Yang, et al. (1987). "Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate." *N Engl J Med* **317**(15): 909-16.
- Standards, N. C. f. C. L. (1995). "How to define, determine, and utilize reference intervals in the clinical laboratory." Approved Guideline: 59p.
- Steinberg, W. (1990). "The clinical utility of the CA 19-9 tumor-associated antigen." *Am J Gastroenterol* **85**(4): 350-5.
- Steinberg, W. M., R. Gelfand, et al. (1986). "Comparison of the sensitivity and specificity of the CA19-9 and carcinoembryonic antigen assays in detecting cancer of the pancreas." *Gastroenterology* **90**(2): 343-9.
- Stenman, U. H., P. A. Abrahamsson, et al. (2005). "Prognostic value of serum markers for prostate cancer." *Scand J Urol Nephrol Suppl*(216): 64-81.
- Stenman, U. H., J. Leinonen, et al. (1991). "A complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer." *Cancer Res* **51**(1): 222-6.
- Stieber, P. and A. Fateh-Moghadam (1993). "Tumormarker und ihr sinnvoller Einsatz." *Klinikleitfaden Labordiagnostik, 2. Aufl., Jürgen Hartmann Verlag*
- Stieber, P., U. Hasholzner, et al. (1993). "CYFRA 21-1. A new marker in lung cancer." *Cancer* **72**(3): 707-13.
- Stuart, K. E., A. J. Anand, et al. (1996). "Hepatocellular carcinoma in the United States. Prognostic features, treatment outcome, and survival." *Cancer* **77**(11): 2217-22.
- Sturgeon, C. (2002). "Practice guidelines for tumor marker use in the clinic." *Clin Chem* **48**(8): 1151-9.
- Taketa, K. (1992). "Alpha-Fetoprotein in the 1990s." Sell SS. Serological cancer markers. Humana Press: 31-46.
- Tanguay, S., L. R. Begin, et al. (2002). "Comparative evaluation of total PSA, free/total PSA, and complexed PSA in prostate cancer detection." *Urology* **59**(2): 261-5.
- Tarone, R. E., K. C. Chu, et al. (2000). "Implications of stage-specific survival rates in assessing recent declines in prostate cancer mortality rates." *Epidemiology* **11**(2): 167-70.
- Thiel, R. P., J. E. Oesterling, et al. (1996). "Multicenter comparison of the diagnostic performance of free prostate-specific antigen." *Urology* **48**(6A Suppl): 45-50.

- Thomas, L. (1998). "Alkaline phosphatase (ALP)." Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results.: 36-36.
- Thomas, L. (1998). "Lactate dehydrogenase (LD)." Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results.: 89-84.
- Thompson, I. M. and D. P. Ankerst (2007). "Prostate-specific antigen in the early detection of prostate cancer." *Cmaj* **176**(13): 1853-8.
- Thompson, I. M., D. K. Pauler, et al. (2004). "Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level \leq 4.0 ng per milliliter." *N Engl J Med* **350**(22): 2239-46.
- Trinkler, F. B., D. M. Schmid, et al. (1998). "Free/total prostate-specific antigen ratio can prevent unnecessary prostate biopsies." *Urology* **52**(3): 479-86.
- UICC (1997). "TNM-Klassifikation maligner Tumore." 5. Aufl., Berlin, Springer.
- van Dalen, A. (1993). "Quality control and standardization of tumour marker tests." *Tumour Biol* **14**(2): 131-5.
- van der Gaast, A., C. H. Schoenmakers, et al. (1994). "Evaluation of a new tumour marker in patients with non-small-cell lung cancer: Cyfra 21.1." *Br J Cancer* **69**(3): 525-8.
- Veltri, R. W., M. C. Miller, et al. (2002). "Impact of age on total and complexed prostate-specific antigen cutoffs in a contemporary referral series of men with prostate cancer." *Urology* **60**(4 Suppl 1): 47-52.
- Vinolas, N., R. Molina, et al. (1998). "Tumor markers in response monitoring and prognosis of non-small cell lung cancer: preliminary report." *Anticancer Res* **18**(1B): 631-4.
- Virtanen, A., M. Gomari, et al. (1999). "Estimation of prostate cancer probability by logistic regression: free and total prostate-specific antigen, digital rectal examination, and heredity are significant variables." *Clin Chem* **45**(7): 987-94.
- Waidelich, R., H. M. Jansen, et al. (1997). "Screening for prostatic carcinoma with prostate specific antigen." *Anticancer Res* **17**(4B): 2979-81.
- Wald, N. J., A. Kennard, et al. (1992). "Antenatal maternal serum screening for Down's syndrome: results of a demonstration project." *Bmj* **305**(6850): 391-4.
- Wang, M. C., L. A. Valenzuela, et al. (2002). "Purification of a human prostate specific antigen. 1979." *J Urol* **167**(2 Pt 2): 960-4; discussion 964-5.
- Weining, C. and A. Semjonow (1996). "Patientengefährdung durch unterschiedliche Meßverfahren für PSA." *Dtsch Ärzteblatt* **26**.
- Whicher, J. (1998). "C-reactive protein (CRP)." Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results.: 700-706.
- Wilson, J. M. and Y. G. Jungner (1968). "[Principles and practice of mass screening for disease]." *Bol Oficina Sanit Panam* **65**(4): 281-393.

Xess, A., M. Singh, et al. (2001). "Prostate specific antigen as tumor marker: relationship with histologic grading." *Indian J Pathol Microbiol* **44**(3): 261-4.

Young, H. H. (2002). "The early diagnosis and radical cure of carcinoma of the prostate. Being a study of 40 cases and presentation of a radical operation which was carried out in four cases. 1905." *J Urol* **167**(2 Pt 2): 939-46; discussion 947.

Zhang, W. M., J. Leinonen, et al. (1995). "Purification and characterization of different molecular forms of prostate-specific antigen in human seminal fluid." *Clin Chem* **41**(11): 1567-73.

Zhou, A. M., P. C. Tewari, et al. (1993). "Multiple forms of prostate-specific antigen in serum: differences in immunorecognition by monoclonal and polyclonal assays." *Clin Chem* **39**(12): 2483-91.

Zweig, M. H. and G. Campbell (1993). "Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine." *Clin Chem* **39**(4): 561-77.

VI Anhang

VI.1 Veröffentlichte Teilaspekte der Arbeit

Poster

Strittmatter F, Stieber P, Stief C, Waidelich R:

RELEASE OF ONCOLOGIC BIOMARKERS IN PATIENTS WITH PROSTATE CANCER
(The 35th Meeting of the international Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine
September 2007, Prague, Czech Republic)

Strittmatter F, Stieber P, Nagel D, Stief C, Waidelich R:

RELEASE OF ONCOLOGIC BIOMARKERS IN PATIENTS WITH PROSTATE CANCER
(9th International Symposium “Biological Therapy of Cancer from Disease to targeted
therapy” March 2008, Munich, Germany)

Abstract

Strittmatter F, Stieber P, Nagel D, Stief CG, Waidelich R:

Freisetzungsmuster onkologischer Biomarker beim Prostatakarzinom
(34. Gemeinsame Tagung der Bayerischen Urologenvereinigung und der Österreichischen
Gesellschaft für Urologie und Andrologie, Mai 2008, Bamberg, Germany)

Strittmatter F, Stieber P, Nagel D, Hofman K, Stief CG, Waidelich R:

BIOCHEMICAL MARKERS IN PATIENTS WITH PROSTATE CANCER AND BENIGN
PROSTATE HYPERPLASIA – A MULTIVARIATE ANALYSIS
(Anticancer Research, Vol. 28, Number 6B, pp. 4009-4090, 2008)

Vortrag

Strittmatter F, Stieber P, Nagel D, Hofman K, Stief CG, Waidelich R:

BIOCHEMICAL MARKERS IN PATIENTS WITH PROSTATE CANCER AND BENIGN PROSTATE HYPERPLASIA – A MULTIVARIATE ANALYSIS

(14th International Hamburg Symposium on Tumor Markers, December 2008, Hamburg, Germany)

VI.2 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde an der Klinik für Urologie der Ludwig-Maximilians-Universität München unter der Betreuung von Frau PD. Dr. med. R. Waidelich durchgeführt.

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei einigen Personen bedanken, ohne deren Hilfe die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Zunächst bei Herrn Prof. Dr. med. C. G. Stief, der es mir durch die Anstellung an seiner Klinik ermöglicht, sowohl die Ausbildung zum Facharzt für Urologie zu absolvieren als auch meine Dissertation fertig zu stellen. Ebenso möchte ich Herrn Prof. Stief dafür danken, dass er in seinem ständigen Bestreben, wissenschaftliches Arbeiten an unserer Klinik zu fördern, auch weiterhin meinen Werdegang beeinflussen wird.

Des Weiteren möchte ich mich bei meiner Doktormutter Frau PD. Dr. med. R. Waidelich für die Bereitstellung dieser Themas und die hervorragende Betreuung und Begleitung während der ganzen Zeit bedanken. Nicht nur ihre ständige Bereitschaft, offene Fragen zu diskutieren, sondern auch Lösungswege zu finden, haben maßgeblich zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen.

Besonderer Dank gilt Frau Dr. med. P. Stieber, Leiterin der Tumormarkergruppe des Institutes für klinische Chemie an der Ludwig-Maximilians-Universität München, die mir durch eine enge und herzliche Kooperation die Bestimmung von Tumormarkern ermöglicht hat. Ebenso möchte ich mich bei Frau Dr. D. Nagel bedanken. Sie hat mir durch Ihre hervorragende Unterstützung den Weg in die medizinische Statistik offenbart. Nicht zuletzt danke ich der medizin-technischen Assistentin Frau K. Hofman, die mir die größte Unterstützung in dieser Kooperation geboten hat.

Der größte Dank gilt meiner Freundin Frau Dr. med. C. Nussbaum, die mich durch Ihre liebevolle und unermüdliche Unterstützung auch bei größeren Hürden dieser Arbeit vorangetrieben hat.

VI.3 Lebenslauf

Persönliche Angaben

| | |
|---------------------|--------------------|
| Name | Frank Strittmatter |
| Geburtstag und –ort | 09.11.1973, Dachau |
| Familienstand | ledig |
| Nationalität | deutsch |

Schulbildung

| | |
|-----------|--------------------------------|
| 1985-1989 | Josef-Effner-Gymnasium, Dachau |
| 1989-1994 | Rupprecht-Gymnasium, München |
| Juni 1994 | Abitur |

Zivildienst

| | |
|-----------|---|
| 1994-1995 | Bayerisches Rotes Kreuz, Rettungsdienst |
|-----------|---|

Berufsausbildung

| | |
|-------------|---------------------------------------|
| 1995-1998 | Schreinerei Helmut Sedlmayer, Arnbach |
| August 1998 | Abschluss: Tischler |

Studium

| | |
|----------------|---|
| April 1999 | Studium der Humanmedizin, Ludwigs-Maximilians-Universität, München |
| April 2002 | Ärztliche Vorprüfung |
| September 2003 | 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |
| April 2005 | 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |
| Oktober 2006 | 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |

Famulaturen

| | |
|----------------|--|
| Juni 2002 | Allgemeinmedizin, JVA, München |
| März 2004 | Urologie, Klinikum Großhadern, München |
| August 2004 | Gefäßchirurgie, Klinikum Großhadern, München |
| September 2004 | Traumatologie, Klinikum Großhadern, München |

Praktisches Jahr

Okt. 2005 - Jan. 2006
Feb. 2006 - Mai 2006
Juni 2006 - Aug. 2006

Viszeral- und Thoraxchirurgie, Inselspital, Bern
Urologie, Klinikum Großhadern, München
Innere Medizin, Krankenhaus Harlaching,
München

Berufliche Tätigkeit

Seit Januar 2007

Assistenzarzt der Urologischen Klinik
Ludwig-Maximilians-Universität München