

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Klinik und Poliklinik für Urologie

- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. L. Hertle -

Intraindividuelle Variabilität des prostataspezifischen Antigens
bei Patienten mit lokal fortgeschrittenem Prostatakarzinom
unter Androgenablation durch bilaterale Orchiektomie

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Grabski, Holger

aus Bochum

2005

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan:

Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens

1.Berichterstatter:

Priv.-Doz. Dr. med. A. Semjonow

2.Berichterstatter:

Priv.-Doz. Dr. med. G. Knichwitz

Tag der mündlichen Prüfung:

20.09.2005

AUS DER KLINIK UND POLIKLINIK FÜR UROLOGIE
DER WESTFÄLISCHEN WILHELMS-UNIVERSITÄT MÜNSTER
- DIREKTOR: UNIV.-PROF. DR. MED. L. HERTLE -
- REFERENT: PRIV.-DOZ. DR. MED. A. SEMJONOW -
- KOREFERENT: PRIV.-DOZ. DR. MED. G. KNICHWITZ -

ZUSAMMENFASSUNG

INTRAINDIVIDUELLE VARIABILITÄT DES PROSTATASPEZIFISCHEN ANTIGENS
BEI PATIENTEN MIT LOKAL FORTGESCHRITTENEM PROSTATAKARZINOM
UNTER ANDROGENABLATION DURCH BILATERALE ORCHIEKTOMIE

HOLGER GRABSKI

Das prostataspezifische Antigen ist fester Bestandteil der Diagnostik und Therapieverwachung des Prostatakarzinoms. In der Therapieverwachung werden klinische Entscheidungen allerdings meist allein anhand der im Verlauf der Therapie festgestellten Veränderungen der PSA-Blutserumkonzentration getroffen. Dabei obliegt die Interpretation der erhobenen Befunde der Kenntnis des Untersuchers über die physiologische Variabilität des PSA. Die Abgrenzung des klinischen Progresses mit stetigem Anstieg der PSA-Serumkonzentration von den physiologischen, intraindividuellen Schwankungen des Serummarkers ist insbesondere in der Therapiekontrolle schwierig. Als idealer Tumormarker sollte das PSA den supprimierten Status des Prostatakarzinoms nach definitivem Androgenentzug durch bilaterale Orchiectomie widerspiegeln und einen Tumorprogress anzeigen. Üblicherweise finden serielle Kontrollen des Serummarkers bei Patienten mit lokal fortgeschrittenem Prostatakarzinom in viertel- bis halbjährlichen Abständen statt, nachdem sie in Folge der hormonablativen Therapie ein stabiles Niveau, den PSA-Nadir, erreicht haben. Neben den methodologischen Abweichungen durch Verwendung unterschiedlicher Testverfahren (Inter-Assay-Variabilität) sowie der methodologischen Abweichung innerhalb eines Testverfahrens (Intra-Assay-Variabilität), spielt für die intraindividuelle Abweichung die Beurteilung serieller PSA-Bestimmungen eine große Rolle. Die Variabilität infolge intraindividuelle Schwankungen findet ihren Ausdruck in dem Variationskoeffizienten (VK). Der VK stellt als Dispersionsmaß das Verhältnis der Standardabweichung zum Mittelwert in Prozent dar und erlaubt daher einen Vergleich von rationalskalierten Messwerten, ohne abhängig von der verwendeten Einheit zu sein. Ein großer VK zeigt eine große Variabilität an. Üblicherweise gilt für messmethodische Variabilitäten für Tumormarker ein VK von <10% als akzeptabel.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Patientenkollektiv von 50 männlichen Patienten mit lokal fortgeschrittenem Prostatakarzinom, die unter Androgenablation durch bilaterale Orchiectomie einen stabilen PSA-Nadir erreicht hatten, auf intraindividuelle Schwankungsbreiten des PSA untersucht. Hierzu wurden serielle PSA-Bestimmungen in Blutproben aus einer Untersuchungsphase mit 6 Blutentnahmen in wöchentlichen Abständen und einer Nachsorgephase mit 3 Blutentnahmen in halbjährlichen Abständen unter Verwendung des immunoenzymatischen Tandem®-E PSA Assays (Hybritech Inc., San Diego, CA 92121, USA) durchgeführt. Die Intra-Assay-Präzision des verwendeten Assays wurde durch Tests mit unterschiedlichen PSA-Konzentrationen ermittelt. Dabei ergaben sich für die Mittelwerte der Konzentrationen 3,4 ng/ml, 21,5 ng/ml und 85,5 ng/ml Standardabweichungen (SD) von 0,1; 0,8 und 4,1 sowie VK von 3,3; 3,7 und 4,8 %. Die Inter-Assay-Präzision wurde durch 15 wiederholte Tests von drei unterschiedlichen Serumproben mit mittleren PSA-Konzentrationen von 6,5 ng/ml, 25,1 ng/ml und 81,1 ng/ml ermittelt. Dabei ergaben sich für die Mittelwerte der Konzentrationen 6,5 ng/ml, 25,1 ng/ml und 81,1 ng/ml SD von 0,36; 1,49 und 2,91 sowie VK von 5,6; 5,9 und 3,6%.

Durch die seriellen Untersuchungen ließ sich eine erhebliche Differenz zwischen den Assay-bedingten Unpräzisionen und der durch intraindividuelle Faktoren bedingten Variabilität aufzeigen: Die mittlere intraindividuelle Variabilität in den PSA-Konzentrationsbereichen <0,10 ng/ml VK 67%, >0,10 bis <1,00 ng/ml VK 19%, >1,00 bis <4,00 ng/ml VK 19%, >4,00 bis <10,00 ng/ml VK 9% und >10,00 bis <100,00 ng/ml VK 5% übersteigt sowohl die Intra-Assay-Präzision als auch die Inter-Assay-Präzision um ein Vielfaches.

Die Resultate der vorliegenden Untersuchung geben somit Anlass, die Interpretation einzelner Messergebnisse der PSA-Serumkonzentration in der Therapiekontrolle des lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinoms kritisch zu überdenken.

1 Inhaltsverzeichnis

1	Inhaltsverzeichnis	1
2	Einleitung	3
3	Prostata-spezifisches Antigen	6
3.1.1	PSA - Biochemische Aspekte	6
3.1.2	PSA - Biologische Aspekte	14
3.1.3	PSA - Klinische Aspekte	17
4	Patienten und Methode	31
4.1	Datenbasis	31
4.2	Patientenkollektiv	32
4.2.1	Einschlusskriterien	32
4.2.2	Ausschlusskriterien	32
4.3	Studiendesign	33
4.4	Analysevorbereitung	34
4.5	Analysen	35
4.5.1	Testprinzip	35
4.5.2	Testmaterial	36
4.5.3	Testvorbereitung	38
4.5.4	Testdurchführung	38
4.5.5	Testleistungsdaten	39
4.5.6	Statistische Auswertung	40
5	Ergebnisse	41
5.1	Altersverteilung	41
5.2	PSA-Verteilung	43
5.3	Ergebnisse	45
5.3.1	PSA-Konzentrationsbereich <0,10 ng/ml	45
5.3.2	PSA-Konzentrationsbereich >0,10 bis <1,00 ng/ml	48

5.3.3	PSA-Konzentrationsbereich >1,00 bis <4,00 ng/ml	51
5.3.4	PSA-Konzentrationsbereich >4,00 bis <10,00 ng/ml	54
5.3.5	PSA-Konzentrationsbereich >10,00 bis <100,00 ng/ml	57
5.3.6	PSA-Konzentrationsbereich >100,00 ng/ml	60
5.4	Konzentrationsabhängige Variabilität	61
5.4.1	Variabilität Konzentrationsbereich <0,10 ng/ml	61
5.4.2	Variabilität Konzentrationsbereich >0,10 bis <1,00 ng/ml	62
5.4.3	Variabilität Konzentrationsbereich >1,00 bis <4,00 ng/ml	63
5.4.4	Variabilität Konzentrationsbereich >4,00 bis <10,00 ng/ml	64
5.4.5	Variabilität Konzentrationsbereich >10,00 bis <100,00 ng/ml	65
5.5	Zusammenfassung der Ergebnisse	66
5.5.1	Konzentrationsbereich <0,10 ng/ml	66
5.5.2	Konzentrationsbereich >0,10 bis <1,00 ng/ml	67
5.5.3	Konzentrationsbereich >1,00 bis <4,00 ng/ml	68
5.5.4	Konzentrationsbereich >4,00 bis <10,00 ng/ml	69
5.5.5	Konzentrationsbereich >10,00 bis <100,00 ng/ml	70
5.5.6	Konzentrationsbereich >100,00 ng/ml	71
6	Diskussion	72
7	Zusammenfassung	76
8	Abkürzungsverzeichnis	79
9	Literaturverzeichnis	82
10	Danksagung	94
11	Lebenslauf	96

2 Einleitung

Das Prostatakarzinom (PCA) stellt ein stetig wachsendes, internationales Gesundheitsproblem dar. In den meisten industrialisierten Ländern ist das PCA das am häufigsten diagnostizierte Karzinom. In einigen Nationen hat das PCA das Bronchialkarzinom als Hauptursache der Krebsmortalität bereits überholt. Das gegenwärtige Lebenszeitrisiko für Männer der westlichen, industrialisierten Nationen ein mikroskopisches PCA zu entwickeln wird, anhand epidemiologischer Hochrechnungen, auf rund 30% geschätzt. Das Risiko an einem klinisch manifesten PCA zu erkranken wird mit 10% kalkuliert. Gegenwärtig versterben etwa 3% der Männer an den direkten Folgen des PCA [111].

Warum, abgesehen von genetischer Disposition des Betroffenen, ein PCA entsteht, darüber herrscht noch weitgehend Ungewissheit. Aufgrund weiter Verbreitung des „western-type life style“ und der Zunahme des Lebensalters der Weltbevölkerung prophezeiten Epidemiologen sowohl einen dramatischen Anstieg der Inzidenz als auch der Mortalität des PCA bis zum Jahre 2020 [148].

Im Gegensatz zu den meisten anderen Malignomen stellt das PCA für den Betroffenen nicht zwingend eine unmittelbare Lebensbedrohung dar und erfordert daher nicht notwendigerweise eine Therapie. In der Vergangenheit forderten einige Urologen die Wende zu therapeutischem Nihilismus, da viele Männer in höherem Lebensalter zwar mit aber nicht an einem PCA versterben. Diese Haltung ist in der angebrochenen Ära der weit verbreiteten Früherkennungsprogramme unter Verwendung des prostataspezifischen Antigens (PSA), zumindest bei Prostatakarzinompatienten mit einer vom PCA unabhängigen Lebenserwartung von 10 Jahren, kaum aufrecht zu halten. Die große Herausforderung besteht also darin, mit möglichst hoher Trennschärfe zwischen den schnell wachsenden und potentiell lebensbedrohenden sowie den langsam wachsenden, gut differenzierten und die natürliche Lebenserwartung des Patienten nicht verringernenden Formen der Karzinome zu differenzieren [111],[248].

Gegenwärtig konzentrieren sich erneut die Anstrengungen einen Konsens bezüglich der diagnostischen Bemühungen zur Identifikation des PCA zu erlangen. Ohne Zweifel scheinen diagnostische Leistungen bei jenen Patienten, die mit obstruktiven Miktionsymptomen und einer Lebenserwartung von mehr als 10 Jahren ihren Urologen aufsuchen, gerechtfertigt. Weiterhin ist eine Ausweitung der Diagnostik bei jenen Patienten, die im Rahmen einer digitalen rektalen Untersuchung einen suspekten Tastbefund und eine erhöhte Blutserumkonzentration des prostataspezifischen Antigens aufweisen, legitim. Hingegen wird die formale Einladung aller Männer einer bestimmten Altersgruppe zum Screening des PCA durch staatliche Krebsfrüherkennungsprogramme kontrovers diskutiert, da ein Beleg für eine Reduktion der erkrankungsbedingten Mortalität hierdurch bislang fehlt und eine überhöhte sozioökonomische Belastung der Gesellschaft aus den therapeutischen Konsequenzen resultiert [111],[248]. Im Rahmen von Messungen erhöhter PSA-Blutserumkonzentrationen diagnostizierte Karzinome weisen in rund 95% der Fälle ein klinisch relevantes Tumolvolumen auf und sind in über 75% der Fälle in ihrem Wachstum organbegrenzt. Ergebnisse aus Langzeituntersuchungen zur Frühdiagnose durch Screening dieser Tc-Prostatakarzinome werden für das Jahr 2008 erwartet [67].

Tumormarker des Serums spielen heute im Management von Krebspatienten in allen onkologischen Fachrichtungen eine fundamentale Rolle. Das prostataspezifische Antigen hat in der Uroonkologie durch seine Organspezifität als Tumormarker große Bedeutung erlangt. Dies gilt sowohl für die Diagnostik, als auch für die Therapieüberwachung des Adenokarzinoms der Prostata [204].

In der Diagnostik des Prostatakarzinoms ist das PSA fester Bestandteil im Rahmen eines diagnostischen Gesamtkonzeptes. In der Therapieüberwachung werden klinische Entscheidungen allerdings nicht selten allein anhand der im Verlauf der Therapie festgestellten Veränderungen der PSA-Blutserumkonzentration getroffen. Dabei obliegt die Interpretation der erhobenen Befunde der Kenntnis des Untersuchers über die physiologische Variabilität des PSA. Die Abgrenzung eines klinischen Progresses mit stetigem Anstieg der PSA-Serumkonzentration von den „physiologischen“ intraindividuellen Schwankungen des Serummarkers ist insbesondere in der Therapiekontrolle schwierig. Therapeutische Konsequenzen anhand einzelner, erhöhter

Messwerte sollten kritisch hinterfragt werden [202]. Mit hochsensitiven Testverfahren zur Bestimmung des PSA mit einer funktionellen Sensitivität von 0,01 ng/ml wurden die Möglichkeiten deutlich verbessert, ein Rezidiv durch PSA-Anstieg schon Monate vor dem klinisch nachweisbaren Rezidiv zu detektieren. Der Einsatz dieser ultrasensitiven laborchemischen Nachweisverfahren wird daher im Anschluss an die hormonablative Tumorthherapie und Erreichen eines stabilen PSA-Nadirs propagiert [202].

Als idealer Tumormarker sollte das prostataspezifische Antigen den supprimierten Status eines PCA nach definitivem Androgenentzug durch die bilaterale Orchiectomie widerspiegeln und einen Tumorprogress anzeigen. Üblicherweise findet eine serielle Kontrolle der Serummarker bei Patienten mit lokal fortgeschrittenem PCA in viertel- bis halbjährlichen Abständen statt, nachdem sie in Folge einer hormonablativen Therapie ein stabiles Niveau (PSA-Nadir) erreicht haben [200], [201].

Neben den methodologischen Abweichungen durch Verwendung unterschiedlicher Testverfahren (Inter-Assay-Variabilität) sowie der methodologischen Abweichung innerhalb eines verwendeten Testverfahrens (Intra-Assay-Variabilität), spielt die intraindividuelle Abweichung (intraindividuelle gleich physiologische Variabilität) für die Beurteilung serieller PSA-Bestimmungen folglich eine große Rolle [200],[201].

Die Variabilität infolge intraindividuelle Schwankungen findet ihren Ausdruck in dem Variationskoeffizienten (VK). Der VK stellt als Dispersionsmaß das Verhältnis der Standardabweichung zum Mittelwert in Prozent dar und erlaubt daher einen Vergleich von rationalskalierten Messwerten, ohne abhängig von der verwendeten Einheit zu sein. Ein großer VK zeigt eine große Variabilität innerhalb der erhobenen Messwerte an. Üblicherweise kann für Tumormarker eine physiologische Variabilität von weniger als zehn Prozent als akzeptabel gelten.

Die folgende Untersuchung ermittelt die intraindividuelle Variabilität des prostataspezifischen Antigens bei fünfzig Patienten mit lokal fortgeschrittenem PCA unter Androgenablation durch bilaterale Orchiectomie. Sowohl die intraindividuelle Schwankungsbreite im Beobachtungszeitraum von 6 Wochen (wöchentliche Bestimmung) als auch im Beobachtungszeitraum 2 Jahre (Bestimmung im 12-Wochen Intervall) auf unterschiedlichem Nadir-Niveau wurden erfasst.

3 Prostataspezifisches Antigen

3.1.1 PSA - Biochemische Aspekte

3.1.1.1 PSA - Entdeckung

Das heute unter dem Namen prostataspezifisches Antigen (PSA) bekannte Glykoprotein wurde von Hara und Mitarbeitern erstmalig 1971 in humanem Samenplasma nachgewiesen und als γ -Seminoprotein bezeichnet [91]. Li und Beling isolierten 1972 das identische Glykoprotein aus dem Samenplasma und bezeichneten es als E₁-Antigen [118]. Sensabaugh beschrieb 1978 schließlich das Isolationsverfahren eines spezifischen Proteins für das menschliche Samenplasma und postulierte den möglichen Einsatz in der forensischen Medizin [205]. Aufgrund des Laufverhaltens in der Immunelektrophorese und seines Molekulargewichtes von etwa 30.000 Dalton erhielt das Protein den Namen p30. Wang et al. gelang 1979 die Entdeckung eines Antigens und dessen Isolierung aus der Prostata, welches sie aufgrund der fehlenden Nachweismöglichkeit in anderen Organen als PSA bezeichneten [240],[241]. Später gelang es mit erweiterten diagnostischen Verfahren die vorbeschriebenen Proteine des Samenplasmas als PSA zu identifizieren [216]. Papsidero et al. entwickelten 1980 den ersten immunologischen Test zum Nachweis von PSA [167]. Gleichzeitig konnte die Arbeitsgruppe nachweisen, dass sowohl benigne als auch maligne Veränderungen der Prostata mit einer Erhöhung der PSA-Serumkonzentration einhergehen [30].

Zusätzlich zu den Isolationsverfahren der vorgenannten Autoren stellten zahlreiche Arbeitsgruppen Protokolle zur Isolierung des PSA aus dem Seminalplasma vor [123],[194],[195],[232],[242],[262]. In jüngerer Zeit gelang die Herstellung des rekombinanten Enzyms durch Expression in Eukaryontenzellen [113],[125],[136]. Im Gegensatz zu dem aus dem Samenplasma isolierten Vollenzym, stellt das rekombinante PSA als Proenzym (proPSA) eine enzymatische Vorstufe dar [73],[113],[126].

3.1.1.2 PSA - Struktur

Das prostataspezifische Antigen ist ein monomeres Glykoprotein aus 237 bis 240 Aminosäuren und 4 heterogenen Kohlenhydrat-Seitenketten mit einem Aminosäureanteil von 93% und einem Kohlenhydratanteil von 7% [243]. Die N-terminale Aminosäure ist Isoleucin (Ile), die C-terminale Aminosäure ist Prolin (Pro). O-glycosidisch gebundene Kohlenhydratseitenketten sind an den Aminosäuren 69 (Serin), 70, (Threonin) und 71(Serin) lokalisiert. Die vierte Kohlenhydratseitenkette ist an die Aminosäure 45 (Asparagin) N-glycosidisch gebunden. PSA enthält eine potentielle proteolytische Spaltstelle zwischen den Aminosäuren 145 und 146 (beides Lysin). Die katalytische Triade (aktives Zentrum) wird von Histidin (His) in Position 41, Asparagin (Asp) in Position 96 und Serin (Ser) in Position 189 gebildet [95],[129],[188],[260].

Das Molekulargewicht, ermittelt in der SDS-PAGE, beträgt 30 kD. Das Molekulargewicht des Peptidanteiles beträgt rechnerisch zwischen 26079 und 26496 Dalton. Unter Berücksichtigung der Kohlenhydratseitenketten ergibt sich ein kalkuliertes Gesamtgewicht des Proteins von 28460 D. Die Diskrepanzen zwischen den errechneten und den messbaren Molekulargewichten ergeben sich aus den gewählten Verfahren (Gelfiltration, Massenspektrometrie) und der Variabilität des Kohlenhydratrestes [244].

Mit Hilfe von monoklonalen Mausantikörpern, Computermodellierung und unter Berücksichtigung der bekannten Disulfidbrücken der Serin-Proteasen Trypsin und Chymotrypsin gelang die Rekonstruktion der dreidimensionalen Faltblattstruktur des PSA [18],[32],[158],[238],[239].

3.1.1.3 PSA - physikalische Eigenschaften

Der isoelektrische Punkt (iP) von aus dem Seminalplasma isoliertem PSA liegt in Abhängigkeit von der vorliegenden Isoform bei einem pH von 6,5 bis 8,0 [205],[241]. Zhang et al. konnten den isoelektrischen Punkt anhand von zwei intakten Isoformen des

PSA mit pH 6,9 bzw. pH 7,2 angeben. Unter Zugabe von Sialidase liegt der isoelektrische Punkt für beide PSA-Isoformen im Versuch bei pH 7,7. Als Begründung für die unterschiedlichen isoelektrischen Punkte der Isoformen wird die Heterogenität der Isoformen in Bezug auf den Kohlenhydratanteil angenommen [262].

Untersuchungen des isoelektrischen Punktes von PSA aus dem Serum von Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie variieren zwischen pH 6,6 und pH 7,3. PSA des Serums von Patienten mit einem klinisch manifesten PCA weist einen isoelektrischen Punkt zwischen pH 7,0 und pH 8,8 auf [101]. Untersuchungen an LNCaP-Zelllinien zeigen eine größere Variabilität mit einem iP von pH 6,8 bis pH 8,4 [235].

Der Extinktionskoeffizient für PSA aus dem Seminalplasma wird bei einer Wellenlänge von 280nm mit 1,61 bis 1,84 L x g⁻¹ x cm⁻¹ angegeben [216],[262].

3.1.1.4 PSA - enzymatische Eigenschaften

Das PSA weist als Serinprotease, in Hinblick auf die Aminosäuresequenz, eine große Homologie zu den Mitgliedern der Kallikreingruppe auf [95],[243]. Die für die Kallikreine codierenden Gene wurden in enger Nachbarschaft auf Chromosom 19 lokalisiert [189],[190]. Drei Gruppenmitglieder konnten identifiziert und charakterisiert werden. Dies sind das Gewebe-spezifische hK1 (human tissue kallikrein), das Drüsengewebe-spezifische hK2 (human glandular kallikrein) und schließlich das prostataspezifische hK3 (prostataspezifisches Antigen / PSA) [17],[58],[83],[189]. Bezüglich der Aminosäuresequenz beträgt die Übereinstimmung des PSA mit hK1 (human tissue kallikrein) 62%, die Übereinstimmung mit hK2 (human glandular kallikrein) sogar 79% [196]. Die Übereinstimmungen mit anderen Serin-Proteasen sind weitaus geringer. Sie betragen, in aufsteigender Reihenfolge, für Chymotrypsin 35%, für Trypsin 42%, für α -NGF 51%, für EGF-Binding-Protein 53% und für Tonin 54% [4],[58],[79],[81],[82].

Der Nachweis des Gewebe-spezifischen hK1 gelingt in Nieren, der Bauchspeicheldrüse sowie den submandibulären Speicheldrüsen [12],[83],[105],[107]. Ebenso wie das PSA, formaler Name hK3 wird das Drüsengewebe-spezifische hK2 im prostatistischen Gewebe

produziert [48],[256]. Der Anteil der hK2-mRNA beträgt im Prostatagewebe etwa 10 bis 50% der PSA-mRNA jedoch ist die Konzentration des Drüsengewebe-spezifischen hK2 im Seminalplasma letztlich mit 0,1 bis 1% der nachweisbaren PSA-Seminalplasmakonzentrationen verschwindend gering [70]. Auch für die Serumkonzentration von hK2 wird nur ein Anteil von rund 3% der PSA-Serumkonzentration angenommen [177]. Immunhistochemische Verfahren lassen eine unabhängige Expression von hK2 und PSA vermuten [179],[255],[256]. In PCA ist die Anfärbung von hK2 mittels immunhistochemischer Techniken im Gegensatz zur benignen Prostatahyperplasie ausgesprochen hoch [66],[74].

Kallikreine, als Serin-Proteasen, unterliegen dem hemmenden Einfluss der Serin-Protease-Inhibitoren, welche kurz als Serpine bezeichnet werden. Hierzu gehören unter anderem α 1-Antitrypsin, α 1-Antichymotrypsin, Antithrombin III und Protein-C-Inhibitor. Darüber hinaus werden die Serin-Proteasen über Back-Up-Inhibitoren wie α 2-Makroglobulin gehemmt. PSA wird durch eine Reihe weiterer Inhibitoren wie Aprotinin, Trypsin-Inhibitor, Leupeptin, Spermidin und Zink in seiner enzymatischen Aktivität gehemmt [21].

Benennend und kennzeichnend für die Serinproteasen ist der besonders reaktive Serinrest im katalytischen Zentrum der Protease, der seine Reaktionsfreudigkeit der engen räumlichen Beziehung zu jeweils einem Aspartatrest und Histidinrest verdankt. Der katalytische Mechanismus sei im Folgenden anhand der Serinprotease Chymotrypsin beschrieben:

Die katalytische Triade des Chymotrypsins wird aus Histidin (His) in Position 57, Aspartat (Asp) in Position 102 und Serin (Ser) in Position 195 gebildet. Diese drei Aminosäurereste bilden ein Ladungsübertragungssystem (charge relay system), welches die Eigenschaft besitzt ein Proton vorübergehend zu binden. Die Carboxylatgruppe des Asp-102 polarisiert die Imidazolgruppe und dient dem His-57 als Protonenakzeptor. His-57 bindet seinerseits das Proton aus der Hydroxylgruppe des Ser-195. Der Hydroxylsauerstoff des Ser-195 erhält durch die Wechselwirkungen eine negative Partialladung und greift unter Bildung eines tetraedischen Übergangszustands die Carbonylgruppe der Peptidbindung des Substrates nukleophil an. Das konservierte Proton des Ladungsübertragungssystems wird von His-57 auf den Stickstoff der

Peptidbindung übertragen, wodurch diese gespalten wird. Es resultiert neben einem Acyl-Intermediat mit kovalenter Bindung an Ser-195 eine Aminkomponente mit Wasserstoffbrückenbindung an His-57. Durch Deacylierung unter Wasseraufnahme wird die Aminkomponente abgespalten. Dem an ihre Stelle tretende H₂O wird durch Ladungsverschiebung ein Proton entzogen. Analog zur Acylierung entsteht durch Reaktion des Hydroxidions mit dem Carbonylkohlenstoff der Acylgruppe des Ser-195 ein tetraedischer Übergangszustand mit Ersatz der Aminkomponente durch H₂O. Durch Protonenübertragung von His-57 auf Ser-195 wird das Restpeptid freigesetzt und das Enzym regeneriert [49].

Bei ähnlichem katalytischem Mechanismus, wie zuvor beschrieben, unterscheiden sich die Serinproteasen im Wesentlichen durch ihre Substratspezifität. PSA als Serinprotease weist die charakteristische Anordnung der katalysierenden Aminosäuren an homologen Positionen auf. Nicht zuletzt wird die von mehreren Autoren beschriebene Chymotrypsin-ähnliche Eigenschaft darauf zurückgeführt.

Durch endoproteolytische Spaltung liegt PSA in etwa 30% der Gesamtmenge als enzymatisch inaktive Form im Seminalplasma vor [96]. Die endoproteolytischen Spaltstellen befinden sich C-terminal von Arg-85, Lys-148 und Lys-185. Aufgrund unveränderter Disulfidbrücken bleibt auch nach Inaktivierung des Enzyms durch endoproteolytische Spaltung der Verbund der Peptidketten erhalten. Neben der aktiven, monomeren Form des PSA sind also inaktive Formen mit bis zu vier Peptidketten möglich. Der Nachweis gelingt unter reduzierenden Bedingungen in der SDS-PAGE und ist durch das Auftreten zusätzlicher Bandenmuster unterhalb 32 kD gekennzeichnet.

3.1.1.5 PSA - Aktivierung

Die Aktivierung des PSA erfolgt über ein nicht aktives Preproenzym, welches zusätzlich zur Peptidkette des PSA mit einem hydrophoben Signalpeptid aus 24 Aminosäuren versehen ist. Nach Abspaltung von 17 Aminosäuren am N-Terminus wird das Preproenzym in das ebenfalls inaktive Proenzym (Zymogen/Pro-PSA) überführt.

Durch eine bisher nicht näher spezifizierte Trypsinähnliche Protease werden weitere 7 Aminosäuren N-terminal abgespalten und das Enzym aktiviert.

PSA wird als Serinprotease, sobald es in den Blutkreislauf gelangt, zu einem Teil von Serpinen unter Bildung SDS-stabiler Serpinkomplexe gebunden, wodurch die proteolytische Aktivität des PSA blockiert wird. Auf die PSA-Komplexbildung soll im Folgenden ausführlich eingegangen werden.

3.1.1.6 PSA - Komplexbildung

PSA als Serinprotease reagiert mit einer Vielzahl von Protease-Inhibitoren (Serpinen) unter Ausbildung SDS-stabiler Komplexe [120],[210]. Der Reaktionsmechanismus erfolgt analog zu anderen Serin-Proteasen und deren Inhibitoren. Im Sinne einer kompetitiven Hemmung verbindet sich die aktive Domäne des PSA mit der substratähnlichen Region des Inhibitors. Hieraus resultiert eine feste Bindung (Enzym-Inhibitor-Komplex) und die proteolytische Aktivität des Enzyms geht verloren [54],[124]. Die SDS-stabilen PSA-Komplexe werden im molaren Verhältnis 1:1 gebildet [53].

Folgende Komplexe sind bekannt und näher charakterisiert:

PSA- α 2-Makroglobulin-Komplex

Das tetramere α 2-Makroglobulin (AMG) hat ein Molekulargewicht von 725 kD und einen relativen Kohlenhydratanteil von 8-11%. Die Serumkonzentration des Glykoproteins beträgt in Normalseren ca. 2,5 mg/ml [22],[54],[234].

AMG besteht aus vier charakteristischen Untereinheiten und einem aktiven Zentrum. Nach Ankopplung einer Proteinase an das aktive Zentrum des Inhibitors führt eine unvollständige Proteolyse zu einer Konformationsänderung des Moleküls, welche in irreversibler Bindung und vollständiger Umkapselung der Proteinase resultiert [13],[137],[209].

PSA bildet im Serum mit AMG SDS-stabile Komplexe und wird dadurch inaktiviert. Der PSA-AMG-Komplex ist immunologisch nicht mehr nachzuweisen, da die vier symmetrischen Untereinheiten das PSA durch die Konformationsänderung vollständig umhüllen, so dass die Epitope der Protease nicht mehr zugänglich sind und von verwendeten Antikörpern nicht erkannt werden können. Mit AMG komplexiertes PSA kann also unter Verwendung bisher bekannter Tests nicht nachgewiesen werden. Bei der Quantifizierung des Gesamt-PSA (t-PSA) ist das im PSA-AMG-Komplex komplexierte PSA folglich unberücksichtigt [28],[106],[264].

PSA- α 1-Antichymotrypsin-Komplex

α 1-Antichymotrypsin (ACT) hat ein Molekulargewicht von 69 kD und einen relativen Kohlenhydratanteil von etwa 25%. Die Serumkonzentration des Glykoproteins beträgt in Normalseren ca. 487 μ g/ml [16],[23].

ACT gehört zu den wichtigsten Akut-Phase-Proteinen und spielt eine Schlüsselrolle bei der Entzündungskontrolle. Wie alle Serin-Proteasen bildet auch ACT Komplexe mit Chymotrypsin-ähnlichen Serin-Proteasen. Seine höchste Umsatzrate erreicht ACT mit Cathepsin G [234].

Anhand von Serumfraktionierungen konnte belegt werden, dass der PSA-ACT-Komplex neben f-PSA die Hauptform des immunologisch nachweisbaren t-PSA darstellt. Der Anteil des PSA- α 1-Antichymotrypsin-Komplexes am t-PSA ist im Serum von Patienten mit einem PCA deutlich höher als bei Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie (BPH). Mit steigender Konzentration des t-PSA erhöht sich auch der relative Anteil des PSA-ACT-Komplexes am t-PSA [50],[261],[263].

PSA-Protein C-Inhibitor-Komplex

Der monomere Protein C-Inhibitor (PCI) hat ein Molekulargewicht von 104 kD. Im Serum fungiert PCI als Hemmstoff des aktivierten Proteins C und greift damit entscheidend in die regulativen Mechanismen der Blutgerinnung ein [72],[234].

Im Seminalplasma bilden etwa 5% des enzymatisch aktiven PSA während der Verflüssigungsphase des Ejakulates einen SDS-stabilen Komplex mit PCI. Sowohl in Normalseren, als auch in Seren von Prostatakarzinompatienten kann der PSA-PCI-Komplex nicht nachgewiesen werden [55],[75],[224],[225].

PSA- α 1-Antitrypsin-Komplex

Das heterogene α 1-Antitrypsin (AAT) hat ein Molekulargewicht von 53 kD und liegt durch die große Variabilität seiner Kohlenhydratseitenketten in etwa 20 verschiedenen Isoformen vor. Der Kohlenhydratanteil entspricht etwa 12% des Molekulargewichtes. Die Serumkonzentration des Glykoproteins beträgt in Normalseren ca. 2,9 mg/ml [36],[96],[234].

AAT wird auch als α 1-Proteinase-Inhibitor bezeichnet und ist spezifischer Inhibitor der leukozytären Elastase. PSA-AAT-Komplexe werden in Seren mit hohen t-PSA-Konzentrationen beobachtet. Aufgrund ihres geringen Anteiles kommt den PSA-AAT-Komplexen jedoch quantitativ keine Bedeutung zu [16],[234].

PSA-Inter- α -Trypsin-Inhibitor-Komplex

Der monomere Inter- α -Trypsin-Inhibitor (IATI) hat ein Molekulargewicht von 180 kD und einen relativen Kohlenhydratanteil von 8,4%. Die Serumkonzentration des Glykoproteins beträgt in Normalseren ca. 0,5 mg/ml. Der Inter- α -Trypsin-Inhibitor weist einen ausgesprochen hohen Gehalt an Zink auf. Sowohl der Inhibitor selbst als auch die mit Serin-Proteasen geknüpften Verbindungen sind instabil [227],[234].

PSA-Inter- α -Trypsin-Inhibitor-Komplexe werden in Normalseren sowie Seren von Prostatakarzinompatienten beobachtet. Aufgrund ihres geringen Anteiles kommt den PSA-Inter- α -Trypsin-Inhibitor-Komplexen jedoch quantitativ keine Bedeutung zu [262].

3.1.2 PSA - Biologische Aspekte

3.1.2.1 PSA - Proteinspaltung

Die Komponenten des gelförmigen Ejakulates sind hochmolekulare Komplexe aus Semenogelin I (MW 52 kD), Semenogelin II (semenogelin related proteins / MW 71 und 76 kD) und Fibronectin [119],[122],[131]. Hauptbestandteil ist das aus 439 Aminosäuren bestehende Semenogelin I [121],[191].

Über zahlreiche Disulfidbrücken ist Semenogelin I zur Komplexbildung fähig und führt damit zur charakteristischen Form des Koagulums aus Samenplasma und Spermien nach der Ejakulation. Semenogelin I und Semenogelin II weisen gemeinsame Epitope auf und werden als physiologische Substrate des PSA erachtet [119].

Unter Einfluss des prostataspezifischen Antigens (PSA) resultiert innerhalb von 10 bis 20 min nach der Ejakulation eine Verflüssigung des Koagulums aus Samenplasma (Spl) und Spermien durch proteolytische Spaltung. Neben der Freisetzung der Spermien aus den gitternetzartigen Strukturen des Koagulums bewirkt PSA eine Zunahme der Spermienmotilität.

Neben der PSA-vermittelten Proteolyse des postejakulatorischen Koagels unter Bildung von Semenogelinspaltprodukten wird auch eine Fragmentation des Fibronectins beobachtet [131].

3.1.2.2 PSA - Expression

Die Strukturinformation für das heterogene Glykoprotein PSA ist in einem 6 Kilobasen umfassenden Gen auf Chromosom 19 niedergelegt [189],[190]. Prostataspezifisches Antigen wird androgenabhängig im rauen Endoplasmatischen Reticulum der Prostataepithelzellen gebildet. In Vesikeln und Vakuolen gespeichert wird PSA exocytotisch in das Lumen der Acini und Ductus transportiert und dem Seminalplasma zugeführt [208].

Die Konzentration von PSA im Seminalplasma beträgt 0,4 bis 3,6 mg/ml [242]. PSA ist sowohl in normalem, als auch hyperplastischem (BPH) und karzinomatösen (PCA) Gewebe nachweisbar. Analog gelingt der Nachweis von PSA sowohl in Normalseren von klinisch gesunden Männern (geringe PSA-Konzentration) als auch in Seren von Männern mit benigner Prostatahyperplasie, Prostatitis und PCA (hohe PSA-Konzentration) [157].

Die ursprünglich postulierte Organspezifität von PSA konnte in verschiedenen Studien in den vergangenen Jahren widerlegt werden. Wenn auch in wesentlich geringeren Konzentrationen konnte PSA in periurethralen Drüsen, den Analdrüsen, im Cytosol von Mammakarzinomzellen und in der Brustmilch stillender Frauen nachgewiesen werden [71],[80],[180],[258]. Zumindest anteilig kann die gemeinsame ontogenetische Herkunft von Prostata, Urethra und Analdrüsen von der Kloake als Erklärungsansatz dienen [57],[246].

3.1.2.3 PSA - Regulation

Eine Zunahme der Expression von PSA wird, im Rahmen der Entwicklung der Geschlechtsreife junger Männer, mit ansteigenden Androgenkonzentrationen im Blutkreislauf zum Zeitpunkt der Pubertät beobachtet [86]. Im Umkehrschluss sinken hohe PSA-Serumkonzentrationen unter antiandrogener Therapie eines PCA ab, so dass eine androgenabhängige Regulation der PSA-Expression postuliert werden kann [245]. Bestätigend konnten zahlreiche Studien eine Up-Regulation von PSA-mRNA in prostatistischen Epithelzellen unter Androgeneinfluss nachweisen. Studien an LNCaP-Prostatakarzinomzelllinien konnten die angenommenen physiologischen Regulationsmechanismen für Prostatakarzinomzellen belegen [257]. Ursächlich wird eine durch Androgenrezeptoren vermittelte Aktivierung der Transkription von PSA vermutet [93],[141].

Dihydrotestosteron (DHT) zeigt in Untersuchungen an LNCaP-Prostatakarzinomen die höchste Potenz bezüglich der PSA-Transkriptionsrate. Dabei ist die Zellantwort in hohem Maße von der DHT-Konzentration abhängig. Unter geringen Konzentrationen von DHT wird eine Zunahme der Proliferationsrate beobachtet, während unter hohen

Konzentrationen von DHT eine Abnahme der Proliferationsrate und eine gleichzeitige Zunahme der Expression von PSA zu verzeichnen ist. Die Expression von prostataspezifischem Antigen (PSA) sowie anderer androgenabhängiger Genprodukte in LNCaP-Prostatakarzinomzellen kann neben Androgenen auch durch Progestagene, Östrogene und Antiandrogene induziert werden, auch wenn LNCaP-Prostatakarzinomzellen keine Rezeptoren für Progestagene oder Östrogene besitzen [198]. Dieses Phänomen sollte auf einen ungewöhnlichen Androgenrezeptor zurückzuführen sein, dem durch Punktmutation der Austausch einer Aminosäure (Threonin 868 zu Alanin 868) in der aktiven Domäne und konsekutive Konformationsänderung die Bindung von Progestagenen, Östrogenen und Antiandrogenen möglich ist. Erstaunlicherweise ist dieser durch Punktmutation modifizierte Androgenrezeptor auch bei einigen Patienten mit lokal fortgeschrittenem PCA nachzuweisen.

Neben dem unbestrittenen Einfluss der Androgene auf die Expression und Sekretion von PSA scheinen verschiedenste Wachstumsfaktoren modulierenden Einfluss zu haben. Hierzu gehören Epidermal Growth Factor (EGF), Transforming Growth Factor- α (TGF- α), Transforming Growth Factor- β (TGF- β), Insulin-like Growth Factor I (IGF-I) und Keratinocyte Growth Factor (KGF) [94]. Anhaltspunkte für einen Einfluss von anderen Faktoren wie Retinolsäure und Vitamin D3 sind ebenfalls gegeben [59],[78].

3.1.3 PSA - Klinische Aspekte

3.1.3.1 PSA-Bestimmung

Die physiologische Konzentration von PSA im Seminalplasma beträgt 0,4 bis 3,6 mg/ml [205]. Dies ist ein Millionenfaches (Faktor 10^6) der messbaren physiologischen Blutserumkonzentration [240],[241]. Physiologischerweise wird ein Abströmen des PSA aus den epithelialen Zellen der Prostata in die Zirkulation nicht beobachtet oder ist quantitativ zu vernachlässigen. Umso bemerkenswerter sind die messbaren Konzentrationserhöhungen von PSA im Serum bei unterschiedlichsten Erkrankungen der Prostata. Die PSA-Blutplasmakonzentration ist damit eine Funktion aus der Abströmrage von PSA aus den epithelialen Zellen der Prostata in die Zirkulation sowie der Komplexbildungsrate und der Eliminationsraten für sowohl freies PSA (f-PSA) als auch komplexiertes PSA (C-PSA) [27].

Auch zellarchitektonische Veränderungen der prostatistischen intraepithelialen Neoplasie (PIN) führen zu erhöhten PSA-Serumkonzentrationen [5],[193]. Das Serum von Patienten mit einer High Grade PIN zeigt dabei einen geringeren Anteil von f-PSA als dies im Serum von Patienten mit einer Low Grade PIN oder einer BPH der Fall ist [108],[230]. Prostataerkrankungen ohne maligne oder premaligne Charakteristika wie Prostatitis und Prostatainfarkt können, wenn auch nicht regelhaft, zu PSA-Erhöhungen im Serum führen [65],[142].

Häufiger wird bei der Prostatitis eine Verschiebung der Formen des PSA im Serum beobachtet. Der Anteil des f-PSA ist bei Patienten mit einer chronischen Prostatitis im Gegensatz zu Kontrollgruppen mit benigner Prostatahyperplasie deutlich geringer [135],[160].

Nach erfolgreicher radikaler Prostatektomie sollte PSA im Serum nicht nachweisbar sein. Auch die extraprostatistische Expression von PSA in den periurethralen Drüsen und anderen extraprostatistischen Drüsen scheint keinen Einfluss auf die Serumkonzentration nach radikaler Prostatektomie zu haben [156].

PSA kann sowohl bei gesunden Testpersonen als auch bei Patienten mit Prostataerkrankungen im Urin nachgewiesen werden und scheint zu einem großen Anteil aus f-PSA zu bestehen [206]. Unter der Annahme, dass PSA im Urin aus dem prostaticen Sekret stammt wurde untersucht, ob messbare Urinkonzentrationen des PSA nach radikalen Prostatektomien ein Therapieversagen anzeigen [103]. Da jedoch auch Urin erfolgreich prostatektomierter Patienten geringe Konzentrationen des PSA enthält, welches aus den periurethralen Drüsen stammen dürfte, ist die Bestimmung im Rahmen der Nachsorge nach Prostatektomie nicht sinnvoll [103],[228].

Die Untersuchung der Verhältnisse zwischen der PSA-Serumkonzentration und der PSA-Urinkonzentration in Bezug auf ihre Trennschärfe zwischen benigner Prostatahyperplasie und PCA führte in verschiedenen Studien zu uneinheitlichen Ergebnissen [165],[233].

3.1.3.2 PSA-Elimination

PSA in der Zirkulation von Patienten nach radikaler Prostatektomie hat eine Halbwertszeit von etwa 48 bis 72 Stunden [151]. Van Straalen und Mitarbeiter ermittelten eine zweiphasige Eliminationskinetik mit einer kurzen Halbwertszeit von 1,6 Stunden und einer langen HWZ von 4,6 Tagen [237]. Bei einer radikalen Prostatektomie gelangen intraoperativ große Mengen von f-PSA in die Zirkulation. Auch hier kann für das f-PSA eine zweiphasige Elimination mit einer Frühphasenhalbwertszeit von 0,81 Stunden und einer Spätphasenhalbwertszeit von 13,9 Stunden festgestellt werden [24]. Dies lässt vermuten, dass die Gesamthalbwertszeit von 48 bis 72 Stunden mit der Clearance von komplexiertem PSA, genauer von mit α 1-Antichymotrypsin komplexiertem PSA (PSA-ACT), korreliert [253],[254]. Eine Bestimmung der Halbwertszeit von mit α 2-Macroglobulin komplexiertem PSA (PSA-AMG) ist bislang nicht gelungen. Andere Komplexe mit α 2-Macroglobulin werden jedoch mit einer Halbwertszeit von 2 bis 3 Minuten aus der Zirkulation eliminiert, so dass anzunehmen ist, dass der Anteil von PSA-AMG nur einen unwesentlichen Einfluss auf die Gesamthalbwertszeit hat [15],[51].

Sowohl die Rolle der hepatischen als auch der renalen Elimination von PSA aus der Zirkulation ist bislang ungeklärt. Obwohl hepatische Dysfunktionen keinen wesentlichen Einfluss auf die Serumkonzentrationen von PSA zu haben scheinen, werden Einflüsse der Leber auf den Metabolismus des PSA postuliert. Anhalt hierfür geben erhebliche lokale Konzentrationsunterschiede von PSA im Serum vor und nach der Leberpassage [3],[109]. Weiterhin ist eine Elimination von PSA-Inhibitor-Komplexen aus der Zirkulation durch die Leber wahrscheinlich, da Hepatozyten Rezeptoren für Protease-Inhibitor-Komplexe besitzen. Aufgrund des geringen Molekulargewichtes von f-PSA wird dieses renal eliminiert. Die renale Elimination des PSA aus der Zirkulation ist insbesondere in Bezug auf ihre quantitative Signifikanz umstritten [33].

3.1.3.3 PSA und physiologische Variabilität

Folgeuntersuchungen der PSA-Blutserumkonzentrationen klinisch gesunder Männer zeigen eine erhebliche Variabilität in Bezug auf die intraindividuelle PSA-Konzentration. Sowohl bei klinisch gesunden Normalpersonen als auch Patienten mit benignen (BPH) und malignen (PCA) Erkrankungen der Prostata beträgt die Variabilität 15 bis 28% [68],[112],[184]. Ebenso ist die Variabilität von f-PSA mit 17% und die Variabilität des Quotienten aus f-PSA und t-PSA (f-PSA/t-PSA) mit 14% beträchtlich [161].

Zahlreiche Studien hatten die Korrelation zwischen physiologischer Variabilität und möglichem Einfluss von sexueller oder körperlicher Aktivität zum Untersuchungsgegenstand. Für körperliche, sportliche Aktivitäten konnte keine signifikante Erhöhung der PSA-Blutserumkonzentration ermittelt werden [117]. Demgegenüber scheint bei Prostatakarzinompatienten mit erhöhtem PSA die Benutzung eines Fahrrades zu einer weiteren PSA-Erhöhung zu führen [127].

Die Auswirkungen der Ejakulation auf die PSA-Blutserumkonzentration werden kontrovers diskutiert. In vielen Studien konnte aufgezeigt werden, dass eine Ejakulation bei Normalpersonen oder Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie keinen signifikanten Anstieg des t-PSA zur Folge hat [92],[132],[143].

Allenfalls kann ein leichter Anstieg des t-PSA eine Stunde nach der Ejakulation registriert werden, der sich bis 6 Stunden nach der Ejakulation wieder normalisiert [231]. Für sowohl f-PSA als auch t-PSA verzeichneten Herschmann und Mitarbeiter einen Anstieg der PSA-Serumkonzentration eine Stunde nach erfolgter Ejakulation und registrierten im weiteren Verlauf eine schnellere Normalisierung der Serumkonzentration von f-PSA als von t-PSA [98].

3.1.3.4 PSA und präanalytische Einflussgrößen

Manipulationen am Organ Prostata führen in unterschiedlicher Weise und unterschiedlichem Ausmaß zu temporären Veränderungen der PSA-Blutserumkonzentration [217]. Als klinisch unbedeutend stellte sich die digitale rektale Untersuchung der Prostata (DRU) heraus [29],[56],[63],[259]. Lediglich temporäre Konzentrationserhöhung für t-PSA von geringem Ausmaß sind zu verzeichnen [31],[47]. Auch Erhöhungen von f-PSA und f-PSA/t-PSA werden sowohl nach digitaler rektaler Untersuchung als auch flexibler Cystoscopie registriert, kehren aber innerhalb von 24 Stunden wieder auf ihren Ausgangswert zurück [60],[192].

Manipulation durch transrektalen Ultraschall der Prostata (TRUS) führten nicht zu signifikanten PSA-Erhöhungen [110],[259]. Wird hingegen im Rahmen der Ultraschallsonographie (TRUS) eine Biopsie durchgeführt, so sind temporär starke Erhöhungen der PSA-Blutserumkonzentration im Anschluss an den diagnostischen Eingriff zu verzeichnen [259]. Während t-PSA noch nach 7 Tagen im Anschluss an die Biopsie mit erhöhten Konzentrationen bestimmt werden kann, ist der zunächst exzessive Anstieg von f-PSA schon 24 Stunden nach der Manipulation nicht mehr nachweisbar [159].

Die präanalytischen Bedingungen können, obwohl PSA eine relativ stabile Immunreaktivität aufweist, einen Einfluss auf Detektion der Blutserumkonzentration von sowohl t-PSA als auch des f-PSA und deren Relation im Serum nehmen [104],[207]. Probenlagerung bei Temperaturen von -70°C führen noch 2 Jahre nach Einlagerung zu identischen Untersuchungsergebnissen. Lagerungstemperaturen von -20°C führen zu

einem Konzentrationsverlust von etwa 10% im gleichen Zeitraum sowohl für t-PSA als auch für f-PSA [252]. Auch mehrfaches Auftauen und erneutes Tieffrieren der Proben führt nicht zu signifikanten Veränderungen des t-PSA [251]. Hingegen ist in aufgetauten Proben eine Abnahme des f-PSA zu verzeichnen, die konsekutiv zu einer Verringerung des Quotienten f-PSA/t-PSA führt [178].

3.1.3.5 PSA und Prostatavolumen

Die Blutserumkonzentrationen des PSA zeigen eine enge Korrelation mit dem Prostatavolumen. Normales Prostatagewebe führt pro Gramm Gewebe schätzungsweise zu einer PSA-Blutserumkonzentration von 0,1 ng/ml. Stamey und Mitarbeiter veranschlagten für die benigne Prostatahyperplasie (BPH) eine Erhöhung des PSA um 0,3 ng/ml pro Gramm hyperplastischen Gewebes [217]. Die BPH betrifft rund 50% der Männer im Alter zwischen 51 und 60 Lebensjahren. In 30 bis 50% der Fälle weisen die Patienten ein über die Altersentsprechenden Mittelwerte erhöhtes PSA auf [102]. Die PSA-Blutserumkonzentrationen zeigen eine engere Korrelation mit dem Volumen der Transitionalzone (TZ) als mit dem totalen prostatistischen Volumen [116]. Im Gegensatz zu der hohen Korrelation der Blutserumkonzentrationen mit der Transitionalzone, dem Entstehungsort der BPH, ist die Korrelation mit dem Volumen der zentralen und peripheren Zone gering. Folglich ist die Transitionalzone bei Männern ohne PCA die Hauptquelle für den Abstrom des PSA in die Zirkulation [90].

Der Anteil des freien PSA am Gesamt-PSA (f-PSA/t-PSA) zeigt nur eine geringe Korrelation mit dem Prostatavolumen bei BPH-Patienten. Jedoch konnte in zahlreichen Studien belegt werden, dass die Verwendung des Quotienten f-PSA/t-PSA zur Differenzierung zwischen benigner Prostatahyperplasie (BPH) und Prostatakarzinom nur in Verbindung mit dem Prostatavolumen sinnvoll und in ihrer Aussagekraft bei Prostatavolumina über 40 bis 60 cm³ gemindert ist [14],[46],[171],[183],[236].

Neben einer deutlichen Besserung der durch die BPH verursachten obstruktiven Symptome, unter Medikation mit dem 5 α -Reductase-Inhibitor Finasterid, führt dieser über die Reduktion der hyperplastischen Drüsenanteile zu einer im Mittel 50%igen

Verminderung der PSA-Konzentration mit großen individuellen Abweichungen. Dies muss bei der Bewertung der PSA-Konzentrationen von Patienten die Finasterid erhalten in die diagnostischen Überlegungen des Prostatakarzinomscreenings einbezogen werden [84],[220].

3.1.3.6 PSA und Tumorstaging

Die Höhe der PSA-Blutserumkonzentration korreliert eng mit dem Tumorstadium, jedoch ist PSA alleine aufgrund starker Überlappungen als Prediktor der Tumorausbreitung ungeeignet [102],[217]. Allerdings können extrem hohe PSA-Konzentrationen im Serum Rückschlüsse auf das Stadium des Tumors zulassen [144],[170]. Anhand auf Mäuse transplantierte LNCaP-Prostatakarzinome ließ sich nachweisen, dass der Anstieg der PSA-Konzentration die Tumorstadiumsrate indes nicht parallel begleitet [85].

Immerhin lassen sich anhand deutlich erhöhter PSA-Konzentrationen mit hinreichender Verlässlichkeit Ergebnisse der Skelettszintigraphie vorhersagen [155]. Oesterling und Mitarbeiter fanden heraus, dass bei Patienten mit neu diagnostiziertem PCA und PSA-Blutserumkonzentrationen unter 8 ng/ml ein positiver Befund in der Skelettszintigraphie äußerst unwahrscheinlich zu erwarten ist. Das Auftreten von Knochenmetastasen ist bei dieser Befundkombination sogar so unwahrscheinlich, dass die Forschergruppe vorschlägt die Durchführung der Skelettszintigraphie im Einzelfall zu überdenken [155],[222].

Auch wenn der Vorhersagewert von PSA alleine recht gering ist, kann durch Verwendung verschiedenster Variablen in Kombination mit dem PSA die Vorhersagegenauigkeit des PSA deutlich gesteigert werden und der Nutzen für das Staging des Prostatakarzinoms damit erweitert werden. Die am häufigsten verwendete Variablenkombination im Staging des Prostatakarzinoms ist die Kombination von histologischem Grading aus der Sextantenbiopsie, dem klinischen Staging und der Serumkonzentration des PSA [223].

Uneinigkeit herrscht über die Aussagekraft des f-PSA in Bezug auf das Staging des Prostatakarzinoms. Einige Studien konnten eine statistisch signifikante Korrelation zwischen f-PSA und dem Tumorstadium feststellen, während andere Forschergruppen diesen Zusammenhang nicht bestätigen [147],[166].

Unbestritten scheint die signifikante Korrelation zwischen dem Quotienten aus f-PSA und t-PSA (f-PSA/t-PSA) und der lokalen Ausbreitung des Prostatakarzinoms (organbegrenzt / organüberschreitend) sowie der Aggressivität des Tumorwachstums [38],[164],[219].

3.1.3.7 PSA und Tumorgrading

Da PCA mit geringem Differenzierungsgrad ihre Fähigkeit zur Expression und Sekretion von PSA verlieren, beeinflusst dies die Konzentration von PSA auch im Patientenserum [170]. Mit Hilfe immunhistochemischer Färbungen lässt sich die Korrelation zwischen Differenzierungsgrad des Tumors und der Konzentration von PSA besonders eindrucksvoll darstellen. Hoch differenzierte PCA zeigen starke Anreicherungen, während sich Prostatakarzinome geringeren Differenzierungsgrades durch ausgeprägte Heterogenität und geringe Anreicherungen von PSA auszeichnen [2],[185].

Unklarheit herrscht über den Zusammenhang zwischen Tumolvolumen, Gleason Score und dem prostataspezifischen Antigen. Stamey und Mitarbeiter stellten heraus, dass die Korrelation zwischen Gleason Score und PSA bei konstantem Tumolvolumen nicht signifikant sei, während Aihara und Mitarbeiter eine umgekehrte Korrelation zwischen PSA-Serumkonzentration und Gleason Score postulieren [214]. Vermutlich variiert die Produktion von PSA demnach bei Tumoren gleichen Volumens, jedoch unterschiedlicher Differenzierung, beträchtlich.

Unterschiedliche Ergebnisse werden nach diversen Studien bezüglich der Korrelation zwischen Differenzierungsgrad des Prostatakarzinoms und der PSA-Ratio (f-PSA/t-PSA) berichtet [147],[166].

3.1.3.8 PSA und Hormonstatus

Eine Zunahme der Expression von PSA wird mit ansteigenden Androgenkonzentrationen im Blutkreislauf zum Zeitpunkt der Pubertät beobachtet. Im Umkehrschluss sinken hohe PSA-Serumkonzentrationen unter antiandrogener Therapie eines Prostatakarzinoms ab, so dass eine androgenabhängige Regulation der PSA-Expression postuliert werden kann [86],[245]. Bestätigend konnten zahlreiche Studien eine Hochregulation von PSA-mRNA in prostatistischen Epithelzellen unter Androgeneinfluss nachweisen [93],[141],[186],[257]. Studien an LNCaP-Prostatakarzinomzelllinien konnten angenommene physiologische Regulationsmechanismen für Prostatakarzinomzellen belegen [99],[100]. Ursächlich wird eine durch Androgenrezeptoren vermittelte Aktivierung der Transkription von PSA vermutet [220].

Dihydrotestosteron (DHT) zeigt in Untersuchungen an LNCaP-Prostatakarzinomen die höchste Potenz bezüglich der PSA-Transkriptionsrate. Dabei ist die Zellantwort in hohem Maße von der DHT-Konzentration abhängig. Unter geringen Konzentrationen von DHT wird eine Zunahme der Proliferationsrate beobachtet, während unter hohen Konzentrationen von DHT eine Abnahme der Proliferationsrate und eine gleichzeitige Zunahme der Expression von PSA zu verzeichnen ist. Die Expression von prostataspezifischem Antigen (PSA), sowie anderer androgenabhängiger Genprodukte in LNCaP-Prostatakarzinomzellen, kann neben Androgenen auch durch Progestagene, Östrogene und Antiandrogene induziert werden auch wenn LNCaP-Prostatakarzinomzellen keine Rezeptoren für Progestagene oder Östrogene besitzen [198]. Dieses Phänomen ist auf einen ungewöhnlichen Androgenrezeptor zurückzuführen, dem durch Punktmutation der Austausch einer Aminosäure (Threonin 868 zu Alanin 868) in der aktiven Domäne und durch konsekutive Konformationsänderung die Bindung von Progestagenen, Östrogenen und Antiandrogenen möglich ist. Erstaunlicherweise ist dieser durch Punktmutation modifizierte Androgenrezeptor auch bei einigen Patienten mit lokal fortgeschrittenem PCA nachzuweisen.

Zwar erfolgt die Expression und Sekretion von PSA in normalem Prostatagewebe androgenabhängig, jedoch korrelieren PSA-Serumkonzentrationen und DHT-Serumkonzentrationen aus Normalseren gesunder Testpersonen nicht [11].

Auch eine exogene Zufuhr von Testosteron führt nur zu unwesentlichen Veränderungen von f-PSA und t-PSA. Allerdings lässt sich bei hypogonadalen Männern durch therapeutische Zufuhr von exogenem Testosteron eine geringfügige Erhöhung der PSA-Serumkonzentration verzeichnen [226].

3.1.3.9 PSA und Alter

Für t-PSA wurde in den vergangenen Jahren gewöhnlich ein cut-off-Wert von 4 ng/ml gewählt obwohl dies nicht den exakten alterskalibrierten Referenzwerten entspricht [151],[218]. Mit zunehmendem Patientenalter steigt die PSA-Serumkonzentration aufgrund der altersabhängigen Zunahme des Prostatavolumens an, so dass verschiedene Autoren für jede Dekade ab dem 40. Lebensjahr altersspezifische Referenzwerte ermittelten [8],[64],[152].

Die Verwendung altersspezifischer Referenzwerte hat eine Erhöhung der Sensitivität für jüngere Patientengruppen und eine Erhöhung der Spezifität für ältere Patientengruppen zur Folge. Die Anzahl durchgeführter Biopsien erhöht sich bei Verwendung des gleichen cut-off-Wertes von 4 ng/ml auch unter Beachtung der altersspezifischen Referenzwerte nicht [40]. Werden anstatt des cut-off-Wertes von 4 ng/ml altersspezifische cut-off-Werte anhand der altersspezifischen Referenzwerte definiert, so geht dies zu Lasten der Sensitivität. Die Signifikanz in Bezug auf Lebensqualität und Morbidität sowie Mortalität der nicht detektierten Prostatakarzinome bei Verwendung altersspezifischer cut-off-Werte wird kontrovers diskutiert [26],[153].

Zu unterschiedlichen Ergebnissen kommen zahlreiche Studien bei der Beobachtung von Einflüssen des Alterns auf die Relation zwischen f-PSA und t-PSA. Während einige Autoren einen Anstieg des f-PSA mit zunehmendem Lebensalter verzeichnen, beobachten andere eine Konstanz der PSA-Ratio (f-PSA/t-PSA) [154],[171].

3.1.3.10 PSA-Velocity

Ein Anstieg der PSA-Serumkonzentrationen geht der klinischen Diagnose eines Prostatakarzinoms üblicherweise 7 bis 9 Jahre voraus, so dass die Anstiegsgeschwindigkeit der PSA-Serumkonzentration (PSA Velocity) als wertvoll für die Diagnose des Prostatakarzinoms erachtet werden kann [37],[39].

Ein Anstieg der PSA-Serumkonzentration von jährlich mehr als 0,75 ng/ml ist bezüglich der Entwicklung eines Prostatakarzinomes verdächtig [39],[173]. Der klinische Nutzen dieser Erkenntnis wird durch die Verwendung verschiedener Assays, das Intervall zwischen den PSA-Bestimmungen und die starke physiologische Variabilität der PSA-Serumkonzentrationen limitiert. Zudem scheint ein geringerer Anteil des f-PSA am t-PSA ein zuverlässigeres Frühzeichen in der Diagnostik des Prostatakarzinoms zu sein [174],[229].

3.1.3.11 PSA-Density

Die Erkenntnis, dass PCA im Gegensatz zu der benignen Prostat hyperplasie bei gleichem Volumen zu einer stärkeren Erhöhung der PSA-Serumkonzentration führen, lässt die Korrelation der beiden Größen als sinnvoll erscheinen [217]. Die PSA-Dichte oder PSA-Density wird aus dem Quotienten zwischen PSA-Serumkonzentration und dem sonographisch ermittelten Prostatavolumen errechnet und soll eine höhere Genauigkeit der PSA-Bestimmung zur Folge haben [20]]. Der klinische Nutzen ist auch hier durch die physiologische Variabilität der PSA-Konzentrationen im Serum sowie durch die Ungenauigkeit der Volumetrie bei Verwendung verschiedener Ultraschallverfahren und die große Variabilität der Epithel/Stroma-Verhältnisse in Prostatakarzinomen limitiert [1],[19].

3.1.3.12 PSA und freies PSA

Die klinische Wertigkeit der PSA-Ratio (f-PSA/t-PSA) in der Frühdiagnose des Prostatakarzinoms ist unumstritten [250]. Vor allem bei Patienten in der so genannten „diagnostischen Grauzone“ mit PSA-Serumkonzentrationen von 4,0 bis 10,0 ng/ml lässt sich die diagnostische Sicherheit durch Bildung des Quotienten f-PSA/t-PSA, bei gleichzeitiger Reduktion unnötiger Biopsien um 20 bis 50%, signifikant erhöhen. Bei PSA-Serumkonzentrationen von mehr als 10,0 ng/ml werden Biopsien üblicherweise ungeachtet der PSA-Ratio durchgeführt [34],[41],[46],[128],[146],[169].

In einer groß angelegten prospektiven, klinischen Studie untersuchten Catalona und Mitarbeiter die Wertigkeit der PSA-Ratio in der Diagnostik des Prostatakarzinomes. Catalona legte einen cut-off-Wert von 25% f-PSA bei Patienten mit PSA-Serumkonzentrationen zwischen 4,0 und 10,0 ng/ml, ungeachtet des Patientenalters oder des Prostatavolumens, für die PSA-Ratio fest. Unter Verwendung dieses Cut-Off-Wertes konnten 20% der unnötigen Biopsien vermieden werden und ein PCA in 95% der Fälle diagnostiziert werden [41]. Bei Patienten mit einer PSA-Serumkonzentration zwischen 2,6 und 4,0 ng/ml konnte durch Bildung der PSA-Ratio außerdem die Rate der falsch positiven Diagnosen signifikant gesenkt werden [43].

3.1.3.13 PSA-Monitoring nach radikaler Prostatektomie

Eine chirurgisch erfolgreiche Tumorresektion des Prostatakarzinoms durch radikale Prostatektomie (RRP) entfernt prostatishes Gewebe vollständig. In Abhängigkeit vom präoperativen Ausgangswert der PSA-Serumkonzentration fallen die PSA-Konzentrationen unter Berücksichtigung der Halbwertzeiten innerhalb von Wochen oder Monaten unter die Nachweisgrenze [217]. Messbare PSA-Serumkonzentrationen im Anschluss an die kalkulierten Eliminationszeiten zeigen daher das Vorhandensein von Residualtumor oder Metastasen an. Ein erneuter Anstieg der PSA-Serumkonzentration innerhalb der ersten 12 Monate nach radikaler Prostatektomie (RRP) deutet auf das

Vorliegen von Fernmetastasen, während ein Anstieg der PSA-Serumkonzentration nach 12 Monaten auf das Vorliegen von lokalem Residualtumor hinweisen [102],[214].

Patientengruppen mit einem Lokalrezidiv weisen im Mittel eine geringere PSA-Ratio (f-PSA/t-PSA) gegenüber Patientengruppen mit erstdiagnostiziertem PCA vor radikaler Prostatektomie auf. Andererseits wird bei über 50% der Patienten mit einem Lokalrezidiv eines Prostatakarzinoms kann nach RRP eine hohe PSA-Ratio von über 15% festgestellt werden.

3.1.3.14 PSA-Monitoring nach Radiotherapie

Im Gegensatz zu den kurzen Eliminationszeiten von PSA aus dem Serum, die nach vollständiger Entfernung des karzinomatösen Prostatagewebes durch radikale Prostatektomie erreicht werden, ist bei radiotherapeutisch behandelten Patienten nur ein relativ langsames Absinken der PSA-Serumkonzentration auf den PSA-Nadir zu verzeichnen. Zeiten von 12 Monaten und länger werden bis zum Erreichen des PSA-Nadir nach Radiotherapie beobachtet. Die Prognose der Patienten korreliert hierbei ausgesprochen gut mit dem Niveau der erreichten PSA-Serumkonzentrationen des PSA-Nadirs. Bei erneutem Anstieg der PSA-Serumkonzentrationen ist von einem Versagen der Therapie auszugehen [213].

Zur Therapieüberwachung könnten die Bestimmung des f-PSA und die Bildung der PSA-Ratio (f-PSA/t-PSA) sinnvoll sein, da Studien zeigen konnten, dass die PSA-Ratio bei Patienten nach Radiotherapie mit tumorpositivem Biopsiekontrollbefund niedriger ist als bei Patienten mit tumornegativem Biopsiekontrollbefund.

3.1.3.15 PSA-Monitoring nach Hormontherapie

Die androgenablativ Therapie des fortgeschrittenen Prostatakarzinoms führt durch die Suppression der PSA-Expression häufig zu dramatischen Abfällen der PSA-

Serumkonzentrationen. Das tiefste posttherapeutische Niveau der PSA-Serumkonzentrationen (PSA-Nadir) kann als Indikator für ein Ansprechen auf die Androgendeprivation gelten [9],[212]. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass die Suppression der Expression von PSA nicht an das Ansprechen des Tumorgewebes auf die Therapie gekoppelt ist.

Nach Androgenentzug ist bei Patienten, die ein gutes Ansprechverhalten auf die Androgendeprivation zeigen, häufig eine höhere PSA-Ratio (f-PSA/t-PSA) zu verzeichnen, als bei Patienten, die ein schlechtes Ansprechverhalten auf die Androgendeprivation zeigen. Ob die Bildung der PSA-Ratio sinnvoll ist erscheint fraglich, da ein Ansprechen auf die Androgendeprivation ohnehin am Niveau der PSA-Serumkonzentration abgelesen werden kann.

3.1.3.16 PSA-Immunoassays

Nach der Einführung des ersten serologischen Testverfahrens für das PSA, basierend auf einer Immunelektrophorese, durch Papsidero und Mitarbeiter 1980 begann die Entwicklung von diversen hochsensitiven Immunoassays für PSA [167]. Heute liegt eine Vielzahl von Immunoassays für die Bestimmung der PSA-Serumkonzentration vor [88],[114]. Die ermittelten PSA-Konzentrationen variieren von Immunoassay zu Immunoassay beträchtlich [89],[218]. Einerseits erkennen viele Assays die Anteile von freiem und komplexiertem PSA nicht äquimolar, andererseits variiert die Bindungskinetik der verwendeten Antikörper mit f-PSA und PSA-ACT außerordentlich [133],[176],[211],[264].

Ziel der gegenwärtigen Bestrebungen ist es daher, einen Assay mit verlässlicher und äquivalenter Detektion von f-PSA und PSA-ACT, die zu entwickeln [6],[25],[87].

Ein weiteres Problem ist die Herstellung von geeigneten Standardkalibratoren für die Eichung der Assays. Ein idealer Kalibrator sollte die immunoreaktiven Formen f-PSA und PSA-ACT enthalten [221]. Dies kann durch Komplexierung in vitro erreicht werden, jedoch zeigt die biochemische Analyse der in vitro hergestellten PSA-ACT-Komplexe

das Vorliegen von zwei predominanten Formen mit Molekulargewichten von 78095 und 82519 D [182]. Studien konnten eine Verminderung der Abweichungen zwischen verschiedenen Assays, mit einem Kalibrator, der zu 90% aus PSA-ACT und zu 10% aus f-PSA besteht, belegen. Die Kalibration sollte an diesem international empfohlenen 90:10-Standardkalibrator erfolgen [52],[77],[162]. Allerdings gelingt eine Assay-Standardisierung hierdurch nur für Proben, in denen das Verhältnis 90:10 vorliegt [150].

Die zur Herstellung der Kalibratoren verwendete Matrix hat ebenfalls einen nicht unwesentlichen Einfluss auf die Zuverlässigkeit der ermittelten PSA-Serumkonzentrationen. Werden Kalibratoren durch Zugabe von f-PSA (f-PSA) zu Serum erstellt, komplexiert dieses mit AMG und kann in nachfolgender immunologischer Bestimmung nicht erkannt werden. Die Herstellung von Kalibratoren auf diese Art ist damit potentielle Fehlerquelle und führt zu systematischen Fehlbestimmungen von PSA [221].

4 Patienten und Methode

4.1 Datenbasis

Die vorliegende Untersuchung basiert auf retrospektiv gewonnenen Daten aus der Urologischen Klinik des Marienhospitals Herne, Universitätsklinik der Ruhr-Universität-Bochum.

Anhand verschlüsselter OP-Diagnosen konnten rechnergestützt alle Patienten ermittelt werden, die sich in den Jahren 1994 bis 1996 aufgrund eines lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinoms einer bilateralen Orchiektomie in der Urologischen Klinik unterzogen. Aus der Grundgesamtheit der über 200 erfassten Patienten wurden die Patienten mit den Wohnorten Herne, Bochum und Recklinghausen ausgewählt.

Durch retrospektive Auswertung der Patientenakten der ausgewählten Patienten wurde die Diagnose validiert. Anhand der archivierten Patientendaten konnten der einweisende Urologe sowie der behandelnde Hausarzt ermittelt werden. Der einweisende Urologe wurde gebeten die von ihm postoperativ ermittelten PSA-Blutserumkonzentrationen auf einem vorbereiteten Fragebogen schriftlich zu dokumentieren, sowie eine Einschätzung des Therapieerfolges anhand der Nachsorgeuntersuchungen abzugeben. Allein Patienten, die über 6 Monate postoperativ ohne relevanten PSA-Anstieg blieben, wurden ausgewählt. In einem Telefongespräch mit dem behandelnden Hausarzt wurde eruiert, ob eine Studienteilnahme des Patienten aufgrund seines Allgemeinzustandes grundsätzlich möglich ist. Schließlich wurden über 117 Patienten mit einem Informationsbrief schriftlich zur Studienteilnahme eingeladen. 23 Patienten beantworteten den Informationsbrief nicht. Zur Teilnahme an der Patientenstudie erklärten sich zunächst 58 Patienten, die oben angeführte Kriterien erfüllten, bereit. Von diesen zogen 8 Patienten Ihre Einwilligung zur Studienteilnahme aus privaten Gründen zurück.

4.2 Patientenkollektiv

Das untersuchte Patientenkollektiv umfasste schließlich 50 Patienten im Alter von 56 bis 81 Jahren zum Studienbeginn im November 1996. Das Durchschnittsalter (arithmetischer Mittelwert) des Kollektivs betrug bei Studienbeginn 70,7 Lebensjahre.

4.2.1 Einschlusskriterien

- a) Lokal fortgeschrittenes PCA unter Androgenablation durch bilaterale Orchiectomie.
- b) Operationszeitpunkt der bilateralen Orchiectomie mind. 6 Monate vor Studienbeginn.
- c) PSA-Nadir (stabile PSA-Blutserumkonzentration) bei Studienbeginn erreicht.

4.2.2 Ausschlusskriterien

- a) Jede Manipulation an der Prostata innerhalb der letzten 6 Monate.
- b) Therapiewechsel innerhalb der letzten 6 Monate.

4.3 Studiendesign

Die Entnahme der Blutproben zur Ermittlung der PSA-Blutserumkonzentrationen erfolgte durch Punktion einer peripheren Vene im Rahmen eines terminierten Hausbesuches durch den Autor dieser Arbeit. Verwendet wurden einheitlich aus Standard-Kanüle und 9 ml S-Monovette® (Monovette Z Nr. 02.1063,92 x 16,5 mm, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) bestehende Blutentnahmesets. Die Hautdesinfektion erfolgte unter Verwendung von Kodan® Tinktur Forte (Fa. Schülke & Mayr, Norderstedt, Deutschland) und Pur-Zellin® Zellstofftupfern (Fa. Hartmann, Heidenheim, Deutschland).

Die Blutentnahmen erfolgten zunächst sechs Mal unmittelbar aufeinander folgend in wöchentlichen Abständen (Untersuchungsphase) und darauf folgend drei Mal in halbjährlichen Abständen (Nachsorgephase).

Die Blutentnahmen wurden jeweils am gleichen Wochentag durchgeführt. Dabei wurde in einem Beratungsgespräch mit dem Patienten ein Wochentag ausgewählt, der im Verlauf der Untersuchungsphase einen annähernd identischen Tagesablauf bei sich wiederholenden Terminen aufweisen würde. Die Entnahmen erfolgten jeweils zur gleichen Tageszeit.

Die Blutentnahmen der Nachsorgephase wurden ohne Einschränkung nach individueller Absprache mit dem Patienten zu unterschiedlichen Tageszeiten durchgeführt.

Um eine zeitgerechte Verarbeitung der Blutproben im Labor im Anschluss an die Hausbesuche zu gewährleisten, wurde das Patientenkollektiv anhand des Wohnortes in 2 Studienteile aufgeteilt.

Die Blutentnahmen wurden am 01.11.1996 begonnen und am 01.08.1999 abgeschlossen.

4.4 Analysevorbereitung

Die im Rahmen der Venenpunktionen gewonnenen Vollblutproben wurden innerhalb von 2 Stunden nach der Blutentnahme in den Einrichtungen des wissenschaftlichen Labors der Urologischen Klinik des Marienhospitals Herne für die Analysen vorbereitet.

Hier erfolgte zunächst die standardisierte Zentrifugation des in der Serum-Monovette koagulierten Vollblutes für acht Minuten bei 3000 U/min. Der Überstand wurde in ein Kunststoffreagenzglas (Tubes Nr. 55.468, 13ml, 95 x 16,8 mm, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) dekantiert und erneut bei 3000 U/min für 5 Minuten zentrifugiert. Das Blutserum wurde anschließend unter Verwendung einer Comforpette® 4800 und 1000 µl Pipettenspitzen (Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland) pipetiert und auf drei gekennzeichnete Aliquots, 1,8 ml Cryo Tube® Vials (Nalge Nunc International, Rochester NY, USA), in Portionen zu je 500 µl verteilt. Die mit einer Identifikationsnummer versehenen Aliquots wurden, einsortiert in Aliquot® Container (F. National Lab, Mölln, Deutschland) mit je 100 Stellplätzen, unter Tiefkühlbedingungen bei -70 °C für maximal 6 Wochen bis zur Analyse gelagert. Der Transport in die Forschungseinrichtungen der Urologischen Universitätsklinik der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster wurde unter Kühlbedingungen durchgeführt. Dort wurden sämtliche Analysen durchgeführt.

4.5 Analysen

Sämtliche Bestimmungen der PSA-Blutserumkonzentrationen aus den seriellen Serumproben der Untersuchungsphase sowie aus den Serumproben der Folgeuntersuchungen (Nachsorgephase) erfolgten unter Verwendung des immunoenzymetrischen Assays Tandem[®]-E PSA (Hybritech Inc., San Diego, CA 92121, USA) in den Forschungseinrichtungen der Urologischen Universitätsklinik der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster. Die Proben der Untersuchungsphase wurden zur Ausschaltung des Inter-Assay-Fehlers in einem Assay-Run analysiert.

4.5.1 Testprinzip

Tandem[®]-E PSA ist ein immunoenzymetrischer Festphasentest, der mit Antikörpern gegen zwei unterschiedliche antigene Determinanten (Epitope) des PSA arbeitet. Die zu untersuchende Serumprobe wird mit Plastikbeads inkubiert. Die Beads stellen die Festphase des Testes dar und sind mit einem monoklonalen Antikörper beschichtet, der Spezifität für ein bestimmtes Epitop des PSA aufweist. Simultan reagiert das PSA-Molekül mit einem enzymmarkierten monoklonalen Antikörper, der Spezifität für eine weitere antigene Determinante (Epitope) des PSA aufweist [62],[145].

Aus der simultanen Reaktion mit den beiden spezifischen monoklonalen Antikörpern resultiert ein sandwichartiger Immunkomplex (festphasenständiger AK, PSA, enzymmarkierter AK). Im Anschluss an die Reaktion wird der Bead zur Entfernung überschüssigen enzymmarkierten Antikörpers in einer speziellen Lösung gewaschen. Anschließend wird der Bead mit einem für das Enzym spezifischen Substrat inkubiert. Nach dem Stoppen der enzymatischen Reaktion mit dem Substrat wird das Ausmaß der Substratumwandlung im vollautomatischen photon ERA[®] Spektrophotometer-Analysegerät kolorimetrisch durch Extinktionsmessung bei Wellenlängen von 405 und 450 nm ermittelt.

Die gemessene Extinktion ist dabei der Konzentration des PSA in der Serumprobe im Konzentrationsbereich von 0 bis 100 ng/ml direkt proportional. Die Berechnung der Konzentration des PSA erfolgt durch das Analysegerät nach Abgleich mit den normierten PSA-Standards sowie PSA-Nullstandard (Verdünner) zu Beginn jeder Testreihe.

4.5.2 Testmaterial

Verwendet wurden, neben dem laborüblichen Verbrauchsmaterial unterschiedlicher Hersteller, vornehmlich die auf die Verwendung mit dem automatischen photon ERA[®]-Analysegerät abgestimmten Reagenzien des Herstellers Hybritech (Hybritech Inc., San Diego, CA 92121, USA).

Tandem[®]-E PSA-Reagenzien stehen in zwei getrennten Kits zur Verfügung. Das Antikörper-Reagenzienkit enthält die normierten PSA-Standards zur Erstellung einer Eichkurve von 0 bis 100 ng/ml sowie die PSA-Kontrollen. Außerdem sind in dem Antikörper-Reagenzienkit die Immunochemikalien für die Immunkomplexbildung aus festphasenständigem Antikörper, PSA und enzymmarkiertem Antikörper enthalten. Das Substrat-Reagenzienkit enthält die Reagenzien für die Farbreaktion und deren anschließende photometrische Bestimmung.

Im Detail enthalten sind:

- Antikörper-Reagenzienkit:
 - a) Anti-PSA Antikörper-Konjugat:

Monoklonales Maus-IgG (gegen PSA), konjugiert mit alkalischer Phosphatase (Rind) in einer Rind/Maus-Proteinmatrix mit 0,1% Natriumacetat als Konservierungsmittel.
 - b) Anti-PSA beschichtete Beads:

Mit monoklonalem Maus-IgG (gegen PSA) beschichtete Plastikbeads in Pufferlösung mit 0,1% Natriumacetat als Konservierungsmittel.
 - c) Nullstandard / Verdünner (A):

Rind-Proteinmatrix ohne messbare PSA-Konzentration (0 ng PSA /ml) mit 0,1% Natriumacetat als Konservierungsmittel.

d) PSA-Standards (B-F):

Humanserum mit definierten Konzentrationen von 2, 10, 25, 50 und 100 ng PSA/ml mit 0,1% Natriumacetat als Konservierungsmittel.

e) PSA-Kontrolle; niedrig (1):

Humanserum mit ca. 1-5 ng PSA/ml mit 0,1% Natriumacetat als Konservierungsmittel. Die exakte PSA-Serumkonzentration ist dem Etikett zu entnehmen.

f) PSA-Kontrolle; hoch (2):

Humanserum mit ca. 30-50 ng PSA/ml mit 0,1% Natriumacetat als Konservierungsmittel. Die exakte PSA-Serumkonzentration ist dem Etikett zu entnehmen.

g) Waschkonzentrat:

Puffer mit 0,6% Dowicil[®] 200 als Konservierungsmittel. Alternativ kann Waschkonzentrat zur Serienanalyse mit dem photon ERA[®] Spektrophotometer-Analysegerät verwendet werden.

- Substrat-Reagenzienkit:

a) Substratkonzentrat:

p-Nitrophenylphosphat in einem Stabilisierungspuffer mit Konservierungsmittel.

b) Substratverdünnungslösung:

Puffer mit Konservierungsmittel.

c) Stoppreagenz:

Puffer mit EDTA und mit Konservierungsmittel.

- Weiterhin wurden verwendet:

a) Polystyrol-Aliquots, gerundet in der Größe 12 x 75 mm

b) Polystyrol-Aliquot Standvorrichtung

c) Einweg-Präzisionspipetten : Fassungsvermögen 100 µl (+/- 1%)

d) Einweg-Präzisionspipetten : Fassungsvermögen 200 µl (+/- 1%)

e) Mehrweg-Präzisionspipetten : Fassungsvermögen 100 µl (+/- 1%)

f) Absauggerät HybriWash[™]

g) Einweglatexhandschuhe, Einwegpinzetten und destilliertes Wasser.

4.5.3 Testvorbereitung

Unmittelbar vor der Analyse werden sowohl die zu untersuchenden Serumproben, als auch die verwendeten Reagenzien auf Zimmertemperatur (18-25 °C) gebracht. Alle Serumproben werden vor der Analyse zur Reduktion von Trübung und Entfernung von Festkörpern 5 Minuten bei 3000 U/min. zentrifugiert. Verwendete Reagenzien werden vor Gebrauch durch vorsichtiges Schwenken oder leichtes Schütteln gemischt. Zur Herstellung der Waschlösung wird der Inhalt einer Flasche Waschkonzentrat (40 ml) mit destilliertem Wasser (800 ml) vermischt. Zur Herstellung des benötigten Volumens Substratlösung wird jeweils eine Einheit Substrat-Konzentrat in 10 Einheiten Substrat-Verdünner gelöst und vorsichtig vermischt. Anschließend wird mit der Durchführung der Tests fortgefahren.

4.5.4 Testdurchführung

Die Durchführung des Tandem[®]-E PSA- Assays erfolgt bei Zimmertemperatur. Nullstandard, Standards der verschiedenen Konzentrationen sowie die beiden Kontrollen werden pro Assay zweimal gleichzeitig getestet. Die Inkubationszeiten werden für alle Proben exakt eingehalten. Nach Kontrolle der Probenbeschriftung auf Unversehrtheit und Lesbarkeit werden die Aliquots gekennzeichnet. Jeweils 100 µl Nullstandard, Standards, Kontrollen und Blutserumproben werden unter Verwendung einer sauberen Pipettenspitze zur Vermeidung einer Kontamination in die Aliquots pipettiert. Danach werden jedem Aliquot 100 µl PSA-Antikörper-Konjugat zugegeben. Jeweils ein Aliquot erhält nun ein Anti-PSA beschichtetes Bead. Die Beads werden vor Zugabe in die Aliquots von der ihnen anhaftenden restlichen Pufferlösung durch Absaugen befreit, ohne sie vollständig zu trocknen. Um eine ausreichende Vermischung zu erreichen, werden die Aliquots in ihrer Standvorrichtung kräftig geschüttelt. Die Inkubation erfolgt für zwei Stunden bei Zimmertemperatur auf einem Flachbett-Rotationsmischer bei 170 (+/- 10) U/min. Nach Abschluss der Inkubationszeit werden

die Beads insgesamt dreimal gewaschen, wobei darauf zu achten ist, dass eine Gesamtzeit von 15 Minuten Verbleib in der Waschlösung nicht zu überschreiten ist. Pro Waschvorgang werden 2 ml Waschlösung in jedes Aliquot pipettiert und die Flüssigkeit schließlich unter Verwendung des HybriWash™ Absauggerätes entfernt. Im Anschluss an die Waschvorgänge werden jedem Aliquot 200 µl Substratreagenz zugegeben. Um eine ausreichende Vermischung zu erreichen werden die Aliquots in ihrer Standvorrichtung erneut kräftig geschüttelt. Die Inkubation erfolgt für 30 Minuten bei Raumtemperatur. Nach Abschluss der Inkubationszeit werden jedem Aliquot 1,5 ml Stoppreagenz zugegeben. Erneut wird in der Standvorrichtung unter Verwendung eines Vibrationsmischers kräftig geschüttelt. Die Proben werden nun der automatischen Messung im photon ERA® Spektrophotometer-Analysegerät zugeführt. Die PSA-Probenkonzentrationen werden kolorimetrisch durch Extinktionsmessung bei Wellenlängen von 405 und 450 nm ermittelt. Die Ergebnisse werden vom Analysegerät in ng/ml ausgegeben.

4.5.5 Testleistungsdaten

Die Intra-Assay-Präzision des Tandem®-E PSA- Assays wurde durch Tests mit unterschiedlichen PSA-Konzentrationen ermittelt. Dabei ergaben sich für die Mittelwerte der Konzentrationen 3,4 ng/ml, 21,5 ng/ml und 85,5 ng/ml Standardabweichungen (SD) von 0,111, 0,794 und 4,129 sowie Variationskoeffizienten (CV) von 3,3, 3,7 und 4,8%.

Die Inter-Assay-Präzision des Tandem®-E PSA- Assays wurde durch wiederholte Tests von drei unterschiedlichen Serumproben mit mittleren PSA-Konzentrationen von 6,5 ng/ml, 25,1 ng/ml und 81,1 ng/ml und einer Wiederholungszahl von 15 ermittelt. Dabei ergaben sich für die Mittelwerte der Konzentrationen 6,5 ng/ml, 25,1 ng/ml und 81,1 ng/ml Standardabweichungen von 0,36, 1,49 und 2,91 sowie Variationskoeffizienten (CV) von 5,6, 5,9 und 3,6%.

Die untere Nachweisgrenze für die PSA-Konzentration liegt im automatischen Verfahren (photon ERA[®]) offiziell unter 0,08 ng/ml. Sie wird durch Bildung des Mittelwertes von 20 Messungen im PSA-freien Serum zuzüglich drei Standardabweichungen ermittelt. Die tatsächliche untere Nachweisgrenze liegt deutlich darunter. Der Konzentrationsbereich des Tandem[®]-E PSA- Assays reicht von 0 bis 100 ng PSA/ml. Testergebnisse, die eine PSA-Blutserumkonzentration über 100 ng/ml erwarten lassen, erfordern eine erneute Testdurchführung mit der Serumprobe unter Verdünnung. Dazu wird die entsprechende Serumprobe mit Nullstandard so verdünnt, dass die erwartete PSA-Konzentration über 5 ng/ml beträgt. Der Verdünnungsfaktor wird schließlich in die Berechnung der PSA-Blutserumkonzentration einbezogen.

4.5.6 Statistische Auswertung

Die Bearbeitung der Basisdaten erfolgte rechnergestützt unter Verwendung von Microsoft[®] Office 2000 Premium Edition (Microsoft[®] Access 2000, Microsoft[®] Excel 2000, Microsoft[®] Word 2000) und Microsoft[®] Office:mac 2004 SSL (Microsoft[®] Excel 2004, Microsoft[®] Word 2004).

Die statistische Auswertung der ermittelten Ergebnisse erfolgte unter Verwendung von SPSS[®] 11.0 for Mac OSX. Literaturrecherche sowie die Bibliographieerstellung erfolgten unter Verwendung von Endnote[®] v8 for Mac OSX.

5 Ergebnisse

5.1 Altersverteilung

Tabelle 5-1

Altersverteilung des Patientenkollektivs									
n = 50									
Gruppe	51-54	55-58	59-62	63-66	67-70	71-74	75-78	79-82	83-86
Anzahl	0	1	4	8	12	9	9	7	0

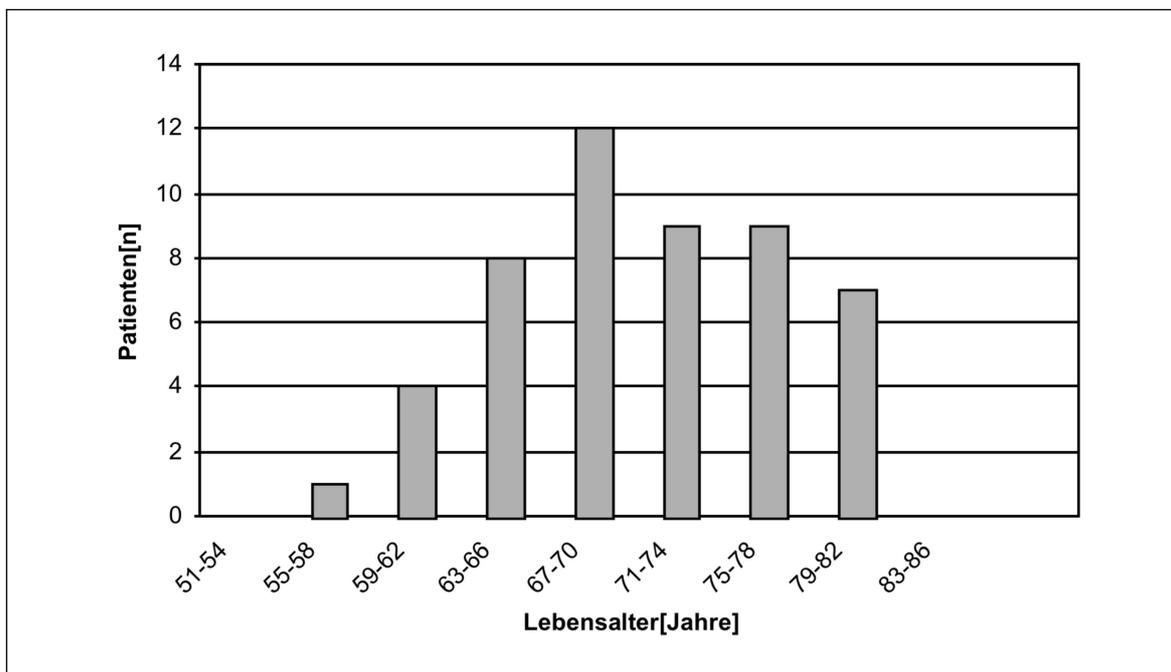


Abbildung 5-1

Der Berechnung der statistischen Größen der Altersverteilung wurde das Lebensalter der Patienten zu Studienbeginn am 1. November 1996 zugrunde gelegt.

Es ergeben sich folgende statistischen Größen:

Tabelle 5-2

Altersverteilung des Patientenkollektivs - Statistik		
Kenngröße	Wert	Einheit
Minimum	56	Lebensjahre
Maximum	81	Lebensjahre
Median	71	Lebensjahre
Mittelwert	71	Lebensjahre
mittlere Abweichung	5	Lebensjahre
Standardabweichung	6	Lebensjahre

Die Einteilung der Patienten in Altersgruppen, wie sie oben erfolgte, dient der besseren Übersicht in der graphischen Darstellung. Für die weiteren Betrachtungen soll das Alter der Patienten nicht berücksichtigt werden.

Mit einem mittleren Lebensalter von 71 Lebensjahren entspricht das untersuchte Patientenkollektiv dem demographischen Mittel der Prostatakarzinompatienten in Deutschland.

5.2 PSA-Verteilung

Tabelle 5-3

PSA-Verteilung							
n = 50							
Gruppe	A <0,10	B >0,10 bis <1,00	C >1,00 bis <4,00	D >4,00 bis <10,00	E >10,00 bis >100,00	F >100,00	Gesamt
Anzahl	18	15	11	2	2	2	50

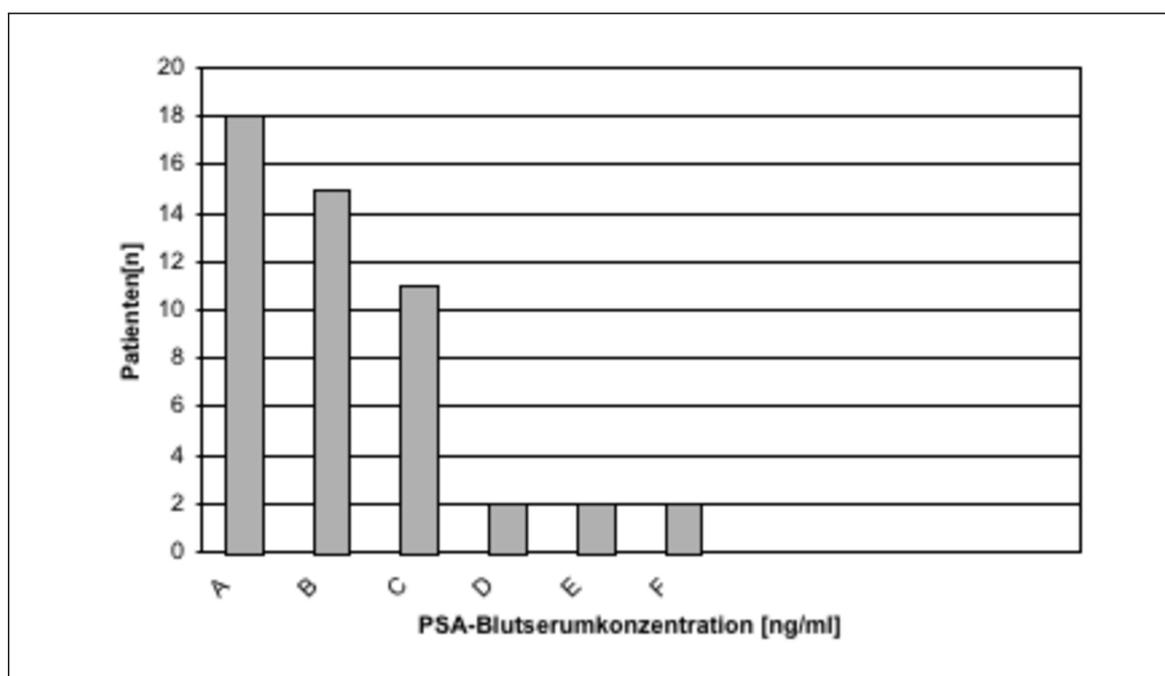


Abbildung 5-2

Grundlage für die nähere Betrachtung und Eingruppierung der erhobenen PSA-Blutserumkonzentrationen in Messgruppen ist die jeweils erste PSA-Bestimmung eines jeden Patienten. Die Konzentrationsbereichsgruppen wurden willkürlich festgelegt.

Die Eingruppierung wurde zugunsten einer besseren Übersicht bei weiteren Betrachtungen nicht anhand des gegenüber Ausreißern empfindlichen Mittelwertes, sondern anhand des ersten Basiswertes (PSA-Nadir) getroffen und im Laufe der Untersuchung beibehalten.

Der hohe Anteil der Patienten mit einer PSA-Blutserumkonzentration von 0,01 bis 1,00 (66%), sowie der insgesamt hohe Anteil der Patienten mit einer PSA-Blutserumkonzentration von 0,01 bis 4,00 (88%) im Patientenkollektiv, resultieren aus einer erfolgreichen hormonablativen Therapie der untersuchten Patienten durch bilaterale Orchiektomie.

5.3 Ergebnisse

5.3.1 PSA-Konzentrationsbereich <0,10 ng/ml

5.3.1.1 Patient A17 (exemplarisch als typischer Gruppenvertreter)

Tabelle 5-4

Ergebnisse Patient W.H., (74 Jahre)									
Nr. 29									
t [w]	1	2	3	4	5	6	26	52	78
PSA	0,07	0,04	0,05	0,04	0,03	0,01	0,04	0,03	0,06

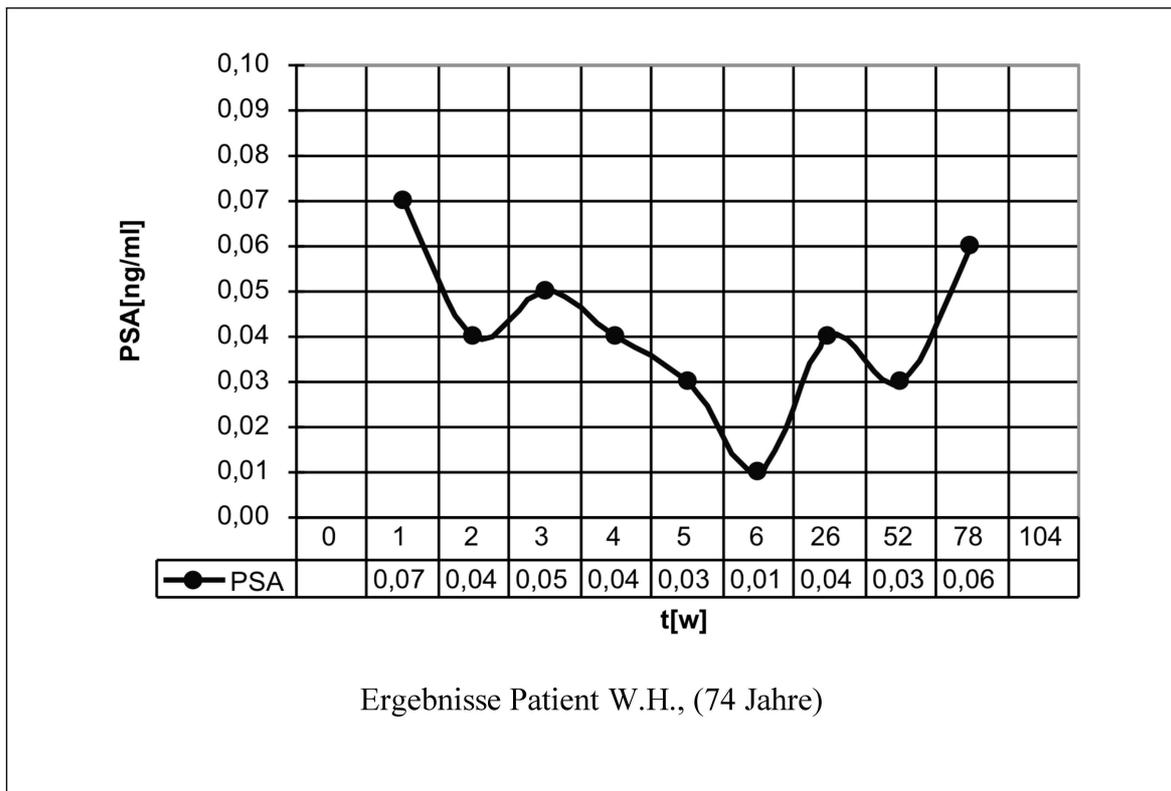


Abbildung 5-3

Es ergeben sich folgende statistischen Größen:

Tabelle 5-5

Patient W.H., (74 Jahre) - Statistik			
Kenngröße	Untersuchungsphase	Nachsorgephase	Einheit
	PSA 1-6	PSA 7-9	
Minimum	0,01	0,03	ng/ml
Maximum	0,07	0,06	ng/ml
Variationsbreite	0,06	0,03	ng/ml
Median	0,04	0,04	ng/ml
Mittelwert	0,04	0,04	ng/ml
mittlere Abweichung	0,01	0,01	ng/ml
Standardabweichung	0,02	0,02	ng/ml
Variationskoeffizient	50	35	Prozent

5.3.1.2 Gruppenergebnisse (grafische Darstellung)

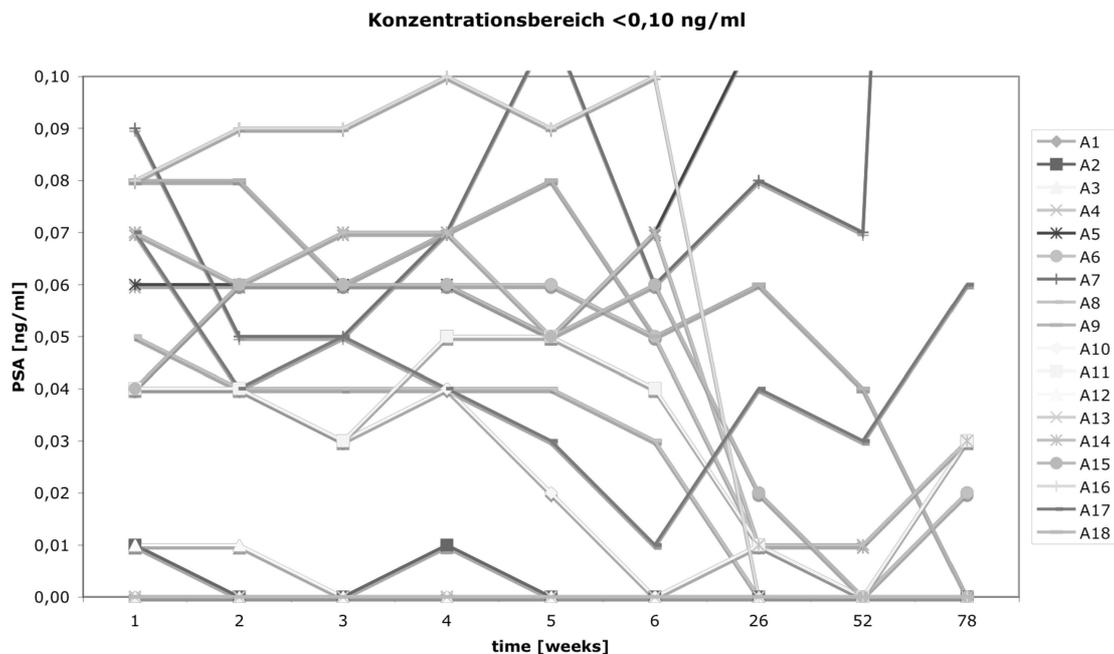


Abbildung 5-4

5.3.1.3 Gruppenergebnisse Konzentrationsbereich <0,10 ng/ml

Tabelle 5-6

t [w]	1	2	3	4	5	6	26	52	78
A1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
A2	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
A3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
A4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
A5	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,07	0,11	0,12	0,23
A6	0,04	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,01	0,00	0,02
A7	0,09	0,05	0,05	0,07	0,11	0,06	0,08	0,07	0,48
A8	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,00	0,00	0,00
A9	0,08	0,08	0,06	0,07	0,08	0,05	0,06	0,04	0,00
A10	0,04	0,04	0,03	0,04	0,02	0,00	0,01	0,00	0,00
A11	0,04	0,04	0,03	0,05	0,05	0,04	0,01	0,00	0,03
A12	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
A13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
A14	0,07	0,06	0,07	0,07	0,05	0,07	0,01	0,01	0,03
A15	0,04	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06	0,02	0,00	0,00
A16	0,08	0,09	0,09	0,10	0,09	0,10	0,00	0,00	0,00
A17	0,07	0,04	0,05	0,04	0,03	0,01	0,04	0,03	0,06
A18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

5.3.2 PSA-Konzentrationsbereich >0,10 bis <1,00 ng/ml

5.3.2.1 Patient B2 (exemplarisch als typischer Gruppenvertreter)

Tabelle 5-7

Ergebnisse Patient B.F., (76 Jahre)									
Nr. 41									
t [w]	1	2	3	4	5	6	26	52	78
PSA	0,59	0,50	0,56	0,59	0,51	0,60	0,56	0,50	0,51

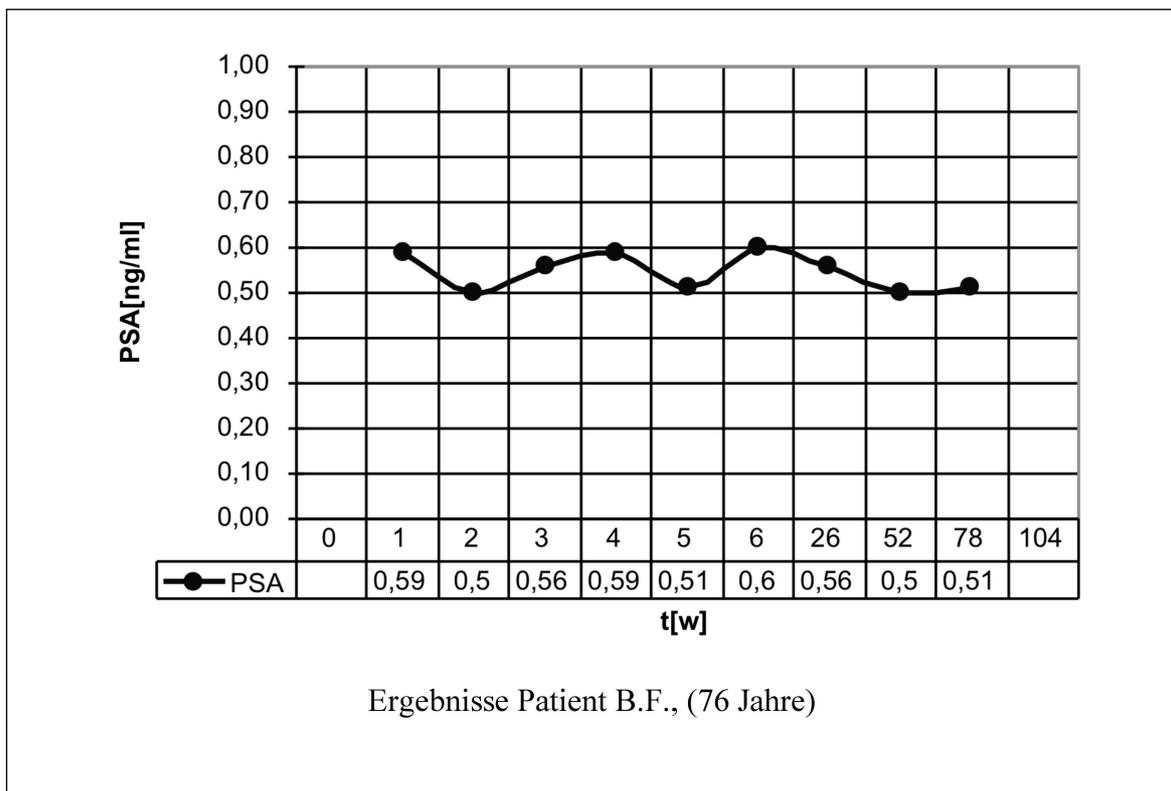


Abbildung 5-5

Es ergeben sich folgende statistischen Größen:

Tabelle 5-8

Patient B.F., (76 Jahre) - Statistik			
Kenngröße	Untersuchungsphase	Nachsorgephase	Einheit
	PSA 1-6	PSA 7-9	
Minimum	0,50	0,50	ng/ml
Maximum	0,60	0,56	ng/ml
Variationsbreite	0,10	0,06	ng/ml
Median	0,58	0,51	ng/ml
Mittelwert	0,56	0,52	ng/ml
mittlere Abweichung	0,04	0,02	ng/ml
Standardabweichung	0,04	0,03	ng/ml
Variationskoeffizient	8	6	Prozent

5.3.2.2 Gruppenergebnisse (grafische Darstellung)

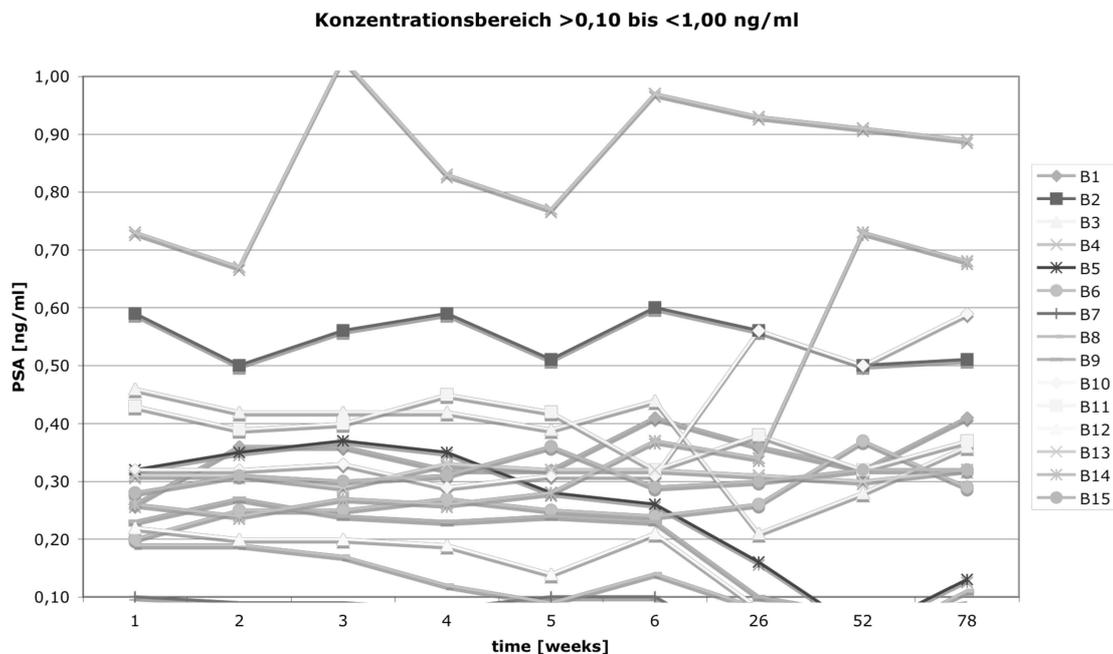


Abbildung 5-6

5.3.2.3 Gruppenergebnisse Konzentrationsbereich >0,10 bis <1,00 ng/ml

Tabelle 5-9

t [w]	1	2	3	4	5	6	26	52	78
B1	0,26	0,36	0,36	0,32	0,32	0,41	0,36	0,32	0,41
B2	0,59	0,50	0,56	0,59	0,51	0,60	0,56	0,50	0,51
B3	0,46	0,42	0,42	0,42	0,39	0,44	0,21	0,28	0,36
B4	0,73	0,67	1,03	0,83	0,77	0,97	0,93	0,91	0,89
B5	0,32	0,35	0,37	0,35	0,28	0,26	0,16	0,04	0,13
B6	0,20	0,25	0,25	0,27	0,25	0,24	0,26	0,37	0,29
B7	0,10	0,09	0,09	0,08	0,10	0,10	0,00	0,00	0,00
B8	0,19	0,19	0,17	0,12	0,09	0,14	0,08	0,02	0,11
B9	0,23	0,27	0,24	0,23	0,24	0,23	0,10	0,07	0,09
B10	0,32	0,32	0,33	0,29	0,31	0,31	0,56	0,50	0,59
B11	0,43	0,39	0,40	0,45	0,42	0,32	0,38	0,32	0,37
B12	0,22	0,20	0,20	0,19	0,14	0,21	0,08	0,02	0,00
B13	0,31	0,31	0,29	0,33	0,32	0,32	0,31	0,30	0,32
B14	0,26	0,24	0,27	0,26	0,28	0,37	0,34	0,73	0,68
B15	0,28	0,31	0,30	0,31	0,36	0,29	0,30	0,32	0,32

5.3.3 PSA-Konzentrationsbereich >1,00 bis <4,00 ng/ml

5.3.3.1 Patient C2 (exemplarisch als typischer Gruppenvertreter)

Tabelle 5-10

Ergebnisse Patient B.G., (80 Jahre)									
Nr. 9									
t [w]	1	2	3	4	5	6	26	52	78
PSA	3,26	4,31	4,74	3,86	3,73	3,33	3,78	3,86	3,71

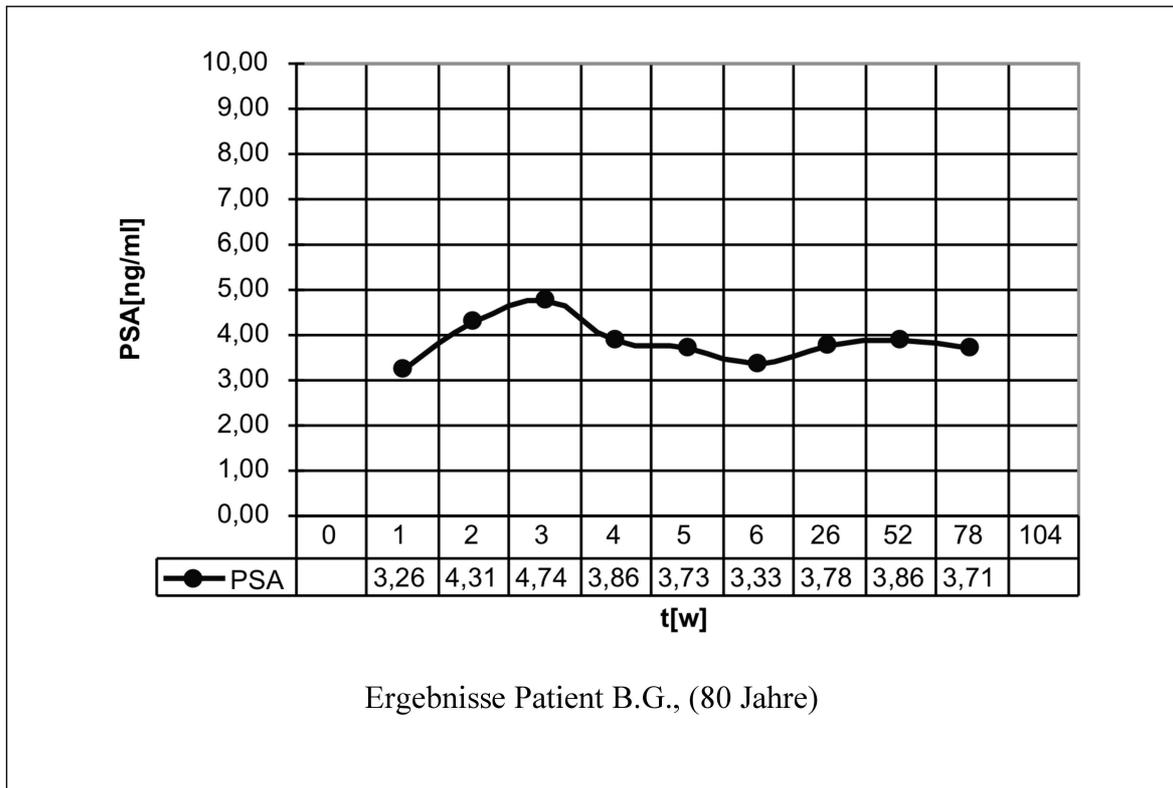


Abbildung 5-7

Es ergeben sich folgende statistischen Größen:

Tabelle 5-11

Patient B.G., (80 Jahre) - Statistik			
Kenngröße	Untersuchungsphase	Nachsorgephase	Einheit
	PSA 1-6	PSA 7-9	
Minimum	3,26	3,71	ng/ml
Maximum	4,74	3,86	ng/ml
Variationsbreite	1,48	0,15	ng/ml
Median	3,80	3,78	ng/ml
Mittelwert	3,87	3,78	ng/ml
mittlere Abweichung	0,44	0,05	ng/ml
Standardabweichung	0,57	0,08	ng/ml
Variationskoeffizient	15	2	Prozent

5.3.3.2 Gruppenergebnisse (grafische Darstellung)

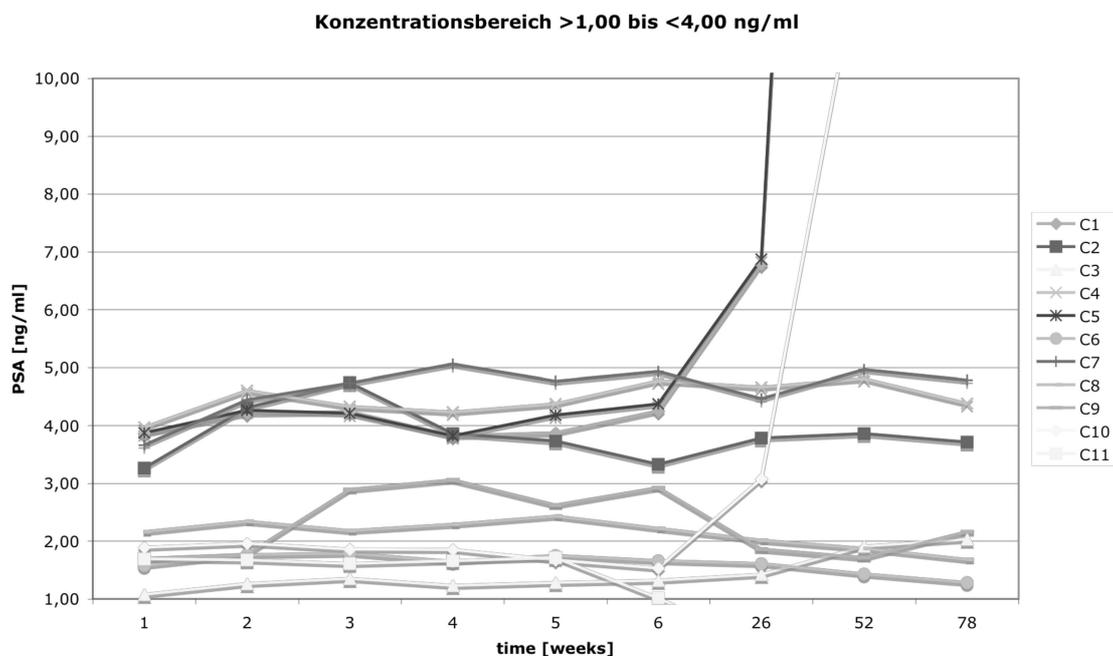


Abbildung 5-8

5.3.3.3 Gruppenergebnisse Konzentrationsbereich >1,00 bis <4,00 ng/ml

Tabelle 5-12

t [w]	1	2	3	4	5	6	26	52	78
C1	3,86	4,21	4,24	3,82	3,87	4,25	6,78	38,40	49,21
C2	3,26	4,31	4,74	3,86	3,73	3,33	3,78	3,86	3,71
C3	1,08	1,26	1,35	1,23	1,28	1,32	1,42	1,91	2,03
C4	3,97	4,60	4,33	4,23	4,37	4,77	4,66	4,81	4,38
C5	3,87	4,26	4,21	3,82	4,18	4,37	6,87	39,20	48,21
C6	1,58	1,76	1,79	1,65	1,75	1,66	1,61	1,43	1,28
C7	3,66	4,44	4,73	5,06	4,76	4,93	4,46	4,96	4,78
C8	2,16	2,34	2,18	2,29	2,43	2,22	2,01	1,87	1,68
C9	1,70	1,77	2,89	3,06	2,62	2,92	1,86	1,71	2,16
C10	1,89	1,96	1,86	1,85	1,67	1,53	3,08	12,50	19,42
C11	1,69	1,67	1,61	1,66	1,71	1,01	0,22	0,51	0,48

5.3.4 PSA-Konzentrationsbereich >4,00 bis <10,00 ng/ml

5.3.4.1 Patient D1 (exemplarisch als typischer Gruppenvertreter)

Tabelle 5-13

Ergebnisse Patient H.H., (69 Jahre)									
Nr. 43									
t [w]	1	2	3	4	5	6	26	52	78
PSA	5,37	5,73	6,24	6,58	5,24	6,37	8,58	12,00	12,52

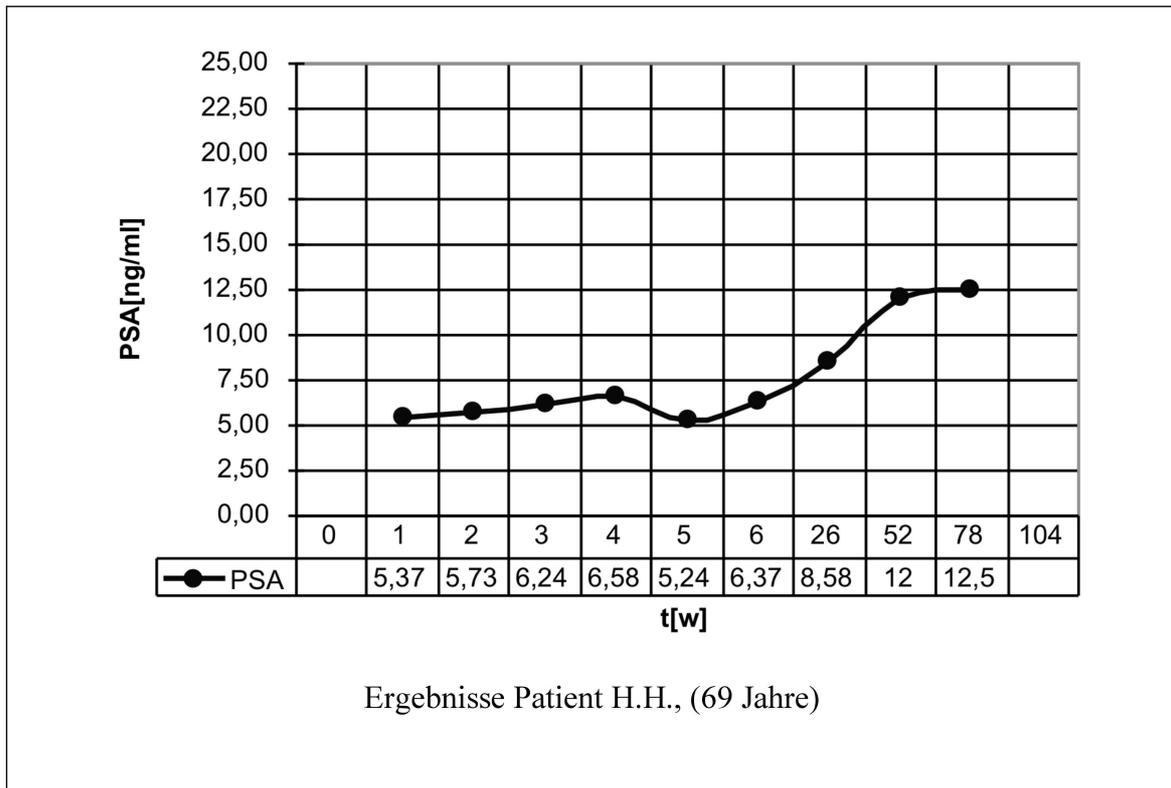


Abbildung 5-9

Es ergeben sich folgende statistischen Größen:

Tabelle 5-14

Patient H.H., (69 Jahre) - Statistik			
Kenngröße	Untersuchungsphase	Nachsorgephase	Einheit
	PSA 1-6	PSA 7-9	
Minimum	5,24	8,58	ng/ml
Maximum	6,58	12,52	ng/ml
Variationsbreite	1,34	3,94	ng/ml
Median	5,99	12,00	ng/ml
Mittelwert	5,92	11,03	ng/ml
mittlere Abweichung	0,48	1,64	ng/ml
Standardabweichung	0,56	2,14	ng/ml
Variationskoeffizient	9	19	Prozent

5.3.4.2 Gruppenergebnisse (grafische Darstellung)

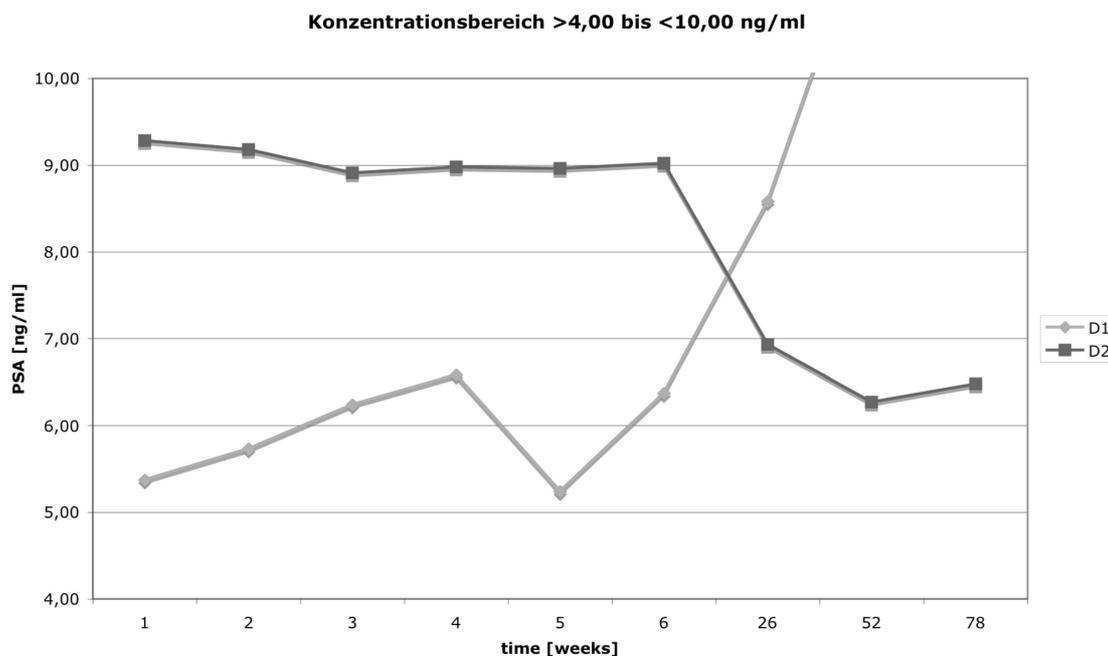


Abbildung 5-10

5.3.4.3 Gruppenergebnisse Konzentrationsbereich >4,00 bis <10,00 ng/ml

Tabelle 5-15

t [w]	1	2	3	4	5	6	26	52	78
D1	5,37	5,73	6,24	6,58	5,24	6,37	8,58	12,00	12,52
D2	9,28	9,18	8,91	8,98	8,96	9,02	6,93	6,27	6,48

5.3.5 PSA-Konzentrationsbereich >10,00 bis <100,00 ng/ml

5.3.5.1 Patient E2 (exemplarisch als typischer Gruppenvertreter)

Tabelle 5-16

Ergebnisse Patient N.F., (73 Jahre)									
Nr. 36									
t [w]	1	2	3	4	5	6	26	52	78
PSA	15,00	15,30	15,00	17,40	14,30	15,71	17,94	18,90	19,93

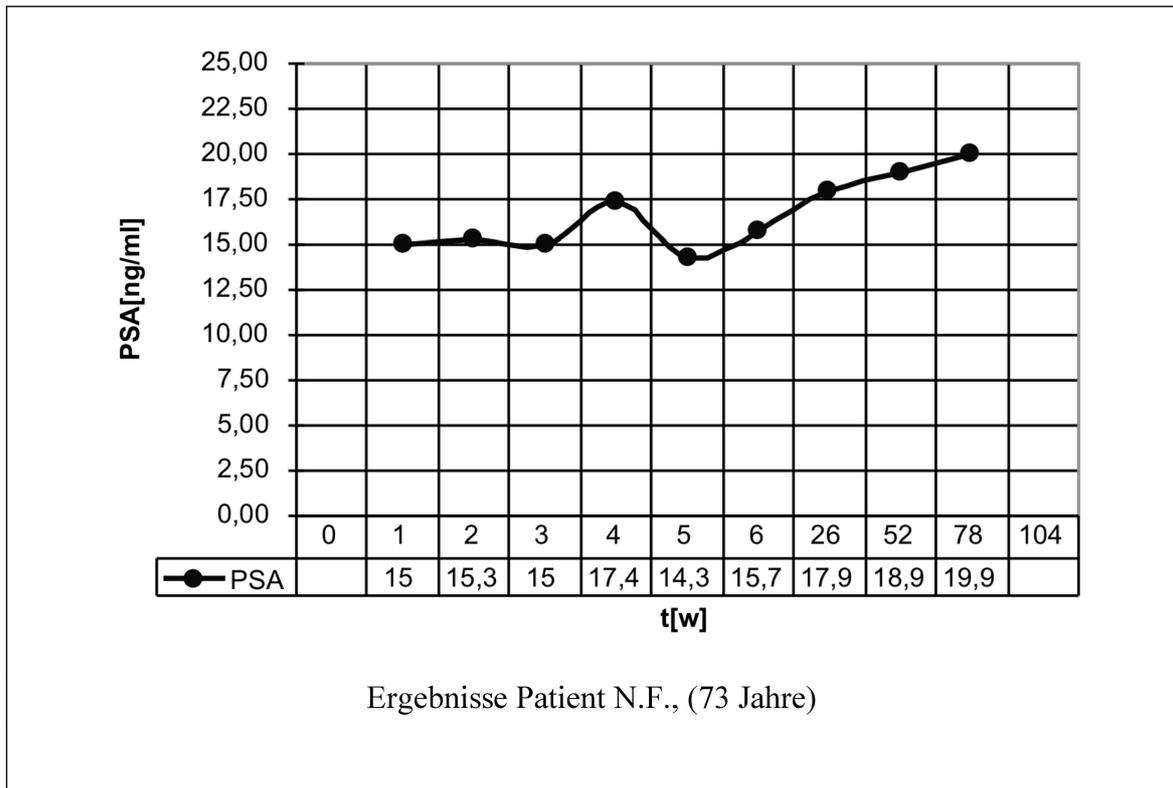


Abbildung 5-11

Es ergeben sich folgende statistischen Größen:

Tabelle 5-17

Patient N.F., (73 Jahre) - Statistik			
Kenngröße	Untersuchungsphase	Nachsorgephase	Einheit
	PSA 1-6	PSA 7-9	
Minimum	14,30	17,94	ng/ml
Maximum	17,40	19,93	ng/ml
Variationsbreite	3,10	1,99	ng/ml
Median	15,15	18,90	ng/ml
Mittelwert	15,45	18,92	ng/ml
mittlere Abweichung	0,74	0,67	ng/ml
Standardabweichung	1,06	1,00	ng/ml
Variationskoeffizient	7	5	Prozent

5.3.5.2 Gruppenergebnisse (grafische Darstellung)

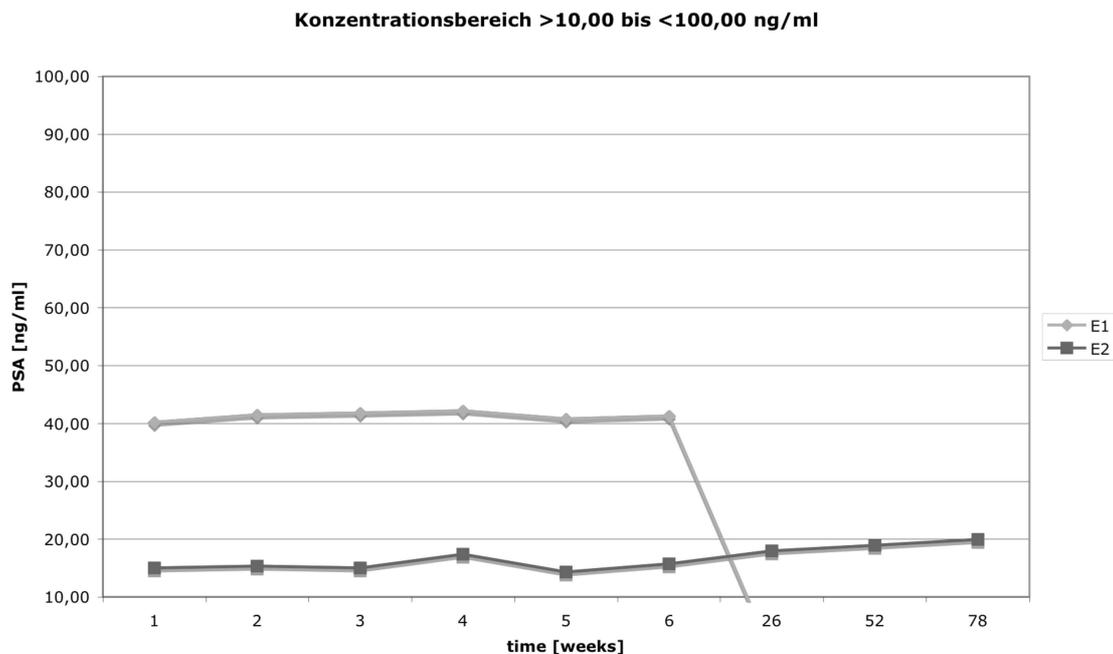


Abbildung 5-12

5.3.5.3 Gruppenergebnisse Konzentrationsbereich >10,00 bis <100,00 ng/ml

Tabelle 5-18

t [w]	1	2	3	4	5	6	26	52	78
E1	40,20	41,50	41,80	42,20	40,80	41,28	#	#	#
E2	15,00	15,30	15,00	17,40	14,30	15,71	17,94	18,90	19,93

5.3.6 PSA-Konzentrationsbereich >100,00 ng/ml

5.3.6.1 Patient F1 (exemplarisch als typischer Gruppenvertreter)

Tabelle 5-19

Ergebnisse Patient P.H., (78 Jahre)									
Nr. 16									
t [w]	1	2	3	4	5	6	26	52	78
PSA	117,45	#	#	#	#	#	#	#	#
# Patient wurde aufgrund initial erhöhtem PSA aus der Studie ausgeschlossen									

5.4 Konzentrationsabhängige Variabilität

5.4.1 Variabilität Konzentrationsbereich <0,10 ng/ml

Tabelle 5-20

Ergebnisse Gruppe A Konzentration <0,10 ng/ml			
n = 18			
Untersuchungsphase PSA 1-6		Nachsorgephase PSA 7-9	
Basisdaten	n = 18	Basisdaten	n = 18
statistisch auswertbar	n = 13	statistisch auswertbar	n = 9

Es ergeben sich folgende statistischen Größen:

Tabelle 5-21

Variationskoeffizienten der Gruppe A Konzentrationsbereich <0,10 ng/ml			
	Untersuchungsphase	Nachsorgephase	Gesamtuntersuchung
Minimum (MIN)	8%	35%	8%
Maximum (MAX)	155%	173%	173%
Mittelwert (MW)	43%	101%	67%
Standardabweichung (STD)	52%	49%	57%

5.4.2 Variabilität Konzentrationsbereich >0,10 bis <1,00 ng/ml

Tabelle 5-22

Ergebnisse Gruppe B Konzentrationsbereich >0,10 bis <1,00 ng/ml			
n = 15			
Untersuchungsphase PSA 1-6		Nachsorgephase PSA 7-9	
Basisdaten	n = 15	Basisdaten	n = 15
Auswertung	n = 15	Auswertung	n = 14

Es ergeben sich folgende statistischen Größen:

Tabelle 5-23

Variationskoeffizienten der Gruppe B Konzentrationsbereich >0,10 bis <1,00 ng/ml			
	Untersuchungsphase	Nachsorgephase	Gesamtuntersuchung
Minimum (MIN)	4%	2%	2%
Maximum (MAX)	27%	125%	125%
Mittelwert (MW)	11%	28%	19%
Standardabweichung (STD)	6%	34%	25%

5.4.3 Variabilität Konzentrationsbereich >1,00 bis <4,00 ng/ml

Tabelle 5-24

Ergebnisse Gruppe C Konzentrationsbereich >1,00 bis <4,00 ng/ml			
n = 11			
Untersuchungsphase PSA 1-6		Nachsorgephase PSA 7-9	
Basisdaten	n = 11	Basisdaten	n = 11
Auswertung	n = 11	Auswertung	n = 11

Es ergeben sich folgende statistischen Größen:

Tabelle 5-25

Variationskoeffizienten der Gruppe C Konzentrationsbereich >1,00 bis <4,00 ng/ml			
	Untersuchungsphase	Nachsorgephase	Gesamtuntersuchung
Minimum (MIN)	5%	2%	2%
Maximum (MAX)	24%	70%	70%
Mittelwert (MW)	10%	28%	19%
Standardabweichung (STD)	6%	28%	22%

5.4.4 Variabilität Konzentrationsbereich >4,00 bis <10,00 ng/ml

Tabelle 5-26

Ergebnisse Gruppe D Konzentrationsbereich >4,00 bis <10,00 ng/ml			
n = 2			
Untersuchungsphase PSA 1-6		Nachsorgephase PSA 7-9	
Basisdaten	n = 2	Basisdaten	n = 2
Auswertung	n = 2	Auswertung	n = 2

Es ergeben sich folgende statistischen Größen:

Tabelle 5-27

Variationskoeffizienten der Gruppe D Konzentrationsbereich >4,00 bis <10,00 ng/ml			
	Untersuchungsphase	Nachsorgephase	Gesamtuntersuchung
Minimum (MIN)	2%	5%	2%
Maximum (MAX)	9%	19%	19%
Mittelwert (MW)	5%	12%	9%
Standardabweichung (STD)	6%	10%	8%

5.4.5 Variabilität Konzentrationsbereich >10,00 bis <100,00 ng/ml

Tabelle 5-28

Ergebnisse Gruppe E Konzentrationsbereich >10,00 bis <100,00 ng/ml			
n = 2			
Untersuchungsphase PSA 1-6		Nachsorgephase PSA 7-9	
Basisdaten	n = 2	Basisdaten	n = 1
Auswertung	n = 2	Auswertung	n = 1

Es ergeben sich folgende statistischen Größen:

Tabelle 5-29

Variationskoeffizienten der Gruppe E Konzentrationsbereich >10,00 bis <100,00 ng/ml			
	Untersuchungsphase	Nachsorgephase	Gesamtuntersuchung
Minimum (MIN)	2%	5%	2%
Maximum (MAX)	7%	5%	7%
Mittelwert (MW)	4%	5%	5%
Standardabweichung (STD)	4%	#	3%

5.5 Zusammenfassung der Ergebnisse

5.5.1 Konzentrationsbereich <0,10 ng/ml

Die Gruppe A umfasst insgesamt 18 Patienten die bei Eingang in die Untersuchung eine PSA-Blutserumkonzentration im untersten Konzentrationsbereich von < 0,10 ng/ml aufwiesen. In der Untersuchungsphase (6 Blutentnahmen bei wöchentlichem Intervall) konnten 13 von 18 Patienten (72%) statistisch ausgewertet werden. In der Nachsorgephase (3 Blutentnahmen im halbjährlichen Intervall) gingen 9 von 18 Patienten (50%) in die statistische Auswertung ein.

Untersuchungsphase

Der mittlere Variationskoeffizient der Untersuchungsphase beträgt in diesem Konzentrationsbereich 43%. Die Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 147%, bei einem Minimum von 8% und einem Maximum von 155%. Die Standardabweichung beträgt 52%.

Nachsorgephase

Der mittlere Variationskoeffizient der Nachsorgephase beträgt in diesem Konzentrationsbereich 101%. Die Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 138%, bei einem Minimum von 35% und einem Maximum von 173%. Die Standardabweichung beträgt 49%.

Gesamtuntersuchung

Ungeachtet der zeitlichen Abstände zwischen den Einzelmessungen der Untersuchung ergibt sich für den Konzentrationsbereich der Gruppe A ein mittlerer Variationskoeffizient von 67%. Die serienübergreifende Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 165%, bei einem Minimum von 8% und einem Maximum von 173%. Die Standardabweichung beträgt zusammengefasst 57%.

5.5.2 Konzentrationsbereich >0,10 bis <1,00 ng/ml

Die Gruppe B umfasst insgesamt 15 Patienten die bei Eingang in die Untersuchung eine PSA-Blutserumkonzentration im unteren Konzentrationsbereich von >0,10 bis <1,00 ng/ml aufwiesen. In der Untersuchungsphase (6 Blutentnahmen bei wöchentlichem Intervall) konnten 15 von 15 Patienten (100%) statistisch ausgewertet werden. In der Nachsorgephase (3 Blutentnahmen im halbjährlichen Intervall) gingen ebenfalls 15 von 15 Patienten (100%) in die statistische Auswertung ein.

Untersuchungsphase

Der mittlere Variationskoeffizient der Untersuchungsphase beträgt in diesem Konzentrationsbereich 11%. Die Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 23%, bei einem Minimum von 4% und einem Maximum von 27%. Die Standardabweichung beträgt 6%.

Nachsorgephase

Der mittlere Variationskoeffizient der Nachsorgephase beträgt in diesem Konzentrationsbereich 28%. Die Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 123%, bei einem Minimum von 2% und einem Maximum von 125%. Die Standardabweichung beträgt 34%.

Gesamtuntersuchung

Ungeachtet der zeitlichen Abstände zwischen den Einzelmessungen der Untersuchung ergibt sich für den Konzentrationsbereich der Gruppe B ein mittlerer Variationskoeffizient von 19%. Die serienübergreifende Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 123%, bei einem Minimum von 2% und einem Maximum von 125%. Die Standardabweichung beträgt zusammengefasst 25%.

5.5.3 Konzentrationsbereich >1,00 bis <4,00 ng/ml

Die Gruppe C umfasst insgesamt 11 Patienten die bei Eingang in die Untersuchung eine PSA-Blutserumkonzentration im mittleren Konzentrationsbereich von >1,00 bis <4,00 ng/ml aufwiesen. In der Untersuchungsphase (6 Blutentnahmen bei wöchentlichem Intervall) konnten 11 von 11 Patienten (100%) statistisch ausgewertet werden. In der Nachsorgephase (3 Blutentnahmen im halbjährlichen Intervall) gingen ebenfalls 11 von 11 Patienten (100%) in die statistische Auswertung ein.

Untersuchungsphase

Der mittlere Variationskoeffizient der Untersuchungsphase beträgt in diesem Konzentrationsbereich 10%. Die Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 20%, bei einem Minimum von 5% und einem Maximum von 24%. Die Standardabweichung beträgt 6%.

Nachsorgephase

Der mittlere Variationskoeffizient der Nachsorgephase beträgt in diesem Konzentrationsbereich 28%. Die Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 68%, bei einem Minimum von 2% und einem Maximum von 70%. Die Standardabweichung beträgt 28%.

Gesamtuntersuchung

Ungeachtet der zeitlichen Abstände zwischen den Einzelmessungen der Untersuchung ergibt sich für den Konzentrationsbereich der Gruppe C ein mittlerer Variationskoeffizient von 19%. Die serienübergreifende Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 68%, bei einem Minimum von 2% und einem Maximum von 70%. Die Standardabweichung beträgt zusammengefasst 22%.

5.5.4 Konzentrationsbereich >4,00 bis <10,00 ng/ml

Die Gruppe D umfasst 2 Patienten die bei Eingang in die Untersuchung eine PSA-Blutserumkonzentration im hohen Konzentrationsbereich von >4,00 bis <10,00 ng/ml aufwiesen. In der Untersuchungsphase (6 Blutentnahmen bei wöchentlichem Intervall) konnten 2 von 2 Patienten (100%) statistisch ausgewertet werden. In der Nachsorgephase (3 Blutentnahmen im halbjährlichen Intervall) gingen ebenfalls 2 von 2 Patienten (100%) in die statistische Auswertung ein.

Untersuchungsphase

Der mittlere Variationskoeffizient der Untersuchungsphase beträgt in diesem Konzentrationsbereich 5%. Die Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 8%, bei einem Minimum von 2% und einem Maximum von 9%. Die Standardabweichung beträgt 6%.

Nachsorgephase

Der mittlere Variationskoeffizient der Nachsorgephase beträgt in diesem Konzentrationsbereich 12%. Die Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 14%, bei einem Minimum von 5% und einem Maximum von 19%. Die Standardabweichung beträgt 10%.

Gesamtuntersuchung

Ungeachtet der zeitlichen Abstände zwischen den Einzelmessungen der Untersuchung ergibt sich für den Konzentrationsbereich der Gruppe D ein mittlerer Variationskoeffizient von 9%. Die serienübergreifende Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 18%, bei einem Minimum von 2% und einem Maximum von 19%. Die Standardabweichung beträgt zusammengefasst 8%.

5.5.5 Konzentrationsbereich >10,00 bis <100,00 ng/ml

Die Gruppe E umfasst 2 Patienten die bei Eingang in die Untersuchung eine PSA-Blutserumkonzentration im hohen Konzentrationsbereich von >10,00 bis <100,00 ng/ml aufwiesen. In der Untersuchungsphase (6 Blutentnahmen bei wöchentlichem Intervall) konnten 2 von 2 Patienten (100%) statistisch ausgewertet werden. In der Nachsorgephase (3 Blutentnahmen im halbjährlichen Intervall) ging nur 1 Patient (50%) in die statistische Auswertung ein.

Untersuchungsphase

Der mittlere Variationskoeffizient der Untersuchungsphase beträgt in diesem Konzentrationsbereich 4%. Die Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 5%, bei einem Minimum von 2% und einem Maximum von 7%. Die Standardabweichung beträgt 4%.

Nachsorgephase

Nur ein Patient der Gruppe E nahm an an der Nachsorgephase teil. Dementsprechend ist nur ein Variationskoeffizient ermittelt worden. Dieser beträgt 5%. Statistisches Minimum, Maximum sowie mittlerer Variationskoeffizient sind mathematisch mit dem ermittelten VK identisch. Die Standardabweichung ist bei Vorliegen nur eines Variationskoeffizienten nicht zu berechnen.

Gesamtuntersuchung

Ungeachtet der zeitlichen Abstände zwischen den Einzelmessungen der Untersuchung ergibt sich für den Konzentrationsbereich der Gruppe E ein mittlerer Variationskoeffizient von 5%. Die serienübergreifende Variationsbreite der ermittelten Variationskoeffizienten umfasst 5%, bei einem Minimum von 2% und einem Maximum von 7%. Die Standardabweichung beträgt zusammengefasst 3%.

5.5.6 Konzentrationsbereich >100,00 ng/ml

Die Gruppe F umfasst 2 Patienten die bei Eingang in die Untersuchung eine PSA-Blutserumkonzentration im Konzentrationsbereich von >100,00 ng/ml aufwiesen. Ein Ausschlusskriterium ist damit in beiden Fällen erfüllt, so dass beide Patienten aus der Studie ausgeschlossen wurden. Auf die statistische Berechnung anhand der Einzelmessergebnisse wurde verzichtet, da die Berechnung zwar mathematisch möglich, jedoch inhaltlich nicht sinnvoll ist.

6 Diskussion

Intention der vorliegenden Untersuchung war es die Schwankungsbreite des prostataspezifischen Antigens bei Patienten mit lokal fortgeschrittenem Prostatakarzinom unter Androgenablation untersuchen. Alle Patienten des untersuchten Kollektivs hatten, in einem zeitlichen Abstand von mindestens sechs Monaten nach bilateraler Orchiektomie, und damit zu Beginn der seriellen Bestimmungen der PSA-Blutserumkonzentration ein stabiles PSA-Nadir erreicht. Dabei waren deutliche Niveauunterschiede zu verzeichnen, anhand derer eine Eingruppierung der Patienten in Konzentrationsbereichsgruppen erfolgen konnte. Die nun folgenden seriellen Bestimmungen der PSA-Blutserumkonzentrationen wurden jeweils in wöchentlichen Abständen (6 Einzelbestimmungen) sowie einem Nachsorgeintervall mit halbjährlichen Abständen (3 Einzelbestimmungen) durchgeführt. Während der Untersuchungen wurden die Patienten ambulant überwacht, um einen klinischen Progress der Prostatakarzinome auszuschließen.

Zur Beurteilung der intraindividuellen Schwankungsbreite wurden die Variationskoeffizienten innerhalb der seriellen Bestimmungen der Serumkonzentrationen des PSA ermittelt. Dies erfolgte getrennt sowohl für die Untersuchungsphase, als auch die Nachsorgephase. Innerhalb der jeweiligen Konzentrationsbereiche wurden die mittleren Variationskoeffizienten berechnet.

Zur Abgrenzung wird die intraindividuelle Variabilität mit der Präzision in der Serie und der Präzision von Serie zu Serie durch Betrachtung des Intra-Assay-Fehlers sowie des Inter-Assay-Fehlers verglichen. Die Intra-Assay-Präzision des verwendeten Assays ist durch einen mittleren Variationskoeffizienten von 4% im betrachteten Konzentrationsbereich gekennzeichnet. Sämtliche Proben der Untersuchungsphase wurden im selben Assay-Run analysiert. Die Inter-Assay-Präzision anhand des mittleren Variationskoeffizienten beträgt für den betrachteten Konzentrationsbereich 5%. Die Inter-Assay-Präzision spielt hier nur für die Betrachtung des Gesamtzeitraumes

(Untersuchungsphase und Nachsorgephase) keine Rolle, da nur die Proben der Nachsorgephase in unterschiedlichen Assay-Runs analysiert wurden.

Es ließ sich eine erhebliche Differenz zwischen den Assay-bedingten Präzisionen und der durch intraindividuelle Faktoren bedingten Variabilität aufzeigen.

Innerhalb der definierten Konzentrationsbereiche konnten folgende Beobachtungen gemacht werden:

Konzentrationsbereich $<0,10$ ng/ml

Die Variabilität der PSA-Blutserumkonzentrationen im Konzentrationsbereich von $<0,10$ ng/ml der Untersuchungsphase konnte durch einen mittleren Variationskoeffizienten von 43% dargestellt werden. Der VK der Nachsorgephase beträgt im gleichen Konzentrationsbereich 101%. Über den gesamten zeitlichen Verlauf der Untersuchung liegt damit eine intraindividuelle Variabilität mit einem mittleren Variationskoeffizienten von 67% vor.

Konzentrationsbereich $>0,10$ bis $<1,00$ ng/ml

Die Variabilität der PSA-Blutserumkonzentrationen im Konzentrationsbereich von $>0,10$ bis $<1,00$ ng/ml der Untersuchungsphase konnte durch einen mittleren Variationskoeffizienten von 11% dargestellt werden. Der VK der Nachsorgephase beträgt im gleichen Konzentrationsbereich 28%. Über den gesamten zeitlichen Verlauf der Untersuchung liegt damit eine intraindividuelle Variabilität mit einem mittleren Variationskoeffizienten von 19% vor.

Konzentrationsbereich $>1,00$ bis $<4,00$ ng/ml

Die Variabilität der PSA-Blutserumkonzentrationen im Konzentrationsbereich von $>1,00$ bis $<4,00$ ng/ml der Untersuchungsphase konnte durch einen mittleren Variationskoeffizienten von 10% dargestellt werden. Der VK der Nachsorgephase beträgt im gleichen Konzentrationsbereich 28%. Über den gesamten zeitlichen Verlauf

der Untersuchung liegt damit eine intraindividuelle Variabilität mit einem mittleren Variationskoeffizienten von 19% vor.

Konzentrationsbereich >4,00 bis <10,00 ng/ml

Die Variabilität der PSA-Blutserumkonzentrationen im Konzentrationsbereich von >4,00 bis <10,00 ng/ml der Untersuchungsphase konnte durch einen mittleren Variationskoeffizienten von 5% dargestellt werden. Der VK der Nachsorgephase beträgt im gleichen Konzentrationsbereich 12%. Über den gesamten zeitlichen Verlauf der Untersuchung liegt damit eine intraindividuelle Variabilität mit einem mittleren Variationskoeffizienten von 9% vor.

Konzentrationsbereich >10,00 bis <100,00 ng/ml

Die Variabilität der PSA-Blutserumkonzentrationen im Konzentrationsbereich von >10,00 bis <100,00 ng/ml der Untersuchungsphase konnte durch einen mittleren Variationskoeffizienten von 4% dargestellt werden. Der VK der Nachsorgephase beträgt im gleichen Konzentrationsbereich 5%. Über den gesamten zeitlichen Verlauf der Untersuchung liegt damit eine intraindividuelle Variabilität mit einem mittleren Variationskoeffizienten von 5% vor.

Aus den Untersuchungen ergeben sich folgende Schlussfolgerungen:

Die Blutserumkonzentrationen des prostataspezifischen Antigens bei Patienten mit lokal fortgeschrittenem Prostatakarzinom unter Androgenablation durch bilaterale Orchiektomie sind durch eine ausgeprägte intraindividuelle Variabilität gekennzeichnet.

Das Ausmaß der intraindividuellen Variabilität ist maßgeblich von der Lage des PSA-Nadirs bestimmt. In den niedrigen Konzentrationsbereichen zeigt sich hier eine deutlich höhere Variabilität als in den höheren Konzentrationsbereichen.

Die mittlere intraindividuelle Variabilität im Gesamtkonzentrationsbereich übersteigt sowohl den Intra-Assay-Fehler als auch den Inter-Assay-Fehler um ein Vielfaches.

In der Therapiekontrolle von Patienten mit lokal fortgeschrittenem Prostatakarzinom unter Androgenablation sollten, unseren Erkenntnissen zufolge, Entscheidungen mit therapeutischer Konsequenz nicht von abweichenden Einzelmessergebnissen der PSA-Blutserumkonzentration abhängig gemacht werden, wenn klinische Anzeichen eines Tumorprogresses fehlen. Die außerordentliche intraindividuelle Variabilität des PSA sollte in der Interpretation der klinischen Gesamtbefunde beachtet, und im Zweifelsfall eine Wiederholungsbestimmung der PSA-Blutserumkonzentration zur Absicherung der therapeutischen Konsequenz erwogen werden.

7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Patientenkollektiv von 50 männlichen Patienten im Alter von 56 bis 81 Lebensjahren (MW 71 Lebensjahre), die sich in der urologischen Universitätsklinik am Marienhospital, Herne aufgrund eines lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinoms einer hormonablativen Therapie unterzogen, auf intraindividuelle Schwankungsbreiten der Serumkonzentrationen des prostataspezifischen Antigens untersucht. Hierzu wurden serielle PSA-Bestimmungen in einem zeitlichen Abstand von mindestens 6 Monaten nach der androgenablativen Therapie durch bilaterale Orchiektomie durchgeführt.

Die Entnahmen der Blutproben zur Ermittlung der PSA-Blutserumkonzentrationen erfolgten durch Punktion einer peripheren Vene im Rahmen eines terminierten Hausbesuches. Die Blutentnahmen erfolgten in einer Punktionsphase von 6 Einzelpunktionen in wöchentlichen Abständen gefolgt von einer Nachsorgephase mit 3 Einzelpunktionen in halbjährlichen Abständen. Die im Rahmen der Venenpunktionen gewonnenen Vollblutproben wurden in den Einrichtungen des wissenschaftlichen Labors der Urologischen Klinik des Marienhospitals Herne für die Analysen vorbereitet und schließlich in den Forschungseinrichtungen der Urologischen Universitätsklinik der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster analysiert.

Sämtliche Bestimmungen der PSA-Blutserumkonzentrationen aus den seriellen Vollblutproben sowie aus den Vollblutproben der Folgeuntersuchungen (Nachsorge) erfolgten unter Verwendung des immunoenzymatischen Assays Tandem[®]-E PSA (Hybritech Inc., San Diego, CA 92121, USA).

Die Intra-Assay-Präzision des verwendeten Tandem[®]-E PSA- Assays wurde durch Tests mit unterschiedlichen PSA-Konzentrationen ermittelt. Dabei ergaben sich für die Mittelwerte der Konzentrationen 3,4 ng/ml, 21,5 ng/ml und 85,5 ng/ml Standardabweichungen (SD) von 0,111; 0,794 und 4,129 sowie Variationskoeffizienten (CV) von 3,3; 3,7 und 4,8 %.

Die Inter-Assay-Präzision des verwendeten Tandem[®]-E PSA- Assays wurde durch 15 wiederholte Tests von drei unterschiedlichen Serumproben mit mittleren PSA-Konzentrationen von 6,5 ng/ml, 25,1 ng/ml und 81,1 ng/ml ermittelt. Dabei ergaben sich für die Mittelwerte der Konzentrationen 6,5 ng/ml, 25,1 ng/ml und 81,1 ng/ml Standardabweichungen von 0,36; 1,49 und 2,91 sowie Variationskoeffizienten (CV) von 5,6; 5,9 und 3,6%.

Es ließ sich eine erhebliche Differenz zwischen den Assay-bedingten Präzisionen und der durch intraindividuelle Faktoren bedingten Variabilität aufzeigen:

Die Variabilität der PSA-Blutserumkonzentrationen im Konzentrationsbereich von <0,10 ng/ml konnte durch mittlere Variationskoeffizienten von 43% und 101% dargestellt werden. Über den gesamten zeitlichen Verlauf der Untersuchung liegt damit eine intraindividuelle Variabilität mit einem mittleren Variationskoeffizienten von 67% vor.

Die Variabilität der PSA-Blutserumkonzentrationen im Konzentrationsbereich von >0,10 bis <1,00 ng/ml konnte durch mittlere Variationskoeffizienten von 11% und 28% dargestellt werden. Über den gesamten zeitlichen Verlauf der Untersuchung liegt damit eine intraindividuelle Variabilität mit einem mittleren Variationskoeffizienten von 19% vor.

Die Variabilität der PSA-Blutserumkonzentrationen im Konzentrationsbereich von >1,00 bis <4,00 ng/ml konnte durch mittlere Variationskoeffizienten von 10% und 28% dargestellt werden. Über den gesamten zeitlichen Verlauf der Untersuchung liegt damit eine intraindividuelle Variabilität mit einem mittleren Variationskoeffizienten von 19% vor.

Die Variabilität der PSA-Blutserumkonzentrationen im Konzentrationsbereich von >4,00 bis <10,00 ng/ml konnte durch mittlere Variationskoeffizienten von 5% und 12% dargestellt werden. Über den gesamten zeitlichen Verlauf der Untersuchung liegt damit eine intraindividuelle Variabilität mit einem mittleren Variationskoeffizienten von 9% vor.

Die Variabilität der PSA-Blutserumkonzentrationen im Konzentrationsbereich von >10,00 bis <100,00 ng/ml konnte durch mittlere Variationskoeffizienten von 4% und 5% dargestellt werden. Über den gesamten zeitlichen Verlauf der Untersuchung liegt damit eine intraindividuelle Variabilität mit einem mittleren Variationskoeffizienten von 5% vor.

Die mittlere intraindividuelle Variabilität übersteigt damit im Gesamtkonzentrationsbereich sowohl den Intra-Assay-Fehler als auch den Inter-Assay-Fehler um ein Vielfaches. Die Resultate der vorliegenden Untersuchung geben somit Anlass die Interpretation einzelner Messergebnisse der PSA-Serumkonzentration in der Therapiekontrolle des lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinoms kritisch zu überdenken.

8 Abkürzungsverzeichnis

A

AAT	Alpha-1-Antitrypsin, α 1-Antitrypsin
ACT	Antichymotrypsin
AMG	Alpha-2-Makroglobulin, α 2-Makroglobulin

B

BPH	benigne Prostatahyperplasie
-----	-----------------------------

C

CV	engl.: coefficient of variance, Variationskoeffizient
----	---

D

D	Dalton
DNA	engl.: deoxyribonucleid acid, Desoxyribonukleinsäure
DRU	digitale rektale Untersuchung

E

EDTA	engl.: ethylen diamine tetraacetic acid
EGF	engl.: epidermal growth factor

F

FGF	engl.: follicle growth factor
f-PSA	engl.: free-PSA, freies PSA

GH

H ₂ O	Hydrogeniumoxid, Wasser
hK1	engl.: human tissue kallikrein, humanes Kallikrein 1
hK2	engl.: human glandular kallikrein, humanes Kallikrein 2
hK3	engl.: prostate specific antigen, humanes Kallikrein 3
HWZ	Halbwertszeit

IJ

IATI	Inter-Alpha-Trypsin-Inhibitor, Inter- α -Trypsin-Inhibitor
IGF	engl.: insuline like growth factor
IgG	Immunglobulin G
iP	isoelektrischer Punkt

K

KB Kilobase

KGF engl.: keratinocyte growth factor

L

LH engl.: luteinizing hormone

LHRH engl.: luteinizing hormone releasing hormone

LNCaP engl.: human prostate cancer cell line, Prostatakarzinomzelllinie

M

m-RNA engl.: messenger-ribonucleid acid

MRT Magnetresonanztomographie, Magnetresonanztomogramm

NOP

PAP engl.: prostate acid phosphatase, Prostata Saure Phosphatase

PCA engl.: prostate carcinoma, Prostatakarzinom

PCI engl.: protein-C-inhibitor, Protein-C-Inhibitor

PDGF platelet derived growth factor

pH lat.: pondus hydrogenii, Wasserstoffionenpotenz ($-\log [H^+]$)

PIN engl.: prostatic intraepithelial neoplasia

P

PSA engl.: prostate specific antigen, prostataspezifisches Antigen

PSA-AAT Alpha-1-Antitrypsin komplexgebundenes PSA

PSA-ACT Antichymotrypsin komplexgebundenes PSA

PSA-AMG Alpha-2-Makroglobulin komplexgebundenes PSA

PSA-IATI Inter-Alpha-Trypsin-Inhibitor komplexgebundenes PSA

PSA-PCI Protein-C-Inhibitor komplexgebundenes PSA

QR

RNA engl.: ribonucleid acid, Ribonukleinsäure

RRP radikale Resektion der Prostata, radikale Prostatektomie

S

SDS-PAGE engl.: sodium-dodecyl-sulfate-polyacrylamide-gelelectrophoresis

Serpin engl.: serine-protease-inhibitor, Serin-Protease-Inhibitor

SHBG engl.: steroid-hormone-binding-globuline

T

TGF- α engl.: transforming growth factor α

TGF- β engl.: transforming growth factor β

t-PSA engl.: total-PSA, Gesamt-PSA

TRUS engl.: transrectal ultrasound, Transrektaler Ultraschall

TURP transurethrale Resektion der Prostata

UVW

VK Variationskoeffizient

WHO engl.: World-Health-Organization, Weltgesundheitsorganisation

9 Literaturverzeichnis

- [1] **Aarnink, R.G.**, de la Rosette, J.J., Huynen, A.L., Giesen, R.J., Debruyne, F.M., Wijkstra, H.: Standardized assessment to enhance the diagnostic value of prostate volume. Part II. Correlation with prostate-specific antigen levels. *Prostate*, 29, 327-333, (1996)
- [2] **Abrahamsson, P.A.**, Lilja, H., Falkmer, S., Wadstrom, L.B.: Immuno-histochemical distribution of the three predominant secretory proteins in the parenchyma of hyperplastic and neoplastic prostate glands. *Prostate*, 12, 39-46, (1988)
- [3] **Agha, A.H.**, Schechter, E., Roy, J.B., Culkin, D.J.: Prostate specific antigen is metabolized in the liver. *J Urol*, 155, 1332-1335, (1996)
- [4] **Akiyama, K.**, Nakamura, T., Iwanaga, S.: The chymotrypsin-like activity of human prostate-specific antigen, γ -seminoprotein. *FEBS Lett*, 225, 168-172, (1987)
- [5] **Alexander, E.**, Qian, J., Wollan, P., Myers, R., Bostwick, G.: Prostatic intraepithelial neoplasia does not appear to raise serum prostate-specific antigen concentration. *Urology*, 47, 693-698, (1996)
- [6] **Allard, W.J.**, Zhou, Z., Yeung, K.K.: Novel immunoassay for the measurement of complexed prostate-specific antigen in serum. *Clin Chem*, 44, 1216-1223, (1998)
- [7] **Altwein, J.E.**: Castration alone or combined treatment? In: Murphy, G., Khoury, S., Chatelain, C., Denis, L.: Proceedings – 3rd International Symposium on Recent Advances in Urological Cancer, Diagnosis and Treatment, Paris – June 17-19, 1992; Scientific Communication International Ltd, 219-220, (1993)
- [8] **Anderson, J.R.**, Strickland, D., Corbin, D., Byrnes, J.A., Zweiback, E.: Age-specific reference ranges for serum prostate-specific antigen. *Urology*, 46, 54-57, (1995)
- [9] **Arai, Y.**, Yoshiki, T., Yoshida, O.: Prognostic significance of prostate specific antigen in endocrine treatment for prostatic cancer. *J Urol*, 144, 1515-1519, (1990)
- [10] **Arcangeli, C.G.**, Smith, D.S., Ratliff, T.L., Catalona, W.J.: Stability of serum total and free prostate-specific antigen under varying storage intervals and temperatures. *J Urol*, 158, 2182-2187, (1997)
- [11] **Aus, G.**, Bergdahl, S., Hugosson, J., Lodding, P., Norlen, L.: Influence of benign prostatic hyperplasia, testosterone and age on serum levels of prostate-specific antigen. *Scand J Urol Nephrol*, 28, 379-384, (1994)
- [12] **Baker, A.R.**, Shine, J.: Human kidney kallikrein: cDNA cloning and sequence analysis. *DNA*, 4, 445-450, (1985)
- [13] **Ban, Y.**, Wang, M.C., Watt, K.W., Loor, R., Chu, T.M.: The proteolytic activity of human prostate-specific antigen. *Biochem Biophys Res Commun*, 123, 482-488, (1984)
- [14] **Bangma, C.H.**, Kransse, R., Blijenberg, B.G., Schroder, F.H.: The value of screening tests in the detection of prostate cancer. Part II: Retrospective analysis of free/total prostate-specific antigen ratio, age-specific reference ranges and PSA density. *Urology*, 46, 779-784, (1995)
- [15] **Barett, A.**, Starkey, P.: The interaction of α 2-macroglobulin with proteinases. Characteristics and specificity of the reaction and hypothesis concerning its molecular mechanism. *Biochem J*, 133, 709-724, (1973)
- [16] **Beatty, K.**, Bieth, J., Travis, J.: Kinetics of association of serine proteinases with native and oxidized alpha1-proteinase inhibitor and alpha 1-antichymotrypsin. *J Biol Chem*, 255, 3931-3934, (1980)
- [17] **Becker, C.**, Lilja, H.: Individual prostate-specific antigen (PSA) forms as prostate tumor markers. *Clin Chem Acta*, 257, 117-132, (1997)
- [18] **Belanger, A.**, Rong, P.M., Liu, S., Lavoie, L., Labrie, F.: Characterization and measurement of prostate-specific antigen using monoclonal antibodies. *Clin Invest Med*, 16, 409-414, (1993)
- [19] **Benson, M.C.**, Olsson, C.A.: Prostate specific antigen and prostate specific antigen density: Roles in patient evaluation and management. *Cancer*, 74, 1667-1673, (1994)
- [20] **Benson, M.C.**, Whang, I.S., Olsson, C.A., McMahon, D.J., Cooner, W.H.: The use of prostate specific antigen density to enhance the predictive value of intermediate levels of serum prostate-specific antigen. *J Urol*, 147, 817-821, (1992)
- [21] **Berninger, R.W.**: Protease inhibitors of human plasma. Alpha 1-antitrypsin. *J Med*, 16, 23-99, (1985)
- [22] **Birkenmeier, G.**, Stigbrand, T.: Production of conformation-specific monoclonal antibodies against alpha-2-macroglobulin and their use for quantitation of total and transformed alpha-2-macroglobulin in human blood. *J Immunol Methods*, 162, 59-67, (1993)

- [23] **Bjork, T.**, Bjartell, A., Abrahamsson, P.A., Hulkko, S., di Sant'Agnes, A., Lilja, H.: Alpha1-antichymotrypsin production in PSA-producing cells is common in prostate cancer but rare in benign prostatic hyperplasia. *Urology*, 43, 427-434, (1994)
- [24] **Bjork, T.**, Ljungberg, B., Piironen, T., Abrahamsson, P.A., Pettersson, K., Cockett, A.T., Lilja, H.: Rapid exponential elimination of free prostate-specific antigen contrasts the slow, capacity-limited elimination of PSA complexed to alpha1-antichymotrypsin from serum. *Urology*, 51, 57-62, (1998)
- [25] **Blase, A.B.**, Sokoloff, R.L., Smith, K.M.: Five PSA methods compared by assaying samples with defined PSA ratios. *Clin Chem*, 43, 843-845, (1997)
- [26] **Borer, J.G.**, Sherman, J., Solomon, M.C., Plawker, M.W., Macchia, R.J.: Age specific prostate specific antigen reference ranges: Population specific. *J Urol*, 159, 444-448, (1998)
- [27] **Bostwick, D.G.**: Prostate-specific antigen. Current role in diagnostic pathology of prostate cancer. *Am J Clin Pathol*, 102, 31-37, (1994)
- [28] **Brawer, M.K.**, Meyer, G.E., Letran, J.L., Bankson, D.D., Morris, D.L., Yeung, K.K., Allard, W.J.: Measurement of complexed PSA improves specificity for early detection of prostate cancer. *Urology*, 52, 372-378, (1998)
- [29] **Brawer, M.K.**, Schiffman, R.B., Ahmann, F.R., Ahmann, M.E., Coulis, K.M.: The effect of digital rectal examination on serum levels of prostate-specific antigen. *Arch Pathol Lab Med*, 112, 1110-1112, (1988)
- [30] **Brawer, M.K.**: Prostate Specific Antigen. A review. *Acta oncol.*, 30, 161-168, (1991)
- [31] **Breul, J.**, Binder, K., Block, T., Hartung, R.: Effect of digital rectal examination on serum concentration of prostate-specific antigen. *Eur Urol*, 21, 195-199, (1992)
- [32] **Bridon, D.P.**, Dowell, B.L.: Structural comparison of prostate-specific antigen and human glandular kallikrein using molecular modeling. *Urology*, 45, 801-806, (1995)
- [33] **Bruun, L.**, Bjork, T., Lilja, H. et al: percent-free prostate specific antigen is elevated in men on hemodialysis or peritonealdialysis treatment. *Nephrol dial transplant* 18, 598-603, (2003)
- [34] **Buhler, K.R.**, Corey, E., Stray, J.E., Vessella, R.L.: Study of free and complexed prostate-specific antigen in mice bearing human prostate cancer xenografts. *Prostate*, 36, 194-200, (1998)
- [35] **Byar, D.P.**: The Veterans Administration Cooperative Urological Research Group's studies of cancer of the prostate. *Cancer*, 32, 1126-1130, (1973)
- [36] **Carrell, R.W.**, Jeppsson, J.O., Laurell, C.B., Brennan, S.O., Owen, M.C., Vaughan, L., Boswell, D.R.: Structure and variation of human alpha 1-antitrypsin. *Nature*, 298, 329-334, (1982)
- [37] **Carter, H.B.**, Morrell, C.H., Pearson, J.D., Brant, L.J., Plato, C.C., Metter, E.J., Chan, D.W., Fozard, J.L., Walsh, P.C.: Estimation of prostatic growth using serial prostate-specific antigen measurements in men with and without prostate disease. *Cancer Res*, 52, 3323-3328, (1992)
- [38] **Carter, H.B.**, Partin, A.W., Luderer, A.A., Metter, E.J., Landis, P., Chan, D.W., Fozard, J.L., Pearson, J.D.: Percentage of free prostate-specific antigen in sera predicts aggressiveness of prostate cancer a decade before diagnosis. *Urology*, 49, 379-384, (1997)
- [39] **Carter, H.B.**, Pearson, J.D., Metter, E.J., Brant, L.J., Chan, D.W., Andres, R., Fozard, J.L., Walsh, P.C. : Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without prostate disease. *Jama*, 267, 2215-2220, (1992)
- [40] **Catalona, W.J.**, Hudson, M.A., Scardino, P.T., Richie, J.P., Ahmann, F.R., Flanigan, R.C., deKernion, J.B., Ratliff, T.L., Kavoussi, L.R., Dalkin, B.L., et al.: Selection of optimal prostate specific antigen cutoffs for early detection of prostate cancer: Receiver operating characteristic curves. *J Urol*, 152, 2037-2042, (1994)
- [41] **Catalona, W.J.**, Partin, A.W., Slawin, K.M., Brawer, M.K., Flanigan, R.C., Patel, A., Richie, J.P., deKernion, J.B., Walsh, P.C., Scardino, P.T., Lange, P.H., Subong, E.N., Parson, R.E., Gasior, G.H., Loveland, K.G., Southwick, P.C.: Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: A prospective multicenter trial. *Jama*, 279, 1542-1547, (1998)
- [42] **Catalona, W.J.**, Richie, J.P., Ahmann, F.R., Hudson, M.A., Scardino, P.T., Flanigan, R.C., deKernion, J.B., Ratliff, T.L., Kavoussi, L.R., Dalkin, B.L., et al.: 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, (1994)
- [43] **Catalona, W.J.**, Smith, D.S., Ornstein, D.K.: Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/ml and benign prostate examination. Enhancement of specificity with free PSA measurements. *Jama*, 277, 1452-1455, (1997)
- [44] **Catalona, W.J.**, Smith, D.S., Ratliff, T.L., Basler, J.W.: Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. *Jama*, 270, 948-954, (1993)
- [45] **Catalona, W.J.**, Smith, D.S., Ratliff, T.L., Dodds, K.M., Coplen, D.E., Yuan, J.J., Petros, J.A., Andriole, G.L.: Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med*, 324, 1156-1161, (1991)

- [46] **Catalona, W.J.**, Smith, D.S., Wolfert, R.L., Wang, T.J., Rittenhouse, H.G., Ratliff, T.L., Nadler, R.B.: Evaluation of percentage of free serum prostate-specific antigen to improve specificity of prostate cancer screening. *Jama*, 274, 1214-1220, (1995)
- [47] **Cevik, I.**, Turkeri, L.N., Ozveri, H., Ilker, Y., Akdas, A. : Short-term effect of digital rectal examination on serum prostate-specific antigen levels. A prospective study. *Eur Urol*, 29, 403-406, (1996)
- [48] **Chapdelaine, P.**, Paradis, G., Tremblay, R.R., Dube, J.Y. : High level expression of a human glandular kallikrein mRNA related to prostate-specific antigen. *FEBS Lett*, 236, 205-208, (1988)
- [49] **Chen, Z.**, Chen, H., Stamey, T.A.: Monoclonal antibodies 2F5 and 4G10 against prostate specific antigen (PSA) complexed to alpha1-antichymotrypsin. *J Urol*, 160, 870-875, (1998)
- [50] **Chen, Z.**, Chen, H., Stamey, T.A.: Prostate specific antigen in benign prostatic hyperplasia: Purification and characterization. *J Urol*, 157, 2166-2170, (1997)
- [51] **Chen, Z.**, Komatsu, K., Prestigiacomo, A., Stamey, T.A.: Addition of purified prostate specific antigen to serum from female subjects: Studies on the relative inhibition by alpha2-macroglobulin and alpha1-antichymotrypsin. *J Urol*, 156, 1357-1363, (1996)
- [52] **Chen, Z.**, Prestigiacomo, A.F., Stamey, T.A.: Purification and characterization of prostate-specific antigen (PSA) complexed to alpha1-antichymotrypsin: Potential reference material for international standardization of PSA immunoassays. *Clin Chem*, 41, 1273-1282, (1995)
- [53] **Christensson, A.**, Bjork, T., Nilsson, O., Dahlen, Ul, Matikainen, M.T., Cockett, A.T., Abrahamsson, P.A., Lilja, H.: Serum prostate specific antigen complexed to alpha1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. *J Urol*, 100-105, (1993)
- [54] **Christensson, A.**, Laurell, C.B., Lilja, H.: Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine proteinase inhibitors. *Eur J Biochem*, 194, 755-763, (1990)
- [55] **Christensson, A.**, Lilja, H. : Complex formation between protein C inhibitor and prostate-specific antigen in vitro and in human semen. *Eur J Biochem*, 220, 45-53, (1994)
- [56] **Chybowski, F.M.**, Bergstralh, E.J., Oesterling, J.E.: The effect of digital rectal examination on the serum prostate specific antigen concentration: Results of a randomized study. *J Urol*, 148, 83-86, (1992)
- [57] **Clements, J.**, Mukhtar, A.: Glandular kallikreins and prostate-specific antigen are expressed in the human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab*, 78, 1536-1539, (1994)
- [58] **Clements, J.A.**: The human kallikrein gene family: A diversity of expression and function. *Mol Cell Endocrinol*, 99, 1-6, (1994)
- [59] **Cohen, P.**, Graves, H.C., Peehl, D.M., Kamarei, M., Giudice, L.C., Rosenfeld, R.G.: Prostate-specific antigen (PSA) is an insulin-like growth factor binding protein-3-protease found in seminal plasma. *J Clin Endocrinol Metab*, 75, 1046-1053, (1992)
- [60] **Collins, G.N.**, Martin, P.J., Wynn-Davies, A., Brooman, P.J., O'Reilly, P.H.: The effect of digital rectal examination, flexible cystoscopy and prostatic biopsy on free and total prostate-specific antigen and the free-to-total prostate-specific antigen ratio in clinical practice. *J Urol*, 157, 1744-1747, (1997)
- [61] **Cooner, W.H.**: Prostate-specific antigen coordinated with digital rectal examination and transrectal ultrasonography in the detection of prostate cancer. *World J Urol*, 11, 214-217, (1993)
- [62] **Corey, E.**, Wegner, S.K., Corey, M.J., Vessella, R.L.: Prostate-specific antigen: Characterization of epitopes by synthetic peptide mapping and inhibition studies. *Clin Chem*, 43, 575-584, (1997)
- [63] **Crawford, E.D.**, Schutz, M.J., Clejan, S., Drago, J., Resnick, M.I., Chodack, G.W., Gomella, L.G., Austenfeld, M., Stone, N.N., Miles, B.J., et al.: The effect of digital rectal examination on prostate specific antigen levels. *Jama*, 267, 2227-2228, (1992)
- [64] **Dalkin, B.L.**, Ahmann, F.R., Kopp, J.B.: Prostate specific antigen levels in men older than 50 years without clinical evidence of prostatic carcinoma. *J Urol*, 150, 1837-1839, (1993)
- [65] **Dalton, D.L.**: Elevated serum prostate-specific antigen due to acute bacterial prostatitis. *Urology*, 33, 465, (1989)
- [66] **Darson, M.F.**, Pacelli, A., Roche, P., Rittenhouse, H.G., Wolfert, R.L., Young, C.Y., Klee, G.G., Tindall, D.J., Bostwick, D.G.: Human glandular kallikrein 2 (hK2) expression in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma: A novel prostate cancer marker. *Urology*, 49, 857-862, (1997)
- [67] **de Koning, H.J.** Liem, M.K., Bahn, C.A., Bohr, R., Schröder, F.H. et al. *Int J Cancer* 98: 268, 2002
- [68] **Dejter, S.J.**, Martin, J.S., McPherson, R.A., Lynch, J.H.: Daily variability in human serum prostate-specific antigen and prostatic acid phosphatase: A comparative evaluation. *Urology*, 32, 288-292, (1988)
- [69] **Deliveliotis, Ch.**, Alivizatos, G., Stavropoulos, N.J., Makrychoritis, K., Koutsokalis, G., Kiriakakis, Z., Kostakopoulos, A., Dimopoulos, C.: Influence of digital examination, cystoscopy, transrectal ultrasonography and needle biopsy on the concentration of prostate specific antigen. *Urol Int*, 53, 186-190, (1994)

- [70] **Deperthes, D.**, Chapdelaine, P., Tremblay, R.R., Brunet, C., Berton, J., Hebert, J., Lazure, C., Dube, J.Y.: Isolation of prostatic kallikrein hK2, also known as hGK-1, in human seminal plasma. *Biochem Biophys Acta*, 1245, 311-315, (1995)
- [71] **Diamandis, E.P.**, Yu, H., Sutherland, D.J.: Detection of prostate-specific antigen immunoreactivity in breast tumors. *Breast Cancer Res Treat*, 32, 301-310, (1994)
- [72] **Ecke, S.**, Geiger, M., Resch, I., Jerabek, I., Sting, L., Maier, M., Binder, B.R.: Inhibition of tissue kallikrein by protein C inhibitor. Evidence for identity of protein C inhibitor with the kallikrein binding protein. *J Biol Chem*, 267, 7048-7052, (1992)
- [73] **Eerola, R.**, Piironen, T., Petterson, K., Lovgren, J., Vehniainen, M., Lilja, H., Dowell, B., Lovgren, T., Karp, M.: Immunoreactivity of recombinant human glandular kallikrein using monoclonal antibodies raised against prostate-specific antigen. *Prostate*, 31, 84-90, (1997)
- [74] **Elgamal, A.A.**, Ectors, N.L., Sunardi-Widayaputra, S., van Poppel, H.P., van Damme, B.J., Baert, L.V.: Detection of prostate specific antigen in pancreas and salivary glands: A potential impact on prostate cancer overestimation. *J Urol*, 156, 464-468, (1996)
- [75] **Espana, F.**, Gilabert, J., Estelles, A., Romeu, A., Aznar, J., Cabo, A. : Functionally active protein C inhibitor / plasminogen activator inhibitor-3 (PCI/PAI-3) is secreted in seminal vesicles, occurs at high concentrations in human seminal plasma and complexes with prostate-specific antigen. *Thromb Res*, 64, 309-320, (1991)
- [76] **Espana, F.**, Royo, M., Martinez, M., Enguidanos, M.J., Vera, C.D., Estelles, A., Aznar, J., Jimenez-Cruz, J.F., Heeb, M.J.: Free and complexed prostate specific antigen in the differentiation of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer: Studies in serum and plasma samples. *J Urol*, 160, 2081-2088, (1998)
- [77] **Feldmann, U.**, Schneider, B., Klinkers, H., Haeckel, R.: A multivariate approach for the biometric comparison of analytical methods in clinical chemistry. *J Clin Chem Clin Biochem*, 19, 121-137, (1981)
- [78] **Fielder, P.J.**, Rosenfeld, R.G., Graves, H.C., Grandbois, K., Maack, C.A., Sawamura, S., Ogawa, Y., Sommer, A., Cohen, P.: Biochemical analysis of prostate-specific antigen-proteolyzed insulin-like growth factor binding protein-3. *Growth Regul*, 4, 164-172, (1994)
- [79] **Finlay, J.A.**, Evans, C.L., Day, J.R., Payne, J.K., Mikolajczyk, S.D., Millar, L.S., Kuus-Reichel, K., Wolfert, R.L., Rittenhouse, H.G.: Development of monoclonal antibodies specific for human glandular kallikrein (hK2): Development of a dual antibody immunoassay for hK2 with negligible prostate-specific antigen cross-reactivity. *Urology*, 51, 804-809, (1998)
- [80] **Frazier, H.A.**, Humphrey, P.A., Burchette, J.L., Paulson, D.F.: Immunoreactive prostatic specific antigen in male periurethral glands. *J Urol*, 147, 246-248, (1992)
- [81] **Frenette, G.**, Deperthes, D., Tremblay, R.R., Lazure, C., Dube, J.Y.: Purification of enzymatically active kallikrein hK2 from human seminal plasma. *Biochem Biophys Acta*, 1334, 109-115, (1997)
- [82] **Frenette, G.**, Gervais, Y., Tremblay, R.R., Dube, J.Y.: Contamination of purified prostate-specific antigen preparations by kallikrein hK2. *J Urol*, 159, 1375-1378, (1998)
- [83] **Fukushima, D.**, Kitamura, N., Nakanishi, S.: Nucleotide sequence of cloned cDNA for human pancreatic kallikrein. *Biochemistry*, 24, 8037-8043, (1985)
- [84] **Gann, P.H.**, Hennekens, C.H., Stampfer, M.J.: A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer. *Jama*, 273, 289-294, (1995)
- [85] **Gleave, M.E.**, Hsieh, J.T., Wu, H.C., von Eschenbach, A.C., Chung, L.W.: Serum prostate specific antigen levels in mice bearing human prostate LNCaP tumors are determined by tumor volume and endocrine and growth factors. *Cancer Res*, 52, 1598-1605, (1992)
- [86] **Goldfarb, D.A.**, Stein, B.S., Shamszadeh, M., Petersen, R.O.: Age-related changes in tissue levels of prostatic acid phosphatase and prostate specific antigen. *J Urol*, 136, 1266-1269, (1986)
- [87] **Graves, H.C.**, Standardization of immunoassays for prostate-specific antigen complexation or a problem of assay design? *Cancer*, 72, 3141-3144, (1993)
- [88] **Graves, H.C.**, Wehner, N., Stamey, T.A. : Comparison of a polyclonal and monoclonal immunoassay for PSA : Need for an international antigen standard. *J Urol*, 144, 1516-1522, (1990)
- [89] **Graves, H.C.**: Issues on standardization of immunoassays for prostate-specific antigen: A review. *Clin Invest Med*, 16, 415-424, (1993)
- [90] **Hammerer, P.G.**, McNeal, J.E., Stamey, T.A.: Correlation between serum prostate-specific antigen levels and the volume of the individual glandular zones of the human prostate. *J Urol*, 153, 111-114, (1995)
- [91] **Hara, M.**, Koyanagi, Y., Inoue, T., Fukuyama, T.: Physico-chemical characterization of γ -seminoprotein, an antigenic component specific for human seminal plasma. *Jap J Legal Med*, 25, 322-324, (1971)

- [92] **Heidenreich, A.**, Vorreuther, R., Neubauer, S., Westphal, J., Engelmann, U.H., Moul, J.W.: The influence of ejaculation on serum levels of prostate specific antigen. *J Urol*, 157, 209-211, (1997)
- [93] **Henttu, P.**, Liao, S.S., Vihko, P.: Androgens up-regulate the human prostate-specific antigen messenger ribonucleic acid (mRNA), but down-regulate the prostatic acid phosphatase mRNA in the LNCaP cell line. *Endocrinology*, 130, 766-772, (1992)
- [94] **Henttu, P.**, Vihko, P.: Growth factor regulation of gene expression in the human prostatic carcinoma cell line LNCaP. *Cancer Res*, 53, 1051-1058, (1993)
- [95] **Henttu, P.**, Vihko, P.: cDNA coding for the entire prostate specific antigen shows high homologies to the human tissue kallikrein genes. *Biochem Biophys Res Commun*, 160, 903-910, (1989)
- [96] **Herrala, A.**, Kurkela, R., Provari, K., Isomaki, R., Henttu, P., Vihko, P.: Human prostate-specific glandular kallikrein is expressed as an active and inactive protein. *Clin Chem*, 43, 279-284, (1997)
- [97] **Herrala, A.**, Kurkela, R., Vihinen, M., Kalkkinen, N., Vihko, P.: Androgen-sensitive human prostate cancer cells, LNCaP, produce both N-terminally mature and truncated prostate-specific antigen isoforms. *Eur J Biochem*, 255, 329-335, (1998)
- [98] **Herschman, J.D.**, Smith, D.S., Catalona, W.J.: Effect of ejaculation on serum total and free prostate-specific antigen concentrations. *Urology*, 50, 245-250, (1997)
- [99] **Horoszewicz, J.S.**, Leong, S.S., Chu, T.M., Wajsman, Z.L., Freidman, M., Papsidero, L., Kim, U., Chai, L.S., Kakati, S., Arya, S.K., Sandberg, A.A.: The LNCaP cell line: A new model for studies on human prostatic carcinoma. *Prog Clin Biol Res*, 37, 115-132, (1980)
- [100] **Horoszewicz, J.S.**, Leong, S.S., Kawinski, E., Karr, J.P., Rosenthal, H., Chu, T.M., Mirand, E.A., Murphy, G.P.: LNCaP model of human prostatic carcinoma. *Cancer Res*, 43, 1809-1818, (1983)
- [101] **Huber, P.R.**, Schmid, H.P., Mattarelli, G., Strittmatter, B., van Steenbrugge, G.J., Maurer, A.: Serum free prostate specific antigen: Isoenzymes in benign hyperplasia and cancer of the prostate. *Prostate*, 27, 212-219, (1995)
- [102] **Hudson, M.A.**, Bahnson, R.R., Catalona, W.J.: Clinical use of prostate-specific antigen in patients with prostate cancer. *J Urol*, 142, 1011-1017, (1989)
- [103] **Iwakiri, J.**, Granbois, K., Wehner, N., graves, H.C., Stamey, T.A.: An analysis of urinary prostate-specific antigen before and after radical prostatectomy: Evidence for secretion of prostate-specific antigen by the periurethral glands. *J Urol*, 149, 783-786, (1993)
- [104] **Jacobsen, S.J.**, Klee, G.G., Lilja, H., Wright, G.J., Oesterling, J.E.: Stability of serum prostate-specific antigen determination across laboratory, assay and storage time. *Urology*, 45, 447-453, (1995)
- [105] **James, G.K.**, Pudek, M., Berean, K.W., Diamandis, E.P., Archibald, B.L.: Salivary duct carcinoma secreting prostate-specific antigen. *Am J Clin Pathol*, 106, 242-247, (1996)
- [106] **Jette, D.C.**, Kreutz, F.T., Malcolm, B.A., Wishart, D.S., Noujaim, A.A., Suresh, M.R.: Epitope mapping of prostate-specific antigen with monoclonal antibodies. *Clin Chem*, 42, 1961-1969, (1996)
- [107] **Kamoshida, S.**, Tsutsumi, Y.: Extraprostatic localization of prostatic acid phosphatase and prostate-specific antigen: Distribution in cloacogenic glandular epithelium and sex-dependent expression in human anal gland. *Hum Pathol*, 21, 1108-1111, (1990)
- [108] **Kilic, S.**, Kukul, E., Danisman, A., Guntekin, E., Sevuk, M.: Ratio of free to total prostate-specific antigen in patients with prostatic intraepithelial neoplasia. *Eur Urol*, 34, 176-180, (1998)
- [109] **Kilic, S.**, Yalcinkaya, S., Guntekin, E., Kukul, E., Deger, N., Sevuk, M.: Determination of the site of metabolism of total, free and complexed prostate-specific antigen. *Urology*, 52, 470-473, (1998)
- [110] **Klein, L.T.**, Lowe, F.C.: The effects of prostatic manipulation on prostate-specific antigen levels. *Urol Clin North Am*, 24, 293-297, (1997)
- [111] **Koch, K.**: PSA-Test und Prostatakarzinom: Ein Beispiel für das Dilemma der Früherkennung. *Deutsches Ärzteblatt*, 100(39), (2003)
- [112] **Komatsu, K.**, Wehner, N., Prestigiacomo, A.F., Chen, Z., Stamey, T.A.: Physiologic (intraindividual) variation of serum prostate-specific antigen in 814 men from a screening population. *Urology*, 47, 343-346, (1996)
- [113] **Kumar, A.**, Mikolajczyk, S.D., Goel, A.S., Millar, L.S., Saedi, M.S.: Expression of pro form of prostate-specific antigen by mammalian cells and its conversion to mature, active form by human kallikrein 2. *Prostate*, 32, 214-220, (1997)
- [114] **Kuriyama, M.**, Wang, M.C., Papsidero, L.D., Killian, C.S., Shimano, T., Valenzuela, L., Nishiura, T., Murphy, G.P., Chu, T.M.: Quantitation of prostate-specific antigen in serum by a sensitive enzyme immunoassay. *Cancer Res*, 40, 4658-4662, (1980)
- [115] **Labrie, F.**, Dupont, A., Suburu, R., Cusan, L., Tremblay, M., Gomez, J.L., Edmond, J.: Serum prostate specific antigen as pre-screening test for prostate cancer. *J Urol*, 147, 846-851, (1992)

- [116] **Lepor, H.**, Wnag, B., Shapiro, E.: Relationship between prostatic epithelial volume and serum prostate-specific antigen levels. *Urology*, 44, 199-204, (1994)
- [117] **Leventhal, E.K.**, Rozanski, T.A., Morey, A.F., Rholl, V.: The effects of exercise and activity on serum prostate-specific antigen levels. *J Urol*, 150, 893-894, (1993)
- [118] **Li, T.S.**, Beling, C.G.: Isolation and characterization of two specific antigens of human seminal plasma. *Fertil Steril*, 24, 134-144, (1973)
- [119] **Lilja, H.**, Abrahamsson, P.A., Lundwall, A.: 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, (1989)
- [120] **Lilja, H.**, Christensson, A., Dahlen, U., Matikainen, M.T., Nilsson, O., Pettersson, K., Lovgren, T.: Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha1-antichymotrypsin. *Clin Chem*, 37, 1618-1625, (1991)
- [121] **Lilja, H.**, Jeppsson, J.O.: Amino acid sequence of the predominant basic protein in human seminal plasma. *FEBS Lett*, 182, 181-184, (1985)
- [122] **Lilja, H.**, Oldbrink, J., Rannevik, G., Laurell, C.B.: Seminal vesicle secreted proteins and their reactions during gelation and liquefaction of human semen. *J Clin Invest*, 80, 281-285, (1987)
- [123] **Lilja, H.**: A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest*, 76, 1899-1903, (1985)
- [124] **Lilja, H.**: Structure, function and regulation of the enzyme activity of prostate-specific antigen. *World J Urol*, 11, 188-191, (1993)
- [125] **Lovgren, J.**, Piironen, T., Overmo, C., Dowell, B., Karp, M., Pettersson, K., Lilja, H., Lundwall, A.: Production of recombinant PSA and hK2 and analysis of their immunologic cross-reactivity. *Biochem Biophys Res Commun*, 213, 888-895, (1995)
- [126] **Lovgren, J.**, Rajakoski, K., Karp, M., Lundwall, A., Lilja, H.: Activation of the zymogen form of prostate-specific antigen by human glandular kallikrein 2. *Biochem Biophys Res Commun*, 238, 549-555, (1997)
- [127] **Luboldt, H.J.**, Peck, K.D., Oberpenning, F. et al.: bicycle riding has no important impact on total and free prostate specific antigen serum levels in older men. *Urol*, 61, 1177-80, (2003)
- [128] **Luderer, A.A.**, Chen, Y.T., Soriano, T.F., Kramp, W.J., Carlson, G., Cuny, C., Sharp, T., Smith, W., Petteway, J., Brawer, M.K., Thiel, R.: Measurement of the proportion of free to total prostate-specific antigen improves diagnostic performance of prostate-specific antigen in the diagnostic grey-zone of total prostate-specific antigen. *Urology*, 46, 187-194, (1995)
- [129] **Lundwall, A.**, Lilja, H.: Molecular cloning of human prostate specific antigen cDNA. *FEBS Lett*, 214, 317-321, (1987)
- [130] **Macaluso-Pavone, M.**: Does family history influence the risk of prostate cancer? In: Murphy, G., Khoury, S., Chatelain, C., Denis, L.: Proceedings – 3rd International Symposium on Recent Advances in Urological Cancer, Diagnosis and Treatment, Paris – June 17-19, 1992; Scientific Communication International Ltd, 29-31, (1993)
- [131] **Malm, J.**, Hellman, J., Magnusson, H., Laurell, C.B., Lilja, H.: Isolation and characterization of the major gel proteins in human semen, semenogelin I and semenogelin II. *Eur Biochem*, 238, 48-53, (1996)
- [132] **McAleer, J.K.**, Gerson, L.W., McMahon, D., Geller, L.: Effect of digital rectal examination (and ejaculation) on serum prostate-specific antigen after twenty-four hours. A randomized, prospective study. *Urology*, 41, 111-112, (1993)
- [133] **McCormack, R.T.**, Rittenhouse, H.G., Finlay, J.A., Sokoloff, R.L., Wang, T.J., Wolfert, R.L., Lilja, H., Oesterling, J.E.: Molecular forms of prostate-specific antigen and the human kallikrein gene family: A new era. *Urology*, 45, 729-744, (1995)
- [134] **McNeal, J.E.**: The zonal anatomy of the prostate. *Prostate*, 2, 35-49, (1981)
- [135] **Meyer, A.**, Jung, K., Lein, M., Rudolph, B., Schnorr, D., Loening, S.A.: Factors influencing the ratio of free to total prostate-specific antigen in serum. *Int J Cancer*, 74, 630-636, (1997)
- [136] **Mikolajczyk, S.D.**, Grauer, L.S., Millar, L.S., Hill, T.M., Kumar, A., Rittenhouse, H.G., Wolfert, R.L., Saedi, M.S.: A precursor form of PSA (pPSA) is a component of the free PSA in prostate cancer serum. *Urology*, 50, 710-714, (1997)
- [137] **Mikolajczyk, S.D.**, Millar, L.S., Kumar, A., Saedi, M.S.: Human glandular kallikrein, hK2, shows arginine-restricted specificity and forms complexes with plasma protease inhibitors. *Prostate*, 34, 44-50, (1998)
- [138] **Morton, M.S.**, Griffiths, K., Blacklock, N.: The preventive role of diet in prostatic disease. *Br J Urol.*, 77, 481-493, (1996)
- [139] **Mostofi, F.K.**: Grading of prostate carcinoma. *Cancer Chem Rep*, 59, 111-117, (1975)

- [140] **Muir, C.S.**, Nectoux, J., Staszewski, J.: The epidemiology of prostatic cancer. *Acta oncol.*, 30(2), 133-139, (1991)
- [141] **Murtha, P.**, Tindall, D.J., Young, C.Y.: Androgen induction of a human prostate-specific kallikrein, hKLK2: Characterization of an androgen response element in the 5' promoter region of the gene. *Biochemistry*, 32, 6459-6464, (1993)
- [142] **Nadler, R.B.**, Humphrey, P.A., Smith, D.S., Catalona, W.J., Ratliff, T.L.: Effect of inflammation and benign prostatic hyperplasia on elevated serum prostate-specific antigen levels. *J Urol*, 154, 407-413, (1995)
- [143] **Netto, N.R.**, Apuzzo, F., de Andrade, E., Srulzon, G.B., Cortado, P.L., Lima, M.L.: The effects of ejaculation on serum prostate specific antigen. *J Urol*, 155, 1329-1331, (1996)
- [144] **Newling, D.W.W.**: The place of PSA and PAP in the staging of carcinoma of the prostate. In: Murphy, G., Khoury, S., Chatelain, C., Denis, L.: *Proceedings – 3rd International Symposium on Recent Advances in Urological Cancer, Diagnosis and Treatment, Paris – June 17-19, 1992*; Scientific Communication International Ltd, 80-84, (1993)
- [145] **Nilsson, O.**, Peter, A., Andersson, I., Nilsson, K., Grundstrom, B., Karlsson, B.: Antigenic determinants of prostate-specific antigen (PSA) and development of assays specific for different forms of PSA. *Eur Urol*, 31, 178-181, (1997)
- [146] **Noldus, J.**, Chen, Z., Stamey, T.A.: Isolation and characterization of free form prostate-specific antigen (f-PSA) in sera of men with prostate cancer. *J Urol*, 158, 1606-1609, (1997)
- [147] **Noldus, J.**, Grafen, M., Huland, E., Busch, C., Hammerer, P., Huland, H.: The value of the ratio of free-to-total prostate specific antigen for staging purposes in previously untreated prostate cancer. *J Urol*, 159, 2004-2007, (1998)
- [148] **Norlen, B.J.**: Survival and mortality in prostatic cancer. *Acta oncol.*, 30, 141-144, (1991)
- [149] **Norming, U.**, Gustafsson, O., Nyman, C.R., Almgard, L.E., Frederiksson, A., Gustafsson, G., Harvig, B.: Digital rectal examination versus transrectal ultrasound in detection of prostate cancer: Preliminary results from a study of a randomly selected population. *Acta oncol.*, 30, 277-279, (1991)
- [150] **Oberpenning, F.**, Weining, C. Brandt, B, De Angelis, G., Heinecke, A. et al.: a new modification of the Chiron ACS Assay for total prostate-specific antigen achieves equimolar response characteristics and improves the detection of prostate cancer. *Clin Chem Lab Med*, 41, 90-94, (2003)
- [151] **Oesterling, J.E.**, Chan, D.W., Epstein, J.I., Kimball, A.J., Bruzek, D.J., Rock, R.C., Brendler, C.B., Walsh, P.C.: Prostate-specific antigen in the preoperative and postoperative evaluation of localized prostatic cancer treated with radical prostatectomy. *J Urol*, 139, 766-772, (1988)
- [152] **Oesterling, J.E.**, Jacobsen, S.J., Chute, C.G., Guess, H.A., Girman, C.J., Panser, L.A., Lieber, M.M.: Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men. Establishment of age-specific reference ranges. *Jama*, 270, 860-864, (1993)
- [153] **Oesterling, J.E.**, Jacobsen, S.J., Cooner, W.H.: The use of age-specific reference ranges for serum prostate-specific antigen in men 60 years old or older. *J Urol*, 153, 1160-1163, (1995)
- [154] **Oesterling, J.E.**, Jacobsen, S.J., Klee, G.G., Pettersson, K., Piironen, T., Abrahamsson, P.A., Stenman, U.H., Dowell, B., Lovgren, T., Lilja, H.: Free, complexed and total serum prostate specific antigen: The establishment of appropriate reference ranges for their concentrations and ratios. *J Urol*, 154, 1090-1095, (1995)
- [155] **Oesterling, J.E.**, Martin, S.K., Bergstralh, E.J., Lowe, F.C.: The use of prostate-specific antigen in staging patients with newly diagnosed prostate cancer. *Jama*, 269, 57-60, (1993)
- [156] **Oesterling, J.E.**, Tekchandani, A.H., Martin, S.K., Bergstralh, E.J., Reichstein, E., Diamandis, E.P., Yemoto, C., Stamey, T.A.: The periurethral glands do not significantly influence the serum prostate-specific antigen concentration. *J Urol*, 155, 1658-1660, (1996)
- [157] **Oesterling, J.E.**: Prostate specific antigen: A critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *J Urol*, 145, 907-923, (1991)
- [158] **Ohlsson, K.**, Bjartell, A., Lilja, H.: Secretory leucocyte protease inhibitor in the male genital tract: PSA-induced proteolytic processing in human semen and tissue localization. *J Androl*, 16, 64-74, (1995)
- [159] **Ornstein, D.K.**, Rao, G.S., Smith, D.S., Ratliff, T.L., Basler, J.W., Catalona, W.J.: Effect of digital rectal examination and needle biopsy on serum total and percentage of free prostate-specific antigen levels. *J Urol*, 157, 195-198, (1997)
- [160] **Ornstein, D.K.**, Smith, D.S., Humphrey, P.A., Catalona, W.J.: The effect of prostate volume, age, total prostate specific antigen level and acute inflammation on the percentage of free serum prostate-specific antigen levels in men without clinically detectable prostate cancer. *J Urol*, 159, 1234-1237, (1998)
- [161] **Ornstein, D.K.**, Smith, D.S., Rao, G.S., Basler, J.W., Ratliff, T.L., Catalona, W.J.: Biological variation of total, free and percent free serum prostate-specific antigen levels in screening volunteers. *J Urol*, 157, 2179-2182, (1997)

- [162] **Otto, A.**, Bar, J., Birkenmeier, G.: Prostate-specific antigen forms complexes with human alpha-2-macroglobulin and binds to the alpha-2-macroglobulin receptor / LDL-receptor related protein. *J Urol*, 159, 297-303, (1998)
- [163] **Pang, S.**, Dannull, J., Kaboo, R., Xie, Y., Tso, C.L., Michel, K., deKernion, J.B., Belldegrun, A.S.: Identification of a positive regulatory element responsible for tissue-specific expression of prostate-specific antigen. *Cancer Res*, 57, 495-499, (1997)
- [164] **Pannek, J.**, Rittenhouse, H.G., Chan, D.W., Epstein, J.I., Walsh, P.C., Partin, A.W.: The use of percent free prostate-specific antigen for staging clinically localized prostate cancer. *J Urol*, 159, 1238-1242, (1998)
- [165] **Pannek, J.**, Rittenhouse, H.G., Evans, C.L., Finlay, J.A., Bruzek, D.J., Cox, J.L., Subong, E.N., Partin, A.W.: Molecular forms of prostate-specific antigen and human kallikrein 2 (hK2) in urine are not clinically useful for early detection and staging of prostate cancer. *Urology*, 50, 715-721, (1997)
- [166] **Pannek, J.**, Subong, E.N., Jones, K.A., Marscke, P.L., Epstein, J.I., Chan, D.W., Carter, H.B., Luderer, A.A., Partin, A.W.: The role of free/total prostate-specific antigen ratio in the prediction of final pathologic stage for men with clinically localized prostate cancer. *Urology*, 48, 51-54, (1996)
- [167] **Papsidero, L.D.**, Wang, M.C., Valenzuela, L.A., Murphy, G.P., Chu, T.M.: A prostate antigen in sera of prostatic cancer patients. *Cancer Res*, 40, 2428-2432, (1980)
- [168] **Parker, S.L.**, Tong, T., Bolden, S., et al.: Cancer statistics. *Cancer J Clin*, 47, 5-27, (1997)
- [169] **Partin, A.**, Brawer, M.K., Subong, E., Kelley, C., Cox, J., Bruzek, D., Pannek, J., Meyer, G., Chan, D.: Prospective evaluation of percent free-PSA and complexed-PSA for early detection of prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 1, 197-203, (1998)
- [170] **Partin, A.W.**, Carter, H.B., Chan, D.W., Epstein, J.I., Oesterling, J.E., Rock, R.C., Weber, J.P., Walsh, P.C.: Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: Influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. *J Urol*, 143 747-752, (1990)
- [171] **Partin, A.W.**, Catalona, W.J., Southwick, P.C., Subong, E.N., Gasiot, G.H., Chan, D.W.: Analysis of percent free prostate-specific antigen (PSA) for prostate cancer detection: Influence of total PSA, prostate volume and age. *Urology*, 48, 55-61, (1996)
- [172] **Paus, E.**, Nilsson, O., Bormer, O.P., Fossa, S.D., Otnes, B., Skovlund, E.: Stability of free and total prostate-specific antigen in serum from patients with prostate carcinoma and benign hyperplasia. *J Urol*, 159, 1599-1605, (1998)
- [173] **Pearson, J.D.**, Carter, H.B.: Natural history of changes in prostate specific antigen in early stage prostate cancer. *J Urol*, 152, 1743-1748, (1994)
- [174] **Pearson, J.D.**, Luderer, A.A., Metter, E.J., Partin, A.W., Chan, D.W., Fozard, J.L., Carter, H.B.: Longitudinal analysis of serial measurements of free and total PSA among men with and without prostatic cancer. *Urology*, 48, 4-9, (1996)
- [175] **Perlmutter, D.H.**, Dinarello, C.A., Punsal, P.I., Colten, H.R.: Cachectin / tumor necrosis factor regulates hepatic acute-phase gene expression. *J Clin Invest*, 78, 1349-1354, (1986)
- [176] **Pettersson, K.**, Piironen, T., Seppala, M., Liukkonen, L., Christensson, A., Matikainen, M.T., Suonpaa, M., Lovgren, T., Lilja, H.: Free and complexed prostate-specific antigen (PSA): In vitro stability, epitope map and development of immunofluorometric assays for a specific and sensitive detection of free PSA and PSA-alpha1-antichymotrypsin complex. *Clin Chem*, 41, 1480-1488, (1995)
- [177] **Piironen, T.**, Lovgren, J., Karp, M., Eerola, R., Lundwall, A., Dowell, B., Lovgren, T., Lilja, H., Pettersson, K.: Immunofluorometric assay for sensitive and specific measurement of human prostatic glandular kallikrein (hK2) in serum. *Clin Chem*, 42, 1034-1041, (1996)
- [178] **Piironen, T.**, Pettersson K., Suonpaa, M., Stenman, U.H., Oesterling, J.E., Lovgren, T., Lilja, H.: In vitro stability of free prostate-specific antigen (f-PSA) and prostate-specific antigen (PSA) complexed to alpha1-antichymotrypsin in blood samples. *Prostate*, 29, 371-380, (1996)
- [179] **Piironen, T.**, Villoutreix, B.O., Becker, C., Hollingsworth, K., Vihinen, M., Bridon, D., Qiu, X., Rapp, J., Dowell, B., Lovgren, T., Pettersson, K., Lilja, H.: Determination and analysis of antigenic epitopes of prostate-specific antigen (PSA) and human glandular kallikrein 2 (hK2) using synthetic peptides and computer modeling. *Protein Sci*, 7, 259-269, (1998)
- [180] **Pollen, J.J.**, Dreilinger, A.: Immunohistochemical identification of prostatic acid phosphatase and prostate specific antigen in female periurethral glands. *Urology*, 23, 303-304, (1984)
- [181] **Pontes, J.E.**: The significance of positive surgical margin on radical prostatectomy specimens. In: Murphy, G., Khoury, S., Chatelain, C., Denis, L.: *Proceedings – 3rd International Symposium on Recent Advances in Urological Cancer, Diagnosis and Treatment, Paris – June 17-19, 1992*; Scientific Communication International Ltd, 177-178, (1993)
- [182] **Prestigiacomo, A.F.**, Chen, Z., Stamey, T.A.: A universal calibrator for prostate specific antigen (PSA). *Scand J Clin Lab Invest*, 221, 57-59, (1995)

- [183] **Prestigiacomo, A.F.**, Lilja, H., Pettersson, K., Wolfert, R.L., Stamey, T.A.: A comparison of the free fraction of serum prostate-specific antigen in men with benign and cancerous prostates: The best case scenario. *J Urol*, 156, 350-354, (1996)
- [184] **Prestigiacomo, A.F.**, Stamey, T.A.: Physiological variation of serum prostate specific antigen in the 4.0 to 10.0 ng/ml range in male volunteers. *J Urol*, 155, 1977-1980, (1996)
- [185] **Pretlow, T.G.**, Pretlow, T.P., Yang, B., Kaetzel, C.S., Delmoro, C.M., Kamis, S.M., Bodner, D.R., Kursh, E., Resnick, M.I., Bradley, E.J.: Tissue concentrations of prostate-specific antigen in prostatic carcinoma and benign prostatic hyperplasia. *Int J Cancer*, 49, 645-649, (1991)
- [186] **Qiu, S.D.**, Young, C.Y., Bilhartz, D.L., Prescott, J.L., Farrow, G.M., He, W.W., Tindall, D.J.: In situ hybridization of prostate-specific antigen mRNA in human prostate. *J Urol*, 144, 1550-1556, (1990)
- [187] **Rana, A.**, Chisholm, G.D.: He sold his bike for a low prostate specific antigen. *J Urol*, 151, 700, (1994)
- [188] **Riegman, P.H.**, Klaassen, P., van der Korput, J.A., Romijn, J.C., Trapman, J.: Molecular cloning and characterization of novel prostate antigen cDNA's. *Biochem Biophys Res Commun*, 155, 181-188, (1988)
- [189] **Riegman, P.H.**, Vlietstra, R.J., Suurmeijer, L., Cleutjens, C.B., Trapman, J.: Characterization of the human kallikrein locus. *Genomics*, 14, 6-11, (1992)
- [190] **Riegman, P.H.**, Vlietstra, R.J., van der Korput, J.A., Romijn, J.C., Trapman, J.: Characterization of the prostate-specific antigen gene: A novel human kallikrein-like gene. *Biochem Biophys Res Commun*, 159, 95-102, (1989)
- [191] **Robert, M.**, Gibbs, B.F., Jacobson, E., Gagnon, C.: Characterization of prostate-specific antigen proteolytic activity on its major physiological substrate, the sperm motility inhibitor precursor / semenogelin I. *Cancer*, 79, 1370-1380, (1997)
- [192] **Rodriguez-Rubio, F.I.**, Robles, J.E., Gonzalez, A., Arocena, J., Sanz, G., Diez-Caballero, F., Martin-Marquina, A., Berian, J.M.: Effect of digital rectal examination and flexible cystoscopy on free and total prostate-specific antigen and the percentage of free prostate-specific antigen. Differences between two PSA assays. *Eur Urol*, 33, 255-260, (1998)
- [193] **Ronnett, B.M.**, Carmichael, M.J., Carter, H.B., Epstein, J.I.: Does high grade prostatic intraepithelial neoplasia result in elevated serum prostate specific antigen levels? *J Urol*, 150, 386-389, (1993)
- [194] **Rusciano, D.**, Berardi, A., Ceccarini, C., Terrana, B.: Concomitant purification of prostatic carcinoma tumor markers from human seminal fluid under nondenaturing conditions. *Clin Chem*, 34, 2528-2532, (1988)
- [195] **Schaller, J.**, Akiyama, K., Tsuda, R., Hara, M., Marti, T., Rickli, E.: Isolation, characterization and amino acid sequence of γ -seminoprotein, a glycoprotein from human seminal plasma. *Eur J Biochem*, 170, 110-120, (1987)
- [196] **Schedlich, L.J.**, Bennets, B.H., Morris, B.J.: Primary structure of a human glandular kallikrein gene. *DNA*, 6, 429-437, (1987)
- [197] **Schmid, H.P.**, Semjonow, A.: The rise and fall of PSA: clinical implications of prostate specific antigen kinetics. *Urol Res*, 30:85-88, (2002)
- [198] **Schuurmans, A.L.**, Bolt, J., Voorhorst, M.M., Blankenstein, R.A., Mulder, E.: Regulation of growth and epidermal growth factor receptor levels of LNCaP prostate tumor cells by different steroids. *Int J Cancer*, 42, 917-922, (1988)
- [199] **Scott, W.W.**, Menon, M., Walsh, P.C.: Hormonal therapy of prostatic cancer. *Cancer*, 45, 1929-1936, (1980)
- [200] **Semjonow, A.**, De Angelis G., Oberpenning, F. et al.: The clinical impact of different assays for prostate specific antigen. *B J U Int.*, 86:590-597, (2000)
- [201] **Semjonow, A.**, De Angelis, G., Oberpenning, F. et al.: The clinical impact of different assays for prostate specific antigen. *B J U Int.*, 86, 590-97, 2000
- [202] **Semjonow, A.**, De Angelis, G.: „Ultrasensitive“ Messverfahren für das prostataspezifische Antigen (PSA): Wie tief wollen wir messen? *J Lab Med* 27: 16-19, (2003)
- [203] **Semjonow, A.**, Hamm, M., Rathert, P.: Prediction of tumor recurrence after radical prostatectomy using elimination kinetics of prostate-specific antigen. *World J Urol*, 11, 218-220, (1993)
- [204] **Semjonow, A.**, Lamerz, R.: Prostataspezifisches Antigen. in: Thomas (Hrsg.) TH-Books, (2005)
- [205] **Sensabaugh, G.F.**: 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, (1978)
- [206] **Shibata, K.**, Kajihara, J., Kato, K., Hirano, K.: Purification and characterization of prostate specific antigen from human urine. *Biochem Biophys Acta*, 1336, 425-433, (1997)
- [207] **Simm, B.**, Gleeson, M.: Storage conditions for serum for estimating prostate-specific antigen. *Clin Chem*, 37, 113-114, (1991)

- [208] **Sinha, A.A.**, Wilson, M.J., Gleason, D.F.: Immunoelectron microscopic localization of prostatic specific antigen in human prostate by the protein A – gold complex. *Cancer*, 60, 1288-1293, (1987)
- [209] **Sottrup-Jensen, L.**, Petersen, T.E., Magnusson, S.: Mechanism of proteinase complex formation with alpha-2-macroglobulin. Three modes of trypsin binding. *FEBS Lett*, 128, 127-132, (1981)
- [210] **Sottrup-Jensen, L.**: Alpha-macroglobulins: structure, shape and mechanism of proteinase complex formation. *J Biol Chem*, 264, 11539-11542, (1989)
- [211] **Stamey, T.A.**, Chen, Z., Prestigiacomo, A.: Serum prostate specific antigen binding alpha1-antichymotrypsin: Influence of cancer volume, location and therapeutic selection of resistant clones. *J Urol*, 152, 1510-1514, (1994)
- [212] **Stamey, T.A.**, Kabalin, J.N., Ferrari, M., Yang, N. Prostate specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate. IV. Anti-androgen treated patients. *J Urol*, 141, 1088-1090, (1989)
- [213] **Stamey, T.A.**, Kabalin, J.N., Ferrari, M.: Prostate specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate. III. Radiation treated patients. *J Urol*, 141, 1084-1087, (1989)
- [214] **Stamey, T.A.**, Kabalin, J.N., McNeal, J.E., Johnstone, I.M., Freiha, F., Redwine, E.A., Yang, N.: Prostate specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate. II. Radical prostatectomy treated patients. *J Urol*, 141, 1076-1083, (1989)
- [215] **Stamey, T.A.**, Kabalin, J.N.: Prostate specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate. I. Untreated patients. *J Urol*, 141, 1070-1075, (1989)
- [216] **Stamey, T.A.**, Teplow, D.B., Graves, H.C.: Identity of PSA purified from seminal fluid by different methods: Comparison by amino acid analysis and assigned extinction coefficients. *Prostate*, 27, 198-203, (1995)
- [217] **Stamey, T.A.**, Yang, N., Hay, A.R., McNeal, J.E., Freiha, F.S., Redwine, E.: Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med*, 317, 909-916, (1987)
- [218] **Stamey, T.A.**: Second Stanford Conference on International Standardization of Prostate-Specific Antigen Immunoassays: September 1 and 2, 1994, *Urology*, 45, 173-184, (1995)
- [219] **Stein, A.**, deKernion, J.B., Smith, R.B., Dorey, F., Patel, H.: Prostate specific antigen levels after radical prostatectomy in patients with organ confined and locally extensive prostate cancer. *J Urol*, 147, 942-946, (1992)
- [220] **Stenman, U.H.**, Alfthan, H., Group SBs: Effect on long term treatment with finasteride on free and total PSA in Serum. *J Urol*, 155, 689, (1996)
- [221] **Stenman, U.H.**, Leinonen, J., Zhang, W.M.: Standardization of PSA determinations. *Scand J Clin Lab Invest*, 221, 45-51, (1995)
- [222] **Stenman, U.H.**: Prostate-specific antigen, clinical use and staging: An overview. *Br J Urol*, 79, 53-60, (1997)
- [223] **Stormont, T.J.**, Farrow, G.M., Myers, R.P., Blute, M.L., Zincke, H., Wilson, T.M., Oesterling, J.E.: Clinical stage B0 or T1c prostate cancer: Nonpalpable disease identified by elevated serum prostate-specific antigen concentration. *Urology*, 41, 3-8, (1993)
- [224] **Suzuki, K.**, Nishioka, J., Hashimoto, S.: Protein C inhibitor. Purification from human plasma and characterization. *J Biol Chem*, 258, 163-168, (1983)
- [225] **Suzuki, K.**, Nishioka, J., Kusumoto, H., Hashimoto, S.: Mechanism of inhibition of activated protein C by protein C inhibitor. *J Biochem*, 95, 187-195, (1984)
- [226] **Sveteč, D.A.**, Canby, E.D., Thompson, I.M., Sabanegh, E.S.: The effect of parenteral testosterone replacement on prostate-specific antigen in hypogonadal men with erectile dysfunction. *J Urol*, 158, 1775-1777, (1997)
- [227] **Takayama, T.K.**, Fujikawa, K., Davie, E.W.: Characterization of the precursor of prostate-specific antigen. Activation by trypsin and by human glandular kallikrein. *J Biol Chem*, 272, 21582-21588, (1997)
- [228] **Takayama, T.K.**, Vessella, R.L., Brawer, M.K., True, L.D., Noteboom, J., Lange, P.H.: Urinary prostate-specific antigen levels after radical prostatectomy. *J Urol*, 151, 82-87, (1994)
- [229] **Takayama, T.K.**, Vessella, R.L., Lange, P.H.: A brief review of ultrasensitive prostate-specific antigen assays for the evaluation of patients after radical prostatectomy. *World J Urol*, 11, 192-195, (1993)
- [230] **Tarle, M.**, Kraljic, I.: Free and total serum PSA values in patients with prostatic intraepithelial neoplasia (PIN), prostate cancer and BPH. Is F/T PSA a potential probe for dormant and manifest cancer? *Anticancer Res*, 17, 1531-1534, (1997)
- [231] **Tchetgen, M.B.**, Song, J.T., Strawderman, M., Jacobsen, S.J., Oesterling, J.E.: Ejaculation increases the serum prostate-specific antigen concentration. *Urology*, 47, 511-516, (1996)
- [232] **Tessmer, U.**, Quack, T., Donn, F., Leuner, A., Dernick, R.: Biological activity of prostate-specific antigen isolated by sodium dodecyl sulfate- polyacrylamide gel electrophoresis and electroelution. *Electrophoresis*, 16, 793-799, (1995)
- [233] **Tewari, P.C.**, Williams, J.S.: Analytical characteristics of seminal fluid PSA differ from those of serum PSA. *Clin Chem*, 44, 191-193, (1998)

- [234] **Travis, J.**, Salvesen, G.S.: Human plasma proteinase inhibitors. *Annu Rev Biochem*, 52, 655-709, (1983)
- [235] **Väisänen, V.**, Lövgren, J., Hellman, J., Piironen, T., Lilja, H., Pettersson, K.: Characterization and processing of prostate specific antigen (hK3) and human glandular kallikrein (hK2) secreted by LNCaP cells. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 6, 1-7, (1999)
- [236] **Van Cangh, P.J.**, De Nayer, P., Sauvage, P., Tombal, B., Elsen, M., Lorge, F., Opsomer, R., Wese, F.X. : Free to total prostate-specific antigen (PSA) ratio is superior to total-PSA in differentiating benign prostate hypertrophy from prostate cancer. *Prostate*, 7, 30-34, (1996)
- [237] **Van Straalen, J.P.**, Bossens, M.M., de Reike, T.M., Sanders, G.T.: Biological half-life of prostate-specific antigen after radical prostatectomy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 32, 53-55, (1994)
- [238] **Vihinen, M.**: Modeling of prostate specific antigen and human glandular kallikrein structures. *Biochem Biophys Res Commun*, 204, 1251-1256, (1994)
- [239] **Villoutreix, B.O.**, Getzoff, E.D., Griffin, J.H. : A structural model for the prostate disease marker, human prostate-specific antigen. *Protein Sci*, 3, 2033-2044, (1994)
- [240] **Wang, M.C.**, Papsidero, L.D., Kuriyama, M., Valenzuela, L.A., Murphy, G.P., Chu, T.M.: Prostate antigen: A new potential marker for prostatic cancer. *Prostate*, 2, 89-96, (1981)
- [241] **Wang, M.C.**, Valenzuela, L.A., Murphy, G.P., Chu, T.M.: Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol*, 17, 159-163, (1979)
- [242] **Wang, T.J.**, Rittenhouse, H.G., Wolfert, R.L., Lynne, C.M., Brackett, N.L.: PSA concentrations in seminal plasma. *Clin Chem*, 44, 895-896, (1998)
- [243] **Watt, K.W.**, Lee, P-J., M'Timkulu, T., Chan, W.P., Loor, R.: Human prostate specific antigen: Structural and functional similarity with serine proteases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 83, 3166-3170, (1986)
- [244] **Webber, M.**, Waghray, A., Bello, D.: Prostate-specific antigen, a serine protease, facilitates human prostate cancer cell invasion. *Clin Cancer Res*, 1, 1089-1094, (1995)
- [245] **Weber, J.P.**, Oesterling, J.E., Peters, C.A., Partin, A.W., Chan, D.W., Walsh, P.C.: The influence of reversible androgen deprivation on serum prostate-specific antigen levels in men with benign prostatic hyperplasia. *J Urol*, 141, 987-992, (1989)
- [246] **White, R.**, Janoff, A., Godfrey, H.P.: Secretion of alpha-2-macroglobulin by human alveolar macrophages. *Lung*, 158, 9-14, (1980)
- [247] **Williams, P.B.**, Eastham, J.A., Culkin, D.J., Mata, J.A., Venable, D.D., Sartor, O.: Influence of hepatic function on serum levels of prostate-specific antigen. *J Urol*, 158, 1867-1869, (1997)
- [248] **Windeler, J.**, Perleth, M., Antes, G.: PSA-Screening: Die Zeit ist nicht reif. *Deutsches Ärzteblatt*, 100(39), (2003)
- [249] **Wingo, P.A.**, Tong, T., Bolden, S.: Cancer Statistics. *CA Cancer J Clin*, 45, 8-30, (1995)
- [250] **Woodrum, D.L.**, Brawer, M.K., Partin, A.W., Catalona, W.J., Southwick, P.C.: Interpretation of free prostate specific antigen clinical research studies for the detection of prostate cancer. *J Urol*, 159, 5-12, (1998)
- [251] **Woodrum, D.L.**, French, C., Shamel, L.B.: Stability of free prostate-specific antigen in serum samples under a variety of sample collection and sample storage conditions. *Urology*, 48, 33-39, (1996)
- [252] **Woodrum, D.L.**, York, L.: Two-year stability of free and total PSA in frozen serum samples. *Urology*, 52, 247-251, (1998)
- [253] **Wu, G.**, Lilja, H., Cockett, A.T., Gershagen, S.: Cloning and characterization of the alpha 1-antichymotrypsin produced by human prostate tissue. *Prostate*, 34, 155-161, (1998)
- [254] **Wu, J.T.**, Zahng, P., Liu, G.H., Wilson, L.: Development of an immunoassay specific for the PSA-ACT complex without the problem of high background. *J Clin Lab Anal*, 12, 14-19, (1998)
- [255] **Yoshida, E.**, Ohmura, S., Sugiki, M., Maruyama, M., Mihara, H.: Prostate-specific antigen activates single-chain urokinase-type plasminogen activator. *Int J Cancer*, 63, 863-865, (1995)
- [256] **Young, C.Y.**, Andrews, P.E., Montgomery, B.T., Tindall, D.J.: Tissue-specific and hormonal regulation of human prostate-specific glandular kallikrein. *Biochemistry*, 31, 818-824, (1992)
- [257] **Young, C.Y.**, Montgomery, B.T., Andrews, P.E., Qui, S.D., Bilhartz, D.L., Tindall, D.J.: Hormonal regulation of prostate-specific antigen messenger RNA in human prostatic adenocarcinoma cell line LNCaP. *Cancer Res*, 51, 3748-3752, (1991)
- [258] **Yu, H.**, Giai, M., Diamandis, E.P., Katsaros, D., Sutherland, D.J., Levesque, M.A., Roagna, R., Ponzoni, R., Sismondi, P.: Prostate-specific antigen is a new favorable prognostic indicator for women with breast cancer. *Cancer Res*, 55, 2104-2110, (1995)
- [259] **Yuan, J.J.**, Coplen, D.E., Petros, J.A., Figenschau, R.S., Ratliff, T.L., Smith, D.S., Catalona, W.J. : Effects of rectal examination, prostatic massage, ultrasonography and needle biopsy on serum prostate-specific antigen levels. *J Urol*, 147, 810-814, (1992)

- [260] **Zhang, S.**, Murtha, P.E., Young, C.Y.: Defining a functional androgen responsive element in the 5' far upstream flanking region of the prostate-specific antigen gene. *Cancer Lett*, 113, 111-116, (1997)
- [261] **Zhang, W.M.**, Finne, P., Leinonen, J., Vesalainen, S., Nordling, S., Ranniko, S., Stenman, U.H.: Characterization and immunological determination of the complex between prostate-specific antigen and alpha2-macroglobulin. *Clin Chem*, 44, 2471-2479, (1998)
- [262] **Zhang, W.M.**, Leinonen, J., Kalkkinen, N., Dowell, B., Stenman, U.H.: Purification and characterization of different molecular forms of prostate-specific antigen in human seminal fluid. *Clin Chem*, 41, 1567-1573, (1995)
- [263] **Zhang, W.M.**, Leinonen, J., Stenman, U.H.: PSA complexes and cleaves with alpha1-proteinase inhibitor. *Prostate*, 33, 87-96, (1997)
- [264] **Zhou, A.M.**, Tewari, P.C., Bluestein, B.I., Caldwell, G.W., Larsen, F.L.: Multiple forms of prostate-specific antigen in serum: Differences in immunorecognition by monoclonal and polyclonal assays. *Clin Chem*, 39, 2483-2491, (1993)

10 Danksagung

Mein besonderer Dank gebührt Herrn Univ.-Prof. Dr. med. L. Hertle, Ärztlicher Direktor der Klinik und Poliklinik für Urologie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, für die Bereitschaft mir jegliche Unterstützung bei der Durchführung zu gewähren.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. A. Semjonow, Ärztlicher Leiter des wissenschaftlichen Labors der Urologie und leitender Oberarzt der Klinik und Poliklinik für Urologie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, danke ich für die Unterstützung bei der Planung, Durchführung und Auswertung der durchgeführten Patientenstudie sowie seine Motivationsbereitschaft und sein Engagement. Ohne ihn wäre diese Promotion nicht möglich gewesen.

Frau Françoise Flammang, Frau Sabine Plonka, Frau Beate Pepping-Schefers und Frau Simone Schell, Mitarbeiterinnen des wissenschaftlichen Labors der Urologie am Universitätsklinikum Münster, danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Organisation und Durchführung der Blutserumkonzentrationsbestimmungen des PSA. Ihr uneigennütziger Einsatz bei der Durchführung der Messreihen erfolgte parallel zur Routinebelastung durch die Poliklinik und verdient daher besondere Anerkennung.

Frau Dorothea Weiß, leitende MTA des wissenschaftlichen Labors der Urologie am Marienhospital II Herne, Universitätsklinikum der Ruhr-Universität-Bochum, danke ich für Ihre Einführung in die Grundlagen der Laborarbeit. Ohne ihre Anleitung und Unterstützung wäre insbesondere die, mit der eigentlichen Untersuchung in keinem Zusammenhang stehende, Betreuung weiterer Laborprojekte nicht möglich gewesen.

Herrn Prof. Dr. Reiner Kurzhals, Fachbereichsleiter des Instituts für Wirtschaftsinformatik und Statistik der Fachhochschule Gelsenkirchen, danke ich für die Unterstützung bei den statistischen Auswertungen.

Mein herzlichster Dank jedoch gebührt meinen Patienten. Sie opferten neben ihrer Zeit vor allem ihr Blut. Und ohne dies wäre diese Untersuchung nicht möglich gewesen.

Danken möchte ich auch den zahlreichen ärztlichen Kollegen aus dem niedergelassenen Bereich, die mir durch die zur Verfügung gestellten Informationen, insbesondere der Laborbefunde, eine große Hilfe waren. Zu großem Dank verpflichtet bin ich den Kollegen Dr. med. Bahmann Abrar, Dr. med. G. Blum, Dr. med. R. Brinkmann, Dr. med. A. Georges, Dr. med. U. Isensee, Dr. med. H.W. Kaufmann und Dr. med. H. Motazedi, Fachärzte für Urologie, für Ihre Kooperationsbereitschaft.

Meinen Eltern, Anne und Peter, danke ich für ihre stetige Unterstützung und die wohlwollende Zuversicht, dass diese Arbeit eines Tages ihren Abschluss findet.

11 Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name	Grabski, Holger
Geburtsdatum	20.11.1970
Geburtsort	Bochum
Familienstand	ledig
Vater	Grabski, Peter - Bauingenieur
Mutter	Grabski, Anneliese - Augenoptikerin

Ausbildungsverlauf

Schulbildung	Gymnasium	1981 bis 1990
	Abitur:	1990
Zivildienst	Rettungsdienst	1990 bis 1992

Medizinstudium

10/92 Ruhr-Universität-Bochum
04/96 Universität GH Essen
04/99 WWU Münster
12/99 University of Cape Town, SA
05/00 Ärztliche Prüfung

Praktisches Jahr

Innere Medizin	04/99 - 08/98
	Städtische Kliniken Dortmund
	Professor Dr. med. B. Angelkort
Orthopädie	08/99 - 12/99
	Städt. Kliniken Dortmund
	Professor Dr. med. B. D. Katthagen
Unfallchirurgie	12/99 - 03/00
	Groote Schuur Hospital Kapstadt, SA
	Professor John Terblanche MD

Arzt im Praktikum

Chirurgie / Orthopädie

07/00 - 12/01

ENDO-Klinik Hamburg

Ärztlicher Direktor Dr. med. G. von Foerster

Weiterbildungsassistent

Chirurgie / Orthopädie

01/02 - 08/03

ENDO-Klinik Hamburg

Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. J.F. Lühr

Unfallchirurgie

09/03 - 05/03

Knappschafts Krankenhaus Recklinghausen

Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. M. Büsing

Chirurgie

seit 05/03

St. Franziskus-Hospital Münster

Ärztlicher Direktor PD Dr. med. U. Schulz

Zusatzbezeichnungen

Sportmedizin

Zusatzbezeichnung vom 20.12.2003.

Rettungsmedizin

Zusatzbezeichnung vom 12.03.2004.

Chirotherapie

Zusatzbezeichnung vom 13.12.2004.

Münster, 01. Mai 2005
