

Aus der Universitätsklinik für Urologie Tübingen

**Evaluierung des concile Ω 100 Point-of-Care-Systems
zur Bestimmung des totalen und freien
prostataspezifischen Antigens im Serum im Hinblick
auf seine Wertigkeit für die Diagnostik des
Prostatakarzinoms**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Wiesenreiter, Josef Erwin

2017

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. C. Schwentner

2. Berichterstatter: Professor Dr. R. Lehmann

Tag der Disputation: 01.08.2017

Für Katharina und meine Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	V
1.0. Einleitung	1
1.1. Die Prostata	1
1.1.1. Anatomie der Prostata	1
1.1.2. Blutversorgung und Innervation der Prostata	1
1.1.3. Funktion der Prostata	2
1.2. Das Prostatakarzinom	2
1.2.1. Epidemiologie	2
1.2.2. Risikofaktoren und Prävention	3
1.2.3. Klinik	3
1.2.4. TNM-Klassifikation und Gleason-Score	4
1.2.5. Diagnostik	4
1.2.5.1. Digital rektale Untersuchung	5
1.2.5.2. Transrektaler Ultraschall	5
1.2.5.3. Prostataspezifisches Antigen (PSA)	6
1.2.5.4. Exprimaturin	7
1.2.5.5. Transrektale Prostatabiopsie	7
1.2.5.6. Staginguntersuchungen	8
1.2.6. Therapie	9
1.2.6.1. Watchful waiting und active surveillance	9
1.2.6.2. Radikale Prostatektomie	9
1.2.6.3. Radiotherapie	10
1.2.6.4. Brachytherapie	11
1.2.6.5. Hormontherapie	11
1.2.6.6. Chemotherapie	12
1.2.7. Nachsorge	12
1.2.8. Prognostik	12
1.3. Das prostataspezifische Antigen	13
1.3.1. Eigenschaften des prostataspezifischen Antigens	13
1.3.2. Unterschiedliche PSA-Fraktionen im Blut und deren diagnostische Bedeutung	15
1.3.3. Prostataspezifisches Antigen in der Diagnostik des Prostatakarzinoms	17
1.3.3.1. Einsatz des prostataspezifischen Antigens in der Primärdiagnostik	18
1.3.3.2. Einsatz des prostataspezifischen Antigens in der Rezidivdiagnostik und im Therapiemonitoring	19
1.3.3.3. Einsatz PSA-abhängiger Parameter in der Prostatakarzinomdiagnostik	20
1.3.3.4. Weitere Marker in der Prostatakarzinomdiagnostik	22
1.3.4. Diagnostische Systeme zur PSA-Bestimmung und Algorithmen zur Bewertung der Fraktionsergebnisse für die Biopsieentscheidung	22
1.3.5. Bestimmung des prostataspezifischen Antigens im Point-of-Care-setting	25
1.4. Der Q100 der concile GmbH	26
1.4.1. Hersteller und Messsystem	26
1.4.2. Messprinzip	28

1.4.3. Prüfung der Voraussetzungen für den validen Einsatz des Ω 100 als Testsystem	28
1.5. Ziel der vorliegenden Arbeit	29
2.0. Material und Methoden	30
2.1. Datenerhebung und Kollektiverstellung.....	30
2.1.1. Datenerhebung	30
2.1.1.1. Anwendung des Studienprotokolls zur Generierung des Patientenpools	30
2.1.1.2. Asservierung der Serumproben	30
2.1.1.3. Erstellung der Patientendatenbank	31
2.1.2. Anwendung der Einschlusskriterien und Erstellung des Studienkollektivs	32
2.2. Vorbereitung und Durchführung der Messungen	33
2.2.1. Handhabung und Unterschiede in der Verwendung der Testkassettengenerationen <i>batch2</i> und <i>batch3</i>	33
2.2.2. Messprinzipien der Systeme Immulite 2000 und Ω 100 im Vergleich	34
2.2.2.1. Messprinzip des Immulite 2000	34
2.2.2.1.1. Methodik des Immulite 2000 zur Bestimmung des tPSA	34
2.2.2.1.2. Methodik des Immulite 2000 zur Bestimmung des fPSA	36
2.2.2.2. Messprinzip des Ω 100	36
2.2.3. Darstellung des standardisierten Messablaufs	37
2.2.4. Darstellung intraindividuelle Variationen der Messergebnisse	39
2.2.5. Stabilität der tPSA- und fPSA-Fraktionen bei Nachmessungen kryokonservierter Seren	40
2.2.6. Durchführung der Vergleichsmessungen am Immulite 2000 und Ω 100	40
2.2.7. Direkter Vergleich der Resultate der beiden Systeme Immulite 2000 XPi und Ω 100 anhand von Parallelmessungen nicht kryokonservierter Seren	41
2.3. Statistische Auswertung	41
2.3.1. Deskriptive Statistik	41
2.3.2. Analytische Statistik	42
2.3.2.1. Lineare Regressionsanalyse - Abhängigkeit der an definierten Kollektiven mittels Ω 100 und Immulite 2000 bestimmten PSA-Werte	42
2.3.2.2. Darstellung der diagnostischen Aussagekraft der beiden Systeme Immulite 2000 und Ω 100 anhand von Receiver-Operating-Characteristic-Kurven	42
2.3.2.3. Beschreibung der diagnostischen Wertigkeiten der beiden Systeme Immulite 2000 und Ω 100 anhand von Kontingenzanalysen	43
2.4. Datenschutz	44
2.5. Ethik.....	45
3.0. Ergebnisse	46
3.1. Betrachtete Kollektive	46
3.1.1. Ausgangskollektiv - gesamtes Ω 100-Studienkollektiv	46
3.1.2. <i>batch3</i> -Kollektiv	46
3.1.3. Histologisch gesichertes Ω 100-Kollektiv	50
3.1.4. Histologisch gesichertes <i>batch3</i> -Kollektiv	50
3.2. Messungen zur Determinierung technischer Gegebenheiten.....	55
3.2.1. Messungen zur Stabilität der Analyte in kryokonserviertem Serum	55
3.2.2. Intraindividuelle Messunterschiede des Ω 100	56
3.2.3. Chargenvergleich der Ω 100-Testkassetten für tPSA und fPSA	59
3.2.4. Vergleich der Ω 100-Resultate nach unterschiedlichen Ableseintervallen	59

3.3. Vergleichsmessungen der Systeme Immulite 2000 und Ω100 vor dem klinischen Hintergrund der Patienten.....	61
3.3.1. Korrelationsanalysen - lineare Regression an definierten Kollektiven	61
3.3.1.1. Korrelation zwischen Immulite 2000 und Ω 100 für tPSA-Messungen an fünf definierten Kollektiven	62
3.3.1.2. Korrelation zwischen Immulite 2000 und Ω 100 für fPSA-Messungen an fünf definierten Kollektiven	63
3.3.1.3. Korrelation zwischen Immulite 2000 und Ω 100 für %fPSA-Messungen an fünf definierten Kollektiven	64
3.4 Darstellungen zur diagnostischen Aussagekraft von Immulite 2000 und Ω100	64
3.4.1. Bewertung der Wertigkeiten von Immulite 2000 und Ω 100 mittels Receiver-Operating-Characteristic-Kurven.....	65
3.4.1.1. Diagnostische Aussagekraft des Immulite 2000 und Charakterisierung der untersuchten Kollektive	66
3.4.1.1.1. Diagnostische Aussagekraft des Immulite 2000 für tPSA - ROC Analyse	67
3.4.1.1.2. Diagnostische Aussagekraft des Immulite 2000 für fPSA - ROC Analyse	69
3.4.1.1.3. Diagnostische Aussagekraft des Immulite 2000 für %fPSA - ROC Analyse.....	70
3.4.1.2. Diagnostische Aussagekraft des Ω 100.....	70
3.4.1.2.1. Diagnostische Aussagekraft des Ω 100 für tPSA - ROC Analyse.....	71
3.4.1.2.2. Diagnostische Aussagekraft des Ω 100 für fPSA - ROC Analyse.....	73
3.4.1.2.3. Diagnostische Aussagekraft des Ω 100 für %fPSA - ROC Analyse	73
3.4.2. Beschreibung der diagnostischen Wertigkeiten der beiden Systeme Immulite 2000 und Ω 100 mithilfe von Kontingenzanalysen	74
3.4.2.1. Kontingenzanalysen der beiden Systeme Immulite 2000 und Ω 100 für tPSA nach jeweils bestem cut-off.....	74
3.4.2.2. Kontingenzanalysen der beiden Systeme Immulite 2000 und Ω 100 für fPSA nach jeweils bestem cut-off.....	76
3.4.2.3. Kontingenzanalysen der beiden Systeme Immulite 2000 und Ω 100 für %fPSA nach jeweils bestem cut-off.....	76
3.5. Vergleichsmessungen der beiden Systeme Immulite 2000 X<i>Pi</i> und Ω100 an frisch gewonnenen Seren	76
3.6 Anmerkungen zur Bedienbarkeit des Ω100	77
3.6.1. Tastenfelder des Ω 100	77
3.6.2. Abschaltautomatik des Ω 100	78
4.0. Diskussion.....	79
4.1. Diagnostik des Prostatakarzinoms aus Körperflüssigkeiten.....	79
4.2. Messung des prostataspezifischen Antigens und Ergebnisinterpretation	80
4.3. Analysensysteme, Screening und Interpretationsdilemma	81
4.4. Unterschiedliche Systeme zur Bestimmung des prostataspezifischen Antigens.....	82
4.5. Messung des prostataspezifischen Antigens im Point-of-Care-setting.....	83
4.6. Diagnostische Wertigkeit des Ω100	85
4.6.1. Ω 100 zur Messung des tPSA	85
4.6.2. Ω 100 zur Messung des fPSA	86
4.7. Technische Bedienbarkeit des Ω100 in der täglichen Routine.....	86

4.8. Kritische Bewertung und Limitation dieser wissenschaftlichen Arbeit.....	88
4.8.1. Limitation aufgrund des Studiendesigns.....	88
4.8.2. Charakteristik des Patientenkollektivs und seiner Unterkollektive.....	88
4.9. Schlussfolgerung	89
5.0. Zusammenfassung	90
6.0. Literaturverzeichnis	92
7.0. Veröffentlichung	108
Anhang.....	109
Erklärungen zum Eigenanteil	110
Danksagung.....	111

Abkürzungsverzeichnis

%fPSA	Quotient freies/gesamtes prostataspezifisches Antigen
A.	<i>Arteria</i>
Abb.	Abbildung
ACT	α 1-Antichymotrypsin
ACT-PSA	Komplex aus α 1-Antichymotrypsin und prostataspezifischem Antigen
ADT	androgen deprivation therapy = Hormonentzugstherapie
AMG	α 2-Makroglobulin
AUC	area under the curve
BPH	benigne Prostatahyperplasie
bPSA	benignes prostataspezifisches Antigen
BT	Brachytherapie
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CCD	charge-coupled device
cPSA	komplexiertes prostataspezifisches Antigen
d.h.	das heißt
DRU	digital rektale Untersuchung
<i>et al.</i>	<i>et alii</i>
fPSA	freies prostataspezifisches Antigen
GS	Gleason-Score
gy	Gray
HDR	high dose rate
hK2	humanes Kallikrein 2
hK4	humanes Kallikrein 4
Kap.	Kapitel
kb	Kilobasen
kDa	Kilodalton
LAE	Lymphadenektomie
LDR	low dose rate
LHRH	luteinisierendes Hormon-Releasing Hormon
mg	Milligramm

ml	Milliliter
MRT	Magnetresonanztomographie
ng	Nanogramm
<i>Nn.</i>	<i>Nervi</i>
PCa	Prostatakarzinom
phi	prostate health index
POC	Point-of-Care
POCT	Point-of-Care-testing
PPW	positiver prädiktiver Wert
PSA	prostataspezifisches Antigen
PSA DT	PSA doubling time = PSA-Verdopplungszeit
ROC	Receiver-Operating-Characteristic
RPE	radikale Prostatektomie
s.	siehe
Tab.	Tabelle
tPSA	totales prostataspezifisches Antigen
tPSAv	tPSA velocity = tPSA-Anstiegsgeschwindigkeit
TRUS	transrektaler Ultraschall
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
vgl.	vergleiche
µl	Mikroliter
z.B.	zum Beispiel

1.0. Einleitung

1.1. Die Prostata

1.1.1. Anatomie der Prostata

Das gesunde, nicht vergrößerte Organ misst ungefähr 20ml und hat die Form einer umgekehrten Pyramide. Sie umgibt die *Pars prostatica* der Harnröhre, wobei die Pyramidenbasis an den Blasenfundus und die Spitze an das *Diaphragma urogenitale* grenzt. Ventral der von einer derben Organkapsel umschlossenen Drüse liegen die *Ligamenta puboprostatica*, welche die Symphyse mit der Prostata verbinden, und dorsal befindet sich das *Septum rectovesicale* (Denonvillier'sche Faszie), welches die räumliche Abtrennung zum Rektum darstellt. Die Samenbläschen liegen der Prostata dorsokranial an.

Die Prostata setzt sich aus circa (ca.) 30-50 tubuloalveolären Einzeldrüsen zusammen, die im fibromuskulären Stroma eingebettet sind. Ihre Ausführungsgänge drainieren in unmittelbarer Nähe des Samenhügels (*Colliculus seminalis*), an dem die *Ducti ejaculatorii* in die *Urethra* einmünden.

Hinsichtlich der klinischen Bedeutung lassen sich vier Zonen unterscheiden. Die periurethrale Mantelzone (transitional zone) liegt der *Urethra* unmittelbar an und reicht vom Blasenhal bis zum Samenhügel. Bei der Entwicklung einer benignen Prostatahyperplasie (BPH) treten besonders in diesem Bereich pathologische Veränderungen auf. Dorsal befindet sich die Innenzone (central zone), deren Rand an die periphere Zone (peripheral zone) angrenzt. Letztere nimmt mit etwa 70% die größte Fläche ein. Dieser Bereich ist von großer klinischer Relevanz, da dort die Mehrzahl der Prostatakarzinome (PCa) lokalisiert ist. Die vierte Zone bildet das anteriore fibromuskuläre Stroma, das ventral gelegen keine glandulären Anteile aufweist(1).

1.1.2. Blutversorgung und Innervation der Prostata

Die arterielle Blutversorgung der Prostata erfolgt über die *Arteria (A.) rectalis media* und die *A. vesicalis inferior*, die venöse Drainage über den *Plexus vesicoprostaticus* in die innere Beckenvene. Die im Bereich der Prostataloge zirkulierende Lymphe fließt zu

den *Nodi lymphatici iliaci externi, interni, obturatorii* und *sacrales* sowie in aus dem Rektum drainierende Lymphknoten.

Die vegetative Innervation der Prostata erfolgt über die im neurovaskulären Bündel verlaufenden Nerven. Die paarigen *Nervi (Nn.) cavernosi penis* verlaufen mit den arteriellen Blutgefäßen beidseits posterolateral entlang der Organkapsel und geben entsprechende Äste ab. Zusätzlich ziehen hier die *Nn. erigentes*. Bei einer Schädigung des Gefäß-Nerven-Stranges kann es beispielsweise postoperativ zu einer Harninkontinenz sowie einem Verlust der Erektionsfähigkeit kommen.

1.1.3. Funktion der Prostata

Das Prostatasekret ist Bestandteil der Samenflüssigkeit und macht etwa ein Fünftel des Ejakulates aus. Im leicht sauren Sekret sind verschiedene Stoffe enthalten, die unter anderem (u.a.) zu einer Verflüssigung des Samenergusses führen (Proteasen) und die Motilität der Spermien positiv beeinflussen (Spermin)(2). Zusätzlich werden in der Prostata Citrat und Cholin produziert. Das Konzentrationsverhältnis zueinander macht man sich in der Diagnostik mittels Magnetresonanztomographie zu Nutze(3).

1.2. Das Prostatakarzinom

1.2.1. Epidemiologie

Mit etwa 25% aller Krebsneuerkrankungen hat sich das PCa zum häufigsten Karzinom innerhalb der männlichen Bevölkerung in Deutschland entwickelt. Die 5-Jahres-Prävalenz betrug 2012 in Deutschland 287.100. Im selben Jahr erkrankten ungefähr 63.710 Männer an diesem Malignom. Dies entspricht einer Inzidenzrate von 162,1 pro 100.000 Einwohner. Die steigende Zahl der Neuerkrankungen geht mehrheitlich auf die frühere und häufigere Entdeckung des Tumors durch Einsatz neuer Screeningmethoden, wie die des prostataspezifischen Antigens (PSA), zurück. Den altersspezifischen Erkrankungsraten ist zu entnehmen, dass das PCa vorwiegend ein Tumor der älteren Männer ist. Mit steigendem Lebensalter nimmt die Erkrankungswahrscheinlichkeit deutlich zu. Die dokumentierten Sterbefälle lagen 2012 bei 12.957. Damit ist das PCa

die dritthäufigste Krebstodesursache in Deutschland. Dennoch hat dieser maligne Tumor eine sehr gute relative 5-Jahres-Überlebensrate von 93%(4).

1.2.2. Risikofaktoren und Prävention

Definitive Ursachen, die zur Entwicklung eines PCa führen, sind bis heute noch nicht eindeutig identifiziert. Jedoch sind Risikofaktoren bekannt, welche die Entstehung des Tumors begünstigen. Zu diesen Faktoren zählt das Alter, da mit zunehmenden Lebensjahren das Risiko, an diesem Tumor zu erkranken, steigt(4). Weiterhin wurde für das PCa eine familiäre Disposition festgestellt. Die Wahrscheinlichkeit an dem Krebs zu erkranken ist bei Personen mit einem Betroffenen ersten Grades in der Verwandtschaft doppelt so hoch wie in der Normalbevölkerung. Gibt es in der Familie mehr als einen erkrankten, erstgradigen Verwandten, steigt das Risiko bis auf das 5- bis 11-fache an(5). Auffallend ist die ungleichmäßige Verteilung in den verschiedenen Bevölkerungsgruppen. Stanford *et alli* (*et al.*) konnten nachweisen, dass asiatische Männer die niedrigste und afro-amerikanische Männer die höchste Inzidenz für den Tumor aufweisen(6). Weitere die Entstehung des PCa begünstigende Faktoren sind eine hohe Konzentration am männlichen Geschlechtshormon Testosteron, chronische Prostatitiden, fettreiche und faserarme Ernährung, fischfreie Kost sowie das Vorliegen eines metabolischen Syndroms(2). Auf der anderen Seite gibt es aber auch Verhaltensweisen oder Stoffe, die vermutlich das Risiko für das Auftreten des Tumors verringern können. Studienergebnisse legen nahe, dass Stoffe wie Sojaextrakte, Vitamin E, Carotinoide und Phytoöstrogene eine präventive Potenz besitzen(7, 8).

1.2.3. Klinik

Aufgrund der anatomischen Verhältnisse und dem überwiegenden Auftreten des Tumors in der peripheren Zone bleibt das PCa lange klinisch verborgen.

Der Tumor kann als Zufallsbefund bei einer transurethralen Resektion der Prostata bei einer BPH mit Blasenentleerungsstörung nachgewiesen werden (inzidentiell PCa). Symptome eines fortgeschrittenen Stadiums können Hämaturie, Hämatospermie, Dysurie oder andere Blasenentleerungsstörungen sein. Nur ein sehr kleiner Teil der erkrankten Patienten klagt über Rücken- oder Schulterschmerzen, welche durch eine

ossäre Metastasierung, zum Beispiel (z.B.) in die Lendenwirbelsäule oder ins *Oss sacrum*, verursacht werden und als Erstsymptome zur Diagnose geführt haben (okkultes PCa).

Ein weiteres Manifestationsstadium stellt das latente PCa dar, welches einen Zufallsbefund während einer Autopsie beschreibt. Bei Obduktionen von Männern zwischen dem 50. und 60. Lebensjahr war bei etwa 30-60% ein vorher nicht diagnostiziertes PCa nachweisbar (9, 10). Etliche PCa entwickeln aufgrund des teils langsamen Wachstums keine klinische Symptomatik und die erkrankten Personen versterben an Komorbiditäten, wie Kramer *et al.* bestätigen (11).

1.2.4. TNM-Klassifikation und Gleason-Score

Das PCa wird gemäß der TNM-Klassifikation in verschiedene Stadien eingeteilt (12). Diese Einteilung nach Wittekind ist jedoch nur für Adenokarzinome zutreffend, wohingegen Übergangszellkarzinome wie Tumore der *Urethra* klassifiziert werden. Dabei entspricht T der Tumorgroße, N dem Nodalstatus, welcher Auskunft über befallene Lymphknoten gibt, und M steht für gleichzeitig vorliegende Fernmetastasen. Jeder Patient wird nach Diagnosestellung und Staging entsprechend dieser TNM-Klassifikation einem bestimmten Stadium zugeteilt, anhand dessen die Therapie geplant und eingeleitet wird.

Die histologische Einteilung des PCa erfolgt anhand des Gleason-Scores (GS). Nach dem gleichnamigen Beschreiber werden fünf Gewebemuster nach dem Differenzierungsgrad bzw. der histologischen Ähnlichkeit mit dem ursprünglichen Prostatagewebe unterschieden. Die zwei flächenmäßig am verbreitetsten Typen im Präparat werden jeweils mit Punkten von 1 bis 5 bewertet. Nach Summation der beiden Werte ergibt sich ein GS mit Werten zwischen 2 und 10, wobei höhere Werte für eine schlechtere Prognose und niedrigere Werte für eine bessere Prognose stehen. 2005 erfolgte eine Modifikation des bisher gültigen Gleason-Grading-Systems (13, 14).

1.2.5. Diagnostik

Erste Hinweise auf Veränderungen im Bereich der Prostata kann die gezielte Anamnese geben. Zur weiteren Abklärung sowie zu Vorsorgezwecken im Rahmen der

Krebsfrüherkennung bei Männern werden vorrangig die digital rektale Untersuchung (DRU), der transrektale Ultraschall (TRUS) und die Bestimmung des PSA als Standarduntersuchungsmethoden eingesetzt(15).

1.2.5.1. Digital rektale Untersuchung

Die rektale Palpation bei Männern findet vor allem (v.a.) im Rahmen von Früherkennungsprogrammen Anwendung. Dabei werden Form, Symmetrie, Größe, Konsistenz sowie die Abgrenzbarkeit der Prostata zur Umgebung erfasst. Der Tastuntersuchung ist hauptsächlich die periphere Zone zugänglich, in der sich ca. 70 % aller PCa entwickeln. Jedoch schließt ein unauffälliger Tastbefund ein Karzinom nicht mit letzter Sicherheit aus. Liegt ein suspektes Untersuchungsergebnis, wie z.B. eine Verhärtung oder sogar eine unregelmäßig-höckerige, derbe Oberfläche, vor, so ist die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass es sich um einen bösartigen Tumor handelt. In Abhängigkeit vom Untersucher wurde bei 15-40% der auffälligen Tastbefunde ein histologisch gesichertes Karzinom nachgewiesen(16). Tastbare PCa sind in der Mehrzahl der Fälle allerdings bereits fortgeschritten. Die Detektionsrate von PCa ohne klinische Symptome liegt bei nur 0,1-4%(16, 17). Aufgrund der Studienergebnisse ist die DRU demnach als alleiniges Entscheidungskriterium für das weitere Procedere ungeeignet. In Kombination mit anderen Methoden ist die rektale Palpation allerdings ein wichtiger Parameter für den multivariaten Biopsieentscheid.

1.2.5.2. Transrektaler Ultraschall

Der TRUS liefert eine gute optische Darstellung der Prostatazone. Durch Variation des Schallwinkels können die gesamte Drüse und die Samenbläschen untersucht werden. Es lassen sich Volumen, Verkalkungen, Unregelmäßigkeiten und mittels der farbkodierten rektalen Dopplersonographie pathologische Durchblutungsmuster innerhalb der Prostata bestimmen. Ein Karzinom kann sich im Ultraschall prinzipiell sowohl echoreich als auch echoarm darstellen. Jedoch wurde nur bei weniger als 50% der Patienten mit echoarmen Veränderungen in der peripheren Zone ein PCa nachgewiesen. Dieser Sachverhalt spiegelt sich mit einem positiven prädiktiven Wert (PPW) von 31 % und einer Karzinomentdeckungsrate von 15 % wider(18). Obwohl der TRUS eine doppelt so

hohe Sensitivität wie die DRU aufweist und auch nicht tastbare Tumoren nachweisen kann, besitzt er bei unauffälliger Palpation in Zusammenhang mit nicht erhöhten PSA-Werten nur wenig zusätzlichen Informationsgehalt(19-22). Bei einem manifesten PCa kann der Ultraschall jedoch Aussagen zur Kapselüberschreitung des Tumors machen. Die Sensitivität beträgt dabei 63%, die Spezifität 78%(23). Neben dem rein diagnostischen Einsatzgebiet wird der TRUS als Orientierungshilfe bei der transrektalen Prostatastanziobiopsie genutzt.

1.2.5.3. Prostataspezifisches Antigen (PSA)

Das PSA wird von den Epithelzellen der Prostatadrüsen gebildet und fungiert im klinischen Alltag als Tumormarker. Die Höhe des Wertes ist u.a. vom Alter des Patienten, dem Prostatavolumen, einer kürzlich durchgeführter DRU, entzündlichen Veränderungen sowie gutartigen Erkrankungen der Prostata abhängig(24). Entsprechend muss ein erhöhter Parameter nicht zwingend mit dem Vorhandensein eines PCa vergesellschaftet sein. Dennoch ist bei Krebskranken im Vergleich zu Gesunden aufgrund des Tumorgeschehens die PSA-Serumkonzentration meist deutlich erhöht(25). Bei etwa einem Fünftel der Patienten mit diagnostiziertem PCa liegt der PSA-Wert jedoch unter der Grenze von 4ng/ml(26, 27). Der PPW bei PSA-Werten zwischen 4 und 10ng/ml beträgt ca. 25-35% und bei Werten >10ng/ml 50-80%(28). PSA-Werte >4ng/ml gelten bereits als karzinomverdächtig und bedürfen einer weiteren Abklärung. Jenseits von 10ng/ml beträgt die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines PCa über 50% und das Risiko für eine Absiedlung steigt auf das 24- bis 50-fache(26, 29-31). Den definitiven Tumornachweis kann nur die feingewebliche Aufarbeitung erbringen. Um eine möglichst aussagekräftige Informationsgrundlage zu schaffen, auf deren Basis ein Biopsieentscheid getroffen werden kann, werden die Resultate der drei vorrangig eingesetzten Untersuchungsmethoden DRU, TRUS und PSA-Bestimmung gemeinsam analysiert. Dieses Vorgehen erhöht im Falle einer Biopsiegewinnung die Tumornachweisrate(15, 19, 32). Dennoch entgehen einige Karzinome dem Nachweis. Selbst wenn der tPSA-Grenzwert für eine Biopsieindikation, der gegenwärtig bei 4,0ng/ml liegt, auf 1,1ng/ml gesenkt werden würde, blieben immer noch etwa 17% der Karzinome unentdeckt(33). Bei grenzwertig erhöhtem PSA können zusätzlich Subfraktionen, wie z.B. das freie prostataspezifische Antigen (fPSA), bestimmt werden

und ins Verhältnis zum totalen prostataspezifischen Antigen (tPSA) gesetzt werden. Der Quotient aus fPSA/tPSA wird als %fPSA bezeichnet(34).

1.2.5.4. Exprimaturin

Als Exprimaturin wird der Urin bezeichnet, der unmittelbar nach einer Prostatamassage gewonnen wird. Darin befinden sich gesunde Prostatazellen sowie mögliche Tumorzellen. Mit verschiedenen Testverfahren kann dieser Urin auf diese Tumorzellen hin untersucht werden.

Ein entsprechendes Verfahren zum Nachweis von Tumorzellen im Exprimaturin stellt die PCA3-Diagnostik dar. PCA3 ist ein Gen, welches in Tumorzellen in viel höherem Maße exprimiert wird als in gesunden Zellen. Es ist unabhängig vom Prostatavolumen und dem PSA und korreliert positiv mit dem Karzinomstatus. Der PCA3-Test (Progensä®-PCA3-Test, Firma Hologic, Bedford, USA) kann neben PCA3-mRNA zudem auch PSA-mRNA nachweisen, welches sowohl in entarteten als auch in nicht-entarteten Zellen gleichermaßen vorkommt und somit die Menge der vorhandenen Prostatazellen widerspiegelt. Der Test bestimmt das Verhältnis von PCA3 zu PSA und gibt dieses in einem Score an, dessen cut-off bei 35 liegt. Werte jenseits dieses cut-offs werden als Indikator für ein PCa gesehen. So spricht ein Score von <35 beispielsweise gegen das Vorliegen eines Tumors. Die PCA3-Bestimmung wird besonders zur Evaluation vor einer möglichen Re-Biopsie bei Patienten mit ungünstiger PSA-Konstellation und Zustand nach negativer Stanzbiopsie eingesetzt(35, 36).

1.2.5.5. Transrektale Prostatabiopsie

Bei begründetem Verdacht auf das Vorliegen eines PCa wird die Indikation zur Prostatabiopsie gestellt. Das Standardverfahren stellt die ultraschallgesteuerte transrektale Stanzbiopsie dar(37). Verteilt auf die einzelnen Quadranten werden mindestens 6 Proben entnommen (Sextantenbiopsie) und gegebenenfalls weitere aus suspekten Arealen. Das gewonnene Material wird anschließend der Pathologie zur feingeweblichen Untersuchung zugeführt. Nicht jede bei erhöhten PSA-Werten durchgeführte Biopsie liefert den Nachweis eines PCa. Liegt der PSA-Wert nur knapp über dem Grenzwert von 4 ng/ml gelingt in der Erstbiopsie in 66-71% der Fälle kein

Karzinomnachweis(38-40). Daher sind in zeitlichen Abständen Re-Biopsien indiziert. Um die Erfolgsrate der Stanzbiopsien zu erhöhen und um unnötige Biopsien zu vermeiden, findet die magnetresonanz-gesteuerte Biopsie zunehmend Anwendung(41). Ein neues und äußerst genaues Verfahren zur Gewinnung von suspektem Prostatagewebe stellt der bioBot (Biobot Surgical Pte Ltd, Singapur) dar. Dabei werden hochauflösende Magnetresonanztomographie (MRT) -Datensätze auf eine Ultraschalleinheit übertragen, welche robotergesteuert Biopsien durchführen kann. Durch Kombination der Bilddaten beider Systeme können suspekte Bereiche der Prostata noch genauer biopsiert werden(42).

1.2.5.6. Staginguntersuchungen

Das Staging dient der Feststellung der Tumorausbreitung, von der die weitere Therapieplanung abhängt. Dabei werden die lokale Ausdehnung des Primärtumors sowie der Befall von Lymphknoten oder anderer Organe erfasst. Die MRT mit Endorektal-Spule eignet sich sehr gut, um die Tumorausdehnung in der Prostata und den angrenzenden Samenbläschen darzustellen(43)(44). Außerdem werden die Befunde der Standarduntersuchungen DRU und TRUS sowie die Biopsieergebnisse herangezogen, um das Tumorstadium exakt zu bestimmen. Ferner stimmt in vielen Fällen die Ausdehnung des PCa mit den ermittelten PSA-Werten überein(45-47). Zudem liegen Hinweise für die Korrelation von Lymphknotenbefall und Tumorcharakteristika wie GS, PSA-Wert sowie lokale und perineurale Expansion vor(47-49). Zur Bestimmung des Nodalstatus ist die laparoskopische bzw. offene Lymphadenektomie (LAE) der Computertomographie überlegen, da sie eine bessere Sensitivität und Spezifität aufweist(50-52). Eine weitere Staginguntersuchung stellt die Sentinel-Lymphknoten-Untersuchung dar, die v.a. bei intermediate und high-risk Tumoren angewandt wird(53). Da das PCa sehr häufig neben Lymphknoten, der Lunge, der Leber und der Haut auch in die Knochen metastasiert, eignet sich die Knochenszintigraphie zur Darstellung von möglichen Filiae(54-56).

1.2.6. Therapie

1.2.6.1. Watchful waiting und active surveillance

Watchful waiting stellt eine Option für Patienten jenseits des 70. Lebensjahres mit einem low-risk Karzinom dar. Aufgrund einer sehr guten krankheitsspezifischen 20-Jahres-Überlebensrate von 80-90% wird bezüglich einer Therapie bis zum Auftreten behandlungsbedürftiger Symptome eine abwartende Haltung eingenommen(57).

Im Gegensatz zum watchful waiting wird beim active surveillance in regelmäßigen Abständen aktiv nach einer Tumorprogression mittels PSA-Kontrollen, DRU und Gewebebiopsien gesucht. Diese Möglichkeit ist für Patienten geeignet, die die Voraussetzungen eines low-risk Karzinoms, ein PSA ≤ 10 ng/ml, einen GS ≤ 6 , ein klinisches Tumorstadium T1c-T2a, einen nachgewiesenen Tumor in ≤ 2 Stanzzyllindern und einem Tumor $\leq 50\%$ pro Stanze erfüllen(58-61). Unter klinischen Kontrollen wird eine Behandlung mit kurativer Intention solange hinausgezögert bis sich entweder eine Ausbreitung des PCa andeutet oder der Patient eine Therapieänderung wünscht.

1.2.6.2. Radikale Prostatektomie

Die radikale Prostatektomie (RPE) ist das chirurgische Standardverfahren für eine kurative Behandlung des PCa(62). Es eignet sich für Patienten mit einem lokal begrenzten Tumor und einer Lebenserwartung von >10 Jahren. Des Weiteren kann die chirurgische Intervention für erkrankte Personen im Stadium T3 mit nur gering nachgewiesener Kapselüberschreitung (T3a), einem PSA <20 ng/ml und einem GS <8 sinnvoll sein. Bei der Operation werden die Prostata, die Samenbläschen und ein Teil des Samenleiters (*Ampulla ductus deferentis*) entfernt. Die Prostata ist operativ entweder perineal, retropubisch oder laparoskopisch (transperitoneal oder extraperitoneal) zugänglich.

Die retropubische Operation erfolgt nervenschonend, zusätzlich kann simultan eine Lymphadenektomie erfolgen. Für den perinealen Operationsweg spricht, dass der Apex und die Anastomoseregion zwischen Urethra und Harnblase gut eingesehen werden können. Wird die Prostata über den perinealen Zugang entfernt, kann gleichzeitig keine LAE erfolgen. Diese wird in einem zweiten Schritt durchgeführt. Bei der laparoskopischen Methode ist das gesamte Operationsgebiet sehr gut einsehbar, jedoch

nimmt die Dauer des Eingriffs zu und die Ergebnisse bezüglich Potenserhaltung sind schlechter(63).

Die Studiengruppe um Walsh *et al.* hat verschiedene Zentren bezüglich der Kontinenz- und Potenzproblematik nach RPE verglichen. Dabei stellte sich heraus, dass Zentren, an denen eine hohe Anzahl an RPE durchgeführt wurde, ein besseres outcome bezogen auf Nerv-, Potenz- und Kontinenserhalt aufwiesen(64).

Die Roboter-assistierte laparoskopische Prostatektomie („daVinci“-Prostatektomie) stellt eine Modifizierung des herkömmlichen laparoskopischen Verfahrens dar. Durch die technischen Entwicklungen wurde die eingeschränkte Bewegungsfreiheit deutlich verbessert, wodurch diffizile Bewegungsmuster auf kleinem Raum durchgeführt werden können. Seit den ersten Prostataoperationen mit dieser neuen Technik in den Jahren 2000/2001 verbreitet sich die Anwendung des Roboters im deutschsprachigen Raum zunehmend(65-67).

1.2.6.3. Radiotherapie

Die Bestrahlung ist eine gleichwertige Alternative zur kurativen Behandlung des lokal begrenzten PCa. Kupelian *et al.* wiesen nach, dass sich im PSA-freien Überleben zwischen der RPE und der Radiatio keine signifikanten Unterschiede ergaben(68). Weiterhin beschrieben Valicenti *et al.* für Patienten mit angepasster Bestrahlung eine Reduktion der krebsspezifischen Mortalität(69). Die Therapiequalität und das Ergebnis hängen von der ausgewählten Dosisintensität, der Zielvolumenerfassung und der bestmöglichen Schonung des Normalgewebes ab. Bei low-risk Patienten beträgt die Dosis 72 Gy und die Prostata wird mit einem Sicherheitssaum ohne Samenblasenbasis bestrahlt. Weist der Tumor ein höheres Risikoprofil auf, werden Becken-, Prostata- und Samenblasenregion mitbestrahlt. In einigen Fällen ist zusätzlich eine Hormontherapie zu erwägen. Je nach Tumorbiologie kann eine Dosisescalation zu einem besseren outcome führen(68-71). Nebenwirkungen der Strahlentherapie sind hauptsächlich zystitische und proktitische Beschwerden mit Durchfällen sowie Hautirritationen(63).

1.2.6.4. Brachytherapie

Bei der kurativen Brachytherapie (BT) werden radioaktive Substanzen temporär in das Prostatagewebe eingebracht, welche dort ihre Strahlung an das umliegende Gewebe abgeben. Man unterscheidet dabei die LDR (low dose rate) - von der HDR (high dose rate) -Brachytherapie. Die LDR-BT findet v.a. bei low-risk PCa Anwendung(72). Bezüglich des outcomes bei low-risk PCa ist die BT der RPE nicht überlegen, sondern kann als gleichwertig betrachtet werden(73). Bei intermediate- und high-risk Profilen kommt das HDR-BT zum Einsatz, meist in Kombination mit externer Radiatio. Stock *et al.* haben gezeigt, dass die BT sehr gute Ergebnisse für das krankheitsspezifische Überleben und das Gesamtüberleben liefert(74).

1.2.6.5. Hormontherapie

Die Hormontherapie kommt beim fortgeschrittenen PCa zum Einsatz und zielt im Wesentlichen auf eine Senkung und dauerhafte Erniedrigung des Testosteronserumspiegels ab. Das männliche Geschlechtshormon dient als Proliferations- und Teilungsreiz für die Epithelzellen der Prostata und folglich auch für die entarteten Tumorzellen.

Einen Therapieansatz stellt die chirurgische Kastration dar, welche das Testosteronlevel auf das sogenannte Kastrationsniveau sinken lässt(75).

Eine weitere Behandlungsmöglichkeit ist die Gabe von luteinisierendem Hormon-Releasing Hormon (LHRH)-Analoga. Durch eine Dauerstimulation verringert sich die Anzahl der LHRH-Rezeptoren der Hypophyse und im Verlauf sinkt dadurch der Testosteronspiegel ab.

Die dritte Säule der Hormontherapie stellen die Antiandrogene dar, welche die Bindung des Testosterons an die Tumor- und Epithelzellen verhindern. Häufig kommen sie gemeinsam mit der chirurgischen Kastration oder der LHRH-Gabe zum Einsatz, um eine komplette Androgenblockade herbeizuführen. Gegenüber der Monotherapie scheint dieses Vorgehen einen geringen Überlebensvorteil zu haben(76, 77). Die nicht-steroidalen Antiandrogene weisen im Gegensatz zu den steroidalen Antiandrogenen neben dem verdrängenden auch einen zentralen, progesteronartigen Effekt auf und

senken dadurch den Testosteronspiegel, mit negativer Auswirkung auf Libido und Potenz.

Die letzte Option stellt die Östrogenbehandlung dar. Eine hohe Östrogenkonzentration führt zu einer negativen Rückkopplung im endokrinen Regelkreis, wodurch weniger LHRH ausgeschüttet wird, was in einer erniedrigten Serumtestosteronkonzentration resultiert.

1.2.6.6. Chemotherapie

Die Chemotherapie wird zur Behandlung eines hormonrefraktären PCa eingesetzt. Dabei hat bisher einzig eine Kombination aus Docetaxel und Prednison klinische Anwendung gefunden. Es zeigte sich, dass mit einer intermittierenden Gabe dieser Chemotherapeutika entsprechende PSA-Senkungen assoziiert sind(78). Eine Therapieeskalation bestehend aus Docetaxel und Estramustin weist zwar eine höhere Toxizität auf, jedoch keine verbesserten Therapieergebnisse(79). Weitere molekulare und immunologische Therapien wie beispielsweise mit sipuleucel-T befinden sich in der experimentellen Phase(80).

1.2.7. Nachsorge

Die Nachsorge findet 3, 6 und 12 Monate nach der durchgeführten Therapie statt, anschließend halbjährlich über 2 Jahre hinweg und nach 3 Jahren schließlich jährlich. Bei den Nachsorgeterminen sollen bei kurativ behandelten Patienten therapieassoziierte Komplikationen erkannt und behandelt sowie Tumorrezidive bzw. Metastasen detektiert werden. Die wichtigsten Methoden zur Feststellung eines Rezidivs sind, wie bei der Primärdiagnostik, neben der Anamnese und der PSA-Bestimmung, der TRUS und die DRU. Zusätzlich kann die Biopsie zur Entdeckung von Lokalrezidiven nach RPE beitragen, wie Scattoni *et al.* zeigten(81).

1.2.8. Prognostik

Zur Prognoseeinschätzung eines diagnostizierten PCa stehen bisher hauptsächlich das Tumorstadium, der aus Biopsien ermittelte GS sowie das PSA zur Verfügung(82). Um

präzisere prognostische Aussagen treffen zu können, müssen weitere aussagekräftige Parameter gefunden werden. Einige potentielle Prognoseindikatoren sind derzeit Gegenstand von Studien. Beispielsweise beschreiben Untersuchungen des Proteins $\alpha 6$ -Integrin dieses als Vorhersagemarker für biochemische und Lokalrezidive sowie für die krankheitsspezifische Mortalität(83). Des Weiteren konnten durch Genanalysen neue vielversprechende molekulare Marker ermittelt werden, mit deren Hilfe möglicherweise neue Prognoseindikatoren entwickelt werden können(84).

1.3. Das prostataspezifische Antigen

1.3.1. Eigenschaften des prostataspezifischen Antigens

Die Erstbeschreibung und Isolierung des PSA aus menschlichem Prostatagewebe fand im Jahre 1979 statt und geht auf Wang *et al.* zurück(85). Zur gleichen Zeit beschrieben zudem andere Arbeitsgruppen ein Antigen mit identischen immunologischen Eigenschaften, wobei es sich rückblickend ebenfalls um das PSA handelte. Das Protein wurde aus menschlicher Samenflüssigkeit isoliert und als γ -Seminoprotein, E₁-Antigen oder auch p30-Protein bezeichnet(86-90).

Wang *et al.* wiesen das PSA sowohl in normalem, benigne hypertrophem und malignem Prostatagewebe nach. Zudem behaupteten sie, dass das Antigen in keinem anderen menschlichen Gewebe nachzuweisen sei(85, 91, 92). Dies wurde jedoch von Yousef *et al.* widerlegt, da das Protein nicht nur in Epithelzellen der Prostata nachgewiesen werden kann, sondern auch in anderen Teilen des menschlichen Körpers, wie z.B. der Brustdrüse oder der Schilddrüse(93).

Das PSA, auch als humanes Kallikrein 3 bezeichnet, zählt zur Familie der glandulären Kallikreine. Der Genlokus der insgesamt 15 Kallikreine ist etwa 280kb lang und befindet sich auf Chromosom 19(94). Aufgrund ähnlicher Strukturen, gleicher Größe und hydrophiler Eigenschaften ist eine immunologische Kreuzreaktion zwischen dem PSA und dem humanen glandulären Kallikrein 1 nicht auszuschließen, da die Gensequenzen bis zu ungefähr 80% identisch sind (siehe [s.] Abbildung [Abb.] 1)(88, 89, 95-97).



Abb. 1: Darstellung der Kristallstruktur eines an einen aktivierten Antikörper gebundenen PSA-Moleküls.

(Quelle: <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=2ZCH>; DOI: 10.2210/pdb2zch/pdb)

Weiterhin besitzt das PSA als aktives Enzym proteolytische Aktivität und gehört zur Gruppe der extrazellulären Serinproteasen. In der menschlichen Samenflüssigkeit beträgt die Konzentration zwischen 0,5 und 2 mg/ml und ist damit um bis zu 10^6 -fach höher als im zirkulierenden Blut. Dort liegt die Konzentration des PSA bei gesunden Männern unter 51 Jahren bei ungefähr 0,6 ng/ml (88, 98, 99). Vor allem durch Zerstörung der Basalmembran der Drüsenzellen kann es zu einem pathologischen Anstieg der im Serum messbaren PSA-Konzentration kommen. Dafür können mehrere Sachverhalte ursächlich sein, z.B. mechanische Manipulation in der Prostatagegend, Größenwachstum aufgrund der BPH oder auch das invasive Wachstum eines PCa (100-102).

Das PSA spaltet in der Samenflüssigkeit enthaltene Proteine wie Semenogelin I, Semenogelin II und Fibronectin. Daher wird angenommen, dass die Hauptaufgabe des Enzyms in der Verflüssigung des Ejakulats liegt, wodurch die Motilität der Spermien steigt (98, 103-107).

Das Prostataepithel synthetisiert androgenabhängig intrazellulär das präproPSA (261 Aminosäuren), welches durch kotranslationale Abspaltung einer 17-Aminosäuresequenz in das inaktive Präkursorprotein proPSA (244 Aminosäuren) umgewandelt wird. Durch erneute Abspaltung einer N-terminal gebundenen 7-Aminosäuregruppe durch humanes Kallikrein 2 (hK2) und 4 (hK4) entsteht intraluminal das aktive Enzym mit einem Molekulargewicht von 33 kDa (89, 108-111).

1.3.2. Unterschiedliche PSA-Fraktionen im Blut und deren diagnostische Bedeutung

Nach Übertritt des PSA ins Blut bilden sich enzymatisch inaktive Komplexe mit Proteaseinhibitoren aus. Diese Komplexe werden in ihrer Summe komplexiertes PSA (cPSA) genannt. Nur ein kleiner Teil liegt ungebunden als fPSA vor (103, 112, 113). Die Summe aus fPSA und cPSA wird als tPSA bezeichnet (114).

Zumeist werden Komplexe mit den Proteinaseinhibitoren α 1-Antichymotrypsin (ACT) und α 2-Makroglobulin (AMG) eingegangen, aber auch in geringerem Umfang mit dem α 1-Proteinaseinhibitor und Protein C (114). Durch die Komplexbildung wird ein Großteil des im Blut zirkulierenden, aktiven Enzyms außer Kraft gesetzt (115).

Mit 70-90% bildet der Komplex aus ACT und PSA (ACT-PSA) den größten Anteil des cPSA. Seine Halbwertszeit beträgt 2 bis 3 Tage (112, 113). Weiterhin scheint es, dass die renale Elimination des etwa 90 kDa schweren ACT-PSA zu vernachlässigen ist. Es wurde gezeigt, dass der Serpin-Enzym-Komplex-Rezeptor in der Leber an der Elimination der Komplexe (z.B. α ₁-Antitrypsin und ACT) beteiligt ist und wahrscheinlich auch eine Rolle bei der Serumelimination des ACT-PSA spielt (116, 117). Stenman *et al.* haben nachgewiesen, dass der ACT-PSA bei PCa-Patienten anteilig höher ist als bei Patienten mit einer BPH (113). Jedoch existieren auch gegenläufige Meinungen, die die Möglichkeit in Frage stellen, dass anhand der Verteilung des Komplexes eine Unterscheidung zwischen tumortragend und tumorfrei getroffen werden kann. (118, 119).

Die zweithäufigste Bindung geht das PSA mit dem AMG ein. Im Vergleich zum ACT-PSA läuft die Komplexbildung hier viel schneller ab. Außerdem wird die enzymatische Funktion stärker inhibiert, da das etwa 25-fach größere AMG-Molekül das PSA-Molekül vollständig umschließt und somit potenzielle Bindungsstellen, auch für herkömmliche Assays, blockiert(112, 113, 120, 121). Damit war es lange Zeit dem immunologischen Nachweis unzugänglich. Erst nach Einführung einer pH-Veränderung in den Messvorgang, wodurch sich die beiden Bindungspartner voneinander trennen, gelang mittels Immunoabsorption die Messung des PSA-AMG-Komplexes(114, 122).

Das nicht an Komplexe gebundene PSA wird als fPSA bezeichnet. Im Gegensatz zum cPSA ist es nicht so stabil, weshalb ein unsachgemäßer Umgang mit den Blutproben zu falsch niedrigen fPSA-Bestimmungen führen kann(123). Das fPSA ist enzymatisch inaktiv. Die Halbwertszeit beträgt wenige Stunden und die Elimination erfolgt über die Niere(112, 124, 125).

Mikolajczyk *et al.* haben nach näherer Untersuchung herausgefunden, dass sich das freie, ungebundene PSA aus drei, enzymatisch inaktiven Gruppen zusammensetzt – dem benignen PSA (bPSA), dem proPSA und dem intakten PSA. Während das proPSA mit dem PCa und das bPSA mit der BPH assoziiert sind, wird für das intakte PSA derzeit keine solche Assoziation beschrieben(126).

Im Jahr 2000 wurde das bPSA erstmalig beschrieben. Es entspricht bis auf einen Aminosäurenkettenbruch strukturell exakt dem sezernierten PSA und wurde immunhistochemisch v.a. in der Transitionszone nachgewiesen(127). Der Anteil des bPSA am tPSA (\triangleq %bPSA) beträgt bei der BPH bis zu 11,4%, während er bei Gesunden oder bei PCa-Patienten zwischen 3,2 und 4,9% liegt(128). Er gilt als Serummarker für die BPH und als besserer Vorhersagewert für eine Prostatavergrößerung als das PSA oder das fPSA(129).

Das proPSA hingegen konnte in der peripheren Zone, in der v.a. das PCa entsteht, detektiert werden, während sich in der Transitionszone keine erhöhten proPSA-Konzentrationen zeigten(130). Das native proPSA wird auch als [-7]proPSA bezeichnet und weist N-terminal eine sieben Aminosäuren lange Gruppe auf. Durch posttranslationale Abspaltung dieser Aminogruppe durch hk2 und hk4 entsteht die aktive Form des PSA. Zum kleineren Teil entstehen auch andere Spaltprodukte, die sich in der Anzahl der verbliebenen Aminosäuren der Aminogruppe unterscheiden und als

[-2], [-4] und [-5]proPSA bezeichnet werden. Durch weitere Spaltvorgänge entsteht aus dem [-4]proPSA und dem [-5]proPSA ebenfalls das aktive PSA. Lediglich das [-2]proPSA kann nicht weiter prozessiert werden und akkumuliert im Serum. Dies kann für die Diagnostik des PCa und zur Abgrenzung von der BPH genutzt werden, da erhöhte Serumwerte von [-2]proPSA mit dem Vorliegen eines PCa korrelieren(131, 132). Zudem wiesen Sokoll *et al.* nach, dass das %[-2]proPSA im Vergleich zum %fPSA ähnliche und bei niedrigeren PSA-Werten sogar teils bessere Vorhersagewahrscheinlichkeiten für das Vorliegen eines PCa liefert. Außerdem gehen mit erhöhten [-2]proPSA- bzw. %[-2]proPSA-Werten ein erhöhter GS sowie ungünstigere Tumoreigenschaften einher(133).

Basierend auf den wissenschaftlichen Resultaten über das [-2]proPSA wurde von Beckman Coulter der mathematische Algorithmus prostate health index (phi) für Patienten mit einem PSA-Wert zwischen 2 und 10ng/ml und unauffälliger DRU entwickelt:

$$phi = \frac{[-2]proPSA}{fPSA} \times \sqrt{tPSA}$$

Die Vorhersagekraft des phi bei dem oben dargestellten Patientengut, an einem PCa erkrankt zu sein, übertrifft die alleinige des tPSA bzw. %fPSA und stellt eine bessere Entscheidungsgrundlage für die Veranlassung einer Stanzbiopsie dar(134-136).

Ein mögliches Einsatzgebiet für das [-5] und das [-7] proPSA könnte laut Stephan *et al.* in der Einschätzung der Tumoraggressivität liegen(137).

1.3.3. Prostataspezifisches Antigen in der Diagnostik des Prostatakarzinoms

Nach der Entdeckung und Beschreibung des PSA im Jahre 1979 wurde es 1986 in den USA von der Food and Drug Administration zur Überwachung von PCa-Therapien zugelassen. 1994 folgte die Zulassung für die Primärdiagnostik. Das PSA wird hauptsächlich für das Screening auf PCa herangezogen, daneben dient es der Risikostratifizierung und der Überwachung bereits diagnostizierter Tumoren und dem Monitoring nach erfolgter Therapie. Die Einführung führte zu einer erhöhten Rate an in einem früheren Stadium diagnostizierter PCa(138). Mehrere Studien haben die

Aussagen von Stamey *et al.* (139) bestätigt, dass erhöhte PSA-Werte mit vergrößertem Tumolvolumen, höhergradigem Tumorstadium und einem höherem GS einhergehen (140, 141).

1.3.3.1. Einsatz des prostataspezifischen Antigens in der Primärdiagnostik

Die Entscheidung zur Durchführung einer Biopsie, um ein PCa nachzuweisen bzw. auszuschließen, hängt neben klinischen Untersuchungen wie der DRU und dem TRUS besonders vom tPSA-Wert ab. Der optimale Grenzwert, ab welchem zu einer Stanzuntersuchung geraten wird, ist sehr umstritten. Carter rät nach einem Vergleich von mehreren Studien dazu, den häufig verwendeten tPSA-cut-off von 4 ng/ml beizubehalten, da eine Absenkung des Wertes die Vorhersagekraft der Analysegeräte für ein PCa, die Entdeckungsraten von heilbaren Karzinomen und das Gesamt-outcome in Bezug auf tumorassoziierte Mortalität nicht signifikant verbessern würde (142). Auch die Studiengruppe um Muntener *et al.* hat sich mit einer möglichen Absenkung des cut-off-Wertes beschäftigt. In einer Studie wurden retrospektiv 506 Patienten mit einem tPSA-Wert von 2,5-10,0 ng/ml untersucht, die eine Prostatabiopsie erfahren haben. Es zeigte sich, dass die Gruppe mit einem tPSA von 2,5-4,0 ng/ml signifikant mehr potenziell unbedeutende Tumore beinhaltet wie die Gruppe mit einem tPSA von 4,0-10,0 ng/ml. Das absolute Risiko im Bereich von 2,5-4,0 ng/ml mit einem high-grade PCa diagnostiziert zu werden, lag bei 1% (143). Die Tumorentdeckungsrate bei 1112 biopsierten Patienten mit einem tPSA >4 ng/ml betrug bei Andriole *et al.* 44% (144). Aufgrund der mit zunehmendem Lebensalter auftretenden BPH und dem damit verbundenem Anstieg des tPSA empfehlen Heidegger *et al.* altersspezifische PSA-Grenzwerte. Dadurch könnten unnötige Biopsien vermieden werden. Bei einem vorliegenden fPSA von $\leq 21\%$ ergaben sich die besten Tumorspezifitäten für Männer unter 49 bzw. 50-59 Jahren bei einem tPSA-Grenzwert von 1,75 ng/ml, bei Männern zwischen 60-69 bei 2,25 ng/ml und bei ≥ 70 Jahren bei 3,25 ng/ml (145).

Auch bei Patienten, die bereits wegen einer BPH mit 5 α -Reduktaseinhibitoren behandelt werden, kann das PSA als Biopsiekriterium eingesetzt werden. Die Indikation zur Prostatastanze ist gegeben, wenn nach Erreichen des PSA-Nadirs unter BPH-Therapie ein erneuter Anstieg des PSA um mehr als 0,3 ng/ml erfolgt oder sich der ursprüngliche PSA-Ausgangswert verdoppelt (146).

Weiterhin spielt das PSA eine wichtige Rolle als Tumormarker nach definitiver lokaler Therapie. Lange bevor der Rezidivtumor durch andere Untersuchungstechniken oder durch eine klinische Manifestation zu detektieren ist, können mithilfe des Laborparameters bösartige Zellen registriert werden. Jeder Anstieg des gemessenen PSA-Werts nach erfolgter definitiver Therapie bedeutet eine erneute Präsenz von Karzinomzellen. Bestenfalls sollte der PSA-Wert nach erfolgter Therapie unter die Nachweisgrenze fallen. Aufgrund neuer Entwicklungen und verbesserter Testsysteme hat sich die gesetzte Nachweisgrenze von 0,3 bis 0,4 ng/ml Mitte der 90er Jahre auf heute etwa 0,1 ng/ml verschoben. Nichtsdestotrotz gibt es in seltenen Fällen PCa, die nach erfolgter definitiver Therapie Rezidive bilden, ohne dass im Serum ein messbares PSA-Äquivalent nachweisbar ist (147, 148).

1.3.3.2. Einsatz des prostataspezifischen Antigens in der Rezidivdiagnostik und im Therapiemonitoring

Mehrere Arbeitsgruppen haben sich mit der Definition des biochemischen Rezidivs nach RPE beschäftigt. Stephenson *et al.* haben zehn dieser Definitionen auf die Vorhersagekraft der Entwicklung von Fernmetastasen hin miteinander verglichen. Liegt der Ausgangs-tPSA-Wert bei $\geq 0,4$ ng/ml und der als nächstes bestimmte tPSA-Wert überschreitet diesen, ist mit hoher Wahrscheinlichkeit mit einer Tumorsiedlung zu rechnen (149). Allerdings fällt der PSA-Wert nach RPE nicht bei allen Patienten unter die Nachweisgrenze und der erneute Anstieg als Zeichen eines Rezidivs kann ausbleiben (150). Der nach der Operation initial nachweisbare, auf niedrigem Niveau stabil bleibende PSA-Wert geht nicht auf Tumorgewebe, sondern auf Reste von benignem hypertrophem Gewebe, auf unspezifische Reaktionen von Blutbestandteilen mit den Analysesubstanzen oder auf eine PSA-Produktion außerhalb der Prostata zurück (151, 152).

Die Rolle des PSA als Monitoring-Parameter nach erfolgter Radiotherapie ist als schwierig zu bewerten. Im Gegensatz zum raschen Abfall des PSA nach einer Operation, kann der Wert nach einer Bestrahlung über Monate bis Jahre hinweg absinken bis schließlich der Nadir erreicht wird. Das Nadirniveau hängt dabei von der verabreichten Strahlendosis ab (153). So fällt nach einer BT der PSA-Wert aufgrund erhöhter Strahlungsintensität im angrenzenden Prostatagewebe unter die

Nachweisgrenze, wohingegen das PSA nach einer externen Bestrahlung nachweisbar bleibt(154). Das Intervall bis zum Erreichen des PSA-Nadirs nach Bestrahlung hängt vom Prostatavolumen und der Vorbehandlung ab(155). Critz *et al.* haben sich mit der prädiktiven Eigenschaft des PSA-Nadirs beschäftigt und herausgefunden, dass ein Wert im Bereich von $\leq 0,2$ ng/ml nach durchgeführter Bestrahlung für biochemische Rezidivfreiheit spricht(156).

Die Standardbehandlung des fortgeschrittenen PCa stellt die Hormonentzugstherapie (androgen deprivation therapy=ADT) dar. Hierunter sinkt der PSA-Wert meist ab und hält sich über einen gewissen Zeitraum stabil(157). Der Abfall ist nicht nur auf eine Volumenverringerung des Karzinoms unter Therapie, sondern auch auf die verminderte hormonabhängige Transkription des PSA zurückzuführen(158). Steigt der PSA-Wert nach Erreichen des Nadirs in zwei aufeinanderfolgenden Messungen an, spricht man von einem hormonrefraktären Tumor(159, 160). Auch bei der Behandlung mit ADT ist der PSA-Nadir nach eingeleiteter Therapie ein prädiktiver Faktor. Ein niedriges PSA-Niveau ist mit einem relativ späten hormonunabhängigen Wachstum und einem späten klinisch manifesten Fortschreiten der Erkrankung und Tod assoziiert(157, 159-162).

1.3.3.3. Einsatz PSA-abhängiger Parameter in der Prostatakarzinomdiagnostik

Ein wichtiger Marker zur Unterscheidung zwischen einer BPH und einem PCa ist das %fPSA. Bei %fPSA-Werten $< 25\%$ ist das Risiko, an einem PCa erkrankt zu sein, erhöht(163). Die Arbeitsgruppe um Catalona untersuchte 773 Männer mit einem tPSA-Wert zwischen 4,0 und 10,0 ng/ml, 394 Patienten mit einer BPH und 379 Patienten mit einem PCa. Bei einem %fPSA-cut-off von 25 % wurden 95 % der Tumorpatienten entdeckt und 20 % unnötige Biopsien vermieden. In Kombination mit dem tPSA steigert das %fPSA sowohl bei hohen als auch bei niedrigen tPSA-Messwerten dessen diagnostische Trennschärfe(164). Eine Metaanalyse von 66 Studien aus dem Jahr 2005 bescheinigt der Kombination aus tPSA und %fPSA eine bessere Tumorentdeckungsrate als dem tPSA allein(165).

Carter *et al.* untersuchten in einer Studie den PSA-Konzentrationsverlauf in Serien von Gesunden, Patienten mit BPH und Patienten mit einem PCa. Dabei wurden die tPSA-Veränderungen von 3 gemessenen tPSA-Werten innerhalb von 2 Jahren durch den dazwischenliegenden Zeitraum in Jahren dividiert:

$$\text{tPSA-Anstiegsgeschwindigkeit} = \frac{1}{2} \times \left(\frac{t\text{PSA}_2 - t\text{PSA}_1}{t_1} + \frac{t\text{PSA}_3 - t\text{PSA}_2}{t_2} \right)$$

tPSA₁: erster tPSA-Wert in Reihe in ng/ml

tPSA₂: zweiter tPSA-Wert in Reihe in ng/ml

tPSA₃: dritter tPSA-Wert in Reihe in ng/ml

t₁: Zeit zwischen erster und zweiter tPSA-Bestimmung in Jahren

t₂: Zeit zwischen zweiter und dritter tPSA-Bestimmung in Jahren

Lag die tPSA-Anstiegsgeschwindigkeit (PSA-velocity, tPSAv) bei $\geq 0,75$ ng/ml/Jahr, war das Risiko, innerhalb der nächsten fünf Jahre an einem PCa zu erkranken, signifikant erhöht(166). Weitere Studien belegen, dass eine raschere tPSAv mit aggressiveren Karzinomen, früheren Rezidiven und Tumor-assoziiertem Tod einhergeht(167-172).

Ein weiterer Parameter in der PCa-Diagnostik ist die PSA-Verdopplungszeit (PSA doubling time, PSA DT). Die entsprechende Formel wurde von Schmid *et al.* entwickelt(173):

$$\text{PSA DT} = \log(2) \times \frac{t}{\log(t\text{PSA}_2) - \log(t\text{PSA}_1)}$$

tPSA₁: erster tPSA-Wert in ng/ml

tPSA₂: zweiter tPSA-Wert in ng/ml

t: Zeit zwischen erster und zweiter tPSA-Bestimmung in Jahren (Intervall mindestens 3 Monate)

Im klinischen Alltag wird die PSA-Verdopplungszeit meist in der Überwachung des Krankheitsverlaufes nach initialer Operation oder Bestrahlung oder auch bei Patienten mit active surveillance eingesetzt(174). In der Behandlung von hormonrefraktären PCa kann die PSA DT als möglicher klinischer Endpunkt bei der Behandlung mit Chemotherapeutika eingesetzt werden(175).

Die PSA-Dichte (PSA-density) wird aus dem Quotienten PSA-Konzentration im Serum und mittels TRUS ermitteltem Prostatavolumen gebildet und stellt einen weiteren Baustein in der Diagnostik des PCa dar. Da Tumorgewebe mehr PSA ins Blut freisetzt als benigne hypertrophes Gewebe, kann laut Studienlage anhand der PSA-Dichte eine

Unterscheidung zwischen Vorliegen eines Karzinoms und BPH getroffen werden. Ein niedriger Quotient ist assoziiert mit aggressivem Tumorwachstum und ungünstigen histologischen Eigenschaften (139, 176). Allerdings ist die Anwendung der PSA-density nicht sehr verbreitet, da die Durchführung des TRUS zeitaufwendig und v.a. unangenehm für den Patienten ist.

1.3.3.4. Weitere Marker in der Prostatakarzinomdiagnostik

Um die diagnostische Sicherheit in der PCa-Diagnostik zu steigern, wird die konventionelle PSA-Bestimmung mit der Analyse weiterer PSA-Isoformen oder anderen biologischen Markern kombiniert. Dabei ist das hK2 von besonderem klinischem Interesse. Insgesamt ähnelt es bei 80%-iger Übereinstimmung in der Aminosäuresequenz strukturell dem PSA sehr und wird ebenfalls androgenabhängig expressioniert. Es kommt ebenfalls in der Samenflüssigkeit vor, jedoch in einer 100-fach niedrigeren Konzentration. Einige Studien berichten, dass die Bestimmung von hK2 der tPSA-Diagnostik im Hinblick auf Tumorentdeckung und -stadium, histologischem Grading, Tumolvolumen und -rezidiv zusätzliche Informationen liefert (177-180). Allerdings bedarf es weiterer wissenschaftlicher Untersuchungen, bevor das hK2 sowie andere Parameter Zugang in den klinischen Alltag finden.

1.3.4. Diagnostische Systeme zur PSA-Bestimmung und Algorithmen zur Bewertung der Fraktionsergebnisse für die Biopsieentscheidung

Das PSA hat in der Diagnostik des PCa nach wie vor einen hohen Stellenwert. Zur Detektion des PSA und dessen Unterformen haben inzwischen zahlreiche Firmen diverse Messsysteme etabliert, die v.a. in großen Medizinzentren Anwendung finden. Generell kommt bei allen Testsystemen die Sandwich-Methode zum Einsatz. Dabei binden zwei gegen das zu analysierende Antigen gerichtete Antikörper an zwei unterschiedlichen Oberflächenstrukturen. Der primäre Antikörper löst das Antigen aus der Reagenzflüssigkeit (z.B. aus dem Serum) und trennt es damit von den restlichen Bestandteilen. Die Aufgabe des sekundären Antikörpers ist es, eine Konzentrationsbestimmung zu ermöglichen. Zu diesem Zweck ist an den zweiten Antikörper eine Substanz gebunden, die eine chemische Reaktion eingeht und dabei

Licht emittiert. Zwischen die einzelnen Reaktionsschritte werden Waschvorgänge geschaltet, um nicht gebundene Antikörper und überschüssiges Substrat zu entfernen. Das freigesetzte Lichtsignal wird von einem Photometer aufgenommen und anhand entsprechender gerätespezifischer Kalibrationskurven in einen absoluten tPSA-Wert umgewandelt. Die Ermittlung des fPSA erfolgt analog, jedoch sind die zum Einsatz kommenden Antikörper spezifisch für freies PSA.

In Tabelle (Tab.) 1 sind die zur Bestimmung von tPSA und fPSA am häufigsten verwendeten Analysesysteme aufgelistet:

Testsystem	Hersteller	Verwendetes Testprinzip
Access Hybritech	Beckman Coulter GmbH Krefeld, Deutschland	MSA ¹
AxSYM Plus	Abbott Gesellschaft mbH Wien, Österreich	MEIA ²
Advia Centaur	Siemens AG München, Deutschland	MSA ¹
Immulite 2000	Siemens AG München, Deutschland	LIA ³
Elecsys 2010	F. Hoffmann-La Roche AG Basel, Schweiz	MSA ¹

Tab. 1: Übersicht über die am häufigsten zum Einsatz kommenden Testsysteme und die zugehörigen Testprinzipien zur Bestimmung des prostataspezifischen Antigens.

¹MSA = magnetischer Separationsassay

²MEIA = Mikropartikel-Enzymimmunoassay

³LIA = Lumineszenzimmunoassay

Im Zentrallabor der Universitätsklinik Tübingen wird zur Bestimmung des tPSA und fPSA aktuell der Immulite 2000 XPi (Siemens AG, München, Deutschland) eingesetzt. Das System ist das Nachfolgeprodukt des Immulite 2000 und verwendet dasselbe Analyseverfahren, welches im Abschnitt „Methodenteil“ genauer erläutert wird.

Beim klinischen Einsatz der PSA-Werte ist darauf zu achten, dass die unterschiedlichen Geräte zwar in einem ähnlichen Bereich messen, die Resultate allerdings in ihrem absoluten Ergebnis differieren. So ergab eine Studie um Link *et al.*, dass der Hybritech Access beim untersuchten Kollektiv um etwa 1,23-fach höhere PSA-Ergebnisse lieferte als der Centaur. Insgesamt hatten von 2304 Screeningpatienten 288 einen tPSA >2,5 ng/ml. Bei einem gesetzten cut-off von 4,0 ng/ml hätte der Hybritech Access 55 Patienten (19%) zur Biopsie geraten, während der Centaur dies nicht getan hätte (181).

Eine Forschungsgruppe um Loeb *et al.* hat 2008 in einer weiteren Arbeit bestätigt, dass der Access bei 1916 Screeningmessungen im Schnitt um 17% höhere PSA-Resultate erzielt als das System Centaur. In 4,5% der Fälle wichen die tPSA-Werte sogar um mehr als 2 ng/ml voneinander ab. Die abwechselnde Verwendung beider Systeme könnte zu einer Fehlinterpretation im Sinne einer falsch gesteigerten oder falsch geminderten PSA-Anstiegsgeschwindigkeit führen(182). In einer weiteren Studie wurden sechs äquimolar arbeitende PSA-Messsysteme verglichen, darunter Immulite, AxSYM und Elecsys. Bei äquimolaren PSA-Analysen werden cPSA und fPSA bestimmt und daraus das tPSA ermittelt. Dabei erfolgt die Berechnung ungeachtet der Relationen der beiden PSA-Unterfraktionen. Nicht-äquimolare Messungen überrepräsentieren die fPSA-Fraktion. Während die BPH insgesamt mit einer erhöhten fPSA-Proportion einhergeht, liegt beim PCa ein erniedrigter fPSA-Anteil vor. Das kann bei Patienten mit BPH zu einer Überrepräsentation des tPSA und bei Patienten mit PCa zu einer Unterschätzung des tPSA-Anteils führen (183-185). Laut Patel *et al.* ist die Aussagekraft des gemessenen %fPSA der drei zuvor genannten Systeme nur dann gültig, wenn der zugehörige tPSA-Wert im Bereich zwischen 3 und 10 ng/ml liegt und die tPSA- und fPSA-Tests vom gleichen Hersteller stammen. Wird der tPSA-Wert jedoch von einem anderen Analysesystem bestimmt als das fPSA, sei der %fPSA nicht mehr aussagekräftig, da die tPSA- bzw. fPSA-Ergebnisse der einzelnen Geräte voneinander abweichen (186). Die tPSA-Abweichungen der verschiedenen Systeme haben Stephan *et. al* in einer weiteren Studie belegt. Dabei wurden 596 tPSA-Messungen mit den Analysegeräten AxSYM, Access, Immulite 2000, Elecsys 2010 und Advia Centaur durchgeführt. Die tPSA-Werte von Access wurden als 100 % gewertet. AxSYM und Advia Centaur hatten dazu im Vergleich um 13 % niedrigere und Immulite 2000 um 15 % höherer Resultate. Die Gründe für die unterschiedlichen Ergebnisse liegen in unterschiedlichen Systemkalibrationen und verschiedenen Messprinzipien (187). Die Entscheidung zur Prostatabiopsie von einem einzelnen PSA-Wert abhängig zu machen, ist sehr umstritten. Das biologische Verhalten eines Tumors wird nicht durch einen einzelnen PSA-Wert repräsentiert. Bei der Abwägung für oder gegen eine Biopsie müssen verschiedene Eigenschaften bzw. Begleitumstände wie Alter, PCa in der Familie, Wunsch des Patienten, ethnische Zugehörigkeit und Begleiterkrankungen berücksichtigt werden, so Lilja *et al.* (148). Eine Hilfe für die

Entscheidungsfindung stellt die Risikoprofilerstellung unter Einsatz eines Softwareprogrammes dar. Krankheitsrelevante Parameter gehen mit in die Berechnung des Tumorrisikos ein und liefern einen Zahlenwert, der die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines PCa angibt. Gemeinsam mit dem behandelnden Arzt kann folgend das weitere Procedere entschieden werden(188). Um die Indikation für eine Stanzbiopsie möglichst genau stellen zu können, hat die Klinik für Urologie der Charité, Universitätsmedizin Berlin, ein Programm entwickelt, mit dem eine genauere Risikoabschätzung für das Vorliegen eines PCa getroffen werden kann als mit den Resultaten der PSA-Bestimmung alleine. Das artifizielle neuronale Netzwerk „ProstataClass“ nutzt tPSA- und fPSA-Werte, das Patientenalter, das Prostatavolumen und den digital-rektalen Tastbefund um eine Risikoabschätzung zu errechnen. Gemeinsam mit dem Patienten kann anschließend eine Entscheidung bezüglich einer Histologiegewinnung getroffen werden(189, 190).

1.3.5. Bestimmung des prostataspezifischen Antigens im Point-of-Care-setting

Zur Bestimmung alltäglicher, wichtiger klinischer Parameter wie beispielsweise des Hämoglobinwerts sind Point-of-Care-testing (POCT) -Geräte inzwischen weit verbreitet. Denkbar wäre in diesem Zusammenhang auch eine Analyse der verschiedenen PSA-Fractionen.

Der Einsatz von kommerziellen PSA-Messgeräten ist wegen ihres hohen apparativen Aufwands größeren Zentren vorbehalten. Daher müssen die Patienten zur Bestimmung ihrer PSA-Werte entweder Einrichtungen aufsuchen, die über ein solches Testsystem verfügen, oder die abgenommen Blutproben müssen in externe Laboreinrichtungen verschickt werden. Durch die Bestimmung der PSA-Werte im niedergelassen Bereich mittels eines POCT-Geräts könnten der finanzielle Aufwand und darüber hinaus auch die Wartezeit auf die Resultate reduziert werden. Beim Einsatz eines POCT-Geräts wäre von der Blutentnahme bis zum Erhalt der Resultate mit einer Wartezeit von ungefähr einer halben Stunde zur rechnen, im Gegensatz von bis zu mehreren Tagen bei der Bestimmung in Zentren aufgrund von Anlieferung und Testung der Proben sowie der Übermittlung der Daten. Besonders bei Patienten mit tumorsuspekten Untersuchungsergebnissen ist mit hohem psychischem Stress bis zum Vorliegen der Befunde zu rechnen. Diese psychischen Belastungen könnten durch den Einsatz eines

POCT-Gerätes im niedergelassenen Bereich minimiert werden. Darüber hinaus ist der finanzielle Vorteil nicht von der Hand zu weisen, da die Kosten für Anschaffung und Unterhalt der mobilen Testgeräte im Vergleich zu den herkömmlichen Analyzern viel niedriger anzusetzen sind. Umgang und Bedienung der Geräte sollten sich ebenfalls als schnell erlernbar erweisen und im Praxisalltag keinerlei Probleme für das ärztliche Praxisteam darstellen.

Allerdings stehen derzeit noch keine ausreichend validierten Systeme zur Bestimmung des PSA unter POCT-Bedingungen zur Verfügung.

1.4. Der Ω 100 der concile GmbH

Mit dem Ω 100 der Firma concile steht erstmals ein POCT-Gerät zur Verfügung, das die klinisch relevanten PSA-Fraktionen tPSA und fPSA bestimmen kann.

1.4.1. Hersteller und Messsystem



Abb. 2: Darstellung des Ω 100 der Firma concile GmbH mit Aufnahmevorrichtung für die Teststreifen.



Abb. 3: Darstellung eingelegter und mit Serum beimpfter Testkassetten zur Bestimmung von tPSA (links) und fPSA (rechts).

Die Firma concile GmbH ist ein deutsches Unternehmen mit Sitz in Freiburg, welches sich mit der Entwicklung und Herstellung innovativer Testsysteme für den Einsatz in medizinischen Fachbereichen beschäftigt. Der $\Omega 100$ von concile stellt ein neuartiges Gerät zur patientennahen Labordiagnostik dar. Mit unterschiedlichen Testkassetten können verschiedene Laborparameter, beispielsweise aus der Infektions- (C-reaktives Protein) oder Tumordiagnostik (tPSA, fPSA), mit einem Gerät analysiert werden. Durch seine handliche Größe und einfache Bedienbarkeit wird nach Angaben der Firma ein mobiler und zeitnaher Einsatz ohne großen apparativen Aufwand ermöglicht. Dadurch sei das POCT-Gerät für ärztliche Praxen, Hausbesuche, im Rettungswagen oder auf Krankenhausstationen geeignet.

Die zum Einsatz kommenden Tests sind sogenannte „lateral flow assays“, welche mittels charge-coupled device (CCD) -Aufnahmen der Control- und Testbande auf der Testkassette ausgewertet werden. Das genaue Messprinzip und der Messablauf der tPSA- und fPSA-Analyse werden im Abschnitt „Methodenteil“ näher erläutert.

1.4.2. Messprinzip

Auf den Testkassetten befindliche spezifische Antikörper gegen tPSA bzw. fPSA binden nach Zugabe der zu untersuchenden Probe an die entsprechenden Antigene und verbleiben an der Testlinie. Dort wird ein Lichtsignal emittiert, welches proportional zur Konzentration des gesuchten Antigens in der Probe ist. Das Signal wird entsprechend seiner Intensität detektiert, mittels Kalibrationskurve von einem Softwareprogramm in einen Messwert umgerechnet und im Display des $\Omega 100$ angezeigt.

1.4.3. Prüfung der Voraussetzungen für den validen Einsatz des $\Omega 100$ als Testsystem

Bei der Einführung neuartiger Testsysteme im medizinischen Bereich müssen bestimmte Grundvoraussetzungen für den validen Einsatz erfüllt sein. Das zu etablierende Gerät muss Werte generieren können, die mit Resultaten bereits vorhandener Systeme vergleichbar sind. Weiterhin ist zu prüfen, in welchem Messbereich die Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Geräte gegeben ist. Gerade für ein Testsystem, welches zur Entscheidungsfindung für oder gegen einen weitreichenden medizinischen Eingriff mit möglichen Komplikationen dienen soll, muss der Zielbereich um den cut-off-Wert gut abgebildet werden. Für den cut-off-Wert soll dabei geräteabhängig eine optimale Trennschärfe erreicht werden, welche durch eine entsprechend suffiziente Sensitivität und Spezifität gekennzeichnet ist. Zusätzlich muss die intraindividuelle Variation der Messwerte, gekennzeichnet durch den Variationskoeffizienten, gering sein, da eine zu hohe Streuung der Einzelwerte bei gleichbleibender Analysekonzentration keinen sinnvollen Einsatz des Analysegeräts gewährleistet.

Als Medizinprodukt bedarf der $\Omega 100$ vor Vertrieb innerhalb der Europäischen Union einer CE-Kennzeichnung. Diese erfolgt, sofern im Rahmen der Konfirmationsbewertung die Produktsicherheit und die medizinisch-technische Leistungsfähigkeit gewährleistet sind. Durch eine externe Benannte Stelle wird eine für sie selbst kodierende Kennnummer vergeben, welche dem Verbraucher gegenüber die Einhaltung aller bei der Herstellung des Gerätes grundlegenden Anforderungen garantiert.

Die entsprechende Zertifizierung wurde vor Beginn der vorliegenden Arbeit initiiert. Eine baldige Einführung sowie kommerzielle Nutzung des $\Omega 100$ ist somit zu erwarten.

1.5. Ziel der vorliegenden Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den als POCT-System einsetzbaren $\Omega 100$ der Firma concile GmbH unter Zuhilfenahme eines umfassend charakterisierten Patientenkollektivs und den zugehörigen Serumproben hinsichtlich seiner klinischen Wertigkeit und seiner praktischen Einsetzbarkeit als Testsystem zur Bestimmung von tPSA und fPSA zu evaluieren. Anhand der Kollektivmessungen sollten die zum Einsatz kommenden Testkassetten und das Gerät selbst validiert werden. Anschließend sollte ein gerätspezifischer cut-off-Wert mit möglichst hoher Trennschärfe ermittelt werden, der im späteren Einsatzgebiet, wie bereits etablierte PSA-Analysesysteme, als Entscheidungshilfe für eine weitere Abklärung bei Verdacht auf ein PCa dienen kann. Der direkte Vergleich der PSA-Resultate mit dem bereits etablierten System Immulite 2000 der Siemens AG sollte den validen Einsatz bestätigen und eine bessere Einordnung der Ergebnisse des $\Omega 100$ ermöglichen. Ferner sollte durch die Messungen der praktische und effiziente Umgang mit dem Testsystem erprobt werden. Zusätzlich sollten mögliche Bedienungsoptimierungen genannt werden, damit notwendige Modifikationen vor der endgültigen Markteinführung des Systems vorgenommen werden können. Die ermittelten Ergebnisse sollten anschließend auch für die bevorstehende CE-Zertifizierung des Geräts herangezogen werden.

2.0. Material und Methoden

2.1. Datenerhebung und Kollektiverstellung

2.1.1. Datenerhebung

2.1.1.1. Anwendung des Studienprotokolls zur Generierung des Patientenpools

Gemäß eines in Zusammenarbeit mit der concile GmbH ausgearbeiteten Studienprotokolls wurden bereits asservierte Serumproben von männlichen Patienten verwendet, welche sich im Zeitraum von Januar 2010 bis März 2011 in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen in ambulanter oder stationärer Behandlung befanden und im Rahmen dieser Aufenthalte zur Beurteilung und Überwachung ihres Gesundheitszustands routinemäßige Blutabnahmen erfahren haben. Zur Asservierung der Blutproben musste eine schriftliche Einverständniserklärung der Patienten vorliegen. Bei längeren Krankenhausaufenthalten wurden teilweise mehrere Patientenproben entnommen, weshalb für die vorliegende Arbeit in manchen Fällen mehrere Proben desselben Patienten herangezogen wurden. Zu Beginn der vorliegenden Arbeit mussten mindestens 500 µl jeden Serums vorhanden sein. Die erhobenen Informationen wurden in eine mit Excel (Office 2003, Microsoft Corp., Redmond, USA) verwaltete Datenbank eingetragen.

2.1.1.2. Asservierung der Serumproben

Die in der urologischen Ambulanz bzw. auf Station abgenommenen Blutproben wurden dem Zentrallabor der Universitätsklinik zur Auswertung zugeführt. Unmittelbar nach der Analyse wurden die nicht mehr benötigten Rest-Seren von Mitarbeitern des urologischen Kliniklabors für Studienzwecke in Kryoröhrchen (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland) aliquotiert. Die jeweils asservierbare Serumflüssigkeit betrug ungefähr 0,3 bis 1,5 ml. Die Proben wurden mit Nummern verblindet, wobei der auf dem Kryoröhrchen aufgetragenen Nummer in einer elektronischen Datenbank der zugehörige Patientennamen, das Abnahmedatum und die Abnahmenummer zugeordnet wurden. Anschließend wurden die Seren bei -80°C in einem Gefrierschrank (Kirsch, WA90, Offenburg, Deutschland) asserviert. Der

maximale Zeitraum zwischen Abnahme und Lagerung betrug dabei 90 Minuten. Patienten, die mehrmals eine Blutentnahme erfuhren, wurden bei jedem Abnahmedatum als neuer eigenständiger Datensatz betrachtet und später als solcher in die Datenbank aufgenommen, sofern die jeweiligen Studienvorgaben weiterhin erfüllt waren.

2.1.1.3. Erstellung der Patientendatenbank

Die Datensammlung für die Patientendatenbank erfolgte chronologisch entsprechend dem Blutentnahmedatum des jeweiligen Patienten, beginnend mit Januar 2010. Anschließend wurde mithilfe des klinikeigenen Patientenverwaltungsprogramms SAP GUI for Windows 7.20 – i.s.h.med® (Siemens AG, München, Deutschland) für jeden einzelnen Patienten, der die Vorgaben des Studienprotokolls erfüllte, der Gesundheitsstatus vor, zum und nach dem Zeitpunkt der Probengewinnung bestimmt. Dazu wurden gespeicherte Arztbriefe, Operationsberichte, Laborbefunde sowie histopathologische Befunde gesichtet. In einer softwaregestützten Tabelle wurden die Krankengeschichte mit den persönlichen Daten, diverse klinische und krankheitsspezifische Parameter sowie die durch das Zentrallabor am Immulite 2000 ermittelten Blutwerte zusammengetragen. Folgende Punkte wurden aufgenommen:

Auftragsnummer und -datum; Vor- und Nachname, Geburtsdatum und Alter des Patienten am Blutentnahmetag; tPSA, fPSA und %fPSA ermittelt am Immulite 2000; tPSA, fPSA und %fPSA ermittelt mit den Testkassettenserien *batch2* und *batch3* am Ω 100 jeweils nach 15 und 20 min; Testkassettenserie; Krankengeschichte des Patienten vor der Blutentnahme, Grund der Arztkonsultation; Gruppenzugehörigkeit gemäß Einteilung in 4 Gruppen (vergleiche [vgl.] Kapitel [Kap.] 2.1.2.); Ergebnisse und Procedere nach der Blutbestimmung; Operationsdatum bei Lymphadenektomie oder (Zysto-) Prostatektomie, GS bei Stanzbiopsie bzw. Prostatektomie, Tumorstadium, Nodalstatus, Prostatavolumen gemessen mittels TRUS, Resektionsstatus.

2.1.2. Anwendung der Einschlusskriterien und Erstellung des Studienkollektivs

Entsprechend dem Studienprotokoll wurden vier Gruppen definiert, denen die in der Excel-Liste gesammelten Probanden zugeteilt wurden. In Tab. 2 sind die jeweiligen Einschlusskriterien dargestellt.

<p>Patienten ohne Hinweis auf ein Prostatakarzinom</p>	<ul style="list-style-type: none"> • alle männlichen Patienten ohne klinischen Hinweis¹ auf ein Prostatakarzinom • keine Histologie² vorhanden • initial gemessenes tPSA-Immunit³ ≤4 ng/ml
<p>Patienten mit ausgeschlossenenem Prostatakarzinom und tPSA-Immunit ≤4 ng/ml</p>	<ul style="list-style-type: none"> • alle männlichen Patienten mit Histologie² ohne Anhalt für ein Prostatakarzinom • initial gemessenes tPSA-Immunit³ ≤4 ng/ml
<p>Patienten mit ausgeschlossenenem Prostatakarzinom und tPSA-Immunit >4 ng/ml</p>	<ul style="list-style-type: none"> • alle männlichen Patienten mit Histologie² ohne Anhalt für ein Prostatakarzinom • initial gemessenes tPSA-Immunit³ >4 ng/ml
<p>Patienten mit gesichertem Prostatakarzinom</p>	<ul style="list-style-type: none"> • alle männlichen Patienten mit histologisch² gesichertem Prostatakarzinom • initial gemessenes tPSA-Immunit³ ≤110 ng/ml

Tab. 2: Einschlusskriterien für die Gruppenzuordnung gemäß des Studienprotokolls

¹transrektale Ultraschalluntersuchung der Prostata und digital-rektale Tastuntersuchung ohne suspekten Befund.

²Histologie bezieht sich dabei auf aus folgenden Eingriffen gewonnenes feingewebliches Untersuchungsmaterial: Prostatastanziobiospie, transurethrale Resektion der Prostata, transvesikale Prostataadenomenukleation oder Prostatektomie (auch Zystoprostatektomie aufgrund eines Blasenkarzinoms).

³initiales, am etablierten System Immulite 2000 bestimmtes tPSA.

Für die Gruppenzuteilung wurde der Zeitraum vier Wochen vor bis vier Wochen nach der Blutgewinnung betrachtet. Für Patienten, bei denen bis zu vier Wochen nach der Blutentnahme ein PCa nachgewiesen wurde, wurde gefolgert, dass dieses bereits zum Zeitpunkt der Entnahme anzunehmen war. Analog wurde für Probanden, welche bis zu

vier Wochen vor der Blutentnahme eine histologische Sicherung ohne Anhalt für ein Karzinom erfuhren, angenommen, dass zum Zeitpunkt der Entnahme kein PCa vorgelegen hatte.

Patienten mit synchron vorliegenden Fernmetastasen des PCa oder nach bereits erfolgter Therapie, z.B. antihormoneller Therapie, Prostatektomie oder Radiatio wurden gemäß Studienprotokoll ausgeschlossen. Außerdem wurde die Grenze für alle initial bestimmten tPSA-Immulite-Werte, die keinen Eingang in die Studie fanden, auf >110ng/ml definiert. Durch diese Einschränkung wurde ein aussagekräftiges Studienkollektiv mit Abdeckung des klinisch relevanten Messbereichs geschaffen. Durch Anwendung der dargestellten Ein- und Ausschlusskriterien wurden die für die Studie geeigneten Patienten definiert und die nicht den Vorgaben entsprechenden Patienten aus der Datenbank entfernt.

2.2. Vorbereitung und Durchführung der Messungen

2.2.1. Handhabung und Unterschiede in der Verwendung der Testkassettengenerationen *batch2* und *batch3*

Die Messungen auf dem $\Omega 100$ wurden stets nach dem gleichen Schema durchgeführt (s. Abb. 6a-i). Lediglich die zum Einsatz kommenden Testkassettenserien haben sich im Verlauf der Studie geändert, während die Kassetten für die tPSA- und die fPSA-Bestimmungen der gleichen Produktionsreihe in der Handhabung identisch waren. In der Studie fanden zwei verschiedene Testkassettenserien Anwendung. Die neue Generation der Testkassetten wurde als *batch3* bezeichnet, während die Vorgängerserie als *batch2* betitelt wurde. Nach 100 Analysen von tPSA und fPSA mit der Testkassettenserie *batch2* wurden die ersten Ergebnisse ausgewertet und die Messgenauigkeit der Testkassetten in Zusammenarbeit mit der Firma concile GmbH verbessert. Die optimierte Produktionsreihe wurde als *batch3* betitelt und für die Validierung der weiteren Patientenproben verwendet. Der relevante Unterschied beim praktischen Umgang mit den zwei Testkassettenserien bestand darin, dass bei *batch2* 90 μ l und bei *batch3* 100 μ l des zu untersuchenden Serums auf das Testfeld pipettiert wurde. Außerdem wurde bei der neuen Generation der Barcode, welcher die Testkassette als *batch3* identifiziert, an deren Rückseite angebracht. Bei der

Vorgängerserie wurde der Barcode manuell in dem schwarzen Schieber unter der Testkassette angebracht, sodass der $\Omega 100$ bei der Auswertung die Kassette fehlerfrei als *batch2* identifizieren konnte. Außerdem musste bei *batch2* nach dem Pipettieren ein durchsichtiger Plastikschieber auf der Testkassette über das Testfeld geschoben werden, damit Schieber und Kassette vom Gehäuse des $\Omega 100$ aufgenommen werden konnten. Mit welcher Kassettengeneration die jeweiligen Versuchsreihen durchgeführt wurden, wird im jeweiligen Abschnitt erwähnt.

Für die Beschreibung des standardisierten Messablaufs ist eine Unterscheidung der beiden Serien ohne Bedeutung. Daher wird im Folgenden auf die Bezeichnung der Testkassettengeneration verzichtet und der allgemeine Ausdruck Testkit bzw. Testkassette verwendet. Zur Durchführung standen zwei identische $\Omega 100$ -Geräte der Firma concile GmbH zur Verfügung, damit die zusammengehörigen tPSA- und fPSA-Bestimmungen gleichzeitig durchgeführt werden konnten.

2.2.2. Messprinzipien der Systeme Immulite 2000 und $\Omega 100$ im Vergleich

2.2.2.1. Messprinzip des Immulite 2000

2.2.2.1.1. Methodik des Immulite 2000 zur Bestimmung des tPSA

Der Analyse des tPSA durch den Immulite 2000 liegt ein immunometrischer Assay zugrunde. Dabei sind polyklonale anti-PSA-Antikörper (aus Ziegen gewonnene Primärantikörper) an Kugeln gebunden, welche die feste Phase bilden. Nach Zugabe des zu analysierenden Serums binden die darin enthaltenen PSA-Moleküle an die Antikörper der festen Phase (s. Abb. 4a). Nach ausreichender Inkubation erfolgt ein Waschvorgang, um nichtgebundene Bestandteile zu entfernen. Anschließend wird ein weiteres Analysereagenz, bestehend aus mit alkalischer Phosphatase (aus dem Rinderkalbsdarm) konjugierten monoklonalen anti-PSA-Antikörpern (aus Mäusen gewonnener Sekundärantikörper), hinzugefügt (s. Abb. 4b). Diese Zweitantikörper binden ebenfalls am PSA, jedoch an einer vom primären Antikörper verschiedenen Bindungsstelle, und es entsteht ein Antikörper-Sandwich-Komplex. Jetzt wird ein weiterer Waschvorgang durchgeführt (s. Abb. 4c). Folgend wird durch Zugabe eines Chemilumineszenz-Substrats und dessen Reaktion mit der alkalischen Phosphatase eine bestimmte Lichtmenge freigesetzt, die proportional zur ursprünglich zugegebenen

Konzentration der Analysesubstanz in der Probe ist (s. Abb. 4d). Die Lichtmenge wird von einem Photoverstärker aufgenommen und für die Berechnung des tPSA-Wertes herangezogen (191).

Während für die Vergleichsmessungen der tiefgekühlten Proben das System Immulite 2000 zur Anwendung kam, wurde für spätere Parallelmessungen nicht kryogelagerter Seren das Nachfolgerprodukt Immulite 2000 XPi verwendet (vgl. Kap. 2.2.7.). Das neue System unterscheidet sich durch eine leichtere Bedienbarkeit und zusätzliche technische Ausstattung, wobei das Messprinzip an sich jedoch unverändert bleibt und die Resultate der beiden Systeme daher vergleichbar bleiben (persönliche Mitteilung der Firma Siemens, September 2015).

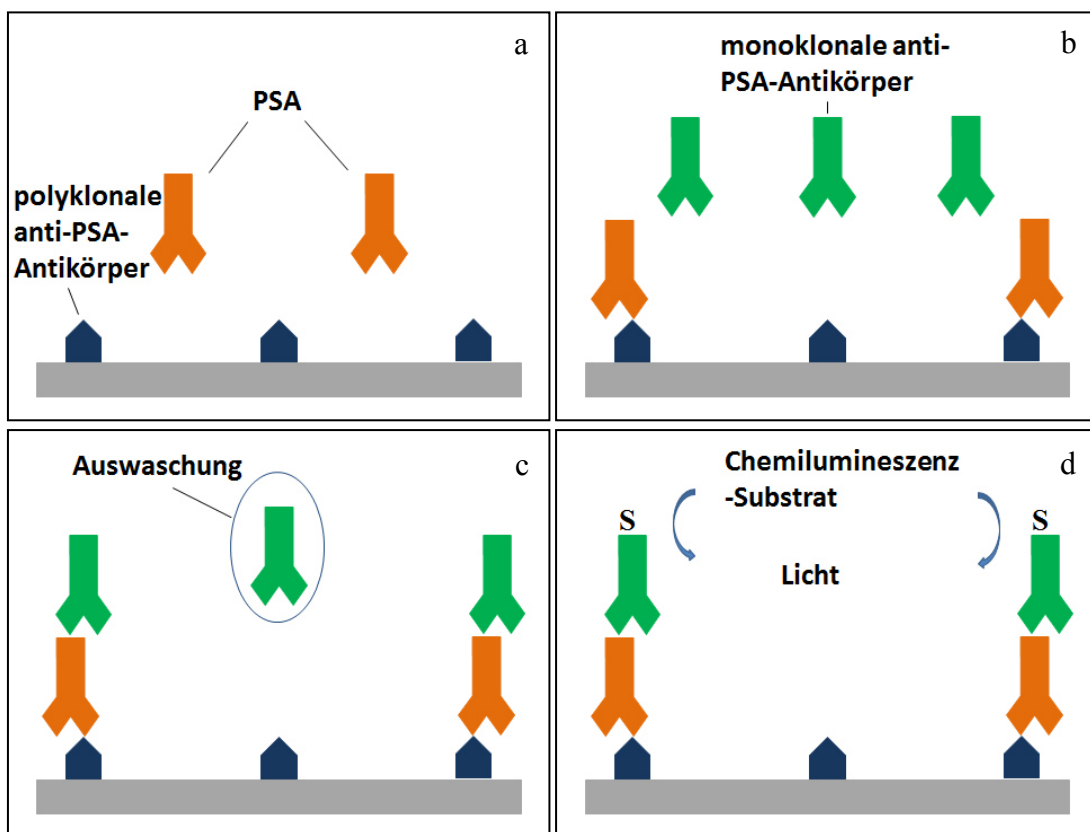


Abb. 4: Schematische Darstellung der PSA-Analyse am Immulite 2000

- a,** PSA-Moleküle des zu analysierenden Serums treffen auf die an der festen Phase gebundenen polyklonalen anti-PSA-Antikörper.
 - b,** Zugabe von mit alkalischer Phosphatase konjugierten monoklonalen PSA-Antikörpern.
 - c,** Auswaschung nicht gebundener monoklonaler PSA-Antikörper.
 - d,** Zugabe eines Chemilumineszenz-Substrats mit resultierender Lichtemittierung.
- PSA = prostataspezifisches Antigen.

2.2.2.1.2. Methodik des Immulite 2000 zur Bestimmung des fPSA

Die Analyse des fPSA erfolgt analog der Bestimmung des tPSA mittels immunometrischem Assay. Jedoch binden die an die feste Phase konjugierten Antikörper spezifisch an freies, nicht komplexgebundenes PSA.

2.2.2.2. Messprinzip des Ω 100

Zur Bestimmung des PSA nutzt der Ω 100 einen lateral-flow Immunoassay als Testmethode, einen CCD-Matrix-Sensor zur Analyse des emittierten Lichtsignals und eine integrierte Software zur Umrechnung dieses Signals in eine PSA-Konzentration.

Eine vorgegebene Menge der zu analysierende Probe wird auf das Probenfeld pipettiert. Dort durchfließt das Serum eine Probenunterlage, welche Verunreinigungen entfernt, und trifft auf die Konjugatunterlage, in welcher an kolloidales Gold gebundene Antikörper gegen PSA (primäre Antikörper) gelöst sind. Unter gleichzeitiger Bindung des Antikörpers an entsprechende Epitope strömt das Gemisch aus Probe und primären Antikörpern durch Kapillarwirkung entlang einer Nitrozellulosemembran. Schließlich trifft die Probe auf einen membrangebundenen sekundären Antikörper, der ebenfalls gegen das PSA gerichtet ist, jedoch an einer anderen Bindungsstelle ansetzt (Antikörper-Sandwich-Komplex). Dort bleiben die bereits markierten PSA-Moleküle hängen (Testbande „T“). Nicht gebundene primäre Antikörper wandern mit dem Rest der Probe weiter und durchfließen die nächste membrangebundene Linie aus Antispezies-Antikörpern, gerichtet gegen den primären Antikörper (Kontrollbande „C“) (s. Abb. 5a). Nach Bindung der Antikörper wird die Kontrollbande für das menschliche Auge sichtbar und bestätigt damit die Gültigkeit der Messung. Wird sie nicht sichtbar, war die Messung fehlerhaft und der Test darf nicht verwertet werden. An der Testbande setzt das an die PSA-Moleküle gebundene kolloidale Gold elektromagnetische Strahlung im Wellenbereich des sichtbaren Lichts frei, welches von einem im Ω 100-Gehäuse integrierten Reflektor auf einen CCD-Matrix-Sensor umgelenkt und dort detektiert wird. Zur Störungsreduktion wird das inkubierte Testfeld gleichzeitig mit einer zum Kopplungsfarbstoff komplementären Wellenlänge beleuchtet (s. Abb. 5b). Die vom Sensor erfasste Lichtmenge ist direkt proportional zur Konzentration des untersuchten Analyts in der Probe (hier tPSA bzw. fPSA im Serum). Ein

Softwareprogramm erfasst in dreidimensionaler Darstellung das über den CCD-Matrix-Sensor empfangene Lichtvolumen an der Testlinie, wandelt es nach Glättung der Rohdaten zweidimensional um und berechnet über Integration der zum Messpeak der Testbande gehörenden Fläche einen Messwert. Mithilfe einer Kalibrationskurve wird die dem ermittelten Messwert entsprechende Konzentration des Analyts zugeordnet. Diese wird als tPSA- bzw. fPSA-Messwert im Display des $\Omega 100$ ausgegeben. Ein schematischer Aufbau der $\Omega 100$ -Analyseeinheit findet sich in Abb. 5c.

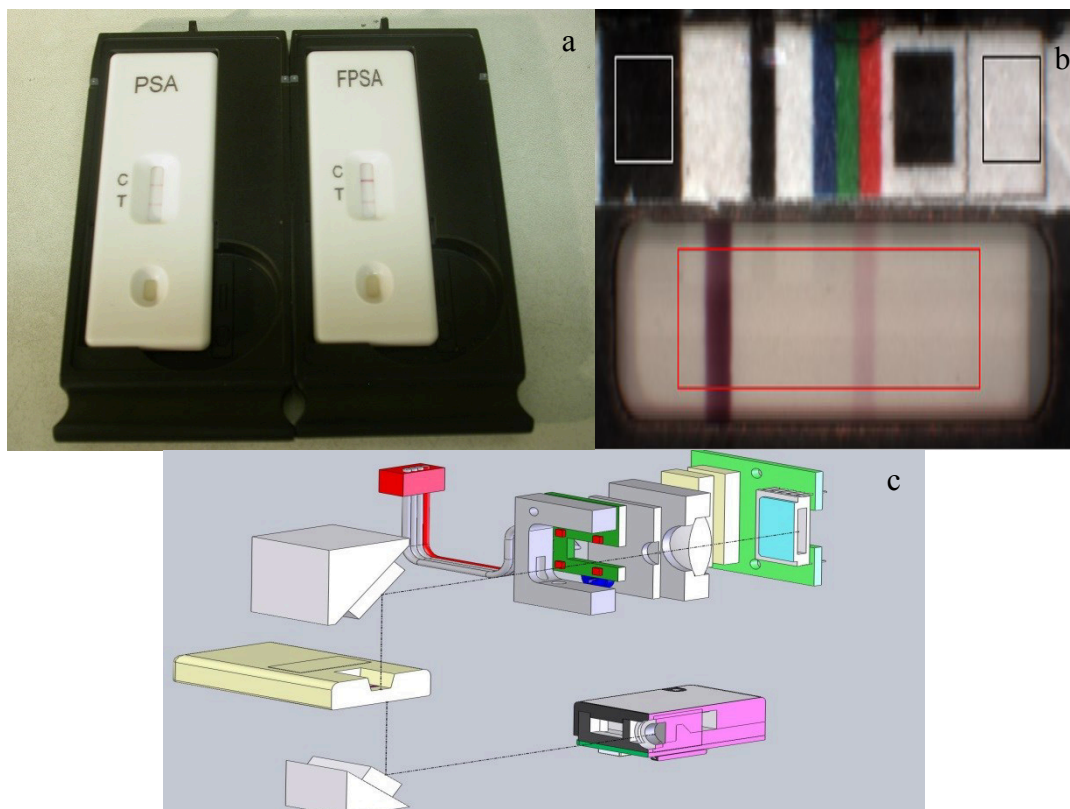


Abb. 5: PSA-Bestimmung am $\Omega 100$

a, Darstellung eines inkubierten tPSA- und fPSA-Teststreifens mit sichtbarer Test- und Kontrollbande.

b, Aufnahme des inkubierten Teststreifens mittels CCD-Matrix-Sensors unter Beleuchtung mit komplementärer Wellenlänge des Kopplungsfarbstoffs.

c, schematischer Aufbau der $\Omega 100$ -Analyseeinheit.

tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

fPSA = freies prostataspezifisches Antigen.

(Quelle b und c: Firma concile GmbH)

2.2.3. Darstellung des standardisierten Messablaufs

Der $\Omega 100$ (s. Abb. 6a) verfügte über einen Akkubetrieb, alle Messungen wurden jedoch mit angeschlossenem Stromkabel durchgeführt. Nach Einschalten des Gerätes und

Abwarten des ungefähr 20-sekündigem Bootvorgangs mit Selbsttest erschien der Startbildschirm auf dem Display (s. Abb. 6b). Nach Betätigen der „√“-Taste öffnete sich ein neues Auswahlmenü, in dem mittels Ziffernblock, ähnlich dem eines Mobiltelefons, die Patientendaten eingetragen werden konnten (s. Abb. 6c). Die Eingabe wurde durch Betätigen der „√“-Taste bestätigt und es erschien ein neues Feld, in das der Name des Gerätebedieners eingetippt wurde. Nach Drücken der „√“-Taste startete der Messmodus, in welchem das Feld „Messung starten“ angezeigt wurde (s. Abb. 6d). Um später den Analysevorgang bei eingelegter Testkassette zu starten, musste ein weiteres Mal die „√“-Taste betätigt werden. Die zu analysierende Patientenprobe wurde 20 Minuten lang bei einer Raumtemperaturspanne zwischen 20 und 26°C auf einem Wippschüttler (Rocker 2D basic, Roth, Karlsruhe, Deutschland) gelagert. Anschließend wurde das aufgetaute Kryoröhrchen (Cryo.s™ Einfrierröhrchen, Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland) 6-mal per Hand geschwenkt (s. Abb. 6e). Beim folgenden Pipettieren des Serums auf die Testkassetten - jeweils eine für die tPSA- und eine für die fPSA-Bestimmung - wurden exakt geeichte Messpipetten (m200, Biohit, Helsinki, Finnland) mit den zugehörigen Pipettenspitzen (gelbe 200 µl-Spitzen, Greiner Bio-One) verwendet (s. Abb. 6f). Je nach Kassettengeneration wurde die entsprechende Pipettiermenge eingesetzt (bei *batch2* 90 µl, bei *batch3* 100 µl). Mit Aufbringen der Seren auf die markierten Aufnahmefelder der Testkassetten wurden zwei bereitgestellte Timer (concile GmbH), eingestellt auf exakt 15 Minuten bzw. 20 Minuten, gestartet (s. Abb. 6g). 30 Sekunden vor Ablauf des 15-Minuten-Timers wurde die Testkassette in die schwarze Kassettenschublade gelegt und bis zum Einrasten in die Auswerteöffnung des Ω100 geschoben (s. Abb. 6h). Nach Ablauf des 15-Minuten-Timers wurde durch Betätigen der „√“-Taste die Auswertung gestartet. Die Anzeige wechselte von „Messung starten“ auf den Analysebildschirm. In weniger als einer Minute lieferte der Ω100 den tPSA- bzw. fPSA-Wert des untersuchten Blutserums (s. Abb. 6i). Das angezeigte Ergebnis wurde mit den zugehörigen Patientendaten handschriftlich festgehalten und später in die elektronische Datenbank eingegeben. Anschließend wurde das Auswertegerät erneut bis zum Messmodus vorbereitet und nach Ablauf des 20-Minuten-Timers eine weitere Messung durchgeführt. Die Testkassette verblieb dabei im Auswertefach. Danach wurden die Kassetten vorschriftsmäßig entsorgt.



Abb. 6: Exemplarischer Messablauf am Ω 100

a, Darstellung des Ω 100 mit Testkassette, Kassettenschublade, Pipette und Timer. **b**, Nach Einschalten des Gerätes beginnt der Bootvorgang mit Selbsttest. **c**, In eine Maske können die Patientendaten eingegeben werden. **d**, Vor Analyse erscheint das Feld „Messung starten“. **e**, Das Kryoröhrchen mit dem zu untersuchenden Serum wird per Hand geschwenkt. **f**, Mittels geeicher Pipetten wird die benötigte Menge des zu untersuchenden Serums auf die vorbereiteten Testkassetten aufgetragen. **g**, Einstellen der Analysedauer am Timer. **h**, Zur Analyse wird die Kassettenschublade mit der inkubierten Testkassette in den Ω 100 eingeführt. **i**, Ausgabe des Messergebnisses der untersuchten Probe.

2.2.4. Darstellung intraindividuelle Variationen der Messergebnisse

Um die intraindividuelle Variation der Messergebnisse von *batch2* zu Beginn der Studie darzustellen, wurde gemäß Studienprotokoll an 15 Patientenseren eine Vorabuntersuchung durchgeführt. Jeweils 5 Seren mit bekannten tPSA-Immunitäten von ≤ 4 ng/ml, tPSA-Immunitäten > 4 aber ≤ 10 ng/ml und tPSA-Immunitäten > 10 ng/ml wurden dreimalig in Serie gemessen. Die Vergleichsmessungen wurden nach dem oben dargestellten Standardverfahren mit *batch2*-Testkassetten durchgeführt. Die am Ω 100 ermittelten Ergebnisse wurden nach 15 Minuten abgelesen, da erst zu einem späteren Zeitpunkt der Studie beschlossen wurde, dass auch eine Analyse nach einer Inkubationszeit von 20 Minuten sinnvoll sein könnte. Bei den 15 untersuchten Proben

wurde jeweils das erste der drei tPSA- bzw. fPSA-Bestimmungen für die Validierung des Ω 100 herangezogen.

2.2.5. Stabilität der tPSA- und fPSA-Fraktionen bei Nachmessungen kryokonservierter Seren

Zur Überprüfung potenzieller tPSA- und fPSA-Konzentrationsveränderungen durch Lagerung der Patientenserum bei -80°C wurden 21 Patientenproben, 10 mit einem bekannten tPSA-Immolute-Wert von $\leq 4\text{ ng/ml}$ und 11 mit einem bekannten tPSA-Immolute-Wert von $>4\text{ ng/ml}$, im Zentrallabor der Universitätsklinik Tübingen vom Nachfolger des etablierten Systems Immolute 2000, dem Immolute 2000 XPi, nachgemessen. Die initialen, zum Zeitpunkt des Krankenhausaufenthalts bestimmten tPSA- und fPSA-Werte wurden am Vorgängermodell Immolute 2000 bestimmt. Die Umstellung der Laborsysteme erfolgte zum Jahreswechsel 2011/2012.

2.2.6. Durchführung der Vergleichsmessungen am Immolute 2000 und Ω 100

Um die Messergebnisse der beiden Systeme Immolute 2000 und Ω 100 bezüglich ihrer Wertigkeit vergleichen zu können, wurden mit dem Ω 100 die PSA-Fraktionen tPSA und fPSA derjenigen Patienten bestimmt, die die Studienkriterien erfüllten. Die Werte der Immolute-Bestimmungen lagen entsprechend dem Studienprotokoll bereits vor.

Im Rahmen einer Anfangsanalyse wurden die Ergebnisse der Vorabuntersuchung (vgl. Kap. 2.2.4.) an die Herstellerfirma concile GmbH übermittelt, um die Messgenauigkeit der Testkassettengeneration *batch2* zu überprüfen und zu verbessern. Ergebnis dieses Optimierungsprozesses war die neue Testkassettengeneration *batch3*. Zu Vergleichszwecken wurden 52 Serumanalysen parallel mit *batch2* und *batch3* durchgeführt. Für die restlichen Messungen wurden ausschließlich *batch3*-Kassetten verwendet. Bei allen durchgeführten Validierungsmessungen wurde der oben beschriebene standardisierte Messablauf eingehalten (vgl. Kap. 2.2.3.).

2.2.7. Direkter Vergleich der Resultate der beiden Systeme Immulite 2000 XPi und Ω 100 anhand von Parallelmessungen nicht kryokonservierter Seren

Zur besseren Einordenbarkeit der Validierungsergebnisse wurden an fünf frisch gewonnenen Blutseren ohne vorherige Kryokonservierung parallel tPSA und fPSA am Immulite 2000 XPi und Ω 100 bestimmt. Die Proben wurden innerhalb einer Stunde nach Abnahme zentrifugiert, aliquotiert und gemessen. Ein Aliquot wurde unmittelbar mit dem Immulite 2000 XPi analysiert, während das zweite für die Messung mit *batch3*-Testkassetten am Ω 100 verwendet wurde. Es fand der oben beschriebene standardisierte Messablauf ohne vorheriges Auftauen der Seren Anwendung (vgl. Kap. 2.2.3.). Da die PSA-Bestimmungen am Immulite 2000 XPi und Ω 100 zeitnah durchgeführt wurden, konnte für die untersuchten Proben eine identische Konzentration an tPSA bzw. fPSA vorausgesetzt werden.

2.3. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Softwareprogramm JMP (Version 10, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA). Nach alphabetischer Ordnung der Patienten in der Excel-Urliste wurden die Rohdaten zur Durchführung der statistischen Auswertung in das Statistikprogramm überführt.

2.3.1. Deskriptive Statistik

Anhand von Histogrammen wurden Häufigkeitsverteilungen für die unterschiedlichen Teilkollektive „gesamtes Ω 100-Studienkollektiv“, „*batch3*-Kollektiv“, „histologisch abgesichertes Ω 100-Kollektiv“ und „histologisch abgesichertes *batch3*-Kollektiv“ ermittelt. Für die letzten beiden Kollektive wurden zusätzlich die Verteilungen der tPSA-, fPSA- und %fPSA-Werte beschrieben, welche durch den Immulite 2000 bestimmt wurden.

2.3.2. Analytische Statistik

2.3.2.1. Lineare Regressionsanalyse - Abhängigkeit der an definierten Kollektiven mittels $\Omega 100$ und Immulite 2000 bestimmten PSA-Werte

Die lineare Regressionsanalyse bildet den Zusammenhang zweier stetiger Variablen ab, in diesem Fall die Abhängigkeit der gemessenen PSA- $\Omega 100$ -Werte von den PSA-Immulite-2000-Werten. Das Programm stellt die ermittelten Werte der beiden Systeme für tPSA, fPSA bzw. %fPSA in einem kartesischen Koordinatensystem gegenüber und beschreibt mittels einer Geradengleichung ($y = m \cdot x + b$) sowie einem korrigierten und nicht korrigierten Korrelationskoeffizient r^2 deren Abhängigkeit. Mithilfe der Geradengleichung kann bei Vorhandensein eines Wertes der rechnerische Gegenwert bestimmt werden. Der Korrelationskoeffizient kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen. Werte bei 1 entsprechen einer starken Abhängigkeit, Werte um 0 nicht.

Für die oben definierten Kollektive wurden die Geradengleichung und die Parameter korrigierter und nicht korrigierter Korrelationskoeffizient r^2 für tPSA, fPSA und %fPSA beider Systeme bestimmt.

2.3.2.2. Darstellung der diagnostischen Aussagekraft der beiden Systeme Immulite 2000 und $\Omega 100$ anhand von Receiver-Operating-Characteristic-Kurven

In der Medizin werden Receiver-Operating-Characteristic-(ROC)-Kurven verwendet, um in der Diagnostik eingesetzte qualitative Tests bezüglich ihrer Vorhersagekraft zu charakterisieren. In einem kartesischen Koordinatensystem werden für jeden möglichen Messwert die jeweils zugehörige Sensitivität auf der Ordinate und 1-Spezifität auf der Abszisse abgetragen. In der grafischen Darstellung ergibt sich nach Verbinden der einzelnen Punkte eine Kurve (=ROC-Kurve) mit einer Fläche unter der Kurve (area under the curve, AUC) (s. Abb. 12). Diese Fläche kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen. Der ungünstigste Wert liegt bei 0,5 und beschreibt einen Zufallsprozess (entspricht grafisch einer Diagonalen). Je mehr der Wert gegen 1 geht, desto besser trennen die cut-off-Werte zwischen Test positiv und negativ (Kurve steigt zuerst nahezu senkrecht an und verläuft anschließend nahezu waagrecht, wodurch sich die größtmögliche Fläche unter der Kurve ergibt). Der optimale cut-off, auch Trennwert oder Schwellenwert genannt, ist derjenige Wert, der die Bedingung „Sensitivität mal

Spezifität ist maximal“ erfüllt. Für die definierten Kollektive wurden die jeweiligen AUC und besten cut-off-Werte für tPSA, fPSA und %fPSA der Systeme Immulite 2000 und Ω 100 ermittelt.

2.3.2.3. Beschreibung der diagnostischen Wertigkeiten der beiden Systeme Immulite 2000 und Ω 100 anhand von Kontingenztanalysen

Um einen direkten Vergleich der diagnostischen Güte der beiden Systeme zu ermöglichen, wurden für Immulite 2000 und Ω 100 Kontingenztanalysen für tPSA, fPSA und %fPSA beim jeweils besten cut-off-Wert erstellt. Für die Bestimmung der Testgütekriterien wurde für Immulite 2000 das „histologisch abgesicherte Immulite-Kollektiv“ und für den Ω 100 das „histologisch abgesicherte *batch3*-Kollektiv“ herangezogen. Die Kollektive wurden auf Grund ihrer Ähnlichkeit ausgewählt, damit eine optimale Vergleichbarkeit der beiden Messsysteme gewährleistet ist. Es wurde jeweils derjenige cut-off-Wert eingesetzt, der mittels ROC-Kurven für die entsprechenden Kollektive als bester cut-off-Wert bestimmt wurde.

Die Zuordnung zu „Test positiv/negativ“ für Immulite 2000 und Ω 100 erfolgte anhand der Laborparameter tPSA, fPSA und %fPSA.

Für tPSA und fPSA wurde ein Testergebnis \leq bester cut-off als „Test negativ“, bei $>$ bester cut-off als „Test positiv“ gewertet.

Ein Testergebnis $<$ bester cut-off zeigte für %fPSA „Test positiv“, \geq bester cut-off „Test negativ“ an.

Ein positives Testergebnis spricht für das Vorliegen eines PCa, ein negatives dagegen.

Die Zuordnung „Patient krank/gesund“ erfolgte anhand klinischer Kriterien, der PSA-Werte sowie der histologischen Sicherung. Patienten ohne Hinweis auf ein PCa wurden als „gesund“ klassifiziert, ebenso Patienten mit negativer Histologie. Als „krank“ wurden Patienten mit histologisch nachgewiesenem PCa eingestuft.

Gemäß diesen Einteilungen wurden für die beiden Systeme Immulite 2000 und Ω 100 Kontingenztanalysen mit resultierenden Vier-Felder-Tafeln für tPSA, fPSA und %fPSA nach bestem cut-off-Wert erstellt. Aus den Vier-Felder-Tafeln wurden schließlich die Testwertigkeiten Sensitivität, Spezifität, Akkuratess, positiver und negativer prädiktiver Wert berechnet. Tab. 3 zeigt eine exemplarische Vierfeldertafel.

	Patient gesund	Patient krank	Summe
Test negativ	d	c	c + d
Test positiv	b	a	a + b
Summe	b + d	a + c	

Tab. 3: Darstellung einer Vierfeldertafel mit den Testeigenschaften positiv/negativ und den Patientenmerkmalen Patient gesund/krank.

Dabei waren die Parameter wie folgt definiert:

$$\text{Sensitivität} = \frac{a}{a+c}$$

$$\text{Spezifität} = \frac{d}{b+d}$$

$$\text{Akkuratesse} = \frac{a+d}{a+b+c+d}$$

$$\text{Positiver prädiktiver Wert} = \frac{a}{a+b}$$

$$\text{Negativer prädiktiver Wert} = \frac{d}{c+d}$$

2.4. Datenschutz

Im Rahmen der Datenerhebung und im Umgang mit sämtlichen Patienteninformationen kam die ärztliche Schweigepflicht zum Tragen. Weiterhin fand eine Anonymisierung aller Patienten statt. Dadurch wurde gewährleistet, dass keine Zuordnung der erhobenen Daten zu einem Patientennamen möglich ist. Die Gewinnung, Speicherung und der Umgang mit den Patientendaten erfolgte gemäß den Richtlinien des Datenschutzgesetzes. Der entsprechende Computerarbeitsplatz (Computer mit Betriebssystem Windows XP Professional, Microsoft Corporation, Redmond, USA) war weder mit dem Inter- noch Intranet verbunden, war also an kein Netzwerk gekoppelt, und wurde ausschließlich von autorisierten Personen der Universitätsklinik für Urologie genutzt, die unmittelbar an der Durchführung der Studie bzw. der Erhebung von patientenbezogenen Daten beteiligt waren.

2.5. Ethik

Zur Bewilligung dieser wissenschaftlichen Arbeit wurde der Ethikkommission der zugrundeliegende Prüfplan vorgelegt. Darin wurden neben Titel, Auflistung des Studienleiters und aller Beteiligten, Finanzierung, wissenschaftliche Grundlagen der Studie, Studiendauer und -ziel, Population und Rekrutierungsablauf, Ein- und Ausschlusskriterien, Fallzahl, Studienablauf und zum Einsatz kommende Untersuchungsmethoden auch Erläuterungen zur Gewährleistung des Datenschutzes gemacht. Des Weiteren wurde die Verwendung bereits gewonnener Blutproben angezeigt, die im Rahmen der Gewinnung von Blut und (Rest-)Gewebe für die wissenschaftliche Verwendung asserviert wurden. Die Asservierung wurde durch die Ethikkommission am 04. August 2010 mit dem Votum „zur wissenschaftlichen Verwendung von Gewebematerial“, Votumnummer 379/2010BO2, bewilligt. Darin heißt es, dass alle im Rahmen stationärer und ambulanter Aufenthalte gewonnenen Blutproben für wissenschaftliche Studienzwecke genutzt werden dürfen, sofern von den betreffenden Patienten eine unterschriebene Patientenaufklärung/ Patienteneinwilligung über die „Wissenschaftliche Verwendung von Blut und (Rest-) Gewebe“ vorliegt. Alle Studienpatienten haben durch Unterzeichnen dieser Einwilligungserklärung der Gewinnung, Lagerung und Verwendung ihrer Seren für wissenschaftliche Zwecke zugestimmt. Im April 2012 wurde die Studie durch das positive Ethikvotum mit der Projekt-Nr. 122/2012BO2 angenommen.

3.0. Ergebnisse

3.1. Betrachtete Kollektive

Es wurden unterschiedliche Kollektive mit charakteristischen Eigenschaften definiert, um einerseits die Vergleichbarkeit der Studienergebnisse mit Auswertungen anderer wissenschaftlicher Publikationen zu ermöglichen. Andererseits wurde damit auch dem Erstdiagnostik- bzw. Screening-Gedanken des $\Omega 100$ Rechnung getragen, da durch entsprechende Kollektive realitätsnahe Vorsorgesituationen generiert wurden, die Frage nach dem Vorliegen eines PCa zum Zeitpunkt der jeweiligen Blutentnahmen aber durch histologische Absicherung bereits eindeutig abgeklärt wurde.

3.1.1. Ausgangskollektiv - gesamtes $\Omega 100$ -Studienkollektiv

Insgesamt wurden 473 Seren mit dem $\Omega 100$ analysiert. Durch Anwendung der Ein- und Ausschlusskriterien wurden 3 dieser 473 gemessenen Analyte ausgeschlossen, da die zugehörigen tPSA-Immulate-Werte die Voraussetzungen tPSA-Immulate ≤ 110 ng/ml nicht erfüllten (tPSA 3060, 2743 und 732 in ng/ml). Die zugehörigen Probanden wurden komplett aus der Auswertung genommen. Zusätzlich wurden bei einem Patienten der vom $\Omega 100$ ermittelte fPSA- und der resultierende %fPSA-Wert (tPSA- $\Omega 100=0,01$, fPSA- $\Omega 100=0,92$ in ng/ml, %fPSA- $\Omega 100=92$) für *batch2* nach 15 Minuten ausgeschlossen, da der ermittelte fPSA-Wert im Verhältnis zum zugehörigen tPSA-Wert in höchstem Maße unrealistisch erschien und mit großer Sicherheit auf einen Messfehler zurückzuführen war. Diese Probenausschlüsse sollten einer Verfälschung der Berechnungen vorbeugen. Folglich ergab sich ein „gesamtes $\Omega 100$ -Studienkollektiv“ von $n=470$ Patienten, deren Messungen für die Auswertung dieser Studie herangezogen wurden (s. Tab. 4).

3.1.2. *batch3*-Kollektiv

Da die Testkassettengeneration *batch2* während der Fertigstellung dieser Arbeit von der Nachfolgerserie *batch3* abgelöst und daher nicht mehr von praktischer Relevanz war,

wurden die Messungen mit den Testkassetten *batch3* gesondert betrachtet. Das entsprechende Kollektiv nennt sich „*batch3*-Kollektiv“(s. Tab. 5).

Gruppenzuordnung	1		2		3		4		
n	81 (17,2%)		29 (6,2%)		26 (5,5%)		334 (71,1%)		470 (100%)
Alter in Jahren	Spanne		Mittelwert		Median		Standardabweichung		
Werte	40 - 90		65,3		67		8,6		
<i>batch</i> -Generation	2				3				
n	67 (14,3%)				403 (85,7%)				470 (100%)
Prostatavolumen	bekannt				unbekannt				
n	449 (95,5%)				21 (4,5%)				470 (100%)
Prostatavolumen in ml	Spanne		Mittelwert		Median		Standardabweichung		
Werte	4 - 180		43,3		37		24,9		
Tumor	nein				ja				
n	136 (28,9%)				334 (71,1%)				470 (100%)
Tumorstadien	T2a	T2b	T2c	T3a	T3b	T4	unbekannt		
n	44 (13,1%)	5 (1,5%)	175 (52,4%)	51 (15,3%)	23 (6,9%)	2 (0,6%)	34 (10,2%)		334 (100%)
Nodalstadien	0			1		unbekannt			
n	285 (85,3%)			25 (7,5%)		24 (7,2%)			334 (100%)
Resektionsstatus	0			1		unbekannt			
n	206 (61,6%)			82 (24,6%)		46 (13,8%)			334 (100%)
Histologie	nicht vorhanden				vorhanden				
n	81 (17,2%)				389 (82,8%)				470 (100%)
Gleason Score	5	6	7	8	9	10	unbekannt		
n	1 (0,3%)	63 (18,9%)	229 (68,5%)	18 (5,4%)	21 (6,3%)	1 (0,3%)	1 (0,3%)		334 (100%)

Tab. 4: Verteilungen nach Gruppenzugehörigkeit, Alter, verwendeter Testkassetten, Prostatavolumina, Vorliegen eines Tumors, Tumorstadium, Nodalstatus, Resektionsstatus, Vorhandensein einer Histologie und Gleason-Score innerhalb des „gesamten Studienkollektivs“

n=Probandenzahl.

Gruppenzuordnung	1	2	3	4				
n	65 (16,1%)	24 (6,0%)	26 (6,4%)	288 (71,5%)	403 (100%)			
Alter in Jahren	Spanne	Mittelwert	Median	Standardabweichung				
Werte	42 - 90	65,3	67	8,4				
Prostatavolumen	bekannt			unbekannt				
n	387 (96,0%)			16 (4,0%)		403 (100%)		
Prostatavolumen in ml	Spanne	Mittelwert	Median	Standardabweichung				
Werte	4 - 180	43,9	38	25,7				
Tumor	nein			ja				
n	115 (28,5%)			288 (71,5%)		403 (100%)		
Tumorstadien	T2a	T2b	T2c	T3a	T3b	T4	unbekannt	
n	38 (13,2%)	5 (1,8%)	148 (51,4%)	46 (16,0%)	22 (7,6%)	1 (0,3%)	28 (9,7%)	288 (100%)
Nodalstadien	0		1		unbekannt			
n	245 (85,1%)		22 (7,6%)		21 (7,3%)		288 (100%)	
Resektionsstatus	0		1		unbekannt			
n	179 (62,1%)		69 (24,0%)		40 (13,9%)		288 (100%)	
Histologie	nicht vorhanden			vorhanden				
n	65 (16,1%)			338 (83,9%)			403 (100%)	
Gleason Score	5	6	7	8	9	10	unbekannt	
n	1 (0,3%)	54 (18,8%)	200 (69,5%)	16 (5,6%)	15 (5,2%)	1 (0,3%)	1 (0,3%)	288 (100%)

Tab. 5: Verteilungen nach Gruppenzugehörigkeit, Alter, Prostatavolumina, Vorliegen eines Tumors, Tumorstadium, Nodalstatus, Resektionsstatus, Vorhandensein einer Histologie und Gleason-Score innerhalb des „batch3-Kollektivs“.

n=Probandenzahl.

3.1.3. Histologisch gesichertes Ω 100-Kollektiv

Das „histologisch abgesicherte Ω 100-Kollektiv“ beinhaltet alle Patienten, bei denen zur Sicherung des Prostatastatus eine histologische Abklärung erfolgt ist (s. Tab. 6). In Tab. 7 sind die entsprechenden tPSA-Bestimmungen für dieses Kollektiv dargestellt.

3.1.4. Histologisch gesichertes *batch3*-Kollektiv

Das „histologisch abgesicherte *batch3*-Kollektiv“ beinhaltet alle Patienten, von denen eine histologische Probe vorhanden gewesen und deren tPSA- bzw. fPSA-Bestimmung mit *batch3*-Kassetten durchgeführt worden ist (s. Tab. 8). Die zugehörigen tPSA-Bestimmungen sind in Tab. 9 aufgeführt.

Gruppenzuordnung	1		2		3		4		
n	0 (0,0%)		29 (7,4%)		26 (6,7%)		334 (85,9%)		389 (100%)
Alter in Jahren	Spanne		Mittelwert		Median		Standardabweichung		
Werte	42 - 90		66,1		67		7,9		
<i>batch</i> -Generation	2				3				gesamt
n	51 (13,1%)				338 (86,9%)				389 (100%)
Prostatavolumen	bekannt				unbekannt				
n	384 (98,7%)				5 (1,3%)				389 (100%)
Prostatavolumen in ml	Spanne		Mittelwert		Median		Standardabweichung		
Werte	7,5 - 180		45,4		40		25,7		
Tumor	nein				ja				
n	55 (14,1%)				334 (85,9%)				389 (100%)
Tumorstadien	T2a	T2b	T2c	T3a	T3b	T4	unbekannt		
n	44 (13,2%)	5 (1,5%)	175 (52,4%)	51 (15,2%)	23 (6,9%)	2 (0,6%)	34 (10,2%)		334 (100%)
Nodalstadien	0			1		unbekannt			
n	285 (85,3%)			25 (7,5%)		24 (7,2%)			334 (100%)
Resektionsstatus	0			1		unbekannt			
n	206 (61,7%)			82 (24,5%)		46 (13,8%)			334 (100%)
Gleason Score	5	6	7	8	9	10	unbekannt		
n	1 (0,3%)	63 (18,9%)	229 (68,5%)	18 (5,4%)	21 (6,3%)	1 (0,3%)	1 (0,3%)		334 (100%)

Tab. 6: Verteilungen nach Gruppenzugehörigkeit, Alter, verwendeter Testkassetten, Prostatavolumina, Vorliegen eines Tumors, Tumorstadium, Nodalstatus, Resektionsstatus, Gleason-Score innerhalb des „histologisch abgesicherten Kollektivs“.

n=Probandenzahl.

tPSA-Immulinite 2000	bekannt		unbekannt		
n	389 (100,0%)		0 (0,0%)		389 (100%)
tPSA-Immulinite 2000 in ng/ml	Spanne	Mittelwert	Median	Standardabweichung	
Werte	0,1 – 109	11,4	7,9	13,4	
fPSA-Immulinite 2000	bekannt		unbekannt		
n	386 ¹ (99,2%)		3 (0,8%)		389 (100%)
fPSA-Immulinite 2000 in ng/ml	Spanne	Mittelwert	Median	Standardabweichung	
Werte	0,1 – 11,7	1,2	0,8	1,3	
%fPSA-Immulinite 2000	bekannt		unbekannt		
n	386 ² (99,2%)		3 (0,8%)		389 (100%)
%fPSA-Immulinite 2000	Spanne	Mittelwert	Median	Standardabweichung	
Werte	0,0 – 0,6	0,1	0,1	0,1	

Tab. 7: Verteilungen nach initialem tPSA-Immulinite 2000, initialem fPSA-Immulinite 2000 und initialem %fPSA-Immulinite 2000 innerhalb des „histologisch abgesicherten Kollektivs“.

¹Bei 3 von insgesamt 389 Proben konnte aufgrund zu geringen Probenmaterials keine fPSA-Immulinite-Bestimmung durchgeföhrt werden.

²Aufgrund der fehlenden 3 fPSA-Immulinite-Bestimmungen konnte folglich auch keine %fPSA-Bestimmung erfolgen.

n=Probandenzahl.

tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

fPSA = freies prostataspezifisches Antigen.

%fPSA = Quotient freies/gesamtes prostataspezifisches Antigen.

Gruppenzuordnung	1		2		3		4		
n	0 (0,0%)		24 (7,1%)		26 (7,7%)		288 (85,2%)		338 (100%)
Alter in Jahren	Spanne		Mittelwert		Median		Standardabweichung		
Werte	42 - 90		66,1		67		7,9		338 (100%)
Tumor	nein				ja				
n	50 (14,8%)				288 (85,2%)				338 (100%)
Prostatavolumen	bekannt				unbekannt				
n	334 (98,8%)				4 (1,2%)				338 (100%)
Prostatavolumen in ml	Spanne		Mittelwert		Median		Standardabweichung		
Werte	7,5 - 180		46,2		40		26,5		
Tumorstadien	T2a	T2b	T2c	T3a	T3b	T4	unbekannt		
n	38 (13,2%)	5 (1,8%)	148 (51,4%)	46 (16,0%)	22 (7,6%)	1 (0,3%)	28 (9,7%)		288 (100%)
Nodalstadien	0			1		unbekannt			
n	245 (85,1%)			22 (7,6%)		21 (7,3%)			288 (100%)
Resektionsstatus	0			1		unbekannt			
n	179 (62,2%)			69 (23,9%)		40 (13,9%)			288 (100%)
Gleason Score	5	6	7	8	9	10	unbekannt		
n	1 (0,3%)	54 (18,8%)	200 (69,5%)	16 (5,6%)	15 (5,2%)	1 (0,3%)	1 (0,3%)		288 (100%)

Tab. 8: Verteilungen nach Gruppenzugehörigkeit, Vorliegen eines Tumors, Alter, Prostatavolumina, Tumorstadium, Nodalstatus, Resektionsstatus, Gleason-Score innerhalb des „wissenschaftlichen Kollektivs“.

n=Probandenzahl.

tPSA-Immuline 2000	bekannt		unbekannt		
n	338 (100,0%)		0 (0,0%)		338 (100%)
tPSA-Immuline 2000 in ng/ml	Spanne	Mittelwert	Median	Standardabweichung	
Werte	0,1 – 109	11,4	7,7	14,0	
fPSA-Immuline 2000	bekannt		unbekannt		
n	335 ³ (99,1%)		3 (0,9%)		338 (100%)
fPSA-Immuline 2000 in ng/ml	Spanne	Mittelwert	Median	Standardabweichung	
Werte	0,1 – 11,7	1,3	0,8	1,4	
%fPSA-Immuline 2000	bekannt		unbekannt		
n	335 ⁴ (99,1%)		3 (0,9%)		338 (100%)
%fPSA-Immuline 2000	Spanne	Mittelwert	Median	Standardabweichung	
Werte	0,0 – 0,6	0,1	0,1	0,1	

Tab. 9: Verteilungen nach initialem tPSA-Immuline 2000, initialem fPSA-Immuline 2000 und initialem %PSA-Immuline 2000 innerhalb des „wissenschaftlichen Kollektivs“.

³Bei 3 von insgesamt 338 Proben konnte aufgrund zu geringen Probenmaterials keine fPSA-Immuline-Bestimmung durchgeführt werden.

⁴Aufgrund der fehlenden 3 fPSA-Immuline-Bestimmungen konnte damit auch keine %fPSA-Bestimmung erfolgen.

n = Probandenzahl.

tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

fPSA = freies prostataspezifisches Antigen.

%fPSA = Quotient freies/gesamtes prostataspezifisches Antigen.

3.2. Messungen zur Determinierung technischer Gegebenheiten

3.2.1. Messungen zur Stabilität der Analyte in kryokonserviertem Serum

Zur Überprüfung der Analytstabilität in kryokonserviertem Serum wurden an insgesamt 21 Proben parallel Nachmessungen mit dem Immulite 2000 XPi und dem Ω 100 (Testkassettengeneration *batch2*) durchgeführt. Die Proben wurden durchgängig bei -80°C im Gefrierschrank der Forschungsabteilung der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen gelagert. Es zeigte sich, dass die am Immulite 2000 XPi gemessenen Werte für tPSA im Mittel um 15,3% geringer waren als die initialen Bestimmungen. Auch für das fPSA zeigten sich zumeist niedrigere Resultate als in der ursprünglichen Messung. Im Mittel ergaben sich bei den Nachmessungen im Gegensatz zu den initialen Bestimmungen um 8,0% niedrigere Resultate (s. Tab. 26 im Anhang). Abb. 7 zeigt die lineare Regression zwischen den am Immulite 2000 XPi ermittelten tPSA-Werten vor und nach Lagerung der Proben im Gefrierschrank. Die mittels Immulite bestimmten tPSA-Werteverteilungen vor und nach Lagerung der gekühlten Proben sowie der p-Wert des Wilcoxon-Kruskal-Wallis-Test sind in Abb. 8 dargestellt.

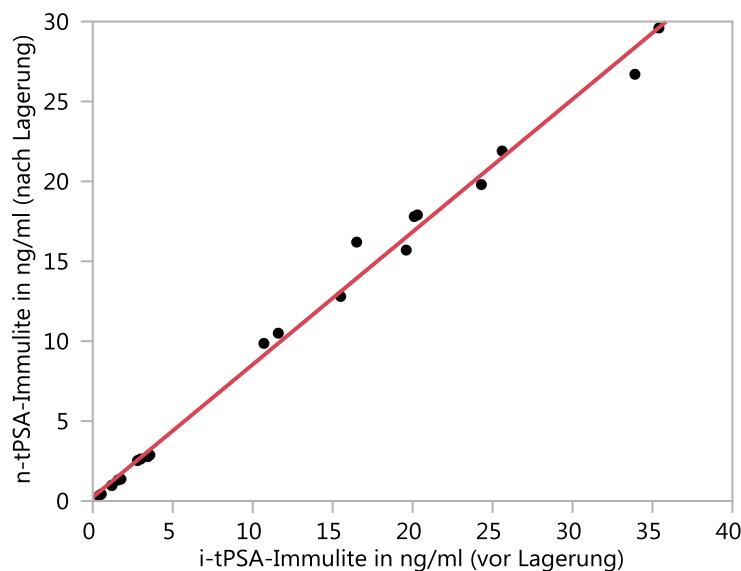


Abb. 7: Darstellung der Korrelation für 21 Messungen von am Immulite 2000 bestimmten tPSA-Werten vor und nach Lagerung im Gefrierschrank.

Regressionsgeradengleichung: $n\text{-tPSA-Immolute} = 0,8 \cdot (i\text{-tPSA-Immolute}) - 0,2$

i-tPSA = gemessenes gesamtes prostataspezifisches Antigen vor Lagerung.

n-tPSA = gemessenes gesamtes prostataspezifisches Antigen nach Lagerung.

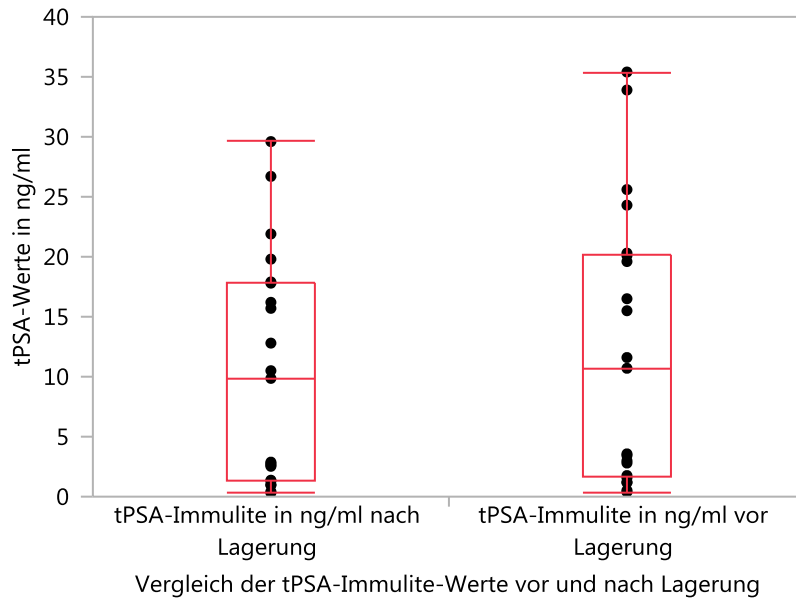


Abb. 8: Darstellung der Verteilungen der 21 am Immulite 2000 bestimmten tPSA-Werte vor und nach Lagerung der gekühlten Proben.

p-Wert im Wilcoxon-Kruskal-Wallis-Test: 0,5050.

tPSA = totales prostataspezifisches Antigen.

3.2.2. Intraindividuelle Messunterschiede des $\Omega 100$

Zur Überprüfung intraindividuelle Messwertabweichungen am $\Omega 100$ desselben Serums wurden 15 Proben jeweils dreimal hintereinander mit *batch2*-Testkassetten bei einem Ableseintervall von 15 min analysiert. Tab. 10 zeigt die Resultate der Mehrfachmessungen. Im Mittel lag die Abweichung der 3 Einzelmessungen von deren Mittelwert für tPSA- $\Omega 100$ bei 12,6% (22 Messungen tiefer, 23 höher als der Mittelwert), für die Gruppe tPSA <4 ng/ml im Durchschnitt bei 17,6% (9 Messungen tiefer, 6 höher als der Mittelwert), für 4 ng/ml \leq tPSA \leq 10 ng/ml bei 7,8% (6 Messungen tiefer, 9 höher als der Mittelwert) und für tPSA >10 ng/ml bei 12,3% (7 Messungen tiefer, 8 höher als der Mittelwert).

Die Ergebnisse nach dreimaligem Messen ergaben für die Einzelmessungen von fPSA- $\Omega 100$ eine durchschnittliche Abweichung von 38,7% vom Mittelwert der 3 Messungen (27 Messungen tiefer, 18 höher als der Mittelwert), für die Gruppe tPSA <4 ng/ml ergab sich im Durchschnitt eine Abweichung von 65,3% (9 Messungen tiefer, 6 höher als der Mittelwert), für 4 ng/ml \leq tPSA \leq 10 ng/ml eine Abweichung von 22,8% (8 Messungen

tiefer, 7 höher als der Mittelwert) und für tPSA >10 ng/ml eine Abweichung von 28,1 % (10 Messungen tiefer, 5 höher als der Mittelwert) (s. Tab. 10).

Gruppe	initiale Werte			Messung 1	Messung 2	Messung 3	Messung 1	Messung 2	Messung 3
	Datum	tPSA Immulate in ng/ml	fPSA Immulate in ng/ml	tPSA in ng/ml	tPSA in ng/ml	tPSA in ng/ml	fPSA in ng/ml	fPSA in ng/ml	fPSA in ng/ml
tPSA < 4 ng/ml	22.09.2010	1,20	0,26	0,577	0,748	0,641	0,010	0,016	0,093
	29.09.2010	0,53	0,12	0,067	0,169	0,076	0,002	0,025	0,015
	04.10.2010	3,00	0,43	1,056	1,401	1,168	0,032	0,141	0,033
	05.10.2010	1,18	0,08	0,360	0,453	0,335	0,039	0,000	0,009
	06.10.2010	3,57	0,97	1,858	1,439	2,183	0,548	0,700	0,500
4 ng/ml ≤tPSA ≤ 10 ng/ml	05.01.2010	6,69	0,85	2,672	3,111	3,183	0,327	0,421	0,261
	06.01.2010	7,43	1,55	2,558	2,202	2,512	0,572	0,473	0,228
	11.01.2010	6,85	0,77	2,017	2,502	2,336	0,300	0,271	0,386
	11.01.2010	9,68	0,73	2,565	2,148	2,072	0,391	0,597	0,495
	13.01.2010	8,42	0,34	2,255	2,356	1,873	0,107	0,194	0,068
tPSA > 10 ng/ml	07.01.2010	25,60	0,75	5,806	6,680	6,787	0,679	0,766	0,452
	07.01.2010	16,50	1,49	4,250	3,341	3,620	0,275	0,064	0,317
	12.01.2010	24,30	2,54	9,357	8,564	7,338	0,815	1,358	1,155
	18.01.2010	11,60	0,81	3,071	3,495	6,023	1,408	1,509	2,550
	21.01.2010	13,10	0,99	3,652	4,040	3,172	0,443	0,297	0,178

Tab. 10: Darstellung der initial mit dem Immulite 2000 ermittelten tPSA- und fPSA-Werte, entsprechend deren Beträge in 3 Gruppen gegliedert, sowie die zugehörigen drei Vergleichsmessungen mit dem $\Omega 100$.

tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

fPSA = freies prostataspezifisches Antigen.

3.2.3. Chargenvergleich der $\Omega 100$ -Testkassetten für tPSA und fPSA

Zur Untersuchung der Vergleichbarkeit der verschiedenen Testkassettengenerationen des $\Omega 100$ wurden bei insgesamt 50 Proben tPSA und fPSA parallel mit *batch2* und dem Nachfolgermodell *batch3* gemessen.

Die *batch3*-Resultate für tPSA lagen im Mittel etwa 14,4% höher als die von *batch2*. Im Vergleich mit *batch2* lieferte *batch3* in 45 Fällen höhere und in 5 Fällen niedrigere Ergebnisse. Die Differenzen für fPSA waren nicht mittelbar, da die Resultate sehr stark schwankten.

3.2.4. Vergleich der $\Omega 100$ -Resultate nach unterschiedlichen Ableseintervallen

Zur Untersuchung der Wertedifferenzen nach unterschiedlichem Ableseintervall am $\Omega 100$ wurden 448 Proben nach 15 min und nach 20 min ausgewertet. Zum Vergleich der Resultate wurden Verhältnisse gebildet $[(tPSA-20min)/(tPSA-15min)]$ bzw. $(fPSA-20min)/(fPSA-15min)$, wobei die Berechnung nur für Nenner $\neq 0$ möglich war. Beim Vergleich der Messergebnisse ohne Unterscheidung nach Messkassettyp ($n=441$, in 7 Fällen Division durch 0 nicht möglich) wiesen die tPSA-Werte nach 20 min durchschnittlich 31,6% höhere Werte auf als nach 15 min. Nach alleiniger Betrachtung von *batch3* ($n=396$, in 7 Fällen Division durch 0 nicht möglich), lagen die tPSA-Werte nach 20 min im Durchschnitt um 35,1% höher. Für die Ablesewerte von fPSA ($n=393$, in 55 Fällen Division durch 0 nicht möglich) ergaben sich im Mittel nach 20 min um 39,4% höhere Resultate als nach 15 min, für *batch3* alleine ($n=350$, in 53 Fällen Division durch 0 nicht möglich) zeigten sich nach 20 min um 35,2% höhere Ergebnisse. Abb. 9 zeigt die lineare Regression zwischen den am $\Omega 100$ mit *batch3* ermittelten tPSA-Werten nach einer Ablesezeit von 15 min gegenüber 20 min. Die mit *batch3* am $\Omega 100$ ermittelten tPSA-Werteverteilungen nach 15 min bzw. 20 min. sind in Abb. 10 dargestellt.

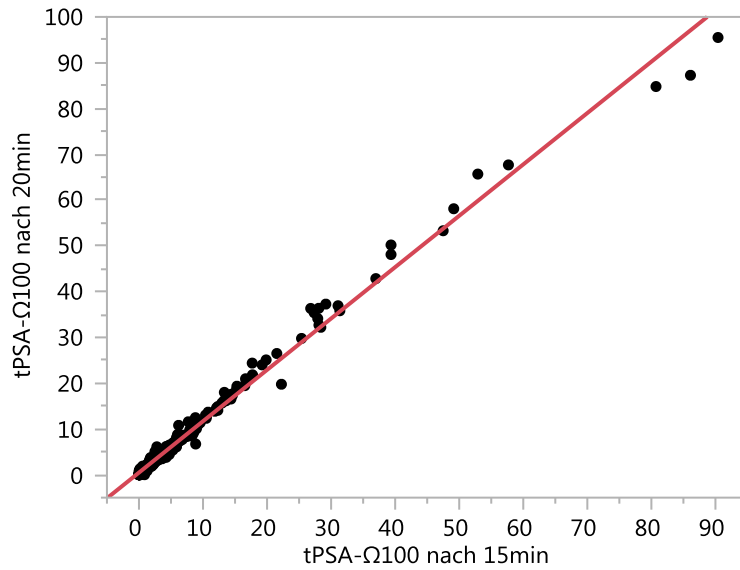


Abb. 9: Darstellung der linearen Regression zwischen am $\Omega 100$ mit *batch3* ermittelten tPSA-Messwerten nach 15 und 20 min Ableseintervall.
 Regressionsgeradengleichung: $tPSA-\Omega 100-20min = 1,1 \cdot (tPSA-\Omega 100-15min) - 0,5$.
 tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

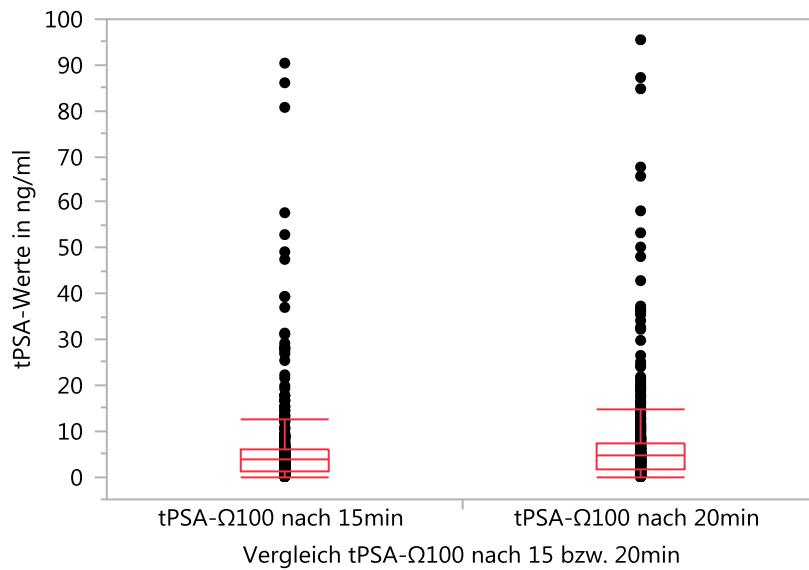


Abb. 10: Darstellung der Verteilungen von am $\Omega 100$ mit *batch3* bestimmten tPSA-Werten nach 15 (n=403) und 20 min (n=403) Ableseintervall.
 p-Wert im Wilcoxon-Kruskal-Wallis-Test: 0,0067.
 tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

3.3. Vergleichsmessungen der Systeme Immulite 2000 und Ω 100 vor dem klinischen Hintergrund der Patienten

3.3.1. Korrelationsanalysen - lineare Regression an definierten Kollektiven

Zur Evaluation der Werteübereinstimmung beider Systeme wurden mittels linearer Regression die Ergebnisse der Ω 100-Messungen mit den Ergebnissen des Immulite 2000 gegeneinander abgetragen (s. Tab. 11-13 sowie Abb. 11).

Für die Auswertung wurden 5 Kollektive (A-E) unterschieden (s. Tab. 4-9):

- A: Das „gesamte Ω 100-Studienkollektiv“ beinhaltet alle Messungen mit *batch2* und *batch3* und Probanden mit und ohne histologische Sicherung bei einem Ableseintervall von 15 min.
- B: Das „gesamte Ω 100-Studienkollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml“ entspricht dem „gesamten Ω 100-Studienkollektiv“ mit der Einschränkung, dass nur diejenigen Messungen einbezogen wurden, bei denen der initial vom etablierten System Immulite 2000 gemessene tPSA-Immulite-Wert ≤ 10 ng/ml betrug.
- C: Das „*batch3*-Kollektiv“ entspricht dem „gesamten Ω 100-Studienkollektiv“ mit der Einschränkung, dass nur Messungen mit *batch3* eingeschlossen wurden.
- D: Das „histologisch abgesicherte *batch3*-Kollektiv“ entspricht dem „*batch3*-Kollektiv“ mit der Einschränkung, dass nur Probanden mit histologischer Sicherung eingeschlossen wurden.
- E: Das „histologisch abgesicherte *batch3*-Kollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml“ entspricht dem „histologisch abgesicherten *batch3*-Kollektiv“ mit der Einschränkung, dass nur diejenigen Messungen einbezogen wurden, bei denen der initial vom etablierten System Immulite 2000 gemessene tPSA-Immulite-Wert ≤ 10 ng/ml betrug.

3.3.1.1. Korrelation zwischen Immulite 2000 und $\Omega 100$ für tPSA-Messungen an fünf definierten Kollektiven

Kollektiv	Regressionsgeradengleichung	Korrelationskoeffizient r^2	korrigierter Korrelationskoeffizient r^2
gesamtes $\Omega 100$ -Studienkollektiv (=A)	$tPSA-\Omega 100 = 0,6 \cdot (tPSA-Immuline) - 0,7$	0,72	0,72
gesamtes $\Omega 100$ -Studienkollektiv bis tPSA-Immuline ≤ 10 ng/ml (=B)	$tPSA-\Omega 100 = 0,5 \cdot (tPSA-Immuline) - 0,002$	0,63	0,63
<i>batch3</i> -Kollektiv (=C)	$tPSA-\Omega 100 = 0,7 \cdot (tPSA-Immuline) - 0,5$	0,73	0,73
histologisch abgesichertes <i>batch3</i> -Kollektiv (=D)	$tPSA-\Omega 100 = 0,7 \cdot (tPSA-Immuline) - 0,6$	0,72	0,72
histologisch abgesichertes <i>batch3</i> -Kollektiv bis tPSA-Immuline ≤ 10 ng/ml (=E)	$tPSA-\Omega 100 = 0,5 \cdot (tPSA-Immuline) + 0,09$	0,55	0,55

Tab. 11: Darstellung der Korrelation zwischen Immulite 2000 und $\Omega 100$ für tPSA-Messungen jeweils für die in 3.3.1. definierten Kollektive A-E anhand von Regressionsgeradengleichungen und dem nicht korrigierten und korrigierten Korrelationskoeffizienten r^2 .

tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

Das für zukünftige klinische Fragestellungen bedeutsamste Kollektiv „histologisch abgesichertes *batch3*-Kollektiv bis tPSA-Immuline ≤ 10 ng/ml“ (=E) wurde gesondert dargestellt, um Korrelationen und Streuungen zwischen den an den beiden Systemen bestimmten tPSA-Werten zu demonstrieren (s. Abb. 11).

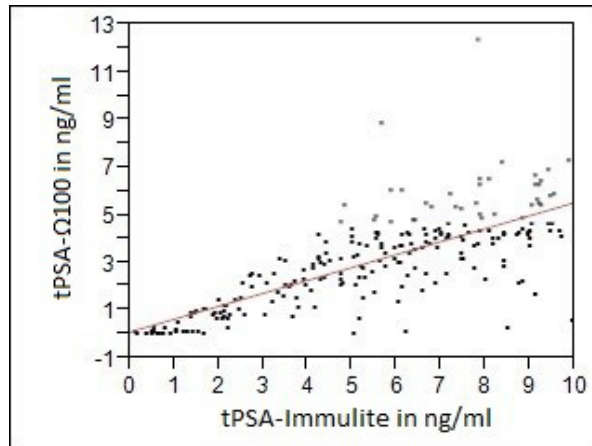


Abb. 11: Darstellung der linearen Regression zwischen tPSA-Messwerten des Immulite 2000 und des Ω100 für das „histologisch abgesicherte *batch3*-Kollektiv bis tPSA-Immunität ≤10 ng/ml“. tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

3.3.1.2 Korrelation zwischen Immulite 2000 und Ω100 für fPSA-Messungen an fünf definierten Kollektiven

Kollektiv	Regressionsgeradengleichung	Korrelationskoeffizient r^2	korrigierter Korrelationskoeffizient r^2
gesamtes Ω100-Studienkollektiv (=A)	$fPSA-Ω100 = 0,7 \cdot (fPSA-Immunität) + 0,1$	0,18	0,18
gesamtes Ω100-Studienkollektiv bis tPSA-Immunität ≤10 ng/ml (=B)	$fPSA-Ω100 = 0,5 \cdot (fPSA-Immunität) + 0,3$	0,01	0,01
<i>batch3</i> -Kollektiv (=C)	$fPSA-Ω100 = 0,7 \cdot (fPSA-Immunität) + 0,1$	0,16	0,16
histologisch abgesichertes <i>batch3</i> -Kollektiv (=D)	$fPSA-Ω100 = 0,7 \cdot (fPSA-Immunität) - 0,02$	0,28	0,28
histologisch abgesichertes <i>batch3</i> -Kollektiv bis tPSA-Immunität ≤10 ng/ml (=E)	$fPSA-Ω100 = 0,7 \cdot (fPSA-Immunität) + 0,07$	0,05	0,05

Tab. 12: Darstellung der Korrelation zwischen Immulite 2000 und Ω100 für fPSA-Messungen jeweils für die in 3.3.1. definierten Kollektive A-E anhand von Regressionsgeradengleichungen und dem nicht korrigierten und korrigierten Korrelationskoeffizienten r^2 . fPSA = freies prostataspezifisches Antigen.

3.3.1.3. Korrelation zwischen Immulite 2000 und Ω 100 für %fPSA-Messungen an fünf definierten Kollektiven

Kollektiv	Regressionsgeradengleichung	Korrelationskoeffizient r^2	korrigierter Korrelationskoeffizient r^2
gesamtes Ω 100-Studienkollektiv (=A)	$\%fPSA-\Omega 100 = 1,0 \cdot (\%fPSA\text{-Immulinite}) + 0,2$	0,02	0,02
gesamtes Ω 100-Studienkollektiv bis tPSA-Immulinite ≤ 10 ng/ml (=B)	$\%fPSA-\Omega 100 = 0,9 \cdot (\%fPSA\text{-Immulinite}) + 0,3$	0,01	0,01
<i>batch3</i> -Kollektiv (=C)	$\%fPSA-\Omega 100 = 0,8 \cdot (\%fPSA\text{-Immulinite}) + 0,2$	0,02	0,02
histologisch abgesichertes <i>batch3</i> -Kollektiv (=D)	$\%fPSA-\Omega 100 = 1,4 \cdot (\%fPSA\text{-Immulinite}) + 0,03$	0,04	0,04
histologisch abgesichertes <i>batch3</i> -Kollektiv bis tPSA-Immulinite ≤ 10 ng/ml (=E)	$\%fPSA-\Omega 100 = 1,4 \cdot (\%fPSA\text{-Immulinite}) + 0,05$	0,03	0,03

Tab. 13: Darstellung der Korrelation zwischen Immulinite 2000 und Ω 100 für %fPSA-Messungen jeweils für die in 3.3.1. definierten Kollektive A-E anhand von Regressionsgeradengleichungen und dem nicht korrigierten und korrigierten Korrelationskoeffizienten r^2 .

%fPSA = Quotient freies/gesamtes prostataspezifisches Antigen.

3.4 Darstellungen zur diagnostischen Aussagekraft von Immulinite 2000 und Ω 100

Im Folgenden sollen die beiden Systeme Immulinite 2000 und Ω 100 bezüglich ihrer diagnostischen Aussagekraft mittels Receiver-Operating-Characteristic-Kurven und Kontingenzanalysen verglichen werden. Deshalb wird im Folgenden jeweils auch die Wertigkeit des etablierten Systems Immulinite 2000 dargestellt. Erst dadurch kann ein Vergleich mit den Resultaten des Ω 100 erfolgen und können Schlussfolgerungen gezogen werden.

Das untersuchte Kollektiv wurde in verschiedene Subkollektive unterteilt, damit einerseits eine repräsentative Alltagssituation, in der die PSA-Bestimmung erfolgt, nachgeahmt wird und andererseits über eine histologische Absicherung ein definitiver

Karzinomstatus belegt ist und somit die ermittelten Testwertigkeiten der Wirklichkeit entsprechen. Durch die unterschiedlichen Bezeichnungen Immulite bzw. $\Omega 100$ soll ersichtlich gemacht werden, mit welchem Gerät die PSA-Werte ermittelt wurden. Durch die Darstellung sich entsprechender Kollektive auf Seiten des Immulite und $\Omega 100$ soll eine anschauliche Vergleichbarkeit erreicht werden.

So sind die Subkollektive „gesamtes Immulite-Studienkollektiv“ (=1) und „gesamtes $\Omega 100$ -Studienkollektiv“ (=A) sowie „gesamtes Immulite-Studienkollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml“ (=2) und „gesamtes $\Omega 100$ -Studienkollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml“ (=B) jeweils identisch. Auf Seiten des Immulite gibt es keine 100 %-ige Entsprechung für das „*batch3*-Kollektiv“ (=C), da die Unterscheidung bzgl. der verwendeten Testkassettengenerationen nur den $\Omega 100$ betreffen. Die Auswahl der Proben, welche mittels *batch2* bestimmt wurden, erfolgte nach dem Zufallsprinzip. Dadurch wurde die Anzahl der Messungen, die anschließend mit *batch3* durchgeführt wurden, reduziert, jedoch blieb die Repräsentativität der übrigen Proben gewährleistet. Dadurch können die darauf aufbauenden Unterkollektive „histologisch abgesichertes *batch3*-Kollektiv“ (=D) bzw. „histologisch abgesichertes *batch3*-Kollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml“ (=E) auf Seiten des $\Omega 100$ mit dem „histologisch abgesicherten Immulite-Kollektiv“ (=3) und „histologisch abgesicherten Immulite-Kollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml“ (=4) in Bezug zueinander gesetzt werden.

So bleibt die Vergleichbarkeit der Ergebnisse der statistischen Auswertung für beide Systeme gegeben und anschaulich.

3.4.1. Bewertung der Wertigkeiten von Immulite 2000 und $\Omega 100$ mittels Receiver-Operating-Characteristic-Kurven

Die diagnostische Aussagekraft der beiden Testsysteme wurde jeweils mittels Receiver-Operating-Characteristic-Kurven dargestellt.

Dabei wurden für beide Systeme exemplarisch die tPSA-ROC-Kurven für das „gesamte Immulite-Studienkollektiv,“ (=1) bzw. „ $\Omega 100$ -Studienkollektiv“ (=A) und aus wissenschaftlichen Gründen für Immulite 2000 das „histologisch abgesicherte Immulite-Kollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml“ (=4) bzw. für den $\Omega 100$ das „histologisch abgesicherte *batch3*-Kollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml“ (=E)

grafisch dargestellt. Bei diesen Kollektiven konnten aufgrund der histologischen Absicherung die Testwertigkeiten sehr realitätsnah abgebildet werden.

3.4.1.1. Diagnostische Aussagekraft des Immulite 2000 und Charakterisierung der untersuchten Kollektive

Die Auswertung der Ergebnisse für Immulite 2000 erfolgte anhand von 4 definierten Kollektiven (1-4), welche folgend beschrieben werden. Die Resultate sind in den Tab. 14-16 sowie Abb. 12 und 13 dargestellt.

- 1: Das „gesamte Immulite-Studienkollektiv“ beinhaltet alle Probanden mit und ohne histologische Sicherung.
- 2: Das „gesamte Immulite-Studienkollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml“ entspricht dem „gesamten Immulite-Studienkollektiv“ mit der Einschränkung, dass nur diejenigen Messungen einbezogen wurden, bei denen der initial gemessene tPSA-Immulite-Wert ≤ 10 ng/ml betrug.
- 3: Das „histologisch abgesicherte Immulite-Kollektiv“ entspricht dem „gesamten Immulite-Studienkollektiv“ mit der Einschränkung, dass nur Probanden mit histologischer Sicherung eingeschlossen wurden.
- 4.: Das „histologisch abgesicherte Immulite-Kollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml“ entspricht dem „histologisch abgesicherten Immulite-Kollektiv“ mit der Einschränkung, dass nur diejenigen Messungen einbezogen wurden, bei denen der initial gemessene tPSA-Immulite-Wert ≤ 10 ng/ml betrug.

3.4.1.1.1. Diagnostische Aussagekraft des Immulite 2000 für tPSA - ROC Analyse

Kollektive	area under the curve	bester cut-off-Wert in ng/ml	Sensitivität bei bestem cut-off in %	Spezifität bei bestem cut-off in %
gesamtes Immulite-Studienkollektiv (=1)	0,830	3,96	86,2	79,4
gesamtes Immulite-Studienkollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml (=2)	0,863	3,96	78,4	90,0
histologisch abgesichertes Immulite-Kollektiv (=3)	0,679	4,23	85,0	54,5
histologisch abgesichertes Immulite-Kollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml (=4)	0,801	4,23	76,5	76,9

Tab. 14: Darstellung von area under the curve, bester cut-off-Wert, Sensitivität und Spezifität bei bestem cut-off für tPSA-Immulite jeweils für die in 3.4.1.1. definierten Kollektive 1-4.
tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

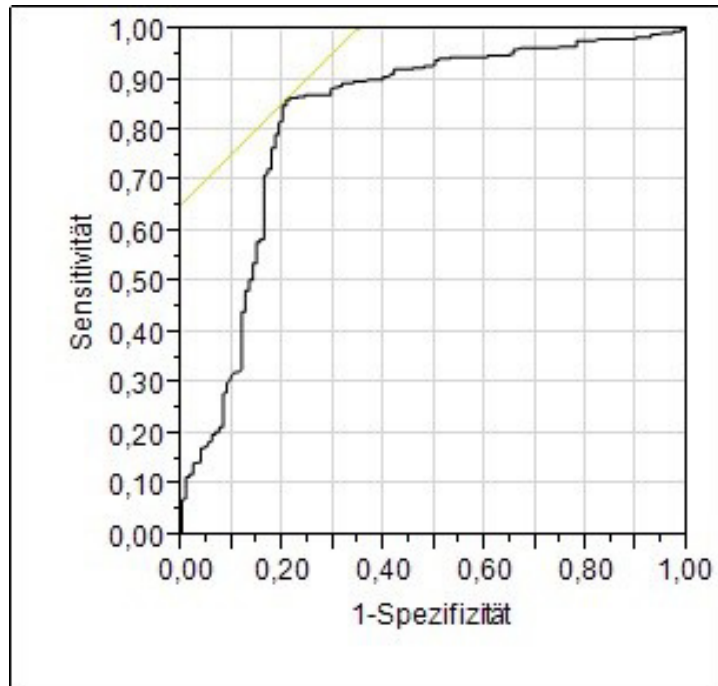


Abb. 12: Darstellung der Receiver-Operating-Characteristic-Kurve des Immulite 2000 für das „gesamte Immulite-Studienkollektiv“ (=1) für tPSA.
 area under the curve: 0,830.
 bester cut-off: tPSA = 3,96 ng/ml.
 tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

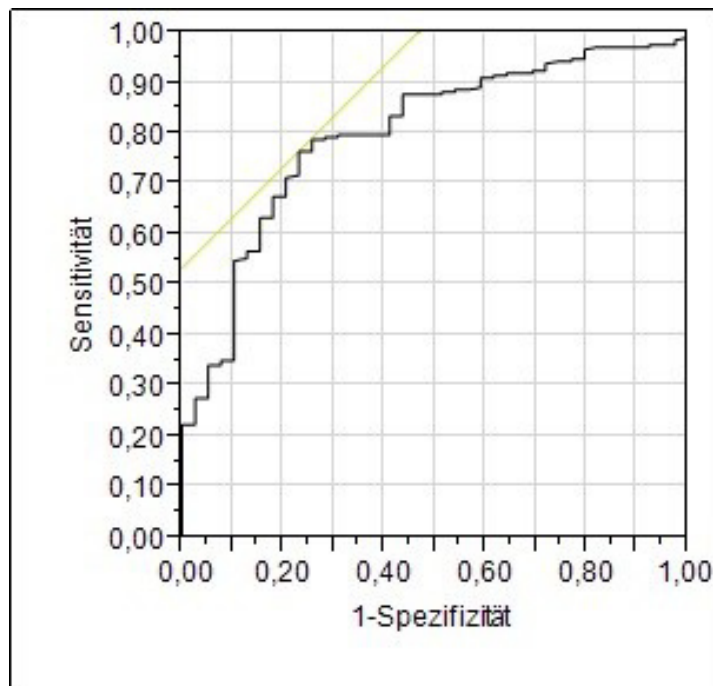


Abb. 13: Darstellung der Receiver-Operating-Characteristic-Kurve des Immulite 2000 für das „histologisch abgesicherte Immulite-Kollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml“ (=4) für tPSA
 area under the curve: 0,801.
 bester cut-off: tPSA = 4,23 ng/ml.
 tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

3.4.1.1.2. Diagnostische Aussagekraft des Immulite 2000 für fPSA - ROC Analyse

Kollektive	area under the curve	bester cut-off-Wert in ng/ml	Sensitivität bei bestem cut-off in %	Spezifität bei bestem cut-off in %
gesamtes Immulite-Studienkollektiv (=1)	0,749	0,54	75,8	72,1
gesamtes Immulite-Studienkollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml (=2)	0,755	0,54***	64,8	80,8
		0,49***	68,1	77,5
histologisch abgesichertes Immulite-Kollektiv (=3)	0,594	0,49	78,3	50,9
histologisch abgesichertes Immulite-Kollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml (=4)	0,678	0,49	68,1	69,2

Tab. 15: Darstellung von area under the curve, bester cut-off-Wert, Sensitivität und Spezifität bei bestem cut-off für fPSA-Immulite Immulite jeweils für die in 3.4.1.1. definierten Kollektive 1-4.

*** Bei der ROC-Analyse für fPSA-Immulite des „gesamten Immulite-Studienkollektivs bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml“ (=2) ergaben sich bei einer AUC von 0,755 zwei beste cut-off-Werte. Dabei unterschieden sich jeweils die Sensitivität und Spezifität. Das Produkt aus Sensitivität und 1-Spezifität ist jedoch bei beiden cut-off-Werten gleich groß.

AUC = area under the curve.

ROC = Receiver-Operating-Characteristic.

tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

fPSA = freies prostataspezifisches Antigen.

3.4.1.1.3. Diagnostische Aussagekraft des Immulite 2000 für %fPSA - ROC Analyse

Kollektive	area under the curve	bester cut-off-Wert in ng/ml	Sensitivität bei bestem cut-off in %	Spezifität bei bestem cut-off in %
gesamtes Immulite-Studienkollektiv (=1)	0,731	0,13	70,6	65,9
gesamtes Immulite-Studienkollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml (=2)	0,702	0,17	55,0	76,5
histologisch abgesichertes Immulite-Kollektiv (=3)	0,694	0,12	74,6	59,9
histologisch abgesichertes Immulite-Kollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml (=4)	0,677	0,19	51,3	80,3

Tab. 16: Darstellung von area under the curve, bester cut-off-Wert, Sensitivität und Spezifität bei bestem cut-off für %fPSA-Immulite jeweils für die in 3.4.1.1. definierten Kollektive 1-4.

tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

%fPSA = Quotient freies/gesamtes prostataspezifisches Antigen.

3.4.1.2. Diagnostische Aussagekraft des $\Omega 100$

Zur Auswertung der ROC-Analyse für $\Omega 100$ wurden dieselben Kollektive wie zur Berechnung der Korrelationsanalysen betrachtet, das „gesamte $\Omega 100$ -Studienkollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml“ (=B) wurde dabei jedoch nicht mehr betrachtet (vgl. Kap. 3.3.1.). Die Ergebnisse der Kollektive A und C-E sind in den Tab. 17-19 sowie Abb. 14 und 15 dargestellt.

3.4.1.2.1. Diagnostische Aussagekraft des Ω 100 für tPSA - ROC Analyse

Kollektive	area under the curve	bester cut-off-Wert in ng/ml	Sensitivität bei bestem cut-off in %	Spezifität bei bestem cut-off in %
gesamtes Ω 100-Studienkollektiv (=A)	0,816	1,94	85,6	73,5
<i>batch3</i> -Kollektiv (=C)	0,801	2,37	79,9	75,6
histologisch abgesichertes <i>batch3</i> -Kollektiv (=D)	0,666	2,74	75,4	60,0
histologisch abgesichertes <i>batch3</i> -Kollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml (=E)	0,756	2,37	70,5	76,5

Tab. 17: Darstellung von area under the curve, bester cut-off-Wert, Sensitivität und Spezifität bei bestem cut-off für tPSA- Ω 100 jeweils für die in 3.3.1. definierten Kollektive A und C-E.
tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

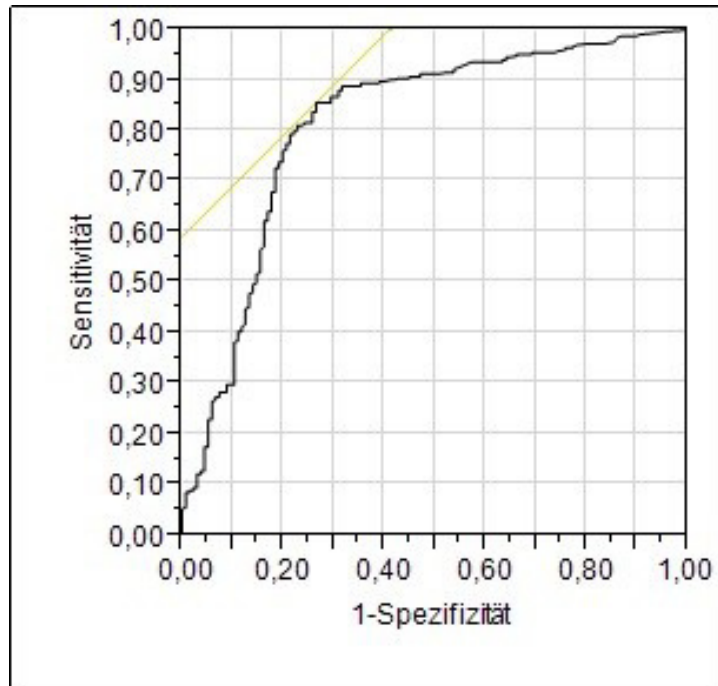


Abb. 14: Darstellung der Receiver-Operating-Characteristic-Kurve des $\Omega 100$ für das „gesamte $\Omega 100$ -Studienkollektiv“ (=A) für tPSA.
 area under the curve: 0,816.
 bester cut-off: tPSA = 1,94 ng/ml.
 tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

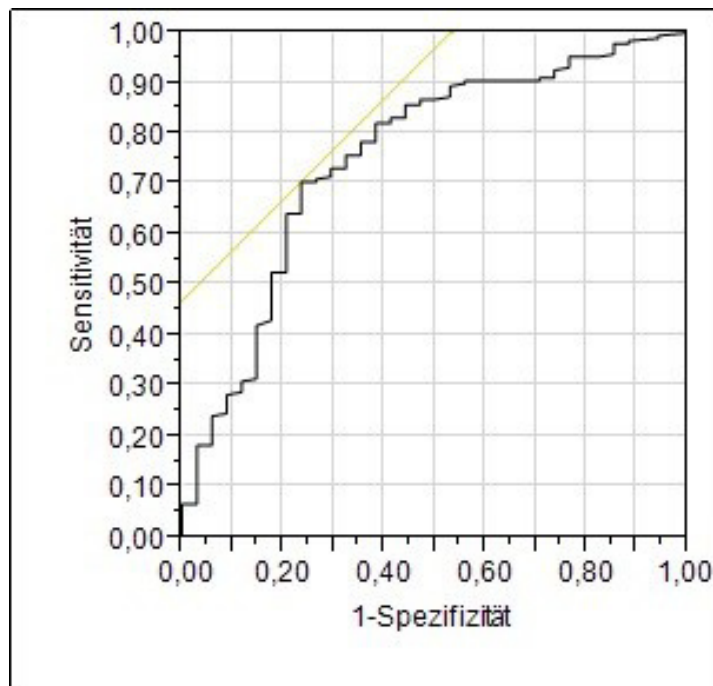


Abb. 15: Darstellung der Receiver-Operating-Characteristic-Kurve des $\Omega 100$ für das „histologisch abgesicherte *batch3*-Kollektiv bis tPSA-Immunität ≤ 10 ng/ml“ (=E) für tPSA.
 area under the curve: 0,756.
 bester cut-off: tPSA = 2,37 ng/ml.
 tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

3.4.1.2.2. Diagnostische Aussagekraft des Ω 100 für fPSA - ROC Analyse

Kollektive	area under the curve	bester cut-off-Wert in ng/ml	Sensitivität bei bestem cut-off in %	Spezifität bei bestem cut-off in %
gesamtes Ω 100-Studienkollektiv (=A)	0,614	0,13	59,0	60,7
<i>batch3</i> -Kollektiv (=C)	0,610	0,10	57,6	60,0
histologisch abgesichertes <i>batch3</i> -Kollektiv (=D)	0,548	1,10	22,6	92,0
histologisch abgesichertes <i>batch3</i> -Kollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml (=E)	0,511	0,01	85,26	23,5

Tab. 18: Darstellung von area under the curve, bester cut-off-Wert, Sensitivität und Spezifität bei bestem cut-off für fPSA- Ω 100 jeweils für die in 3.3.1. definierten Kollektive A und C-E.

tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

fPSA = freies prostataspezifisches Antigen.

3.4.1.2.3. Diagnostische Aussagekraft des Ω 100 für %fPSA - ROC Analyse

Kollektive	area under the curve	bester cut-off-Wert in ng/ml	Sensitivität bei bestem cut-off in %	Spezifität bei bestem cut-off in %
gesamtes Ω 100-Studienkollektiv (=A)	0,564	0,32	29,5	86,1
<i>batch3</i> -Kollektiv (=C)	0,564	0,32	26,6	88,1
histologisch abgesichertes <i>batch3</i> -Kollektiv (=D)	0,561	0,05	62,5	53,2
histologisch abgesichertes <i>batch3</i> -Kollektiv bis tPSA-Immulite ≤ 10 ng/ml (=E)	0,600	0,06	62,5	61,2

Tab. 19: Darstellung von area under the curve, bester cut-off-Wert, Sensitivität und Spezifität bei bestem cut-off für %fPSA- Ω 100 jeweils für die in 3.3.1. definierten Kollektive A und C-E.

tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

%fPSA = Quotient freies/gesamtes prostataspezifisches Antigen.

3.4.2. Beschreibung der diagnostischen Wertigkeiten der beiden Systeme Immulite 2000 und Ω 100 mithilfe von Kontingenzanalysen

Für die Bestimmung der Wertigkeiten des Immulite 2000 wurden ausschließlich Werte von Patienten mit histologischer Sicherung herangezogen (entsprechend „histologisch abgesichertes Immulite-Kollektiv“ [=3]).

Für die Berechnungen der Testwertigkeiten wurden für Ω 100-Messungen nur Messwerte mit *batch3* bei einem Ableseintervall von 15 Minuten bei Patienten mit histologischer Sicherung herangezogen (entsprechend „histologisch abgesichertem *batch3*-Kollektiv“ [=D]).

Zur Determinierung des jeweils geltenden cut-off-Wertes für die Testentscheidung „Test positiv/negativ“ wurde im Falle von Immulite-Bestimmungen der beste cut-off-Wert aus dem „histologisch abgesicherten Immulite-Kollektiv“ (=3) und im Falle von Ω 100-Bestimmungen aus dem „histologisch abgesicherten *batch3*-Kollektiv“ (=D) herangezogen. Für die Entscheidung „Test negativ“ wurden dabei alle Werte \leq cut-off (im Falle %fPSA $>$ cut-off) benannt, „Test positiv“ ist bei Werten $>$ cut-off (im Falle von %fPSA $<$ cut-off) determiniert worden.

3.4.2.1. Kontingenzanalysen der beiden Systeme Immulite 2000 und Ω 100 für tPSA nach jeweils bestem cut-off

Nach Durchführung der Kontingenzanalysen und Erhalt der resultierenden Vierfeldertafeln für die Systeme Immulite 2000 und Ω 100 für tPSA, fPSA und %fPSA nach bestem cut-off für die oben genannten Kollektive (s. Tab. 20 und 21) wurden die entsprechenden Testwertigkeiten ermittelt (s. Tab. 22-24).

n Gesamt % Spalte % Zeile %	histologisch kein Prostatakarzinom	histologisch gesichertes Prostatakarzinom	
tPSA-Immuline ≤cut-off	30 7,71 54,55 37,04	51 13,11 15,27 62,96	81 20,82
tPSA-Immuline >cut-off	25 6,43 45,45 8,12	283 72,75 84,73 91,88	308 79,18
	55 14,14	334 85,86	389

Tab. 20: Darstellung der Vierfeldertafel für Immuline 2000 für das „histologisch abgesicherte Immuline-Kollektiv“ (=3) für tPSA nach bestem cut-off.

bester cut-off: 4,23 ng/ml.

tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

n Gesamt % Spalte % Zeile %	histologisch kein Prostatakarzinom	histologisch gesichertes Prostatakarzinom	
tPSA-Ω100 ≤cut-off	30 8,88 60,00 29,41	72 21,30 25,00 70,59	102 30,18
tPSA-Ω100 >cut-off	20 5,92 40,00 8,47	216 63,91 75,00 91,53	236 69,82
	50 14,79	288 85,21	338

Tab. 21: Darstellung der Vierfeldertafel für Ω100 für das „histologisch abgesicherte *batch3*-Kollektiv“ (=D) für tPSA nach bestem cut-off.

bester cut-off: 2,74 ng/ml.

tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

	Ω100	Immuline 2000
Spezifität in %	60,0	54,6
Sensitivität in %	75,0	84,7
Akkuratesse in %	72,8	80,5
positiver prädiktiver Wert	91,5	91,9
negativer prädiktiver Wert	29,4	37,0

Tab. 22: Vergleichende Darstellung der Spezifität, Sensitivität, Akkuratesse, des positiven und negativen prädiktiven Wertes für Immuline für das „histologisch abgesicherte Immuline-Kollektiv“ (=3) und für Ω100 für das „histologisch abgesicherte *batch3*-Kollektiv“ (=D) für tPSA nach bestem cut-off.

tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

3.4.2.2. Kontingenztanalysen der beiden Systeme Immulite 2000 und $\Omega 100$ für fPSA nach jeweils bestem cut-off

	$\Omega 100$	Immulite 2000
Spezifität in %	92,0	50,9
Sensitivität in %	22,2	77,6
Akkuratesse in %	32,5	73,8
positiver prädiktiver Wert	94,1	90,5
negativer prädiktiver Wert	17,0	27,5

Tab. 23: Vergleichende Darstellung der Parameter Spezifität, Sensitivität, Akkuratesse, des positiven und negativen prädiktiven Wertes für Immulite für das „histologisch abgesicherte Immulite-Kollektiv“ (=3) und für $\Omega 100$ für das „histologisch abgesicherte *batch3*-Kollektiv“ (=D) für fPSA nach bestem cut-off. fPSA = freies prostataspezifisches Antigen.

3.4.2.3. Kontingenztanalysen der beiden Systeme Immulite 2000 und $\Omega 100$ für %fPSA nach jeweils bestem cut-off

	$\Omega 100$	Immulite 2000
Spezifität in %	62,5	74,6
Sensitivität in %	54,2	59,6
Akkuratesse in %	55,4	61,7
positiver prädiktiver Wert	89,6	93,4
negativer prädiktiver Wert	18,6	23,3

Tab. 24: Vergleichende Darstellung der Parameter Spezifität, Sensitivität, Akkuratesse, des positiven und negativen prädiktiven Wertes für Immulite für das „histologisch abgesicherte Immulite-Kollektiv“ (=3) und für $\Omega 100$ für das „histologisch abgesicherte *batch3*-Kollektiv“ (=D) für %fPSA nach bestem cut-off. %fPSA = Quotient freies/gesamtes prostataspezifisches Antigen.

3.5. Vergleichsmessungen der beiden Systeme Immulite 2000 XPi und $\Omega 100$ an frisch gewonnenen Seren

Exemplarisch wurden parallel an 5 nicht kryokonservierten Seren Immulite 2000 XPi¹- und $\Omega 100$ -Bestimmungen durchgeführt. Dabei wurden für den $\Omega 100$ *batch3*-Kassetten verwendet und eine Ablesezeit von 15 min eingehalten. Es ergaben sich die in Tab. 25 gezeigten Werte.

¹ Anmerkung: Zum Jahreswechsel 2011/2012 erfolgte die Umstellung von Immulite 2000 auf Immulite 2000 XPi (vgl. Kap. 2.2.7.)

Probe	tPSA- Immulite in ng/ml	fPSA- Immulite in ng/ml	%fPSA- Immulite	tPSA- Ω100 in ng/ml	fPSA- Ω100 in ng/ml	%fPSA- Ω100
1	7,27	1,16	0,16	4,33	0,02	0,01
2	6,33	0,71	0,11	4,74	0,53	0,11
3	15,30	1,60	0,10	9,58	0,03	0,00
4	5,78	1,45	0,25	4,43	0,00	0,00
5	0,37	0,10	0,27	0,13	0,00	0,00

Tab. 25: Darstellung der vergleichenden Messungen 5 nicht kryokonservierter Proben mittels Immulite 2000 XPi und Ω100 für tPSA, fPSA und %fPSA.

tPSA = gesamtes prostataspezifisches Antigen.

fPSA = freies prostataspezifisches Antigen.

%fPSA = Quotient freies/gesamtes prostataspezifisches Antigen.

Beim Vergleich der ermittelten tPSA-Werte, wobei tPSA-Immulite als 100% gesetzt wurde, wiesen die tPSA-Ω100-Messungen im Mittel um 38,3% tiefere Resultate auf als die Immulite-2000-XPi-Messungen, die fPSA-Ω100-Werte zeigten sich durchschnittlich um 84,3% niedriger als die Immulite-2000-XPi-Werte. Allerdings resultierte diese deutliche Abweichung auch aus 2 von 5 [=40%] fPSA-Ω-Werten=0 (s. Tab. 25). Damit zusammenhängend wurden auch die %fPSA-Ω100-Werte um 78,8% tiefer berechnet.

3.6 Anmerkungen zur Bedienbarkeit des Ω100

Während der praktischen Durchführung der PSA-Messungen sollte der Ω100 nicht nur bezüglich seiner Analysefähigkeit im Vergleich zum etablierten System Immulite 2000 bzw. Immulite 2000 XPi untersucht werden, sondern darüber hinaus sollten auch subjektive Aspekte der Bedienbarkeit dokumentiert werden. Zwei Aspekte, die Bedienbarkeit des Systems betreffend, sind nachfolgend aufgeführt.

3.6.1. Tastenfelder des Ω100

Bei der Handhabung des Analysegeräts ist die manuelle Eingabe der Patientendaten in den Ω100 als sehr aufwendig empfunden worden. Besonders die Belegung einer Drucktaste mit mehreren Buchstaben, ähnlich einer Mobilfontastatur, ist in diesem

Zusammenhang als äußerst ineffizient beschrieben worden, v.a. wenn viele neue Patientennamen hintereinander eingegeben wurden.

3.6.2. Abschaltautomatik des Ω 100

Der Ω 100 verfügt über eine integrierte Abschaltautomatik, welche das Gerät automatisch etwa 15 bis 20 Minuten nach der letzten Tasteneingabe abschält. Allerdings ist es für den Ablauf einer Messung fundamental, dass sich das Analysegerät nicht während einer Messung, also zwischen Inkubation und Ableseintervall, selbstständig ausschalten kann, da bei einem erneuten Hochfahren des Ω 100 der vorgeschriebene Ablesezeitpunkt von 15 bzw. 20 Minuten aufgrund des Bootvorgangs und erneuter manueller Auswahl der Patientendaten versäumt werden kann.

4.0. Diskussion

Die vorliegende Studie sollte der Evaluierung des Testsystems $\Omega 100$ der Firma concile GmbH dienen. Um die Resultate der PSA-Bestimmungen unter Point-of-Care (POC) - Bedingungen besser einordnen zu können, wurde ein Vergleichssystem herangezogen, in diesem Fall der Immulite 2000 bzw. Immulite 2000 XPi von Siemens. Durch den Vergleich mit einem bereits etablierten System kann die Wertigkeit des $\Omega 100$ in der Diagnostik des PCa beschrieben werden. Des Weiteren sollte der praktische Umgang und die klinische Einsatzbarkeit des Gerätes erprobt werden.

4.1. Diagnostik des Prostatakarzinoms aus Körperflüssigkeiten

Neben den klinischen Untersuchungsmethoden, wie der DRU oder des TRUS, gibt es andere diagnostische Parameter aus menschlichen Körperflüssigkeiten, die die Detektion eines PCa ermöglichen.

Einen solchen Parameter stellt das PCA3 dar, welches bereits in der Einleitung näher beschrieben wurde (vgl. Kap. 1.5.2.4.).

Ein weiterer Marker ist das Annexin A3. Im Gegensatz zum PSA ist die Korrelation zwischen Annexin A3 und dem PCa invers, d.h. je höher die Konzentration von Annexin A3 im Exprimaturin ist, desto weniger wahrscheinlich liegt ein Karzinom vor. Seine Qualität als Tumormarker wurde von zahlreichen Studiengruppen untersucht, darunter auch von Schostak *et al.*. In einer Studie mit 591 Patienten wurde für die Kombination aus Annexin A3 und PSA für eine tPSA-Spanne von 2 bis 6 ng/ml eine AUC von 0,82 beschrieben(192, 193). Allerdings hat sich aufgrund fehlender Normierungsmöglichkeiten für ein Protein im Urin dieser Wert noch nicht klinisch durchgesetzt.

Neben den bereits erwähnten Parametern gibt es noch weitere, deren Eignung als Tumormarker zur Detektion des PCa gegenwärtig in mehreren Studien erforscht und diskutiert wird. Beispiele hierfür sind das hK 2, die Zitratbestimmung mittels Europium-Oxytetracyclin oder auch das Enzym Alpha-Methylacyl-CoA-Racemase (AMACR) im Prostatagewebe(179, 194, 195).

Trotz dieser teils vielversprechenden Tumormarker ist das PSA der am intensivsten erforschte Parameter in der Diagnostik des PCa und findet weltweite Anwendung. Solange die Eignung anderer Parameter zur PCa-Detektion nicht in weiteren Studien erforscht und belegt wird, wird das PSA in diesem Zusammenhang der wohl am meisten eingesetzte Laborwert bleiben.

4.2. Messung des prostataspezifischen Antigens und Ergebnisinterpretation

Bereits in den 1970er Jahren beschäftigten sich mehrere Arbeitsgruppen mit dem Nachweis von der Prostata sezernierter Stoffe(196). Daraus folgte die Entdeckung und Beschreibung des PSA, welches zuerst in der Therapieüberwachung, später auch in der Primärdiagnostik des PCa Anwendung fand(97).

Hoffman *et al.* bescheinigten in ihrer Studie mit 2620 Patienten (930 mit und 1690 ohne PCa) dem tPSA für den cut-off-Wert von 4ng/ml eine Sensitivität von 86% und eine Spezifität von 33%. In der durchgeführten ROC-Analyse lag die AUC bei 0,67(197). Das verdeutlicht, warum der Stellenwert des PSA in der PCa-Diagnostik nach wie vor sehr hoch ist. Untermauert wird dies durch eine Untersuchung von Jung *et al.*. Sie haben mit dem Immulite-System an 149 Patienten tPSA-, fPSA- und %fPSA- Bestimmungen durchgeführt. Die AUC der ROC-Analysen für tPSA betrug 0,721, für fPSA 0,528 und für %fPSA 0,872. Für tPSA (cut-off von 4ng/ml), %fPSA (cut-off von 15%) und tPSA+%fPSA lagen die Sensitivität jeweils bei 89%, 87% und 96%, die Spezifität bei 46%, 78% und 88%. Die Ergebnisse zeigen, dass die Bestimmung von fPSA und %fPSA zusätzliche Informationen für die Diagnostik des PCa erbringen(198).

Okihara *et al.* beschäftigten sich mit der Untersuchung des cPSA und Eignung als diagnostischen Marker in der Diagnostik des PCa. Für einen cut-off Wert des cPSA von 3,0ng/ml wurde eine vergleichbare Sensitivität wie für das tPSA mit einem cut-off Wert von 4,0ng/ml beschrieben(199).

Das [-2]proPSA, eine weitere Subfraktion des PSA, verbessert laut Sokoll *et al.* und Stephan *et al.* signifikant die Detektionsrate von PCa(200, 201). Auch Jansen *et al.* kommen zu dem Ergebnis, dass die Bestimmung von [-2]proPSA zusätzliche Aussagekraft in der Diagnostik des PCa bringt, besonders wenn es mit den Parametern tPSA und fPSA kombiniert wird(135). Aus den eben dargestellten Daten ist ersichtlich,

dass die unterschiedlichen PSA-Formen einen Beitrag in der Diagnostik des PCa leisten können.

Entsprechend den Leitlinien wird bei tPSA-Werten >4 ng/ml eine Prostatabiopsie empfohlen. Wenn klinische Auffälligkeiten festgestellt werden, kann eine histologische Untersuchung auch schon bei niedrigeren Werten durchgeführt werden. Problem des multivariaten Biopsieentscheids ist jedoch die Tatsache, dass äußere Faktoren die Höhe des PSA beeinflussen können und die verschiedenen Fraktionen fälschlicherweise zu hoch bzw. beim fPSA zu niedrig bestimmt werden. Da die Messwerte einen elementaren Beitrag zur Biopsieentscheidung leisten, ist es wichtig, eine akzidentielle Falschbestimmung ausschließen zu können. Wesentlichen Einfluss auf die PSA-Konzentration im Blut hat laut Gui-Zhong *et al.* die Prostatitis(202). Weiterhin beeinflussen auch sportliche Betätigungen wie beispielsweise das Fahrradfahren, bei dem die Prostatagegend massiert wird, den messbaren PSA-Wert. Es wird angenommen, dass sich durch die körperliche Aktivität der Blutfluss im Bereich der Prostata erhöht und dadurch mehr PSA ins Blut freigesetzt wird. In einer Studie mussten Probanden ein Fahrradergometer für 15 Minuten mit mindestens 100 Watt antreiben. Die gemessene PSA-Konzentration stieg bis auf etwa das Dreifache im Vergleich zum Ausgangswert in Ruhe an(203). Auch klinische Untersuchungen wie die DRU und die Stanzbiopsie können das PSA-Level beeinflussen(102, 204). Für sich betrachtet, beeinflusst auch das Prostatavolumen den im Blut messbaren PSA-Wert gesunder Patienten(205). Aufgrund der Probleme bei der Interpretation grenzwertig erhöhter PSA-Werte müssen die Begleitumstände, unter deren die PSA-Bestimmung stattgefunden hat, immer mitberücksichtigt werden.

4.3. Analysesysteme, Screening und Interpretationsdilemma

Heutige Analysesysteme können innerhalb kurzer Zeit viele Patientenproben untersuchen und die Resultate ausgeben. Aufgrund dieser Tatsache und der Eignung des PSA als Marker in der Diagnostik des PCa ist die PSA-Bestimmung in der Krebsvorsorge Routine geworden. Das PSA-Screening hatte zur Folge, dass mehr Tumoren entdeckt wurden, der Anteil behandlungsbedürftiger Karzinome jedoch gering war. Viele Patienten wären verstorben ohne die Symptome des PCa wahrgenommen zu

haben. Außerdem lassen sich manche der zu erwartenden Komplikationen eines PCa gut behandeln. Dieser Sachverhalt gab Anlass zur Diskussion über das PSA-Screening. Einige Autoren verurteilen das Einführen des PSA-Screenings wegen des hohen Aufwands und des nur geringen Nutzens. Nur wenige behandlungsbedürftige Tumoren würden entdeckt und aufgrund der Überdiagnostizierung an low-risk Karzinomen käme es zu einer Übertherapie, die mit vielen Komplikationen für die Patienten einhergeht. Andere vertreten die Meinung, dass das Screening nützlich sei und man der Überdiagnostizierung mit geeigneten Therapiemaßnahmen, wie dem active surveillance, entgegenzutreten könne (206, 207).

Um bei Patienten, deren PSA-Wert im Graubereich liegt und bei denen die klinischen Untersuchungen das Vorliegen eines PCa nicht eindeutig ausschließen können, unnötige Stanzbiopsien zu vermeiden, wurden weitere PSA-abhängige Parameter eingeführt, mit denen die Entscheidung zur Biopsie erleichtert werden kann. Einerseits wurden altersabhängige PSA-Schwellenwerte festgelegt, sodass es keinen universellen PSA-Wert gibt, ab dem eine Biopsie durchgeführt werden soll. Des Weiteren können die PSA-Dichte und die PSA-Anstiegsgeschwindigkeit bestimmt werden. Mithilfe dieser Werte und v.a. deren Kombination, soll die Rate an unnötigen Biopsien gesenkt und Karzinome, die einer schnellen Therapieeinleitung bedürfen, aufgedeckt werden (208-210).

Die Beantwortung der Frage, ab welchem PSA-Wert eine Histologie gewonnen werden soll, wird durch die Tatsache, dass es auf dem Markt viele Hersteller unterschiedlicher Messsysteme gibt, die unterschiedliche PSA-Fraktionen bestimmen und deren absolute Ergebnisse nicht vergleichbar sind, nicht erleichtert.

4.4. Unterschiedliche Systeme zur Bestimmung des prostataspezifischen Antigens

Derzeit sind verschiedene Systeme zur Bestimmung des PSA und dessen Unterfraktionen kommerziell erhältlich. Eine Auflistung der am meisten eingesetzten Systeme ist in Tab. 1 in der Einleitung dargestellt. Die Vergleichbarkeit der Resultate der einzelnen Systeme stellt im klinischen Alltag ein Problem dar. Stephan *et al.* haben tPSA und fPSA bzw. cPSA-Bestimmungen an 5 unterschiedlichen Systemen durchgeführt, AxSYM (Abott), Access (Beckman Coulter), Immulite 2000 (Siemens),

Elecsys 2010 (Roche) und ADVIA Centaur (Bayer). Dabei zeigten alle Systeme ähnliche AUCs für tPSA (0,70 bis 0,72) und %fPSA (0,77 bis 0,81). Auch bei einer festgesetzten Sensitivität von 90% erzielten alle Geräte vergleichbare Spezifitäten, jedoch bei individuellem cut-off Wert. Wurde der cut-off-Wert für tPSA bzw. %fPSA für alle Geräte gleichgesetzt, so fielen die Resultate für die einzelnen Systeme unterschiedlich aus, v.a. für %fPSA. Diese Unterschiede zeigten sich auch bei den Systemen, die nach dem WHO-Standard kalibriert wurden. Ein einheitlicher cut-off erscheint demnach nicht sinnvoll. Im klinischen Alltag kann es also problematisch sein, wenn verschiedene PSA-Analysesysteme mit unterschiedlichen Grenzwerten eingesetzt werden(211). In einer weiteren Publikation wurden die Systeme AxSYM (Abott), Access (Beckman Coulter), Immulite 2000 (Siemens), Elecsys 2010 (Roche) und ADVIA Centaur (Bayer) bezüglich der Austauschbarkeit der PSA-Resultate und der diagnostischen Wertigkeit untersucht. Bei der Bestimmung des tPSA zeigten sich Unterschiede in der Höhe der Werte. So variierten die Werte von 87% (AxSYM, ADVIA Centaur) bis 115% (Immulite), wobei die mit dem Access-System ermittelten tPSA-Werte als Referenz galten. Des Weiteren konnte nachgewiesen werden, dass, obwohl die Gerätehersteller angaben, die WHO-Standard-Kalibration durchgeführt zu haben, die verschiedenen Systeme nicht alle PSA-Isoformen äquimolar bestimmen. AxSYM und ADVIA Centaur würden demnach bei der tPSA-Bestimmung freies und gebundenes PSA äquimolar messen, während beispielsweise beim Elecsys 2010 das freie PSA überrepräsentiert wird. Weitere mögliche Gründe dafür, dass die Resultate der verschiedenen Geräte nicht miteinander vergleichbar sind, sind strukturelle Unterschiede der eingesetzten PSA-Antikörper oder auch technische Variationen der einzelnen Geräte(187).

4.5. Messung des prostataspezifischen Antigens im Point-of-Care-setting

Im klinischen Alltag werden in vielen Bereichen zunehmend POC-Systeme verwendet, beispielsweise zur Blutgasanalyse, Hämoglobinbestimmung bei der Blutspende oder auch Blutglukosekonzentrationsbestimmung auf Station(212). POC-Geräte bieten zahlreiche Vorteile gegenüber den stationären Systemen im Zentrallabor. Nach Gewinnung der zu analysierenden Probe liegt das Resultat meist innerhalb von

Sekunden bis wenigen Minuten vor. Des Weiteren fallen durch die Probenanalysen vor Ort unnötige Transportwege weg. Dies bedeutet eine finanzielle und zeitliche Ersparnis. Meist ist die Bedienung der Geräte für jedermann innerhalb kurzer Zeit zu erlernen. Auch aus wirtschaftlicher Sicht bieten POC-Systeme Vorteile, da Anschaffung und Unterhalt im Vergleich zu den stationären Laborgeräten wesentlich kostengünstiger ist. Für den ambulanten Bereich können POCT-Geräte eine Bereicherung darstellen, da sich die stationären, etablierten Systeme zur PSA-Bestimmung, mit denen die Analyse von sehr vielen Proben in kurzer Zeit möglich ist, aufgrund fehlender Auslastung für die meisten Arztpraxen nicht lohnen. Außerdem erscheint es sinnvoll, urologischen Patienten eine schnelle PSA-Bestimmung anbieten zu können. Beispielsweise würde für Patienten mit auffälligem Tast- oder Ultraschallbefund eine längere Periode der Ungewissheit entfallen, da mittels POC-Bestimmung schnell ein aussagekräftiger PSA-Wert vorliegen könnte. Dies würde eine psychische Entlastung für viele Patienten bedeuten(213). Ferner könnten bei einigen Patienten die Compliance und die Bereitschaft steigen, an Vorsorgeuntersuchungen teilzunehmen, da viele Patienten eine DRU ablehnen. Für den niedergelassenen Urologen würde die Einführung von POC-Geräten Vorteile bieten, denn es müsste nicht jede Blutprobe zur PSA-Bestimmung in ein externes Labor geschickt werden, sondern die Praxismitarbeiter könnten während des Arzt-Patienten-Gesprächs eine entsprechende Analyse durchführen und das Resultat dem Arzt mitteilen, sodass dieses noch mit dem Patienten in der Praxis besprochen werden kann und je nach Befund weitere Schritte eingeleitet werden können. Das Betreiben eines solchen POC-Gerätes bedürfte keiner Laborzulassung und könnte direkt mit der Krankenkasse abgerechnet werden.

Natürlich müssen vor Einführung eines solchen POC-Systems dessen diagnostische Wertigkeit belegt sowie die Messergebnisse mit denen von etablierten Geräten vergleichbar sein. Der $\Omega 100$ der Firma concile GmbH stellt ein solches Gerät dar und könnte für die Bestimmung von tPSA, fPSA und resultierend auch %fPSA, im POC-setting eingesetzt werden.

4.6. Diagnostische Wertigkeit des $\Omega 100$

4.6.1. $\Omega 100$ zur Messung des tPSA

Anhand linearer Regressionsanalysen wurden die mit dem $\Omega 100$ bestimmten tPSA-Werte mit denen des bereits etablierten Systems Immulite 2000 verglichen. Dabei zeigte sich für alle Kollektive eine Abhängigkeit der Resultate beider Geräte. Das spiegelt jeweils der entsprechende Korrelationskoeffizient wieder. Für das „gesamte $\Omega 100$ -Studienkollektiv“ (=A) beispielsweise betrug dieser 0,72, die Geradengleichung für tPSA- $\Omega 100$ lautete $y=0,6 \cdot x-0,7$. Auch eine Arbeit über ein anderes PSA-POC-Gerät zeigte eine gute Übereinstimmung mit den bereits etablierten Systemen Immulite 2000 (Siemens) und Elecsys (Roche). Ein Einsatz zur PSA-Kontrolle nach erfolgter RPE wurde aufgrund fehlender Sensitivität in diesem niedrigen Konzentrationsbereich allerdings nicht empfohlen(213).

Bei der ROC-Analyse des $\Omega 100$ ergab sich für tPSA-Bestimmungen am „histologisch abgesicherten *batch3*-Kollektiv“ (=D) eine AUC von 0,666. Dieses Kollektiv erfüllt aufgrund der histologischen Absicherung und der damit eindeutigen Zuordenbarkeit zu „Patient gesund“ oder „krank“ wichtige wissenschaftliche Kriterien, um entsprechende Schlussfolgerungen treffen zu können und erlaubt einen Vergleich mit anderen Studien. Bei bestem cut-off von 2,74ng/ml lagen die Sensitivität bei 75%, die Spezifität bei 60%. Aus den resultierenden Vierfeldertafeln ergaben sich ein PPW von 91,5% und ein NPW von 29,4%. Im Vergleich dazu errechnete die Studie von Jung *et al.* für das Immulite System eine AUC von 0,528. Es wurden 45 Patienten mit einem PCa und 50 Patienten mit BPH untersucht. Bei einem tPSA-cut-off 4ng/ml ergaben sich eine Sensitivität von 89%, eine Spezifität von 46%, ein PPW von 62% und ein NPW von 82%(198). Für Centaur und Elecsys beschrieben Stephan *et al.* eine AUC von 0,71 bzw. 0,70. Das System von Bayer erreichte bei einem tPSA-cut-off von 2,52ng/ml eine Sensitivität von 90% und eine Spezifität von 40,4%, Elecsys von Roche bei einem tPSA-cut-off von 3,02ng/ml eine Sensitivität von 90% und eine Spezifität von ebenfalls 40,4%. Bei dem Biopsie-relevanten tPSA-cut-off von 4,0ng/ml erreichte der Centaur einen PPW von 70,4% und einen NPW von 57,4%, Elecsys einen PPW von 81,2% und einen NPW von 50,7%(211). Der Vergleich mit bereits etablierten Systemen zur PSA-Bestimmungen bestätigt dem $\Omega 100$ eine ähnlich gute Wertigkeit. Zudem kann das

System sehr gut zwischen Patienten trennen, welche einer Gewebebiopsie zugeführt werden sollten und welche nicht. Dadurch könnten unnötige Biopsien reduziert werden. Insgesamt lieferte der $\Omega 100$ durchweg tiefere PSA-Resultate, weshalb der für den Biopsieentscheid wichtige cut-off-Wert nicht bei 4,0 ng/ml, wie beim Immulite-System, sondern geräteabhängig niedriger liegt, für das „histologisch abgesicherte *batch3*-Kollektiv“ (=D) bei 2,74 ng/ml.

4.6.2. $\Omega 100$ zur Messung des fPSA

Bei den fPSA-Bestimmungen zeigte der $\Omega 100$ im Vergleich zum tPSA eine unzureichende Übereinstimmung der Ergebnisse mit dem etablierten System. Hierbei lag, bezogen auf das „histologisch abgesicherte *batch3*-Kollektiv“ (=D), der Korrelationskoeffizient bei 0,28, die Geradengleichung wies eine Steigung von 0,7 und einen y-Abschnitt von -0,02 auf. Somit ist die derzeitige Technik für fPSA-Bestimmungen ungeeignet und bedarf einer Optimierung. Das bedeutet auch, dass die Ermittlung des %fPSA aktuell mit dem $\Omega 100$ nicht sinnvoll ist. Andere Studien weisen für %fPSA AUCs von 0,81 (Immulite) und 0,77 (Centaur) auf. Dabei wird für Immulite bei einem %fPSA-cut-off von 15,4% und festgelegter Sensitivität von 90% eine Spezifität von 48,6% erreicht, für Centaur bei einem %fPSA-cut-off von 24,1% und ebenfalls einer Sensitivität von 90% eine Spezifität von 47,5% (211).

4.7. Technische Bedienbarkeit des $\Omega 100$ in der täglichen Routine

Der $\Omega 100$ stellt sicher eines der am ausgereiftesten POC-Geräte dar. Einige Studien belegen, dass POC-Geräte grundsätzlich den im Labor eingesetzten Messgeräten bezüglich der Wertigkeit ebenbürtig sein können (214, 215). Daher ist bei Einsatz eines POC-Gerätes nicht automatisch von einer niedrigeren Wertigkeit auszugehen. Auch die Nachweismethode des Chemilumineszenz-Immunoassays kommt erfolgreich in mehreren Analysegeräten zur Anwendung (216, 217). Als positiv zu verzeichnen waren zudem ein sehr übersichtliches Display, in sich schlüssige Anweisungen sowie eine strukturierte Gliederung der einzelnen Menüpunkte.

Allerdings sind noch technische Schwierigkeiten zu überarbeiten. Dazu zählt die Notwendigkeit von Patientenserum zur Analyse der PSA-Werte. Ein wichtiger, angestrebter Vorteil des Systems liegt in seiner zeitnahen Ermittlung der Resultate. Die notwendige Aufbereitung einer Serumprobe verlängert dieses Intervall. Eine Analyse aus Vollblut ist deshalb anzustreben. Weiterhin ist aufgefallen, dass zur Identifizierung des Gerätenutzers und des Patienten deren Daten aufwendig mithilfe der Tastenfelder eingegeben werden müssen. Diese stehen bei einer erneuten Nutzung des Gerätes zwar in einem Auswahlmenü bereit, jedoch können bei einer entsprechenden Anzahl an Mitarbeitern und einer Vielzahl an Messungen Verwechslungen auftreten und die angestrebte Zeitersparnis verloren gehen. Daher wäre eine Identifizierung, sowohl des Bedieners als auch des Patienten, mittels Barcode, ähnlich dem Verfahren in vielen Blutspendezentralen oder der Durchführung von Blutgasanalysen auf Intensivstationen, von Vorteil. Dies würde eine Verkleinerung des Bedienfeldes und Reduzierung auf weniger Tasten ermöglichen. Außerdem könnte der PSA-Wert automatisch, falls eine Verbindung zum Computer möglich ist, in eine Patientendatenbank überführt werden. Den Ablauf der Messung betreffend wird derzeit ein Inkubations- und Ablesezeitraum von 15 Minuten eingehalten. Es wäre optimal, wenn im Menü eine automatische Analysesequenz auswählbar wäre. In arbeitsintensiven Stunden könnte nach Beimpfung der Testkassette mit dem Probenserum die Kassette sofort in das Gerät eingelegt werden und die Analyse würde ohne zusätzliche Eingaben nach exakt 15 Minuten stattfinden. Somit müsste kein Timer gestellt werden und die Initiation der Messung könnte nicht vergessen werden. Die Ausgabe der Messwerte auf 3 Dezimalstellen genau suggeriert eine nicht vorhandene Messgenauigkeit. Selbst bei den für etablierte Systeme dokumentierten Variationskoeffizienten ist die Angabe der zweiten Stelle hinter dem Komma wenig sinnvoll. Bei einem POC-Gerät ist deshalb die Ausgabe mit 1 oder 2 Stellen besser. Der $\Omega 100$ verfügt über eine integrierte Abschaltautomatik. Bei Durchführung mehrerer PSA-Bestimmungen hintereinander wurde beobachtet, dass sich das Gerät aufgrund fehlender Eingaben nach erfolgter Messvorbereitung am $\Omega 100$ zu ungünstigen Zeitpunkten, also unmittelbar vor Ablauf des 15-Minuten-Timers abschaltete. Dies führte aufgrund des boot-Vorgangs und Selbsttests nach Einschalten des Gerätes zu einem Ablesezeitraum, der die geplanten 15 Minuten überschritt. Daher

wäre es sinnvoll diese Funktion manuell an- oder abwählen oder die Dauer bis zum Herunterfahren des Gerätes selbst einstellen zu können.

4.8. Kritische Bewertung und Limitation dieser wissenschaftlichen Arbeit

Die vorliegende Arbeit soll nachfolgend kritisch bewertet werden.

4.8.1. Limitation aufgrund des Studiendesigns

Aufgrund des retrospektiven Charakters der Studie konnten die Messungen mit dem Immulite-System und dem $\Omega 100$ nicht zeitgleich durchgeführt werden. In Nachmessungen kryokonservierter Patientenserum wurde mit Immulite 2000 XPi eine Konzentrationsverminderung des PSA festgestellt. Laut Herstellerangaben ist dieser Sachverhalt nicht durch eine Umstellung auf das Nachfolgersystem Immulite 2000 XPi zu erklären. Mehrere Studien belegen außerdem, dass sich die PSA-Konzentration bei den -70 bis -80°C tiefgefrorenen Proben während einer längeren Gefrierperiode nicht ändern soll (218, 219). Die entsprechenden Proben wurden vor der Kryokonservierung und unmittelbar nach der PSA-Bestimmung durch das Zentrallabor aliquotiert. Selbst wenn die Proben für längere Zeit vor der Zentrifugation unter hohen Raumtemperaturen gelagert worden wären, so müsste laut Tanner *et al.* die PSA-Konzentration stabil bleiben (220). Eine mögliche Fehlerquelle, die im Nachhinein nicht mehr zu überprüfen ist, stellt eine unterbrochene Kühlkette oder auch fehlerhafter Umgang der Patientenserum beim Aliquotieren vor der Kryokonservierung dar, wobei dies bei einem standardisiertem Vorgehen als unwahrscheinlich anzusehen ist.

4.8.2. Charakteristik des Patientenkollektivs und seiner Unterkollektive

Die Auswahlkriterien des zu analysierenden Patientenguts wurden zusammen mit der concile GmbH festgelegt. Dabei sollte einerseits die realitätsnahe Vorsorgesituation, wie sie in einer urologischen Praxis angetroffen werden kann, abgebildet werden und zum anderen sollte die Studie aufgrund definierter Kollektive wissenschaftlichen Ansprüchen genügen. Aus erstgenanntem Grund wurden auch Patienten ohne histologische Absicherung eines PCa, also ohne bisher erfolgte Stanzbiopsie, in die

Studie aufgenommen. Durch Bildung verschiedener Kollektive mit bioptischer Sicherung, also der eindeutigen Zuordnung zu Vorliegen oder Fehlens eines PCa, wurde dem Anspruch der Einhaltung wissenschaftlicher Standards Rechnung getragen. Durch Bildung einer Patientengruppe mit vorliegendem tPSA-Wert >4 ng/ml, aber mit histologischer Sicherung konnte die Wertigkeit der beiden Systeme Immulite 2000 und Ω 100 unter am ehesten realen Einsatzbedingungen untersucht werden. Die Fallzahl mit 473 gemessenen Proben ist zur Überprüfung auf eine Abhängigkeit der Resultate und zur Beurteilung der Wertigkeit beider Systeme als ausreichend anzusehen. Aus logistischen Gründen wurden nur Patienten aus dem Zeitraum 01/2010 bis 03/2011 für die Studie berücksichtigt.

4.9. Schlussfolgerung

Die Bestimmung von PSA ist geräte- und systemspezifischen Unterschieden unterworfen. Diesem Sachverhalt muss sich auch das hier untersuchte POC-Gerät Ω 100 stellen. Im Vergleich zum etablierten System Immulite 2000 weist das concile-Produkt eine ähnlich gute Trennschärfe auf, kann also gut zwischen Patienten differenzieren, die sich einer weiteren invasiven Abklärung mittels Biopsiegewinnung unterziehen sollten. Generell ermittelt der Ω 100 niedrigere Werte als der Immulite 2000. Um dieses Problem zu vermeiden, könnte eine Software entwickelt werden, die automatisch den am Ω 100 ermittelten tPSA-Wert mit einem gerätespezifischen Koeffizienten multipliziert und so einen tPSA-Wert errechnet, der direkt mit den Resultaten des Immulite 2000 oder mit denen anderer Systeme in Korrelation gesetzt werden kann. Für fPSA-Bestimmungen eignet sich das POC-Gerät derzeit noch nicht, respektive auch nicht für %fPSA-Berechnungen. Hier müssen erst die Ursachen für die abweichenden Resultate ermittelt werden. Doch bereits jetzt stellt der Ω 100 der Firma concile GmbH ein vielversprechendes System zur Bestimmung des PSA unter POC-Bedingungen dar und könnte v.a. im ambulanten Bereich ein breites Einsatzgebiet in der Diagnostik des PCa abdecken.

5.0. Zusammenfassung

In der Diagnostik des PCa stellt das PSA mit seinen Unterfraktionen einen wichtigen Baustein dar. Die Bestimmung dieser Laborparameter erfolgt allgemein in großen Zentren, Geräte für den Einsatz im ambulanten Setting sind bisher nicht in Verwendung. Mit dem Ω 100-Reader der Firma concile GmbH wurde nun ein System für die PSA-Bestimmung in der POC-Situation bereitgestellt. Die vorliegende Arbeit hat das Ziel den Ω 100-Reader hinsichtlich seiner Einsatzfähigkeit zu evaluieren.

An den Seren von 470 Patienten, die sich von Januar 2010 bis März 2011 zur Diagnostik eines PCa vorstellten [medianes Alter 67, n = 389 (82,8 %) Patienten mit histologischer Sicherung, n = 334 (71,1 %) mit histologisch gesichertem PCa, n = 55 (11,7 %) mit histologischem Ausschluss eines PCa], wurden mittels Ω 100-Reader und parallel mit dem etablierten System Immulite 2000 Bestimmungen des tPSA, des fPSA sowie des %fPSA durchgeführt. Das gesamte Studienkollektiv wurde abhängig vom Vorhandensein einer histologischen Absicherung und den tPSA-Werten des etablierten Systems in mehrere Subkollektive unterteilt. Die Übereinstimmungen vergleichbarer Messungen der beiden Systeme wurden mittels linearer Regressionsanalysen ermittelt. Durch Anwendung von ROC wurden AUCs sowie der beste cut-off-Wert für die jeweiligen Systeme und Kollektive ermittelt. Anschließend konnten durch Erstellung von Vierfeldertafeln Testwertigkeiten wie Spezifität und Sensibilität bestimmt werden.

Für den Ω 100 ergaben sich für das Kollektiv mit histologischer Absicherung und tPSA ≤ 10 ng/ml in der linearen Regression für tPSA ein Steigungsfaktor von 0,5 und ein Y-Abschnitt von 0,09, der unkorrigierte Korrelationskoeffizient betrug 0,55. Die AUC für den Ω 100-Reader für dasselbe Kollektiv lag für tPSA bei 0,756 und für den Immulite 2000 bei 0,801. Die Sensitivität des POC-Gerätes bei einem besten cut-off-Wert für tPSA von 2,37 ng/ml betrug 70,5 %, die Spezifität 76,5 %, für das Immulite-System bei einem cut-off von 4,23 ng/ml respektive 76,5 % und 76,9 %. Für die fPSA-Bestimmungen ergaben sich für dasselbe Kollektiv in der linearen Regression ein Steigungsfaktor von 0,7 und ein Y-Abschnitt von 0,07, der unkorrigierte Korrelationskoeffizient betrug 0,05. Die AUC für den Ω 100-Reader für dasselbe Kollektiv lag für fPSA bei 0,511 und für den Immulite 2000 bei 0,678.

Beim Vergleich der Performance der beiden Systeme Immulite 2000 und Ω 100 zeigt sich eine gute Korrelation für die tPSA-Resultate. Für fPSA-Bestimmungen und %fPSA-Berechnungen gilt dies nicht. Hier müssen erst weitere Verbesserungen und erneute Messungen stattfinden, bevor reproduzierbare und mit etablierten Systemen vergleichbare Resultate ermittelt werden können. Mit dem Ω 100-Reader der Firma concile GmbH erscheint ein vielversprechendes Analysegerät auf dem Markt, mit dem eine zuverlässige tPSA-Bestimmung in der POC-Situation durchgeführt werden kann. Allerdings müssen zur endgültigen Einsatzfähigkeit noch die absoluten Werte so angepasst werden, dass sie im Hinblick der Vergleichbarkeit denen der etablierten Systeme entsprechen.

6.0. Literaturverzeichnis

- [1] McNeal JE (1988) Normal histology of the prostate. *Am J Surg Pathol* 12: 619-633.
- [2] <http://www.urologielehrbuch.de/> [Zugriff 14.03.2016].
- [3] Bertilsson H, Tessem MB, Flatberg A, Viset T, Gribbestad I, Angelsen A and Halgunset J (2012) Changes in gene transcription underlying the aberrant citrate and choline metabolism in human prostate cancer samples. *Clin Cancer Res* 18: 3261-3269.
- [4] Robert Koch-Institut, Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (2015) Krebs in Deutschland 2011/2012. 10. Ausgabe. 94-97 DOI: 10.17886/rkipubl-2015-004
- [5] Gronberg H, Damber L and Damber JE (1996) Familial prostate cancer in Sweden. A nationwide register cohort study. *Cancer* 77: 138-143.
- [6] Stanford JL, Stephenson RA, Coyle LM, Cerhan J, Correa R, Eley JW, Gilliland F, Hankey B, Kolonel LN, Kosary C, Ross R, Severson R, West D. Prostate Cancer Trends 1973-1995, SEER Program, National Cancer Institute. NIH Pub. No. 99-4543. Bethesda, MD, 1999.
- [7] Schmitz-Drager BJ, Eichholzer M, Beiche B and Ebert T (2001) Nutrition and prostate cancer. *Urol Int* 67: 1-11.
- [8] Terry P, Lichtenstein P, Feychting M, Ahlbom A and Wolk A (2001) Fatty fish consumption and risk of prostate cancer. *Lancet* 357: 1764-1766.
- [9] Franks LM (1954) Latent carcinoma of the prostate. *J Pathol Bacteriol* 68: 603-616.
- [10] Sakr WA, Grignon DJ, Haas GP, Heilbrun LK, Pontes JE and Crissman JD (1996) Age and racial distribution of prostatic intraepithelial neoplasia. *Eur Urol* 30: 138-144.
- [11] Kramer BS, Brown ML, Prorok PC, Potosky AL and Gohagan JK (1993) Prostate cancer screening: what we know and what we need to know. *Ann Intern Med* 119: 914-923.
- [12] Sobin LH, Gospodarowicz MK and Wittekind C (2009) TNM. Classification of Malignant Tumours. 7th ed. 243-248. New York: Wiley.
- [13] Gleason DF (1992) Histologic grading of prostate cancer: a perspective. *Hum Pathol* 23: 273-279.
- [14] Epstein JI, Allsbrook WC, Jr., Amin MB and Egevad LL (2005) The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol* 29: 1228-1242.
- [15] Gerber GS and Chodak GW (1991) Routine screening for cancer of the prostate. *J Natl Cancer Inst* 83: 329-335.
- [16] Chodak GW (1989) Early detection and screening for prostatic cancer. *Urology* 34: 10-12; discussion 46-56.
- [17] Enlund A, Pedersen K, Boeryd B and Varenhorst E (1990) Transrectal ultrasonography compared to histopathological assessment for local staging of prostatic carcinoma. *Acta Radiol* 31: 597-600.
- [18] Cooner WH, Mosley BR, Rutherford CL, Jr., Beard JH, Pond HS, Terry WJ, Igel TC and Kidd DD (1990) Prostate cancer detection in a clinical urological

- practice by ultrasonography, digital rectal examination and prostate specific antigen. *J Urol* 143: 1146-1152; discussion 1152-1144.
- [19] Mettlin C, Murphy GP, Babaian RJ, Chesley A, Kane RA, Littrup PJ, Mostofi FK, Ray PS, Shanberg AM and Toi A (1996) The results of a five-year early prostate cancer detection intervention. Investigators of the American Cancer Society National Prostate Cancer Detection Project. *Cancer* 77: 150-159.
- [20] Ellis WJ, Chetner MP, Preston SD and Brawer MK (1994) Diagnosis of prostatic carcinoma: the yield of serum prostate specific antigen, digital rectal examination and transrectal ultrasonography. *J Urol* 152: 1520-1525.
- [21] Chodak GW (1989) Screening for prostate cancer. Role of ultrasonography. *Urol Clin North Am* 16: 657-661.
- [22] Jones W and Resnick M (1990) Prostate ultrasound in screening, diagnosis and staging of prostate cancer. *Probl Urol* 4: 343-357.
- [23] Rorvik J, Halvorsen OJ, Servoll E and Haukaas S (1994) Transrectal ultrasonography to assess local extent of prostatic cancer before radical prostatectomy. *Br J Urol* 73: 65-69.
- [24] Seamonds B, Yang N, Anderson K, Whitaker B, Shaw LM and Bollinger JR (1986) Evaluation of prostate-specific antigen and prostatic acid phosphatase as prostate cancer markers. *Urology* 28: 472-479.
- [25] Stenman UH (1997) Prostate-specific antigen, clinical use and staging: an overview. *Br J Urol* 79 Suppl 1: 53-60.
- [26] Brawer MK, Chetner MP, Beatie J, Buchner DM, Vessella RL and Lange PH (1992) Screening for prostatic carcinoma with prostate specific antigen. *J Urol* 147: 841-845.
- [27] Ward AM, Catto JW and Hamdy FC (2001) Prostate specific antigen: biology, biochemistry and available commercial assays. *Ann Clin Biochem* 38: 633-651.
- [28] Haas GP, Montie JE and Pontes JE (1993) The state of prostate cancer screening in the United States. *Eur Urol* 23: 337-347.
- [29] Catalona WJ, Hudson MA, Scardino PT, Richie JP, Ahmann FR, Flanigan RC, deKernion JB, Ratliff TL, Kavoussi LR, Dalkin BL and et al. (1994) Selection of optimal prostate specific antigen cutoffs for early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves. *J Urol* 152: 2037-2042.
- [30] Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, Flanigan RC, deKernion JB, Ratliff TL, Kavoussi LR, Dalkin BL and 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: 1283-1290.
- [31] Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Dodds KM, Coplen DE, Yuan JJ, Petros JA and Andriole GL (1991) Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med* 324: 1156-1161.
- [32] Hodge KK, McNeal JE, Terris MK and Stamey TA (1989) Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate. *J Urol* 142: 71-74; discussion 74-75.
- [33] Thompson IM, Ankerst DP, Chi C, Lucia MS, Goodman PJ, Crowley JJ, Parnes HL and Coltman CA, Jr. (2005) Operating characteristics of prostate-specific antigen in men with an initial PSA level of 3.0 ng/ml or lower. *JAMA* 294: 66-70.

- [34] Jung K, Elgeti U, Lein M, Brux B, Sinha P, Rudolph B, Hauptmann S, Schnorr D and Loening SA (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: 55-62.
- [35] Haese A, de la Taille A, van Poppel H, Marberger M, Stenzl A, Mulders PF, Huland H, Abbou CC, Remzi M, Tinzi M, Feyerabend S, Stillebroer AB, van Gils MP and Schalken JA (2008) Clinical utility of the PCA3 urine assay in European men scheduled for repeat biopsy. *Eur Urol* 54: 1081-1088.
- [36] Goode RR, Marshall SJ, Duff M, Chevli E and Chevli KK (2013) Use of PCA3 in detecting prostate cancer in initial and repeat prostate biopsy patients. *Prostate* 73: 48-53.
- [37] Lee F, Torp-Pedersen ST and Siders DB (1989) Use of transrectal ultrasound in diagnosis, guided biopsy, staging, and screening of prostate cancer. *Urology* 33: 7-12.
- [38] Ellis WJ and Brawer MK (1995) Repeat prostate needle biopsy: who needs it? *J Urol* 153: 1496-1498.
- [39] Keetch DW, Catalona WJ and Smith DS (1994) Serial prostatic biopsies in men with persistently elevated serum prostate specific antigen values. *J Urol* 151: 1571-1574.
- [40] Roehl KA, Antenor JA and Catalona WJ (2002) Serial biopsy results in prostate cancer screening study. *J Urol* 167: 2435-2439.
- [41] Anastasiadis AG, Lichy MP, Nagele U, Kuczyk MA, Merseburger AS, Hennenlotter J, Corvin S, Sievert KD, Claussen CD, Stenzl A and Schlemmer HP (2006) MRI-guided biopsy of the prostate increases diagnostic performance in men with elevated or increasing PSA levels after previous negative TRUS biopsies. *Eur Urol* 50: 738-748; discussion 748-739.
- [42] <http://www.uro-tuebingen.de/leistungsspektrum/prostata/prostatakarzinom/diagnostik/roboterassistierte-prostata-stanzbiopsie-biobot.html> [Zugriff 15.03.2016].
- [43] Oyen R. Imaging modalities in the diagnosis and staging of carcinoma of the prostate. *Carcinoma of the Prostate, Management*. Springer-Verlag, Berlin 1996; 170:65-96
- [44] Schnall MD, Imai Y, Tomaszewski J, Pollack HM, Lenkinski RE and Kressel HY (1991) Prostate cancer: local staging with endorectal surface coil MR imaging. *Radiology* 178: 797-802.
- [45] Lange PH, Ercole CJ, Lightner DJ, Fraley EE and Vessella R (1989) The value of serum prostate specific antigen determinations before and after radical prostatectomy. *J Urol* 141: 873-879.
- [46] Hudson MA, Bahnson RR and Catalona WJ (1989) Clinical use of prostate specific antigen in patients with prostate cancer. *J Urol* 142: 1011-1017.
- [47] Partin AW, Carter HB, Chan DW, Epstein JI, Oesterling JE, Rock RC, Weber JP and Walsh PC (1990) Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. *J Urol* 143: 747-752.
- [48] Stone NN, Stock RG, Parikh D, Yeghiayan P and Unger P (1998) Perineural invasion and seminal vesicle involvement predict pelvic lymph node metastasis in men with localized carcinoma of the prostate. *J Urol* 160: 1722-1726.

- [49] Pisansky TM, Zincke H, Suman VJ, Bostwick DG, Earle JD and Oesterling JE (1996) Correlation of pretherapy prostate cancer characteristics with histologic findings from pelvic lymphadenectomy specimens. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 34: 33-39.
- [50] Bezzi M, Kressel HY, Allen KS, Schiebler ML, Altman HG, Wein AJ and Pollack HM (1988) Prostatic carcinoma: staging with MR imaging at 1.5 T. *Radiology* 169: 339-346.
- [51] Golimbu M, Morales P, Al-Askari S and Shulman Y (1981) CAT scanning in staging of prostatic cancer. *Urology* 18: 305-308.
- [52] Hricak H, Doms GC, Jeffrey RB, Avallone A, Jacobs D, Benton WK, Narayan P and Tanagho EA (1987) Prostatic carcinoma: staging by clinical assessment, CT, and MR imaging. *Radiology* 162: 331-336.
- [53] Corvin S, Schilling D, Eichhorn K, Hundt I, Hennenlotter J, Anastasiadis AG, Kuczyk M, Bares R and Stenzl A (2006) Laparoscopic sentinel lymph node dissection--a novel technique for the staging of prostate cancer. *Eur Urol* 49: 280-285.
- [54] Rana A, Karamanis K, Lucas MG and Chisholm GD (1992) Identification of metastatic disease by T category, gleason score and serum PSA level in patients with carcinoma of the prostate. *Br J Urol* 69: 277-281.
- [55] Oesterling JE, Martin SK, Bergstralh EJ and Lowe FC (1993) The use of prostate-specific antigen in staging patients with newly diagnosed prostate cancer. *JAMA* 269: 57-60.
- [56] O'Donoghue JM, Rogers E, Grimes H, McCarthy P, Corcoran M, Bredin H and Given HF (1993) A reappraisal of serial isotope bone scans in prostate cancer. *Br J Radiol* 66: 672-676.
- [57] Albertsen PC, Hanley JA, Gleason DF and Barry MJ (1998) Competing risk analysis of men aged 55 to 74 years at diagnosis managed conservatively for clinically localized prostate cancer. *JAMA* 280: 975-980.
- [58] Klotz L (2005) Active surveillance for prostate cancer: for whom? *J Clin Oncol* 23: 8165-8169.
- [59] Klotz L (2008) Active surveillance for favorable risk prostate cancer: what are the results, and how safe is it? *Semin Radiat Oncol* 18: 2-6.
- [60] Klotz L (2010) Active surveillance for prostate cancer: patient selection and management. *Curr Oncol* 17 Suppl 2: S11-17.
- [61] Leitlinienprogramm Onkologie der AWMW, Deutsche Krebsgesellschaft e.V. and Deutsche Krebshilfe e.V. (2011) Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms. Version 2.0 - 1. Aktualisierung.
- [62] Klevecka V, Burmester L, Musch M, Roggenbuck U and Kroepfl D (2007) Intraoperative and early postoperative complications of radical retropubic prostatectomy. *Urol Int* 79: 217-225.
- [63] Südwestdeutsches Tumorzentrum Comprehensive Cancer Center Tübingen (2009) Prostatakarzinom - Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. 2. überarbeitete Auflage.
- [64] Walsh PC, Partin AW and Epstein JI (1994) Cancer control and quality of life following anatomical radical retropubic prostatectomy: results at 10 years. *J Urol* 152: 1831-1836.

- [65] Abbou CC, Hoznek A, Salomon L, Olsson LE, Lobontiu A, Saint F, Cicco A, Antiphon P and Chopin D (2001) Laparoscopic radical prostatectomy with a remote controlled robot. *J Urol* 165: 1964-1966.
- [66] Binder J and Kramer W (2001) Robotically-assisted laparoscopic radical prostatectomy. *BJU Int* 87: 408-410.
- [67] Rassweiler J, Stolzenburg J, Sulser T, Deger S, Zumbe J, Hofmockel G, John H, Janetschek G, Fehr JL, Hatzinger M, Probst M, Rothenberger KH, Poulakis V, Truss M, Popken G, Westphal J, Alles U and Fornara P (2006) Laparoscopic radical prostatectomy--the experience of the German Laparoscopic Working Group. *Eur Urol* 49: 113-119.
- [68] Kupelian PA, Elshaikh M, Reddy CA, Zippe C and Klein EA (2002) Comparison of the efficacy of local therapies for localized prostate cancer in the prostate-specific antigen era: a large single-institution experience with radical prostatectomy and external-beam radiotherapy. *J Clin Oncol* 20: 3376-3385.
- [69] Valicenti R, Lu J, Pilepich M, Asbell S and Grignon D (2000) Survival advantage from higher-dose radiation therapy for clinically localized prostate cancer treated on the Radiation Therapy Oncology Group trials. *J Clin Oncol* 18: 2740-2746.
- [70] Pollack A, Zagars GK, Smith LG, Lee JJ, von Eschenbach AC, Antolak JA, Starkschall G and Rosen I (2000) Preliminary results of a randomized radiotherapy dose-escalation study comparing 70 Gy with 78 Gy for prostate cancer. *J Clin Oncol* 18: 3904-3911.
- [71] Hanks GE, Hanlon AL, Epstein B and Horwitz EM (2002) Dose response in prostate cancer with 8-12 years' follow-up. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 54: 427-435.
- [72] Wirth MP, Herrmann T, Alken P, Kovacs G, Muller H, Hakenberg OW, Ahlemann L and Schalkhauser K (2002) [Recommendations for permanent, interstitial brachytherapy alone in localized prostate carcinoma]. *Urologe A* 41: 369-373.
- [73] Quaranta BP, Marks LB and Anscher MS (2004) Comparing radical prostatectomy and brachytherapy for localized prostate cancer. *Oncology (Williston Park)* 18: 1289-1302; discussion 1302-1284, 1309.
- [74] Stock RG, Cesaretti JA and Stone NN (2006) Disease-specific survival following the brachytherapy management of prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 64: 810-816.
- [75] Byar DP and Corle DK (1988) Hormone therapy for prostate cancer: results of the Veterans Administration Cooperative Urological Research Group studies. *NCI Monogr*: 165-170.
- [76] Iversen P, Tyrrell CJ, Kaisary AV, Anderson JB, Baert L, Tammela T, Chamberlain M, Carroll K, Gotting-Smith K and Blackledge GR (1998) Casodex (bicalutamide) 150-mg monotherapy compared with castration in patients with previously untreated nonmetastatic prostate cancer: results from two multicenter randomized trials at a median follow-up of 4 years. *Urology* 51: 389-396.
- [77] Seidenfeld J, Samson DJ, Hasselblad V, Aronson N, Albertsen PC, Bennett CL and Wilt TJ (2000) Single-therapy androgen suppression in men with advanced prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 132: 566-577.

- [78] Miller K, Wülfing C, Lehmann J et al. (2005) Weekly docetaxel plus estramustine for hormone-refractory prostate cancer (HRPC) with intermittent repetition: preliminary results of a multicenter phase II study (AUO AP33/02). ASCO Annual Meeting Proceedings. *J Clin Oncol* 23(16S):4613
- [79] Petrylak DP, Tangen CM, Hussain MH, Lara PN, Jr., Jones JA, Taplin ME, Burch PA, Berry D, Moinpour C, Kohli M, Benson MC, Small EJ, Raghavan D and Crawford ED (2004) Docetaxel and estramustine compared with mitoxantrone and prednisone for advanced refractory prostate cancer. *N Engl J Med* 351: 1513-1520.
- [80] Small EJ, Schellhammer PF, Higano CS, Redfern CH, Nemunaitis JJ, Valone FH, Verjee SS, Jones LA and Hershberg RM (2006) Placebo-controlled phase III trial of immunologic therapy with sipuleucel-T (APC8015) in patients with metastatic, asymptomatic hormone refractory prostate cancer. *J Clin Oncol* 24: 3089-3094.
- [81] Scattoni V, Roscigno M, Raber M, Montorsi F, Da Pozzo L, Guazzoni G, Freschi M and Rigatti P (2003) Multiple vesico-urethral biopsies following radical prostatectomy: the predictive roles of TRUS, DRE, PSA and the pathological stage. *Eur Urol* 44: 407-414.
- [82] Albiges-Sauvin L, Levy A, Massard C and Fizazi K (2009) [Prognosis and predictive factors in prostate cancer]. *Bull Cancer* 96: 439-449.
- [83] Hoogland AM, Verhoef EI, Roobol MJ, Schroder FH, Wildhagen MF, van der Kwast TH, Jenster G and van Leenders GJ (2014) Validation of stem cell markers in clinical prostate cancer: alpha6-integrin is predictive for non-aggressive disease. *Prostate* 74: 488-496.
- [84] Kehinde EO, Maghrebi MA and Anim JT (2008) The importance of determining the aggressiveness of prostate cancer using serum and tissue molecular markers. *Can J Urol* 15: 3967-3974.
- [85] Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP and Chu TM (1979) Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol* 17: 159-163.
- [86] Hara M, Koyanagi Y, Inoue T and Fukuyama T (1971) [Some physico-chemical characteristics of " -seminoprotein", an antigenic component specific for human seminal plasma. Forensic immunological study of body fluids and secretion. VII]. *Nihon Hoigaku Zasshi* 25: 322-324.
- [87] Li TS and Beling CG (1973) Isolation and characterization of two specific antigens of human seminal plasma. *Fertil Steril* 24: 134-144.
- [88] Watt KW, Lee PJ, M'Timkulu T, Chan WP and Loo R (1986) Human prostate-specific antigen: structural and functional similarity with serine proteases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83: 3166-3170.
- [89] Lundwall A and Lilja H (1987) Molecular cloning of human prostate specific antigen cDNA. *FEBS Lett* 214: 317-322.
- [90] Sensabaugh GF (1978) Isolation and characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: a potential new marker for semen identification. *J Forensic Sci* 23: 106-115.
- [91] Nadji M, Tabei SZ, Castro A, Chu TM, Murphy GP, Wang MC and Morales AR (1981) Prostatic-specific antigen: an immunohistologic marker for prostatic neoplasms. *Cancer* 48: 1229-1232.

- [92] Papsidero LD, Kuriyama M, Wang MC, Horoszewicz J, Leong SS, Valenzuela L, Murphy GP and Chu TM (1981) Prostate antigen: a marker for human prostate epithelial cells. *J Natl Cancer Inst* 66: 37-42.
- [93] Yousef GM and Diamandis EP (2001) The new human tissue kallikrein gene family: structure, function, and association to disease. *Endocr Rev* 22: 184-204.
- [94] Lundwall A, Clauss A and Olsson AY (2006) Evolution of kallikrein-related peptidases in mammals and identification of a genetic locus encoding potential regulatory inhibitors. *Biol Chem* 387: 243-249.
- [95] Schaller J, Akiyama K, Tsuda R, Hara M, Marti T and Rickli EE (1987) Isolation, characterization and amino-acid sequence of gamma-seminoprotein, a glycoprotein from human seminal plasma. *Eur J Biochem* 170: 111-120.
- [96] Schedlich LJ, Bennetts BH and Morris BJ (1987) Primary structure of a human glandular kallikrein gene. *DNA* 6: 429-437.
- [97] Lilja H (1993) Structure, function, and regulation of the enzyme activity of prostate-specific antigen. *World J Urol* 11: 188-191.
- [98] Lilja H (1985) A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest* 76: 1899-1903.
- [99] Savblom C, Malm J, Giwercman A, Nilsson JA, Berglund G and Lilja H (2005) Blood levels of free-PSA but not complex-PSA significantly correlates to prostate release of PSA in semen in young men, while blood levels of complex-PSA, but not free-PSA increase with age. *Prostate* 65: 66-72.
- [100] Stephan C, Jung K, Lein M and Diamandis EP (2007) PSA and other tissue kallikreins for prostate cancer detection. *Eur J Cancer* 43: 1918-1926.
- [101] Klein LT and Lowe FC (1997) The effects of prostatic manipulation on prostate-specific antigen levels. *Urol Clin North Am* 24: 293-297.
- [102] Bossens MM, Van Straalen JP, De Reijke TM, Kurth KH and Sanders GT (1995) Kinetics of prostate-specific antigen after manipulation of the prostate. *Eur J Cancer* 31A: 682-685.
- [103] Christensson A, Laurell CB and Lilja H (1990) Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine proteinase inhibitors. *Eur J Biochem* 194: 755-763.
- [104] Lilja H, Oldbring J, Rannevik G and Laurell CB (1987) Seminal vesicle-secreted proteins and their reactions during gelation and liquefaction of human semen. *J Clin Invest* 80: 281-285.
- [105] Lilja H, Abrahamsson PA and Lundwall A (1989) Semenogelin, the predominant protein in human semen. Primary structure and identification of closely related proteins in the male accessory sex glands and on the spermatozoa. *J Biol Chem* 264: 1894-1900.
- [106] McGee RS and Herr JC (1987) Human seminal vesicle-specific antigen during semen liquefaction. *Biol Reprod* 37: 431-439.
- [107] McGee RS and Herr JC (1988) Human seminal vesicle-specific antigen is a substrate for prostate-specific antigen (or P-30). *Biol Reprod* 39: 499-510.
- [108] Riegman PH, Vlietstra RJ, van der Korput JA, Brinkmann AO and Trapman J (1991) The promoter of the prostate-specific antigen gene contains a functional androgen responsive element. *Mol Endocrinol* 5: 1921-1930.
- [109] Kumar A, Mikolajczyk SD, Goel AS, Millar LS and Saedi MS (1997) Expression of pro form of prostate-specific antigen by mammalian cells and its

- conversion to mature, active form by human kallikrein 2. *Cancer Res* 57: 3111-3114.
- [110] Lovgren J, Rajakoski K, Karp M, Lundwall a and Lilja H (1997) Activation of the zymogen form of prostate-specific antigen by human glandular kallikrein 2. *Biochem Biophys Res Commun* 238: 549-555.
- [111] Takayama TK, Fujikawa K and Davie EW (1997) Characterization of the precursor of prostate-specific antigen. Activation by trypsin and by human glandular kallikrein. *J Biol Chem* 272: 21582-21588.
- [112] Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen MT, Nilsson O, Pettersson K and Lovgren T (1991) Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin. *Clin Chem* 37: 1618-1625.
- [113] Stenman UH, Leinonen J, Alfthan H, Rannikko S, Tuhkanen K and Alfthan O (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: 222-226.
- [114] Christensson A and Lilja H (1994) Complex formation between protein C inhibitor and prostate-specific antigen in vitro and in human semen. *Eur J Biochem* 220: 45-53.
- [115] Polascik TJ, Oesterling JE and Partin AW (1999) Prostate specific antigen: a decade of discovery--what we have learned and where we are going. *J Urol* 162: 293-306.
- [116] Mast AE, Enghild JJ, Pizzo SV and Salvesen G (1991) Analysis of the plasma elimination kinetics and conformational stabilities of native, proteinase-complexed, and reactive site cleaved serpins: comparison of alpha 1-proteinase inhibitor, alpha 1-antichymotrypsin, antithrombin III, alpha 2-antiplasmin, angiotensinogen, and ovalbumin. *Biochemistry* 30: 1723-1730.
- [117] Perlmutter DH, Glover GI, Rivetna M, Schasteen CS and Fallon RJ (1990) Identification of a serpin-enzyme complex receptor on human hepatoma cells and human monocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87: 3753-3757.
- [118] Jung K, Brux B, Lein M, Knabich A, Sinha P, Rudolph B, Schnorr D and Loening SA (1999) Determination of alpha1-antichymotrypsin-PSA complex in serum does not improve the differentiation between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer compared with total PSA and percent free PSA. *Urology* 53: 1160-1167; discussion 1167-1168.
- [119] Lein M, Jung K, Elgeti U, Petras T, Stephan C, Brux B, Sinha P, Winkelmann B, Schnorr D and Loening S (2001) Comparison of the clinical validity of free prostate-specific antigen, alpha-1 antichymotrypsin-bound prostate-specific antigen and complexed prostate-specific antigen in prostate cancer diagnosis. *Eur Urol* 39: 57-64.
- [120] Chen Z, Komatsu K, Prestigiacomo A and Stamey TA (1996) Addition of purified prostate specific antigen to serum from female subjects: studies on the relative inhibition by alpha 2-macroglobulin and alpha 1-antichymotrypsin. *J Urol* 156: 1357-1363.
- [121] Leinonen J, Zhang WM and Stenman UH (1996) Complex formation between PSA isoenzymes and protease inhibitors. *J Urol* 155: 1099-1103.
- [122] Zhang WM, Finne P, Leinonen J, Vesalainen S, Nordling S, Rannikko S and Stenman UH (1998) Characterization and immunological determination of the

- complex between prostate-specific antigen and alpha₂-macroglobulin. *Clin Chem* 44: 2471-2479.
- [123] Ulmert D, Becker C, Nilsson JA, Piironen T, Bjork T, Hugosson J, Berglund G and Lilja H (2006) Reproducibility and accuracy of measurements of free and total prostate-specific antigen in serum vs plasma after long-term storage at -20 degrees C. *Clin Chem* 52: 235-239.
- [124] Stephan C, Jung K, Brux B, Lein M, Sinha P, Schnorr D and Loening SA (2000) ACT-PSA and complexed PSA elimination kinetics in serum after radical retropubic prostatectomy: proof of new complex forming of PSA after release into circulation. *Urology* 55: 560-563.
- [125] Christensson A, Bjork T, Nilsson O, Dahlen U, Matikainen MT, Cockett AT, Abrahamsson PA and Lilja H (1993) Serum prostate specific antigen complexed to alpha 1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. *J Urol* 150: 100-105.
- [126] Mikolajczyk SD, Marks LS, Partin AW and Rittenhouse HG (2002) Free prostate-specific antigen in serum is becoming more complex. *Urology* 59: 797-802.
- [127] Mikolajczyk SD, Millar LS, Marker KM, Wang TJ, Rittenhouse HG, Marks LS and Slawin KM (2000) Seminal plasma contains "BPSA," a molecular form of prostate-specific antigen that is associated with benign prostatic hyperplasia. *Prostate* 45: 271-276.
- [128] Mikolajczyk SD, Millar LS, Wang TJ, Rittenhouse HG, Wolfert RL, Marks LS, Song W, Wheeler TM and Slawin KM (2000) "BPSA," a specific molecular form of free prostate-specific antigen, is found predominantly in the transition zone of patients with nodular benign prostatic hyperplasia. *Urology* 55: 41-45.
- [129] Canto EI, Singh H, Shariat SF, Lamb DJ, Mikolajczyk SD, Linton HJ, Rittenhouse HG, Kadmon D, Miles BJ and Slawin KM (2004) Serum BPSA outperforms both total PSA and free PSA as a predictor of prostatic enlargement in men without prostate cancer. *Urology* 63: 905-910; discussion 910-901.
- [130] Mikolajczyk SD, Millar LS, Wang TJ, Rittenhouse HG, Marks LS, Song W, Wheeler TM and Slawin KM (2000) A precursor form of prostate-specific antigen is more highly elevated in prostate cancer compared with benign transition zone prostate tissue. *Cancer Res* 60: 756-759.
- [131] Mikolajczyk SD, Grauer LS, Millar LS, Hill TM, Kumar A, Rittenhouse HG, Wolfert RL and Saedi MS (1997) A precursor form of PSA (pPSA) is a component of the free PSA in prostate cancer serum. *Urology* 50: 710-714.
- [132] Mikolajczyk SD, Marker KM, Millar LS, Kumar A, Saedi MS, Payne JK, Evans CL, Gasior CL, Linton HJ, Carpenter P and Rittenhouse HG (2001) A truncated precursor form of prostate-specific antigen is a more specific serum marker of prostate cancer. *Cancer Res* 61: 6958-6963.
- [133] Sokoll LJ, Sanda MG, Feng Z, Kagan J, Mizrahi IA, Broyles DL, Partin AW, Srivastava S, Thompson IM, Wei JT, Zhang Z and Chan DW (2010) A prospective, multicenter, National Cancer Institute Early Detection Research Network study of [-2]proPSA: improving prostate cancer detection and correlating with cancer aggressiveness. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 19: 1193-1200.
- [134] Le BV, Griffin CR, Loeb S, Carvalhal GF, Kan D, Baumann NA and Catalona WJ (2010) [-2]Proenzyme prostate specific antigen is more accurate than total

- and free prostate specific antigen in differentiating prostate cancer from benign disease in a prospective prostate cancer screening study. *J Urol* 183: 1355-1359.
- [135] Jansen FH, van Schaik RH, Kurstjens J, Horninger W, Klocker H, Bektic J, Wildhagen MF, Roobol MJ, Bangma CH and Bartsch G (2010) Prostate-specific antigen (PSA) isoform p2PSA in combination with total PSA and free PSA improves diagnostic accuracy in prostate cancer detection. *Eur Urol* 57: 921-927.
- [136] Loeb S, Sokoll LJ, Broyles DL, Bangma CH, van Schaik RH, Klee GG, Wei JT, Sanda MG, Partin AW, Slawin KM, Marks LS, Mizrahi IA, Shin SS, Cruz AB, Chan DW, Roberts WL and Catalona WJ (2013) Prospective multicenter evaluation of the Beckman Coulter Prostate Health Index using WHO calibration. *J Urol* 189: 1702-1706.
- [137] Stephan C, Meyer HA, Paul EM, Kristiansen G, Loening SA, Lein M and Jung K (2007) Serum (-5, -7) proPSA for distinguishing stage and grade of prostate cancer. *Anticancer Res* 27: 1833-1836.
- [138] Ung JO, Richie JP, Chen MH, Renshaw AA and D'Amico AV (2002) Evolution of the presentation and pathologic and biochemical outcomes after radical prostatectomy for patients with clinically localized prostate cancer diagnosed during the PSA era. *Urology* 60: 458-463.
- [139] Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS and Redwine E (1987) Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med* 317: 909-916.
- [140] Grossklaus DJ, Smith JA, Jr., Shappell SB, Coffey CS, Chang SS and Cookson MS (2002) The free/total prostate-specific antigen ratio (%fPSA) is the best predictor of tumor involvement in the radical prostatectomy specimen among men with an elevated PSA. *Urol Oncol* 7: 195-198.
- [141] Pinsky PF, Andriole G, Crawford ED, Chia D, Kramer BS, Grubb R, Greenlee R and Gohagan JK (2007) Prostate-specific antigen velocity and prostate cancer gleason grade and stage. *Cancer* 109: 1689-1695.
- [142] Carter HB (2000) A PSA threshold of 4.0 ng/mL for early detection of prostate cancer: the only rational approach for men 50 years old and older. *Urology* 55: 796-799.
- [143] Muntener M, Kunz U, Eichler K, Puhan M, Schmid DM, Sulser T and Strebler RT (2010) Lowering the PSA threshold for prostate biopsy from 4 to 2.5 ng/ml: influence on cancer characteristics and number of men needed to biopt. *Urol Int* 84: 141-146.
- [144] Andriole GL, Levin DL, Crawford ED, Gelmann EP, Pinsky PF, Chia D, Kramer BS, Reding D, Church TR, Grubb RL, Izmirlian G, Ragard LR, Clapp JD, Prorok PC, Gohagan JK and Team PP (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: 433-438.
- [145] Heidegger I, Fritz J, Klocker H, Pichler R, Bektic J and Horninger W (2015) Age-Adjusted PSA Levels in Prostate Cancer Prediction: Updated Results of the Tyrol Prostate Cancer Early Detection Program. *PLoS One* 10: e0134134.
- [146] Marks LS, Andriole GL, Fitzpatrick JM, Schulman CC and Roehrborn CG (2006) The interpretation of serum prostate specific antigen in men receiving

- 5alpha-reductase inhibitors: a review and clinical recommendations. *J Urol* 176: 868-874.
- [147] Leibovici D, Spiess PE, Agarwal PK, Tu SM, Pettaway CA, Hitzhusen K, Millikan RE and Pisters LL (2007) Prostate cancer progression in the presence of undetectable or low serum prostate-specific antigen level. *Cancer* 109: 198-204.
- [148] Lilja H, Ulmert D and Vickers AJ (2008) Prostate-specific antigen and prostate cancer: prediction, detection and monitoring. *Nat Rev Cancer* 8: 268-278.
- [149] Stephenson AJ, Kattan MW, Eastham JA, Dotan ZA, Bianco FJ, Jr., Lilja H and Scardino PT (2006) Defining biochemical recurrence of prostate cancer after radical prostatectomy: a proposal for a standardized definition. *J Clin Oncol* 24: 3973-3978.
- [150] Amling CL, Bergstralh EJ, Blute ML, Slezak JM and Zincke H (2001) Defining prostate specific antigen progression after radical prostatectomy: what is the most appropriate cut point? *J Urol* 165: 1146-1151.
- [151] Vaisanen V, Peltola MT, Lilja H, Nurmi M and Pettersson K (2006) Intact free prostate-specific antigen and free and total human glandular kallikrein 2. Elimination of assay interference by enzymatic digestion of antibodies to F(ab')₂ fragments. *Anal Chem* 78: 7809-7815.
- [152] Diamandis EP and Yu H (1997) Nonprostatic sources of prostate-specific antigen. *Urol Clin North Am* 24: 275-282.
- [153] Kupelian P, Kuban D, Thames H, Levy L, Horwitz E, Martinez A, Michalski J, Pisansky T, Sandler H, Shipley W, Zelefsky M and Zietman A (2005) Improved biochemical relapse-free survival with increased external radiation doses in patients with localized prostate cancer: the combined experience of nine institutions in patients treated in 1994 and 1995. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 61: 415-419.
- [154] Miller N, Smolkin ME, Bissonette E and Theodorescu D (2005) Undetectable prostate specific antigen at 6-12 months: a new marker for early success in hormonally treated patients after prostate brachytherapy. *Cancer* 103: 2499-2506.
- [155] Hanlon AL, Moore DF and Hanks GE (1998) Modeling postradiation prostate specific antigen level kinetics: predictors of rising postnadir slope suggest cure in men who remain biochemically free of prostate carcinoma. *Cancer* 83: 130-134.
- [156] Critz FA, Williams WH, Holladay CT, Levinson AK, Benton JB, Holladay DA, Schnell FJ, Jr., Maxa LS and Shrake PD (1999) Post-treatment PSA \leq 0.2 ng/mL defines disease freedom after radiotherapy for prostate cancer using modern techniques. *Urology* 54: 968-971.
- [157] Stamey TA, Kabalin JN, Ferrari M and Yang N (1989) Prostate specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate. IV. Anti-androgen treated patients. *J Urol* 141: 1088-1090.
- [158] Ryan CJ, Smith A, Lal P, Satagopan J, Reuter V, Scardino P, Gerald W and Scher HI (2006) Persistent prostate-specific antigen expression after neoadjuvant androgen depletion: an early predictor of relapse or incomplete androgen suppression. *Urology* 68: 834-839.

- [159] Benaim EA, Pace CM, Lam PM and Roehrborn CG (2002) Nadir prostate-specific antigen as a predictor of progression to androgen-independent prostate cancer. *Urology* 59: 73-78.
- [160] Kwak C, Jeong SJ, Park MS, Lee E and Lee SE (2002) Prognostic significance of the nadir prostate specific antigen level after hormone therapy for prostate cancer. *J Urol* 168: 995-1000.
- [161] Furuya Y, Akakura K, Tobe T, Ichikawa T, Igarashi T and Ito H (2001) Prognostic significance of changes in prostate-specific antigen in patients with metastasis prostate cancer after endocrine treatment. *Int Urol Nephrol* 32: 659-663.
- [162] Matzkin H, Eber P, Todd B, van der Zwaag R and Soloway MS (1992) Prognostic significance of changes in prostate-specific markers after endocrine treatment of stage D2 prostatic cancer. *Cancer* 70: 2302-2309.
- [163] Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, Brawer MK, Flanigan RC, Patel A, Richie JP, deKernion JB, Walsh PC, Scardino PT, Lange PH, Subong EN, Parson RE, Gasior GH, Loveland KG and Southwick PC (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: 1542-1547.
- [164] Morote J, Trilla E, Esquena S, Serrallach F, Abascal JM, Munoz A, Id M'Hammed Y and de Torres IM (2002) The percentage of free prostatic-specific antigen is also useful in men with normal digital rectal examination and serum prostatic-specific antigen between 10.1 and 20 ng/ml. *Eur Urol* 42: 333-337.
- [165] Roddam AW, Duffy MJ, Hamdy FC, Ward AM, Patnick J, Price CP, Rimmer J, Sturgeon C, White P, Allen NE and Programme NHSPCRM (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: 386-399; discussion 398-389.
- [166] Carter HB, Pearson JD, Metter EJ, Brant LJ, Chan DW, Andres R, Fozard JL and Walsh PC (1992) Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without prostate disease. *JAMA* 267: 2215-2220.
- [167] Goluboff ET, Heitjan DF, DeVries GM, Katz AE, Benson MC and Olsson CA (1997) Pretreatment prostate specific antigen doubling times: use in patients before radical prostatectomy. *J Urol* 158: 1876-1878; discussion 1878-1879.
- [168] Hanks GE, Hanlon AL, Lee WR, Slivjak A and Schultheiss TE (1996) Pretreatment prostate-specific antigen doubling times: clinical utility of this predictor of prostate cancer behavior. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 34: 549-553.
- [169] Lee WR, Hanks GE, Corn BW and Schultheiss TE (1995) Observations of pretreatment prostate-specific antigen doubling time in 107 patients referred for definitive radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 31: 21-24.
- [170] Egawa S, Arai Y, Tobisu K, Kuwao S, Kamoto T, Kakehi Y and Baba S (2000) Use of pretreatment prostate-specific antigen doubling time to predict outcome after radical prostatectomy. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 3: 269-274.
- [171] D'Amico AV, Chen MH, Roehl KA and Catalona WJ (2004) Preoperative PSA velocity and the risk of death from prostate cancer after radical prostatectomy. *N Engl J Med* 351: 125-135.

- [172] D'Amico AV, Renshaw AA, Sussman B and Chen MH (2005) Pretreatment PSA velocity and risk of death from prostate cancer following external beam radiation therapy. *JAMA* 294: 440-447.
- [173] Schmid HP, McNeal JE and Stamey TA (1993) Observations on the doubling time of prostate cancer. The use of serial prostate-specific antigen in patients with untreated disease as a measure of increasing cancer volume. *Cancer* 71: 2031-2040.
- [174] D'Amico AV, Kantoff P, Loffredo M, Renshaw AA, Loffredo B and Chen MH (2006) Predictors of mortality after prostate-specific antigen failure. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 65: 656-660.
- [175] Schmid HP, Semjonow A and Maibach R (1999) Prostate-specific antigen doubling time: a potential surrogate end point in hormone-refractory prostate cancer. *J Clin Oncol* 17: 1645-1646.
- [176] Karazanashvili G and Abrahamsson PA (2003) Prostate specific antigen and human glandular kallikrein 2 in early detection of prostate cancer. *J Urol* 169: 445-457.
- [177] Vickers AJ, Ulmert D, Serio AM, Bjork T, Scardino PT, Eastham JA, Berglund G and Lilja H (2007) The predictive value of prostate cancer biomarkers depends on age and time to diagnosis: towards a biologically-based screening strategy. *Int J Cancer* 121: 2212-2217.
- [178] Becker C, Piironen T, Pettersson K, Hugosson J and Lilja H (2003) Testing in serum for human glandular kallikrein 2, and free and total prostate specific antigen in biannual screening for prostate cancer. *J Urol* 170: 1169-1174.
- [179] Raaijmakers R, de Vries SH, Blijenberg BG, Wildhagen MF, Postma R, Bangma CH, Darte C and Schroder FH (2007) hK2 and free PSA, a prognostic combination in predicting minimal prostate cancer in screen-detected men within the PSA range 4-10 ng/ml. *Eur Urol* 52: 1358-1364.
- [180] Steuber T, Vickers AJ, Serio AM, Vaisanen V, Haese A, Pettersson K, Eastham JA, Scardino PT, Huland H and Lilja H (2007) Comparison of free and total forms of serum human kallikrein 2 and prostate-specific antigen for prediction of locally advanced and recurrent prostate cancer. *Clin Chem* 53: 233-240.
- [181] Link RE, Shariat SF, Nguyen CV, Farr A, Weinberg AD, Morton RA, Richardson B, Bernard D and Slawin KM (2004) Variation in prostate specific antigen results from 2 different assay platforms: clinical impact on 2304 patients undergoing prostate cancer screening. *J Urol* 171: 2234-2238.
- [182] Loeb S, Chan DW, Sokoll L, Kan D, Maggiore J, Mikolajczyk SD, Mondo DM, Griffin CR and Catalona WJ (2008) Prostate specific antigen assay standardization bias could affect clinical decision making. *J Urol* 180: 1959-1962; discussion 1962-1953.
- [183] Semjonow A, De Angelis G, Oberpenning F, Schmid HP, Brandt B and Hertle L (2000) The clinical impact of different assays for prostate specific antigen. *BJU Int* 86: 590-597.
- [184] Semjonow A, Oberpenning F, Brandt B, Zechel C, Brandau W and Hertle L (1996) Impact of free prostate-specific antigen on discordant measurement results of assays for total prostate-specific antigen. *Urology* 48: 10-15.
- [185] Stenman UH, Hakama M, Knekt P, Aromaa A, Teppo L and Leinonen J (1994) Serum concentrations of prostate specific antigen and its complex with alpha 1-antichymotrypsin before diagnosis of prostate cancer. *Lancet* 344: 1594-1598.

- [186] Patel D, White PA and Milford Ward A (2000) A comparison of six commercial assays for total and free prostate specific antigen (PSA): the predictive value of the ratio of free to total PSA. *BJU Int* 85: 686-689.
- [187] Stephan C, Klaas M, Muller C, Schnorr D, Loening SA and Jung K (2006) Interchangeability of measurements of total and free prostate-specific antigen in serum with 5 frequently used assay combinations: an update. *Clin Chem* 52: 59-64.
- [188] Thompson IM, Ankerst DP, Chi C, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Feng Z, Parnes HL and Coltman CA, Jr. (2006) Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *J Natl Cancer Inst* 98: 529-534.
- [189] http://urologie.charite.de/klinik/leistungsangebot/tumortherapie/prostatastanzbioptie_prostataclass/ [Zugriff 15.03.2016].
- [190] Stephan C, Cammann H, Meyer HA, Muller C, Deger S, Lein M and Jung K (2008) An artificial neural network for five different assay systems of prostate-specific antigen in prostate cancer diagnostics. *BJU Int* 102: 799-805.
- [191] Diagnostic Products Corporation (2004) Immulite 2000 PSA - Benutzerhandbuch. PIL2KPS-9.
- [192] Schostak M, Schwall GP, Poznanovic S, Groebe K, Muller M, Messinger D, Miller K, Krause H, Pelzer A, Horninger W, Klocker H, Hennenlotter J, Feyerabend S, Stenzl A and Schrattenholz A (2009) Annexin A3 in urine: a highly specific noninvasive marker for prostate cancer early detection. *J Urol* 181: 343-353.
- [193] Xin W, Rhodes DR, Ingold C, Chinnaiyan AM and Rubin MA (2003) Dysregulation of the annexin family protein family is associated with prostate cancer progression. *Am J Pathol* 162: 255-261.
- [194] Silva FR, Nabeshima CT, Bellini MH and Courrol LC (2012) Early diagnosis of prostate cancer by citrate determination in urine with europium-oxytetracycline complex. *Appl Spectrosc* 66: 958-961.
- [195] Ozgur T, Atik E, Hakverdi S and Yaldiz M (2013) The expressions of AMACR and iNOS in prostate adenocarcinomas. *Pak J Med Sci* 29: 610-613.
- [196] Rao AR, Motiwala HG and Karim OM (2008) The discovery of prostate-specific antigen. *BJU Int* 101: 5-10.
- [197] Hoffman RM, Gilliland FD, Adams-Cameron M, Hunt WC and Key CR (2002) Prostate-specific antigen testing accuracy in community practice. *BMC Fam Pract* 3: 19.
- [198] Jung K, Stephan C, Lein M, Henke W, Schnorr D, Brux B, Schurenkamper P and Loening SA (1996) Analytical performance and clinical validity of two free prostate-specific antigen assays compared. *Clin Chem* 42: 1026-1033.
- [199] Okihara K, Ukimura O, Nakamura T, Ushijima S, Mizutani Y, Kawauchi A, Naya Y, Kojima M and Miki T (2006) Complexed PSA improves prostate cancer detection: results from a multicenter Japanese clinical trial. *Urology* 67: 328-332.
- [200] Sokoll LJ, Wang Y, Feng Z, Kagan J, Partin AW, Sanda MG, Thompson IM and Chan DW (2008) [-2]proenzyme prostate specific antigen for prostate cancer detection: a national cancer institute early detection research network validation study. *J Urol* 180: 539-543; discussion 543.
- [201] Stephan C, Kahrs AM, Cammann H, Lein M, Schrader M, Deger S, Miller K and Jung K (2009) A [-2]proPSA-based artificial neural network significantly

- improves differentiation between prostate cancer and benign prostatic diseases. *Prostate* 69: 198-207.
- [202] Gui-Zhong L, Libo M, Guanglin H and Jianwei W (2011) The correlation of extent and grade of inflammation with serum PSA levels in patients with IV prostatitis. *Int Urol Nephrol* 43: 295-301.
- [203] Oremek GM and Seiffert UB (1996) Physical activity releases prostate-specific antigen (PSA) from the prostate gland into blood and increases serum PSA concentrations. *Clin Chem* 42: 691-695.
- [204] Cetinkaya ZA, Sezikli M, Guzelbulut F, Sezikli H, Ozcaglayan A, Sengor F, Ince AT and Kurdas OO (2010) Serum levels of prostate specific antigen are elevated after colonoscopy. *Tohoku J Exp Med* 222: 183-186.
- [205] Kojima M, Troncoso P and Babaian RJ (1998) Influence of noncancerous prostatic tissue volume on prostate-specific antigen. *Urology* 51: 293-299.
- [206] Loeb S, Bjurlin MA, Nicholson J, Tammela TL, Penson DF, Carter HB, Carroll P and Etzioni R (2014) Overdiagnosis and Overtreatment of Prostate Cancer. *Eur Urol*.
- [207] Klotz L (2013) Prostate cancer overdiagnosis and overtreatment. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 20: 204-209.
- [208] Lodeta B, Benko G, Car S, Filipan Z, Stajcar D and Dujmovic T (2009) Prostate specific antigen density can help avoid unnecessary prostate biopsies at prostate specific antigen range of 4-10 ng/ml. *Acta Clin Croat* 48: 153-155.
- [209] Oesterling JE, Jacobsen SJ, Chute CG, Guess HA, Girman CJ, Panser LA and Lieber MM (1993) Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men. Establishment of age-specific reference ranges. *JAMA* 270: 860-864.
- [210] Fang J, Metter EJ, Landis P and Carter HB (2002) PSA velocity for assessing prostate cancer risk in men with PSA levels between 2.0 and 4.0 ng/ml. *Urology* 59: 889-893; discussion 893-884.
- [211] Stephan C, Kramer J, Meyer HA, Kristiansen G, Ziemer S, Deger S, Lein M, Loening SA and Jung K (2007) Different prostate-specific antigen assays give different results on the same blood sample: an obstacle to recommending uniform limits for prostate biopsies. *BJU Int* 99: 1427-1431.
- [212] Ghys T, Goedhuys W, Spincemaille K, Gorus F and Gerlo E (2007) Plasma-equivalent glucose at the point-of-care: evaluation of Roche Accu-Chek Inform and Abbott Precision PCx glucose meters. *Clin Chim Acta* 386: 63-68.
- [213] Karim O, Rao A, Emberton M, Cochrane D, Partridge M, Edwards P, Walker I and Davidson I (2007) Point-of-care PSA testing: an evaluation of PSAwatch. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 10: 270-273.
- [214] Jorgensen B, Bertsch T, Broker HJ, Schafer M, Chapelle JP, Gadisseur R, Cowie MR, Dikkeschei B, Gurr E, Hayen W, Hafner G, Stiegler Y, Schonherr HR, Strasser RH, Weidtmann B, Folkerts H, Zugck C, Hofmann K and Zerback R (2012) Multicentre evaluation of a second generation point-of-care assay with an extended range for the determination of N-terminal pro-brain natriuretic peptide. *Clin Lab* 58: 515-525.
- [215] Esposito S, Tremolati E, Begliatti E, Bosis S, Gualtieri L and Principi N (2005) Evaluation of a rapid bedside test for the quantitative determination of C-reactive protein. *Clin Chem Lab Med* 43: 438-440.

- [216] Liu R, Wang C, Jiang Q, Zhang W, Yue Z and Liu G (2013) Magnetic-particle-based, ultrasensitive chemiluminescence enzyme immunoassay for free prostate-specific antigen. *Anal Chim Acta* 801: 91-96.
- [217] Li W, Ge S, Wang S, Yan M, Ge L and Yu J (2013) Highly sensitive chemiluminescence immunoassay on chitosan membrane modified paper platform using TiO₂ nanoparticles/multiwalled carbon nanotubes as label. *Luminescence* 28: 496-502.
- [218] Reed AB, Ankerst DP, Leach RJ, Vipraio G, Thompson IM and Parekh DJ (2008) Total prostate specific antigen stability confirmed after long-term storage of serum at -80C. *J Urol* 180: 534-537; discussion 537-538.
- [219] Scaramuzzino DA, Schulte K, Mack BN, Soriano TF and Fritsche HA (2007) Five-year stability study of free and total prostate-specific antigen concentrations in serum specimens collected and stored at -70 degrees C or less. *Int J Biol Markers* 22: 206-213.
- [220] Tanner M, Kent N, Smith B, Fletcher S and Lewer M (2008) Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation. *Ann Clin Biochem* 45: 375-379.
- [221] Rausch S, Hennenlotter J, Wiesenreiter J, Hohneder A, Heinkele J, Schwentner C, Stenzl A and Todenhofer T (2016) Assessment of a new point-of-care system for detection of prostate specific antigen. *BMC Urol* 16: 4.

7.0. Veröffentlichung

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits publiziert:

Rausch S, *et al.*. Assessment of a new point-of-care system for detection of prostate specific antigen. BMC Urol. 2016;16(1):4. doi: 10.1186/s12894-016-0119-9(221).

Anhang

Lagerdauer in Monaten	tPSA-Immunitate in ng/ml	fPSA-Immunitate in ng/ml	%fPSA-Immunitate	Nachmessung tPSA-Immunitate in ng/ml	Nachmessung fPSA-Immunitate in ng/ml	Nachmessung %fPSA-Immunitate	batch2 15min tPSA in ng/ml	batch2 15min fPSA in ng/ml	batch2 15min %fPSA	
12	1,76	0,86	0,49	1,37	0,74	0,54	0,77	0,29	0,38	
13	3,43	0,48	0,14	2,77	0,44	0,16	0,80	0,07	0,09	
12	19,60	3,68	0,19	15,7	3,78	0,24	7,15	4,28	0,60	
12	0,53	0,12	0,23	0,43	0,13	0,30	0,07	0,00	0,00	
12	20,10	1,64	0,08	17,8	1,45	0,08	4,66	0,55	0,12	
12	3,57	0,97	0,27	2,88	0,86	0,30	1,86	0,55	0,30	
21	25,60	0,75	0,03	21,9	0,66	0,03	5,81	0,68	0,12	
13	35,40	0,72	0,02	29,6	0,66	0,02	13,13	0,83	0,06	
13	20,30	1,64	0,08	17,9	1,6	0,09	6,54	1,05	0,16	
21	16,50	1,49	0,09	16,2	1,21	0,07	4,25	0,28	0,07	
12	1,18	0,08	0,07	0,98	0,1	0,10	0,36	0,04	0,11	
13	33,90	1,43	0,04	26,7	1,38	0,05	8,72	1,87	0,21	
21	24,30	2,54	0,10	19,8	2,04	0,10	9,36	0,82	0,09	
13	10,70	1,46	0,14	9,86	1,4	0,14	2,98	0,38	0,13	
11	1,57	0,16	0,10	1,31	0,15	0,11	0,34	0,36	1,06	
13	11,60	0,96	0,08	10,5	0,97	0,09	2,79	0,06	0,02	
13	15,50	1,36	0,09	12,8	1,19	0,09	4,72	0,61	0,13	
12	3,00	0,43	0,14	2,63	0,41	0,16	1,06	0,03	0,03	
13	0,38	0,11	0,29	0,32	0,1	0,31	0,01	0,92	92,00	
12	1,20	0,26	0,22	0,97	0,11	0,11	0,58	0,01	0,02	
12	2,80	0,84	0,30	2,53	0,84	0,33	0,94	1,30	1,38	
Median	13	10,7	0,86	0,1	9,86	0,84	0,11	2,79	0,55	0,12
Meanwert	13,62	12,04	1,05	0,15	10,24	0,96	0,16	3,66	0,71	4,62

Tab. 26: Darstellung der initial ermittelten Messwerte für tPSA-Immunitate, fPSA-Immunitate und %fPSA-Immunitate am Immulite 2000 und deren Nachmessungen am Immulite 2000 XPi und Q100 mit *batch2*-Testkassetten nach 15min Ablesezeit sowie der Lagerdauer der Proben im Gefrierschrank.

Erklärungen zum Eigenanteil

Die vorliegende Arbeit wurde in der Universitätsklinik für Urologie Tübingen unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. C. Schwentner durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Prof. Dr. C. Schwentner und PD Dr. T. Todenhöfer in Zusammenarbeit mit der Firma concile GmbH, in Person vertreten durch Herrn F. Maier.

Sämtliche Versuchsmessungen wurden von mir nach Einarbeitung durch Labormitarbeiter (Herrn J. Hennenlotter, Frau A. Hohneder, Frau U. Kühs) mit Unterstützung durch Herrn J. Heinkele durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Anleitung durch Herrn J. Hennenlotter durch mich.

Bei der Diskussion der Ergebnisse erhielt ich Unterstützung von Dr. S. Rausch.

Ich versichere, das Manuskript selbstständig nach Anleitung durch Herrn Prof. Dr. C. Schwentner, Herrn PD Dr. T. Todenhöfer und Herrn J. Hennenlotter verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Kempton, den 28.11.2016

Josef Wiesenreiter

Danksagung

In erster Linie bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. A. Stenzl für die Überlassung des Themas und der Schaffung der optimalen Rahmenbedingungen zur Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. C. Schwentner, Herrn PD Dr. T. Todenhöfer und Herrn Dr. S. Rausch danke ich für die fachliche Betreuung meiner Arbeit und die zahlreichen Hilfestellungen.

Ein besonderer Dank gilt den Herren F. Maier und H. Olschewski von der Firma concile GmbH für die Zurverfügungstellung der notwendigen Geräte und Unterlagen.

Bei Herrn Prof. Dr. R. Lehmann und Herrn Dipl.-Min. E. Eipper vom Zentrallabor möchte ich mich für die zur Verfügung gestellten Informationen und Materialien bedanken.

Vielen Dank auch an das gesamte Laborteam, allen voran Frau U. Kühs. Eine spezielle Erwähnung verdient auch Herr J. Heinkele für seinen intensiven Einsatz.

Wäre jedoch nicht ein Herr Dipl.-Biol. J. Hennenlotter als ständiger Ansprechpartner vorhanden gewesen, würde diese Arbeit nicht so vorliegen können. In vielen Gesprächen hat er motiviert, beratschlagt und so zur Fertigstellung der Arbeit beigetragen. Ein herzliches Vergelt's Gott dafür.

Meiner Verlobten Katharina und meiner Familie danke ich besonders für die andauernde Motivation. Ohne diese wäre dieses Projekt nicht durchführbar gewesen!